

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par: DJERARDA Hedda

BOUSSADIA Ghania

BOUAFIA Sarra

Intitulé

**Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
des extraits et de l'huile essentielle des racines de
*Thapsia garganica***

Soutenu devant le jury composé de:

Mr. RAHALI Abdallah	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
M^{lle}. DEHIMI Khadidja	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
M^{me}. BOUAZIZ Samia	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examinateur

Année universitaire : 2021/2022



Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu Tout-Puissant, d'avoir nous donner
le courage pour afin de terminer ce travail.*

*Nos remerciements à M^{lle} DEHIMI KHADIDJA pour la direction de ce travail et
pour le soutien et la confiance qu'elle nous a accordés.*

*Nous remercions infiniment les membres de jury d'avoir accepté de juger et
évaluer notre travail.*

*A Monsieur Laouar Hocine (Université Sétif 1) qui a identifié l'espèce étudiée et le
laboratoire de la Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques, Université
de Sétif-1, où on a réalisé une partie de ce travail.*

ملخص:

Thapsia garganica هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة *Apiaceae* ، وهو منتشر على نطاق واسع في الجزائر ويسمى "درياس أو بونافع". يستخدم هذا النبات تقليديا كمرهم لتخفيف الروماتيزم وكمدر للبول. تم إنجاز هذا العمل لدراسة التركيب الكيميائي النباتي وتقييم النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات وللزيت الأساسي لجذور النبات. تم تحضير أربع مستخلصات ذات قطبية مختلفة، قدر مردود المستخلص المائي بـ 29.5% ومستخلص الميثانول بـ 3.6% ، متبوعين بمستخلص الأسيون (1%) والهكسان (0.8%). قدر مردود الزيت الأساسي الناتج عن التقطير المائي بـ 0.4%. وجدت أكبر كمية من عديدات الفينول في مستخلص الأسيون (39,18 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مع مستخلص)، أظهر مستخلصي الأسيون والهكسان أعلى مستويات من الفلافونويدات (17,27 و16,26 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين /مع مستخلص، على التوالي). كان مستخلص الأسيون الأغنى بالدباغ (83,88 ميكروغرام مكافئ حمض التانيك /مع مستخلص). أظهر نفس المستخلص أعلى قدرة على إرجاع الحديد بقيمة امتصاص قصوى قدرت بـ 0.83. في اختبار بيتا كاروتان /حمض اللينوليك، تم الحصول أعلى نشاطية في مستخلص الهكسان بمعدل تثبيط قدر بـ 75.82%. أظهرت الاختبارات الميكروبيولوجية أن المستخلصات الفينولية غير فعالة على عكس الزيت الأساسي الذي أظهر نشاطاً ضد *E. coli* و *S. aureus* مع مناطق تثبيط قدرت بـ 15 و 20 ملم، على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Thapsia garganica*، عديدات الفينول، FRAP، بيتا-كاروتين/حمض اللينوليك، زيت أساسي، نشاطية مضادة للبكتيريا.

Résumé :

Thapsia garganica est une plante médicinale appartenant à la famille des *Apiaceae*, très répandue en Algérie et appelée « Derias » ou « Bounafaa ». Cette plante est traditionnellement utilisée comme onguent pour soulager les rhumatismes et comme diurétique. Ce travail a été réalisé pour étudier la composition phytochimique et évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle des racines de la plante. Quatre extraits de polarité différente ont été préparés ; le rendement de l'extrait aqueux était de 29.5 % et l'extrait de méthanol était de 3.6 %, suivis par l'extrait d'acétone (1%) et d'hexane (0.8%). Le rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation était de 0.4%. La plus grande quantité en poly phénols a été trouvée dans l'extrait d'acétone (39,48 µg d'équivalent d'acide gallique/mg extrait). Les extraits d'acétone et d'hexane ont montré les niveaux les plus élevés en flavonoïdes (17.27 et 16.26 µg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait, respectivement). L'extrait d'acétone était le plus riche en tannins (83,88 µg équivalent acide tannique / mg extrait). Le même extrait a montré la plus grande capacité à réduire le fer avec une absorption maximale de 0.83. Dans le test de bêta-carotène/acide linoléique, l'activité la plus élevée a été obtenue par l'extrait d'hexane avec un taux d'inhibition de 75.82%. Les tests microbiologiques ont montré que les extraits phénoliques sont inefficaces, contrairement à l'huile essentielle qui a montré une activité contre *E. coli* et *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 15 et 20 mm, respectivement.

Mots clés : *Thapsia garganica*, polyphénols, FRAP, bêta-carotène, huile essentielle, activité antibactérienne.

Abstract:

Thapsia garganica is a medicinal plant belonging to the *Apiaceae* family; it is widespread in Algeria and called « Derias » or « Bounafaa ». This plant is traditionally used as ointment to relieve rheumatism and as diuretic. This work was carried out study the phytochemical composition and to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of the plant roots extracts and essential oil. Four extracts with different polarity were prepared; the yield of aqueous extract was 29.5% and of methanol extract was 3.6%, followed by acetone extract (1%) and hexane extract (0.8%). The yield of essential oil obtained by hydrodistillation was 0.4%. The highest amount of polyphenols was found in the acetone extract (39.48 µg gallic acid equivalent/mg extract). Acetone and hexane extracts showed the highest flavonoids levels (17.27 and 16.26 µg quercetin equivalent/mg extract, respectively). The acetone extract was the richest in tannins (83.88 µg tannic acid equivalent/mg extract). The same extract showed the highest capacity to reduce iron with a maximal absorbance of 0.83. In the beta-carotene/linoleic acid test, the highest activity was obtained by hexane extract with an inhibition rate of 75.82%. Microbiological tests showed the phenolic extracts to be ineffective, unlike the essential oil which showed activity against *E. coli* and *S. aureus* with inhibition zones of 15 and 20 mm, respectively.

Key words: *Thapsia garganica*, polyphenols, FRAP, beta-carotene, essential oil, antibacterial activity.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1 : revue bibliographique.	
1- La plante <i>Thapsia garganica</i>	3
1.1- La famille des <i>Apiaceae</i>	3
1.1.1-Généralités	3
1.1.2 - Composition chimique	3
1.2- Le genre <i>Thapsia</i>	4
1.2.1 Généralités.....	4
1.2.2- Morphologie	4
1.3- L'espèce <i>Thapsia garganica</i>	4
1.3.1- Description botanique	4
1.3.2-Distribution géographique de <i>Thapsia garganica</i>	5
1.3.3- Classification	5
1.3.4-Noms vernaculaires.....	5
1.3.5- Composition chimique	5
1.3.6- Intérêts thérapeutiques	6
2 - Les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants.....	6
2.1 - Les radicaux libres	6
2.1.1- Définition	6
2.1.2-Formation et rôles physiologiques.....	7
2.2- Le stress oxydatif.....	7
2.3-Les antioxydants.....	7
2.3.1-Définition.....	7
2.3.2-Les types d'antioxydants.....	7
A-Antioxydants endogènes.....	8
B-Antioxydants exogènes.....	8
3- Agents antimicrobiens et antibiorésistance.....	8
3.1-Modes d'action des agents antimicrobiens.....	8
3.2-Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	8
4-Les métabolites secondaires	9
4.1-Principaux métabolites secondaires.....	9
4.1.1-Les polyphénols.....	9

4.1.2-Les flavonoïdes.....	9
4.1.3- Les tannins.....	10
4.1.4- Les huiles essentielles.....	10
4.2-Activités biologiques des métabolites secondaires.....	11

Chapitre 2 : Matériel et méthodes.

1- Matériel	13
1.1-Matériel végétal	13
1.2-Souches bactériennes.....	13
1.3- Produits chimiques	14
2- Méthodes	14
2.1- Méthodes d'extraction	14
2.1.1- Préparation de l'extrait aqueux	14
2.1.2- Préparation des extraits organiques	14
2.1.3-Extraction de l'huile essentielle.....	14
2.1.4-Rendement de l'extraction.....	15
2.2- Etude phytochimique	15
2.2.1 - Les flavonoïdes	15
2.2.2- Les tannins	15
2.2.3- Les quinones	15
2.2.4- Les terpénoïdes	16
2.2.5- Les saponines	16
2.3- Dosages de quelques métabolites secondaires	16
2.3.1- Dosage des polyphénols totaux	16
2.3.2- Dosage des flavonoïdes	17
2.3.3- Détermination de la teneur totale en tannins	18
2.4- Etude de l'activité antioxydante des extraits de la plante	19
2.4.1-Pouvoir réducteur de fer (FRAP ou Ferric Reducing Antioxidant Power).....	19
2.4.1.1-préparation du tampon phosphate 0.2 M (ph 6.6).....	19
2.4.1.2- Réalisation du test.....	19
2.4.2- Test de β - carotène/acide linoléique.....	20
2.5- Evaluation de l'activité antibactérienne.....	20
2.5.1-Préparation de l'inoculum	20
2.5.2-Méthode des puits de diffusion.....	21
2.5.2-Méthode des disques de diffusion (aromatogramme).....	21

2.6- Etude statistique	21
Chapitre 3 : Résultats et discussion.	
1- Extraction	23
2- Etude phytochimique	24
3- Dosage des composés phénoliques de la plante	24
4 - Activité antioxydante des extraits aqueux et organiques de <i>T. garganica</i>	26
4.1- Pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	26
4.2-Test de β - carotène/acide linoléique.....	28
5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de <i>T.garganica</i>.....	30
Conclusion et perspectives	33
Références.....	35

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Structure de la thapsigargine du genre <i>Thapsia</i>	6
2	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie gram négatif	9
3	La plante <i>Thapsia garganica</i> . A : plante dans son environnement, B . parties aérienne et souterraine.	13
4	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	17
5	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	18
6	Courbes d'étalonnage de l'acide tannique.	19
7	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.	26
8	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Thapsia garganica</i> par la méthode FRAP.	27
9	(A). Activité antioxydante des extraits aqueux et organiques de <i>Thapsia garganica</i> par rapport aux témoins (BHT et DMSO) par le test du β -carotène/acide linoléique durant 48h. (B). Pourcentages d'inhibition des extraits aqueux et organiques et des témoins par le test du β - carotène/acide linoléique après 24h.	29
10	Activité antimicrobienne de l'HE de <i>T. garganica</i> vis-à-vis d' <i>E. coli</i> (B), <i>S.aureus</i> (D) et de la gentamycine vis-à-vis (D) <i>E. coli</i> (A), <i>S.aureus</i> (C) et <i>P.aeruginosa</i> (E).	30

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Réparation mondiale des genres de la famille des <i>Apiaceae</i>	3
2	Bactéries utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne	13
3	Rendements des extractions aqueuse, organiques et de l'huile essentielle de <i>Thapsia garganica</i>	23
4	Résultats du <i>screening</i> phytochimique des extraits de <i>Thapsia garganica</i>	24
5	Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tannins totaux des extraits de <i>Thapsia garganica</i>	25

Liste des abréviations

- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- BHT** : Hydroxytoluène butylé
- DMSO** : Diméthyle sulfoxyde.
- ERO** : Espèces réactives d'oxygène
- FRAP**: Ferric reducing antioxidant power
- GN**: gélose nutritif
- GSH**: glutathion
- H₂O₂**: Peroxyde d'hydrogène
- HE** : huile essentielle
- IC₅₀** ; Concentration d'inhibition 50%
- MHA** : gélose muller-Hinton
- NO** : le monoxyde d'azote
- O₂⁻** : l'anion superoxyde
- OH[•]**: le radical hydroxyle
- ROS**: Reactive oxygen species
- SOD**: Superoxyde dismutase
- EAG/mg E** : Equivalents d'acide tannique par mg d'extrait sec
- EAT/mg E** : Equivalents d'acide gallique par mg d'extrait sec
- EQ/mg E** : Equivalents de quercétine par mg d'extrait sec

Introduction

Au fil des siècles, l'homme a acquis une connaissance des plantes médicinales et de leurs propriétés. Il a transmis ce savoir traditionnel de génération en génération. Aujourd'hui, ces Connaissances constituent une ressource inestimable pour l'industrie pharmaceutique (**Boudjema et Ben Guegua, 2010**). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 65 à 80 % de la population dans les pays en développement utilisent principalement la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaires, à cause de la pauvreté et l'inaccessibilité à la médecine moderne (**Calixtu, 2005**).

La résistance aux antibiotiques est un problème majeur de la santé générale. La recherche d'agents anti-infectieux est devenue un besoin incontournable. De plus, les effets néfastes du stress oxydatif sur la santé des personnes sont devenus un problème dangereux. Les antioxydants synthétiques couramment utilisés dans l'industrie alimentaire peuvent être responsables de lésions hépatiques et de carcinogenèse ; d'où l'avantage d'utiliser des antioxydants et des agents antibactériens d'origine naturelle (**Bouyahya et al., 2017**).

Thapsia garganica L. Occupe une place privilégiée dans le traitement de certaines Pathologies. En effet, les racines ont été utilisées pour le traitement de maladies pulmonaires, Des arthrites rhumatoïdes aussi de cataracte (**Nelson et Stoltz, 2007**). Dans ce travail, les activités antioxydantes et antibactériennes des extraits et de l'huile essentielle préparés à partir des racines de la plante ont été étudiées. Ce travail est une contribution à :

- ❖ La préparation des extraits et de l'huile essentielle des racines de *Thapsia garganica*.
- ❖ Le screening phytochimique des extraits.
- ❖ L'étude quantitative des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins des extraits préparés.
- ❖ L'étude du pouvoir antioxydant des extraits par la méthode de FRAP et de β -carotène/acide linoléique
- ❖ L'étude du pouvoir antimicrobien des extraits et de l'huile essentielle.

Chapitre 1

Partie bibliographique

1. La plante *Thapsia garganica*

1.1- La famille des *Apiaceae*

1.1.1- Généralités

Les Apiacées (ou Ombellifères) sont une famille de plantes comprenant à l'heure actuelle 466 genres et environ 3800 espèces (**Reduron, j.p.2020**). Elle appartient au groupe des dicotylédones, se distinguant notamment par sa floraison typique de l'ombrelle. Cette famille de plantes a une importance nutritionnelle et économique remarquable vu que plusieurs légumes (carottes, fenouil, ...) et épices (cumin, coriandre,...) font partie de cette famille. Plusieurs espèces des *Apiaceae* sont toxiques comme la ciguë (**Lakhdar, 2011**).

Distribuée dans le monde entier (tableau 1), on trouve cette famille plus diversifiée dans les zones climatiques tempérées (Eurasie, Amérique du Nord) et très rarement dans les zones tropicales humides limitées à la haute montagne. Les conditions climatiques sont privilégiées en Méditerranée et les Apiacées se retrouvent dans presque tous les types d'habitats (**Lakhder, 2011**).

Tableau 1 : Répartition mondiale des genres de La famille des *Apiaceae* (**Lakhder, 2011**).

Continent	Genres	Endémiques
Asie	265	159
Amérique	197	52
Europe	139	29
Afrique	126	50
Australie	36	11

1.1.2- Composition chimique

Des recherches ont montré que la famille des Apiacées contient une grande variété de coumarines, de composés sesquiterpéniques et d'acétine issus d'huiles essentielles, ainsi que des flavonoïdes et des lactones sesquiterpéniques, composés qui sont les principaux métabolites secondaires qui caractérisant les Apiacées (**Bouderdara, 2013**).

1.2- Le genre *Thapsia***1.2.1- Généralités**

Le genre *Thapsia* est l'un des 300 genres de la famille des Apiacées. Ce genre était connu des anciens qui lui ont donné son nom et ont cru qu'il provenait de l'île de Thapsus. Il est formé d'environ 8 espèces, sa diversité est concentrée dans l'ouest de la Méditerranée, s'étendant jusqu'à l'océan Atlantique, le Maroc et les côtes du Portugal. En Algérie, trois espèces sont connues: *Thapsia garganica* L, *Thapsia polygama* et *Thapsia villosa* L. (Quezel et Santa, 1963 ; Pujadas et al., 2003).

1.2.2- Morphologie

Les espèces appartenant au genre *Thapsia* sont des plantes vivaces, en général élevées, avec des feuilles 2-3 pinnatiséquées, des fleurs blanches ou jaunes et des fruits à marges fortement ailées (Quezel et Santa, 1963).

1.3- L'espèce *Thapsia garganica***1.3.1- Description botanique**

Thapsia garganica est une plante vivace pouvant atteindre 1.5 m de haut, elle est caractérisée par :

- **Racine** : la racine a une écorce sous forme de fragments et sa face externe a une couleur jaune brunâtre très clair, tandis que la plaque interne a une couleur blanche. Son odeur est quasi inexistante, mais la saveur est piquante et caustique.
- **Tige** : la tige de *Thapsia garganica* est glabre et striée.
- **Feuilles** : la plante a des feuilles glabres ou à peine pubescentes en dessous, qui sont colorées en vert, mais leur forme varie selon son emplacement.
- **Inflorescence** : l'inflorescence se fait en ombelles.
- **Le fruit** : ses fruits sont de forme ovale, comprimés sur sa face dorsale, ont des bords fortement ailés, sont très développés, sont cordiformes à leurs extrémités, sont finement striés, ils ont une couleur jaune brillante (Youssef, 2006 ; Djerroumi et nacef, 2013).

1.3.2- Distribution géographique de *Thapsia garganica*

Thapsia garganica est commune dans toute la Méditerranée, en particulier au Maghreb et en Algérie. Cette espèce a la propriété de s'adapter à la sécheresse des steppes, à la Méditerranée et des montagnes désertiques, car elle convient à tous les types de sols, qu'ils soient secs ou saturés d'eau. Elle est très commune aussi dans la Kabylie et l'Aurès (Merad et Hammiche, 1992).

1.3.3- Classification

Selon Gomez (2007), la classification de la plante étudiée est comme suit :

Division : Angiospermes.

Classe: Dicotylédones.

Sous-classe: Archychlamiées.

Ordre: Umbeliflorales.

Famille: Apiacées (Ombellifères).

Genre: *Thapsia*.

Espèce: *Thapsia garganica*.

1.3.4- Noms vernaculaires

Les noms vernaculaires de *T. garganica* sont: Bounafaa, Derias, Adbib, Adrias, Atharghis, Hadriegs, Toufelt.

1.3.5- Composition chimique

Les extraits de *Thapsia garganica* sont riches en glycosides flavoniques comme les glycosides dérivés de la quercétine, le kaempférol, la rhamnétine, la lutéoline et l'apigénine (Chibani *et al.*, 2014). La plante est aussi riche en lactones sesquiterpéniques dont la plus connue est la thapsigargine (Figure 1) qui se trouve aussi dans d'autres plantes de la même famille. Dans *T. garganica*, la molécule est estérifiée avec de l'acide malique et acétique dans les séquences c2 et c10 (Christensen *et al.*, 1997). Les huiles essentielles isolées des différentes parties de la plantes (feuilles, fleurs, tiges et racines) sont formées essentiellement d'hydrocarbures sesquiterpéniques et de monoterpènes oxygénés (Hassen *et al.*, 2015). Les principaux constituants de l'huile essentielle des racines sont l'élémicine et la latifolone (Avato *et al.*, 2002).

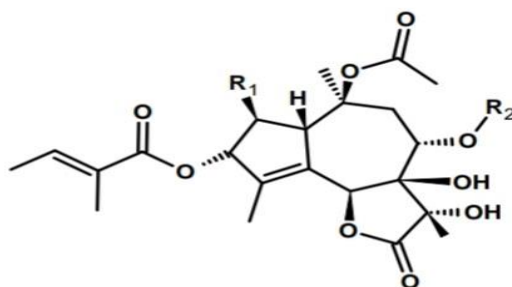


Figure 1 : structure de la thapsigargine du genre *Thapsia* (Andrews et al., 2007).

1.3.6- Intérêts thérapeutiques

Les vertus médicinales de *T. garganica* sont connues depuis l'antiquité, la plante est principalement utilisée pour traiter les maladies pulmonaires et les rhumatismes. Elle est également utilisée comme diurétique, analgésique et pour soulager les vomissements et les diarrhées (Srikrishna et Anebouselvy, 2009 ; Ladjel et al., 2011 ; Macé, 2012). Les racines de cette plante ont été utilisées traditionnellement en Europe et dans certains pays arabes de la Méditerranée comme onguent pour soulager le rhumatisme avec la nécessité d'être prudent car ça peut entraîner des cloques et de fortes démangeaisons (Rached, 2009).

2- Les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants

2.1- Les radicaux libres

2.1.1- Définition

Un radical libre est une espèce chimique indépendante qui contient un ou plusieurs électrons non appariés de l'orbite la plus externe. Ces radicaux sont formés en rompant une liaison covalente pour laisser un électron de la paire de liaison sur chaque atome, un processus connu sous le nom de fission symétrique (Helliwell, 1999).

En biologie, si ces radicaux libres interagissent avec les tissus proches d'eux, ils peuvent provoquer des dommages oxydatifs, ce qui conduit à la destruction des acides nucléiques, des protéines, des glucides et des graisses (Berger, 2006).

2.1.2- Formation et rôles physiologiques

Il existe différents types de radicaux libres susceptibles de se former, on distingue les composés radicalaires qui jouent un rôle physiologique particulier appelés premiers radicaux, quant aux radicaux secondaires, ils sont formés par l'interaction de ces radicaux basiques avec les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires sont dérivés de l'oxygène par des réductions à un électron comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), ou le monoxyde d'azote (NO). Il existe des espèces dérivées de l'oxygène appelées espèces réactives d'oxygène (ERO ou ROS), telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singlet 1O_2 , qui ne sont pas des radicaux libres et peuvent réagir et former des précurseurs de radicaux (**Diallo, 2005**). Les radicaux libres jouent plusieurs rôles physiologiques dans les réactions immunitaires, le signal cellulaire et la régulation de l'expression de certains gènes (**Favier, 2006**).

2.2- Le stress oxydatif

Classiquement défini comme un déséquilibre dans la production des ROS entraînant une augmentation du stress oxydatif des composants cellulaires essentiels (**Melila et al., 2012**). Les ROS sont présents dans la cellule en quantité contrôlée et leur concentration est régulée par l'équilibre entre le taux de leur production et le taux de leur élimination par les systèmes antioxydants. Ainsi l'équilibre redox peut être rompu soit par une surproduction de ces espèces réactives, soit par manque de la capacité antioxydant. Le stress oxydatif est impliqué dans plusieurs maladies telles que les cancers, le vieillissement cellulaire, les maladies neuro-dégénératives, le diabète, l'inflammation et les pathologies vasculaires (**Migdal et Serres, 2011**).

2.3- Les Antioxydants**2.3.1- Définition**

Un antioxydant est toute substance capable à des concentrations relativement faibles d'inhiber le processus d'oxydation (**Mohammadi et al., 2012**).

2.3.2- Les types d'antioxydants

Les antioxydants sont divisés en deux groupes :

A- Antioxydants endogènes : les défenses antioxydantes de l'organisme sont constituées d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase, ainsi que des molécules non enzymatiques comme le glutathion (GSH) (Guillouty, 2016).

B- Antioxydants exogènes : apportés par l'alimentation comme les vitamines C et E, les caroténoïdes et les flavonoïdes (Haleng et al., 2007).

3- Agents antimicrobiens et antibiorésistance

Les antibiotiques sont une découverte thérapeutique d'une grande importance dans le traitement médical, car ils ont joué un rôle dans le traitement de nombreuses maladies telles que les infections bactériennes. L'un des problèmes auxquels est confrontée la santé mondiale est la résistance des bactéries aux antibiotiques (Bouyahia et al., 2017b).

Certains facteurs ont provoqué le développement de la résistance aux antibiotiques tels que les caractéristiques microbiennes, les pressions de sélection et les changements sociaux. L'utilisation abusive d'agents antimicrobiens a été le principal facteur d'émergence de la résistance microbienne. Les microbes peuvent acquérir une nouvelle résistance lorsqu'il y a une mutation spontanée dans leurs gènes ou lorsque de nouveaux granules sont transférés d'une autre espèce (Vandal et al., 2015).

Les extraits de plantes médicinales forment une source prometteuse de molécules naturelles biologiquement actives qui font l'objet d'études sur leur utilisation comme alternative pour traiter les maladies infectieuses (Yakhlef et al., 2011).

3.1- Modes d'action des agents antimicrobiens

Les mécanismes d'action des antibiotiques contre les bactéries sont bien connus. Ces agents peuvent agir sur la paroi bactérienne et la membrane bactérienne, ou encore peuvent inhiber la synthèse des protéines ou encore d'ADN ((Bouyahya et al., 2017)).

3.2- Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les principaux mécanismes développés par les microorganismes pour exercer leur résistance aux antibiotiques sont résumés dans la figure 2.

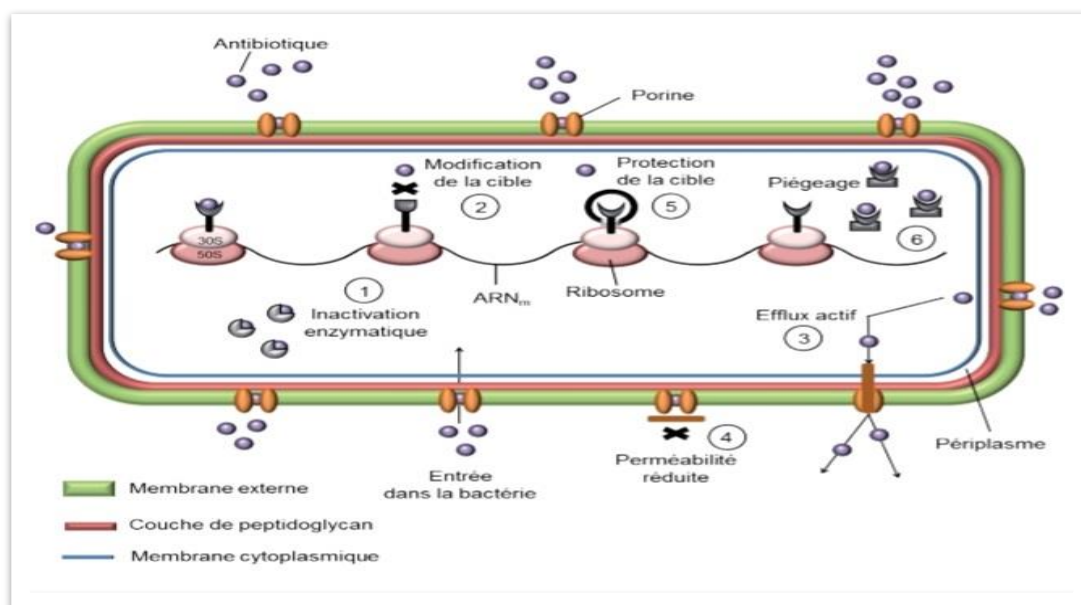


Figure 2: Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie gram négatif (Muylaert et Mainil, 2012). 1: inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2: modification de la cible de l'antibiotique, 3: efflux actif de l'antibiotique, 4: perméabilité réduite, 5: protection de la cible de l'antibiotique, 6: piégeage de l'antibiotique.

4- Les métabolites secondaires

Il s'agit d'un groupe diversifié de molécules qui participent à l'adaptation des plantes à leur milieu de vie mais ne sont pas une partie essentielle des voies biochimiques de la croissance cellulaire (Makkar et al., 2007).

4.1- Principaux métabolites secondaires

4.1.1- Les polyphénols

Ils ont une grande diffusion dans le règne végétal et font partie intégrante de la nutrition animale et humaine (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les polyphénols regroupent un grand ensemble de plus de 8000 molécules qui se répartissent en une dizaine de classes chimiques. Ces dernières ont en commun la présence dans la structure d'un cycle aromatique porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle et al., 2004).

4.1.2- Les flavonoïdes

C'est l'un des plus grands groupes de phénols végétaux, représentant plus de la moitié des huit mille composés phénoliques naturels. Ce sont des composés de faible poids moléculaire composés de 15 atomes de carbone formant une structure C₆_C₃_C₆, deux

cycles aromatiques, A et B, reliés par un pont à trois carbones sous la forme d'un hétérocyclique. Il existe plusieurs groupes de flavonoïdes, notamment : les flavanols, les isoflavones, les flavones et les flavanones, ces deux derniers étant les plus courants (**Ajila et al., 2011**).

4.1.3- Les tannins

Le tannin est un composé naturel du règne végétal, il fait partie d'une famille complexe de composés polyphénoliques, son poids varie entre 500 et 3000 Da. Les tannins se divisent en tannins condensés, hydrosolubles et complexes (**Aguilera et al., 2008**) :

➤ **Tannins hydrolysables :**

Sont constitués de molécules phénoliques simples, d'esters de l'acide gallique et de ses diodes (acide digalique, acide ellagique) et de monosaccharides, le glucose étant le plus courant.

➤ **Tannins condensés :**

Ce sont des composés non hydrolytiques avec un poids élevé, résultant de la polymérisation du flavon_3_ol en dimères ou oligomères (de 2 à 10 monomères) et en polymères (> 10 monomères) hydroxylés. La différence de structure dans les tannins condensés est due aux différentes unités et positions, orientations et types de liaisons entre les flavonoïdes.

➤ **Tannins complexes:**

Aussi appelés tannins partiellement dégradables, ils résultent de la condensation entre l'unité tannique hydrolysable et l'unité tannique condensée, ce qui conduit à la formation d'une liaison carbone-carbone entre le C1 du glucose du tanin hydrolysable et le C6 ou C8 de la molécule de tannin condensé (**Rira, 2019**).

4.1.4- Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange de composés biochimiques d'une grande variété, liés par des liaisons hydrocarbonées qui sont classées selon leurs propriétés en différents groupes de terpènes et leurs dérivés oxydés (**Bouyahya et al., 2017**). Elles sont extraites selon plusieurs méthodes, notamment : la distillation à la vapeur, la distillation sèche et l'extraction mécanique de l'épicarpe de certaines plantes (**Lahlou, 2004**).

4.2- Activités biologiques des métabolites secondaires

La consommation des aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, l'hypertension artérielle et l'ischémie du cœur. Ceci peut s'expliquer par le fait que ces composés ont la capacité d'éliminer des facteurs impliqués dans l'émergence de ces maladies. Ces composés présentent plusieurs activités biologiques comme l'effet antioxydant, antiviral, antibactérien, antiallergique, anti-inflammatoire, anti-tumoral et anti-coagulant (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Les huiles essentielles ont aussi de nombreuses propriétés thérapeutiques et activités biologiques, ce sont des agents antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires, insecticides, anti-cancérigènes et analgésiques (**Gazim et al., 2014 ; Amri et al., 2014**).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

1- Matériel

1.1- Matériel végétal

La plante *Thapsia garganica* (Figure 3) a été récoltée en Mars 2021 de la région du Maadid dans la Wilaya de M'sila. L'identification de la plante a été effectuée par Pr. Laouar Hocine (Université Ferhat Abbas-Sétif 1). Les racines ont été séparées, bien lavées, écaillées et coupées en couches fines et laissées pour séchage à l'obscurité pendant 10 jours. La plante a été ensuite broyée pour obtenir une poudre afin de l'utiliser pour préparer les extraits. La préparation de la plante a été effectuée avec précaution à cause de son effet irritant sur la peau.



-A-



-B-

Figure 3: La plante *Thapsia garganica*. **A** : Plante dans son environnement, **B** : Parties aérienne et souterraine.

1.2- Souches bactériennes

Les bactéries utilisées dans ce travail sont des souches de références (Tableau 2) fournies par le laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et Biochimie.

Tableau 2 : Bactéries utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

SOUCHE	Gram	Référence
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC22922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC22923

ATCC: American type culture collection.

1.3- Produits Chimiques

Tous les produits chimiques utilisés proviennent de Sigma, Fluka, Biochem et pro lab. Les solvants utilisés proviennent de Sigma-Aldrich, Honeywell et AnalaR NORMAPUR.

2- Méthodes

2.1- Méthodes d'extraction

Afin d'extraire les molécules actives de la racine de la plante *Thapsia garganica*, nous avons utilisé quatre solvants de polarités différentes : eau distillée, méthanol, acétone et hexane.

2.1.1- Préparation de l'extrait aqueux

Cinquante grammes de la matière végétale (racine) a été macérée dans 500 ml d'eau distillée, le mélange a été agité à 70°C pendant une heure. Le mélange était conservé durant deux jours à température ambiante à l'obscurité avec agitation occasionnelle. Le mélange était ensuite filtré avec du coton puis du papier filtre et après évaporé par un rotavapor pour le débarrasser de l'eau. Enfin, l'extrait a été placé à l'étuve pour séchage et conservé dans des eppendorfs à 4°C jusqu'à utilisation (**Gnanaprakash et al., 2010**).

2.1.2- Préparation des extraits organiques

L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par Siracusa et ses collaborateurs en 2011. 50 g de la poudre des racines de la plante ont été mélangés avec 500 ml d'hexane pendant deux jours, en agitant de temps en temps, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration par du coton et papier filtre, les débris de la racine étaient macérés dans 500 ml d'acétone et de méthanol de la même manière utilisée avec de l'hexane. Tous les extraits ont été évaporés par rotavapor pour éliminer les solvants, puis séchés à l'étuve et conservés à 4°C.

2.1.3- Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydro-distillation par un appareil de type Clevenger. 100 g de poudre des racines de *Thapsia garganica* ont été additionnés à 1 litre d'eau distillée, puis le tout est placé sur une source de chaleur jusqu'à ébullition

pendant 3 heures. L'huile a été ensuite récupérée et stockée à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation (Zuzarte et al., 2011).

2.1.4- Rendement de l'extraction

Le rendement en extraits ou en huile est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante (Himed et al., 2020) :

$$\text{Rendement \%} = (M'/M) \times 100$$

M' : Masse de l'extrait ou de l'HE obtenue en g.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en g.

2.2- Etude phytochimique

Quelques tests simples selon la méthode décrite par Sunil et ses collaborateurs (2012) permettent de vérifier la présence ou l'absence de grandes familles de composés chimiques dans les extraits étudiés.

2.2.1- Les flavonoïdes

Quelques gouttes d'hydroxyde de sodium dilué (NaOH) sont ajoutées à 1 ml de l'extrait à une concentration de 4 mg/ml. L'apparition de la couleur jaune intense puis sa disparition lors de l'ajout de quelques gouttes d'acide dilué est une indication de la présence de flavonoïdes dans l'extrait.

2.2.2- Les tannins

Dans le test de détection des tannins, 1 ml de l'extrait est placé dans un tube à essai à une concentration de 4 mg/ml, auquel sont ajoutées quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃, 0.1 %). La présence de tannins se révèle par la formation d'un précipité d'un précipité noir bleuâtre ou noir verdâtre.

2.2.3- Les quinones

Mettre dans un tube à essai 500 µl de l'extrait à une concentration de 4mg/ml et 500 µl d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄). La présence de quinones est connue lorsque la couleur rouge apparaît.

2.2.4- Les terpénoïdes

Dans ce test, 1 ml de chaque extrait à une concentration de 4 mg/ml est mélangé avec 0,5 ml de chloroforme. Puis 0,75 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) sont ajoutés lentement. La présence de terpénoïdes est confirmée lorsqu'un anneau brun rougeâtre se forme à l'interface.

2.2.5- Les saponines

500 μ l d'extrait (4mg/ml) sont dilués par 3 ml d'eau distillée et agités vigoureusement pendant 15 minutes. La formation d'une couche stable de mousse indique la présence des saponines.

2.3- Dosage de quelques métabolites secondaires**2.3.1- Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par le test de Folin-Ciocalteu (**Li et al., 2007**). Le réactif Folin contient un mélange d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$). Ce réactif est réduit par les antioxydants présents dans les extraits pour donner des oxydes bleus de tungstène et de molybdène dont l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre.

Un millilitre de Folin-Ciocalteu à 10% de concentration est ajouté à 200 μ l de l'extrait (2 mg/ml) ou de DMSO, après, on agite et on incube pendant 4 minutes. On ajoute ensuite 800 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75 g/l. Après incubation durant 2 h à l'obscurité, l'absorption est mesurée à 765 nm.

La courbe ci-dessous (Figure 4) représente la courbe d'étalonnage de l'acide gallique préparé dans du méthanol à 4 concentrations (10, 20, 40 et 80 μ g/ml). Les concentrations de polyphénols dans les extraits sont calculées et exprimées en μ g d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait sec (μ g EAG/mg E).

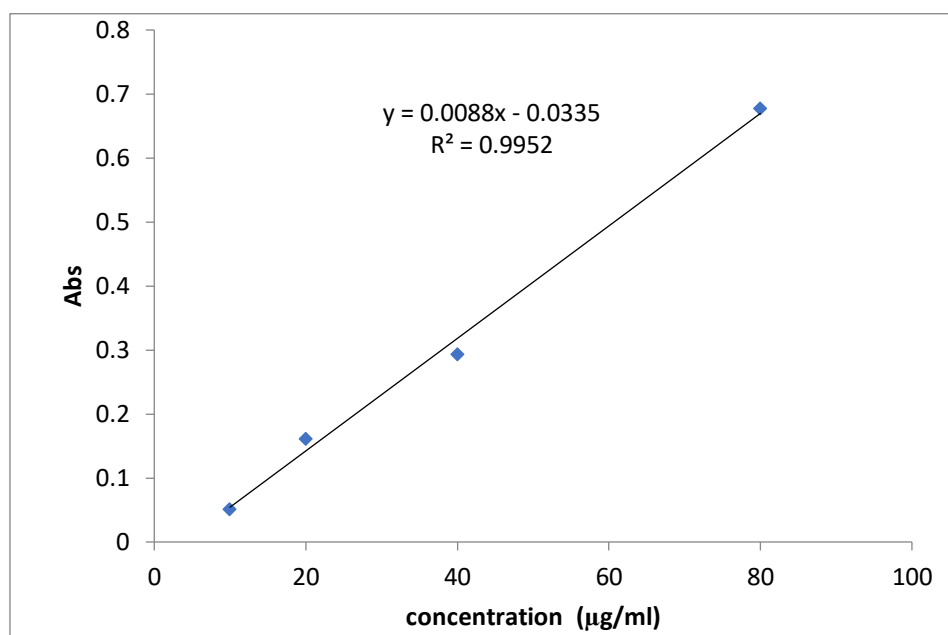


Figure 4: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque point représente la moyenne de trois répétitions.

2.3.2- Dosage des flavonoïdes

La méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) a été utilisée pour déterminer la teneur des extraits en flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**). Le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène des flavonoïdes ce qui forme des complexes jaunâtres.

On prend 1ml d'extrait de plante (2 mg/ml) dissous dans du DMSO puis on le mélange avec 1 ml d' AlCl_3 (2%), après 10 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430nm. Par contre, le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 1 ml de DMSO puis en déduisant les concentrations en flavonoïdes à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 5) qui a été établie avec la quercétine à différentes concentrations (5, 10, 20 et 40 µg/ml), puis exprimer les résultats en µg d'équivalents de quercétine par mg d'extrait sec (µg EQ/mg E).

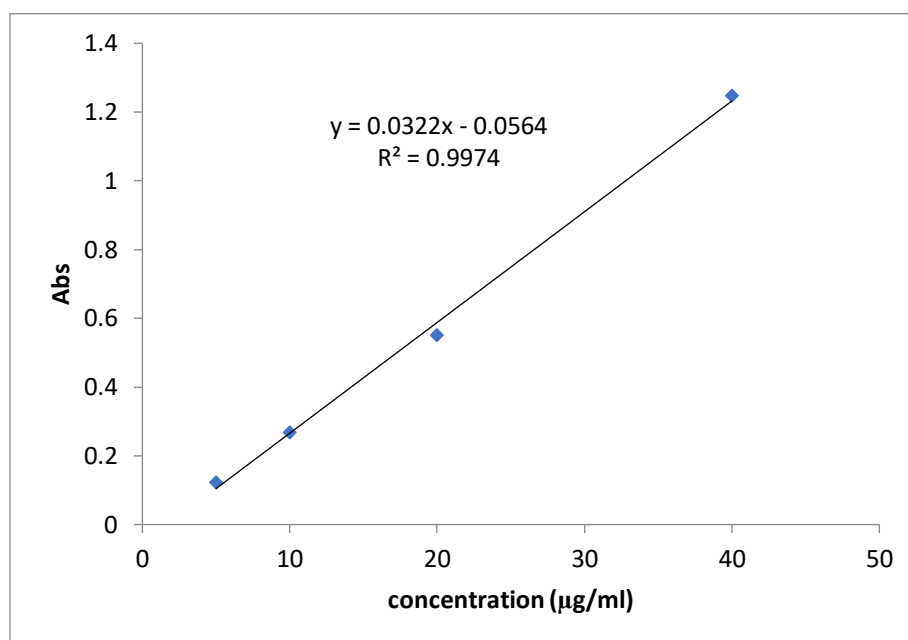


Figure 5: Courbe d'étalonnage de la quercétine.
Chaque point représente la moyenne de trois répétitions.

2.3.3- Détermination de la teneur totale en tannins

La teneur totale en tannins a été déterminée à l'aide de la méthode décrite par Prasanth et ses collaborateurs en 2017. 350 µl de chaque extrait dissous dans du DMSO à une concentration de 2 mg/ml ont été ajoutés à 1,5 ml de Folin-Ciocalteu (10 %). Après agitation, on ajoute 1,5 ml de Na₂CO₃ (7.5%). Après 45 minutes d'incubation à 45° à l'obscurité, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 765nm. Par contre, le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 350 µl de DMSO. Une courbe d'étalonnage (Figure 6) est réalisée par l'acide tannique à différentes concentrations (37.5, 75, 150 et 300 µg/ml). Les résultats sont exprimés en µg d'équivalents d'acide tannique par mg d'extrait sec (µg EAT/mg E).

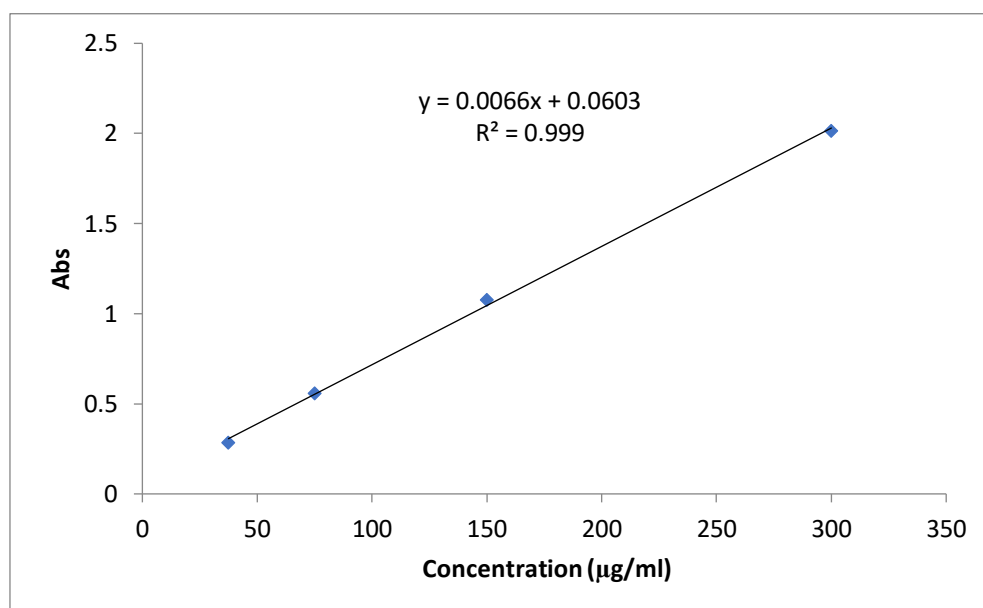


Figure 6: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique. Chaque point représente la moyenne de trois répétitions.

2.4- Etude de l'activité antioxydante des extraits de la plante

L'activité antioxydante des extraits de la plante *Thapsia garganica* est évaluée par deux méthodes différentes :

2.4.1- Pouvoir réducteur de fer (FRAP ou Ferric Reducing Antioxydant Power)

Ce test est réalisé selon la méthode décrite par (Maruthamuthu et Kandasamy, 2016).

2.4.1.1- Préparation du tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6)

On dissout 4 g de chlorure de sodium (NaCl), 0,1 g de chlorure de potassium (KCl), 0,72 g d'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4), 0,12 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) dans 300 ml d'eau distillée et on ajuste le pH à 6.6 en utilisant de l'acide chlorhydrique, puis le volume est complété jusqu'à 500 ml avec de l'eau distillée.

2.4.1.2- Réalisation du test

On ajoute 500 µl de chaque extrait dissous dans du DMSO à différentes concentrations à 1250 µl de tampon phosphate préalablement préparé et 1250 µl d'hexacyanoferrate de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%). Après incubation durant 20 minutes à 50°C, 1250 µl de l'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés et le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Puis, on prélève 1250 µl du surnageant dans un autre tube en verre et on ajoute 1250 µl d'eau distillée et 250 µl de chlorure de fer (FeCl_3 à 0,1%). Après une deuxième

incubation pendant 10 minutes, l'absorption est mesurée à 700 nm. L'absorbance étant proportionnelle à l'activité antioxydante des extraits. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations et chaque essai est répété trois fois.

2.4.2- Test de β - carotène/acide linoléique

Dans ce test, la capacité antioxydante des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition des peroxydes issus de l'oxydation de l'acide linoléique. L'essai est réalisé selon la méthode décrite par Dapkevicius et ses collaborateurs en 1998.

0,5 mg de β -carotène est dissout dans 1 ml de chloroforme, puis on ajoute à cette solution 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme par rotavapor à 40 °C, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont additionnées et l'ensemble est agité vigoureusement. De cette nouvelle préparation, 2.5 ml ont été transférés dans des tubes à essai et 350 μ l des extraits ont été ajoutés à une concentration de 3 mg/ml. L'extrait a été remplacé par une solution d'antioxydant standard (BHT) dans le témoin positif, tandis qu'il a été remplacé par du DMSO dans le témoin négatif. Chaque test a été répété trois fois. Enfin, l'absorbance des solutions a été mesurée à 490 nm au temps 0,1, 2, 3, 4, 24 et 48 heures après incubation à l'abri de la lumière. Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = (At / At_0) * 100$$

At: absorbance au temps (t).

At₀: absorbance initiale.

2.5- Evaluation de l'activité antibactérienne

2.5.1- Préparation de l'inoculum

Les bactéries ont été activées dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures puis ensemencées en stries sur une boîte de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) pour leur croissance pendant environ 24 heures à 37°C. Ensuite on prélève une colonie de chaque bactérie activée et on la met dans un tube en verre contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0,5 McFarland qui correspond à une densité optique de 0,08-0,12 pour atteindre une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/ml (**Khribch et al., 2018**).

2.5.2- Méthode des puits de diffusion

La gélose Mueller-Hinton (MHA) a été coulée dans des boîtes de Pétri etensemencée par écouvillonnage avec les suspensions bactériennes préalablement préparées. Des puits de 7 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose pour déposer 30 µl des extraits préparés dans le DMSO à une concentration de 200 mg/ml. Après une période de conservation d'une heure à 4°C, les boites ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures. Les extraits ont été remplacés par du DMSO dans le contrôle négatif et de la gentamicine (10 µg/disque) dans le contrôle positif. Après incubation, la lecture des résultats se fait en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des puits. Les souches sont considérées non sensibles (-) pour des zones d'inhibition de 8 mm, sensibles (+) pour des diamètres de 9 à 14 mm, très sensibles (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensibles (+++) pour les diamètres supérieurs à 20mm.

2.5.3- Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)

La gélose Mueller-Hinton (MHA) a été coulée dans des boîtes de Pétri etensemencée par écouvillonnage avec les suspensions bactériennes préparées comme ci-dessus. 10 µl de l'huile essentielle pure de *T. garganica* ont été déposés sur des disques de papier Whatman stériles. Après une période de conservation d'une heure à 4°C, les boites ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm. Pour le témoin négatif, l'huile essentielle a été remplacée par le DMSO.

2.6- Etude statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne de trois répétitions ± SD. La signification statistique entre le contrôle positif et les échantillons est déterminée par le test ANOVA-One way et les différences sont considérées significatives au seuil de 5% ($p < 0.05$). Les courbes et les histogrammes ont été réalisés à l'aide de programme Microsoft Excel 2007, et les analyses statistiques ont été effectués par le logiciel GraphPad Prism 7.04.

Chapitre 3

Résultats et discussion

1. Extraction

La préparation des extraits par macération à partir des racines de *Thapsia garganica* a abouti à l'obtention de quatre extraits différents : l'extrait aqueux, méthanolique, acétonique et hexanique. L'huile essentielle des racines a été obtenue par hydrodistillation. Les rendements des différentes extractions sont exprimés en pourcentage de la masse de l'extrait ou de l'huile par rapport à la masse de la poudre végétale utilisée, les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Rendements des extractions aqueuse, organiques et de l'huile essentielle de *Thapsia garganica*

Extrait	Rendement (%)
Aqueux	29,5
Méthanol	03,6
Acétone	01.0
Hexane	00,8
Huile essentielle	00.4

Selon le tableau ci-dessus, le rendement le plus élevé est obtenu dans l'extrait aqueux (29,5%), suivi de l'extrait méthanoïque (3,6%), puis l'extrait acétonique (1%) et enfin l'extrait hexanique (0,8%). On remarque que le rendement d'extraction par macération augmente avec la polarité du solvant utilisé.

L'utilisation de plusieurs solvants dans l'extraction par macération vise à l'obtention de maximum des molécules actives des plantes. Les extraits aqueux contiennent en général des flavonoïdes polaires et hautement polaires (di-, tri- et tétra-glycosylés) l'hexane peut généralement extraire les lipides et les flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés (**Boussoualin, 2014**). Le méthanol joue un rôle majeur dans l'extraction de flavonoïdes, de terpènes et d'acides aminés (**Andersen et markhum, 2006**). De plus, l'acétone est l'un des solvants les plus courants dans la préparation d'extraits riches en flavonoïdes (**cowan, 1999**).

L'huile essentielle (HE) obtenue des racines était de couleur bleue, avec une forte odeur aromatique. Dans une étude décrite par Hachem et ses collaborateurs en 2017, le rendement d'extraction de l'HE à partir de l'écorce des racines a été égal à 0.03%. Dans une autre étude sur une autre espèce du même genre, *T. trantagana*, les rendements

d'extraction des huiles essentielles obtenues à partir des feuilles et des racines de cette plante étaient de 0.7% et 1%, respectivement (Alilou et al., 2021).

2. Etude phytochimique

Les résultats des divers tests phytochimiques effectués sur les extraits sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Résultats du *Screening* phytochimique des extraits de *Thapsia garganica*.

	Aqueux	Méthanol	Acétone	Hexane
Flavonoïdes	+	+	+	+
Tannins	+	+	+	-
Quinones	+	+	+	+
Terpénoïdes	-	+	+	-
Saponines	-	-	-	-

(+) : présence, (-) : absence.

Selon les résultats présentés dans le tableau 4, les flavonoïdes et les quinones sont présents dans tous les extraits, les tannins sont absents dans l'extrait d'hexane uniquement. Les saponines sont absents dans les quatre extraits et les terpénoïdes sont présents seulement dans les extraits de méthanol et d'acétone.

Une étude réalisée par Alghazeer et al. (2012) a confirmé la présence des flavonoïdes, tannins, terpènes, saponines, alcaloïdes, coumarines et anthraquinones dans les feuilles de *T. garganica*.

3. Dosage des composés phénoliques de la plante

Les résultats des différents dosages effectués pour les quatre extraits de *T. garganica* sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tannins totaux des extraits de *Thapsia garganica*.

Extrait	Teneur en polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg E}$)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg E}$)	Teneur en tannins ($\mu\text{g EAT/mg E}$)
Aqueux	16,937 \pm 1,813	4,942 \pm 0,924	30,916 \pm 1,307
Méthanol	14,916 \pm 1,916	1,479 \pm 0,059	20,472 \pm 1,419
Acétone	39,489 \pm 0,044	17,27 \pm 0,419	83,888 \pm 2,911
Hexane	25,375 \pm 1,335	16,26 \pm 0,290	24,083 \pm 1,929

EAG : équivalent d'acide gallique, **EQ** : équivalent de quercétine, **EAT**: équivalent d'acide tannique ; **E** : extrait

D'après le tableau ci-dessus, l'extrait d'acétone est le plus riche en polyphénols (39,48 $\mu\text{g EAG/mg E}$), suivi de l'extrait d'hexane avec une teneur de 25,37 $\mu\text{g EAG/mg E}$, puis l'extrait aqueux (16,93 $\mu\text{g EAG/mg E}$) et enfin, l'extrait de méthanol qui est le plus pauvre en polyphénols à une concentration de 14,91 $\mu\text{g EAG/mg E}$.

En ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait d'acétone semble contenir la plus grande quantité (17,27 $\mu\text{g EQ/mg E}$), suivi de l'extrait d'hexane (16,26 $\mu\text{g EQ/mg E}$) qui ont donné des valeurs très proches. Les extraits aqueux et méthanoliques sont plus pauvres en flavonoïdes par rapports aux extraits préparés par les solvants apolaires (4,94 et 1,47 $\mu\text{g EQ/mg E}$, respectivement).

Dans le dosage des tannins totaux, l'extrait acétonique contenait aussi la teneur la plus élevée (83,53 $\mu\text{g EAT/mg E}$), suivi de l'extrait aqueux (30,91 $\mu\text{g EAT/mg E}$), puis les extraits d'hexane et de méthanol qui ont donné des valeurs proches (24,08 et 20,47 $\mu\text{g EAT/mg E}$, respectivement).

D'après l'étude de Nebeg et *al.* (2019), les extraits préparés à partir des feuilles, graines et racines de *T. garganica*, ont montré de petites teneurs en polyphénols et en flavonoïdes ; les plus grandes concentrations ont été trouvées dans les graines (2,9 mg EAG/g E et 1,53 mg EQ/g E). On note que les extraits dans notre étude sont plus riches en composés phénoliques.

Selon l'étude réalisée par Athmouni et *al.* (2015) sur les feuilles de *Thapsia garganica*, l'extrait d'acétate d'éthyle était le plus riche en polyphénols (11,72 mg EAG/g E). Le

même extrait a montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes (3.45 mg EQ/g E) et en tannins condensés (4.73 équivalent de catéchine/g E).

4. Activité antioxydante des extraits aqueux et organiques de *T. garganica*

4.1. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité antioxydante des extraits de la plante a été évaluée par la méthode de FRAP. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 7 et 8.

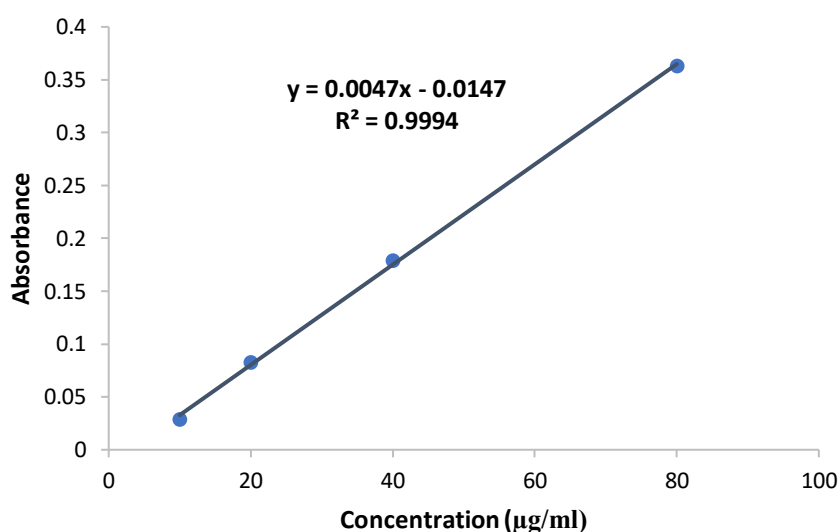


Figure 7 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.
Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions.

La méthode de FRAP est un essai reproductible qui mesure la capacité des antioxydants à réduire les ions fer en donnant un électron lors de la conversion du fer de Fe^{+3} en Fe^{+2} . A partir de cette conversion, la couleur passe du jaune au vert ou au bleu pâle, puis cette conversion de couleur est suivie à 700 nm par un spectrophotomètre (Chung et al., 2002).

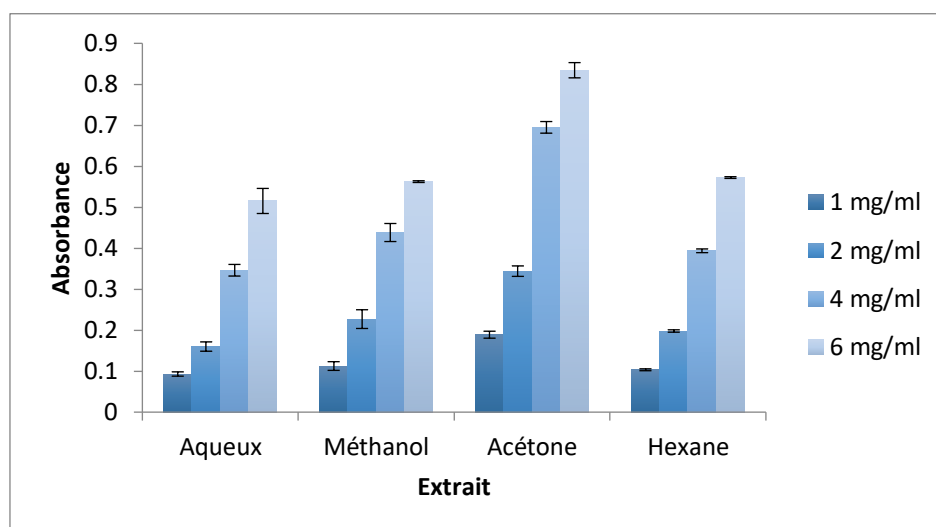


Figure 8 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Thapsia garganica* par la méthode FRAP. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions \pm écart type ($M \pm SD$).

Les résultats obtenus à partir de cette étude ont montré que tous les extraits de la plante représentent la capacité de réduction de fer, et cette capacité augmente avec la concentration de l'extrait. On a utilisé l'acide ascorbique comme contrôle positif, qui a donné la meilleure activité ($A = 0.36$ à une concentration de $80 \mu\text{g/ml}$).

Concernant les extraits étudiés, l'extrait d'acétone qui est le plus riche en composés phénoliques a montré la meilleure capacité réductrice ($A = 0,83$) par rapport aux autres extraits à une concentration de 6 mg/ml , suivi de l'extrait hexanique et méthanologique avec des valeurs très proches ($0,59$ et 0.56 , respectivement) et enfin de l'extrait aqueux ($A=0,51$) qui a montré la plus faible capacité de réduction.

Selon une étude menée par Alghazeer et *al.* (2012) sur l'extrait des feuilles de *Thapsia garganica*, qui a donné une capacité réductrice de $A = 0.78$ à une concentration de 1 mg/ml Dans une autre étude effectuée par Athmouni et *al.* (2015) sur les extraits des feuille de cette plante, dans laquelle le pouvoir réducteur a le plus important a été obtenu par l'extrait d'acétate d'éthyle ($A = 0.87$ à une concentration de 0.4 mg/ml), suivi de l'extrait d'hexane ($A = 0.83$ pour la même concentration).

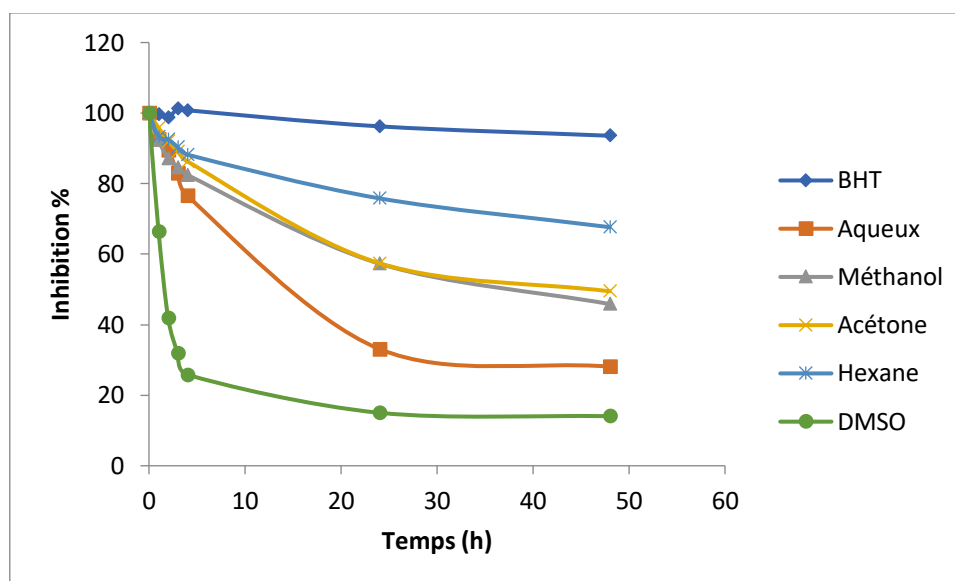
4.2. Test de β -carotène/acide linoléique

Le pouvoir antioxydant des extraits de la plante a été aussi évalué par le test de blanchissement de β -carotène. Cet essai mesure l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique liée à l'oxydation du β -carotène par les extraits, ce qui forme un modèle mimant la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques. L'inhibition est évaluée en suivant la diminution de l'absorption causée par la décoloration de β -carotène au cours du temps. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorption initiale (Figure 9).

D'après les résultats obtenus, on peut constater que la meilleure activité antioxydante a été obtenue par l'extrait d'hexane avec un pourcentage d'inhibition de 75.82%, suivi des extraits acétonique et méthanolique avec des valeurs très proches (57.43 et 57.30%, respectivement). Enfin, l'activité la plus faible a été obtenue par l'extrait aqueux (33.11%). On remarque que l'activité est inversement proportionnelle à la polarité des extraits, vu que la polarité et l'hydrophobicité peuvent être considérés comme des facteurs antioxydants dans ce test où le milieu réactionnel est une émulsion.

Selon une étude réalisée par Bouimeja et *al.* (2018), l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles de *T. garganica* a été mesurée par le test de blanchissement de β -carotène où il a donné une IC_{50} de 123.55 μ g/ml.

(A)



(B)

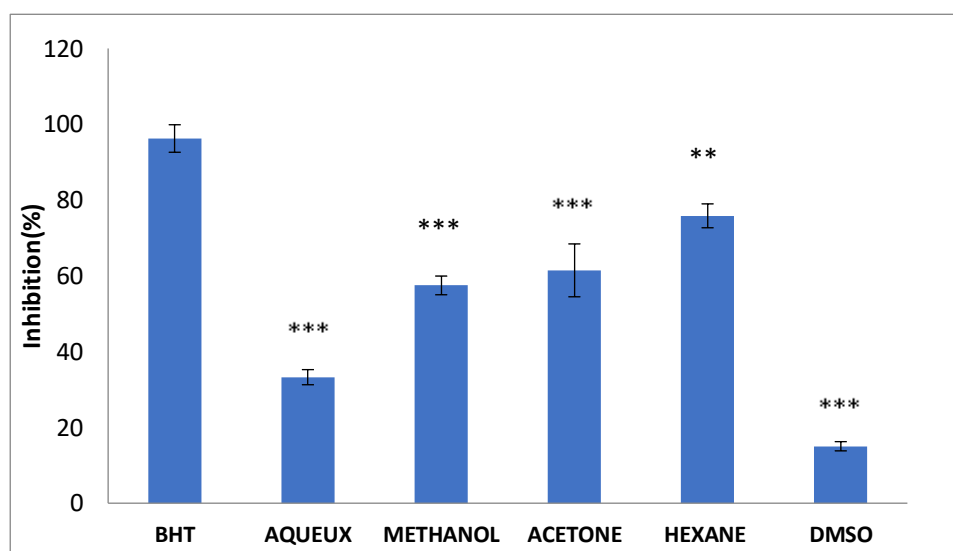


Figure 9 : (A). Activité antioxydant des extraits aqueux et organiques de *Thapsia garganica* par rapport aux témoins (BHT et DMSO) par le test du β -carotène/acide linoléique durant 48h. (B). Pourcentages d’inhibition des extraits aqueux et organiques et des témoins (BHT et DMSO) par le test du β -carotène/acide linoléique après 24h. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions \pm écart type (M \pm SD). Comparaison par rapport au BHT, (p<0.01) **, (p<0.001) ***.

5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de *T. garganica*

Nous avons étudié le pouvoir antibactérien de *Thapsia garganica* en appliquant deux méthodes sur le milieu MHA. L'effet de l'huile essentielle (HE) est testé par la méthode de disques de diffusion (aromatogramme), alors que celui des extraits a été évalué par la méthode de diffusion en puits. L'activité antibactérienne a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits et des disques contenant les extraits à tester contre les souches bactériennes. Les résultats obtenus sont présentés la figure 10.

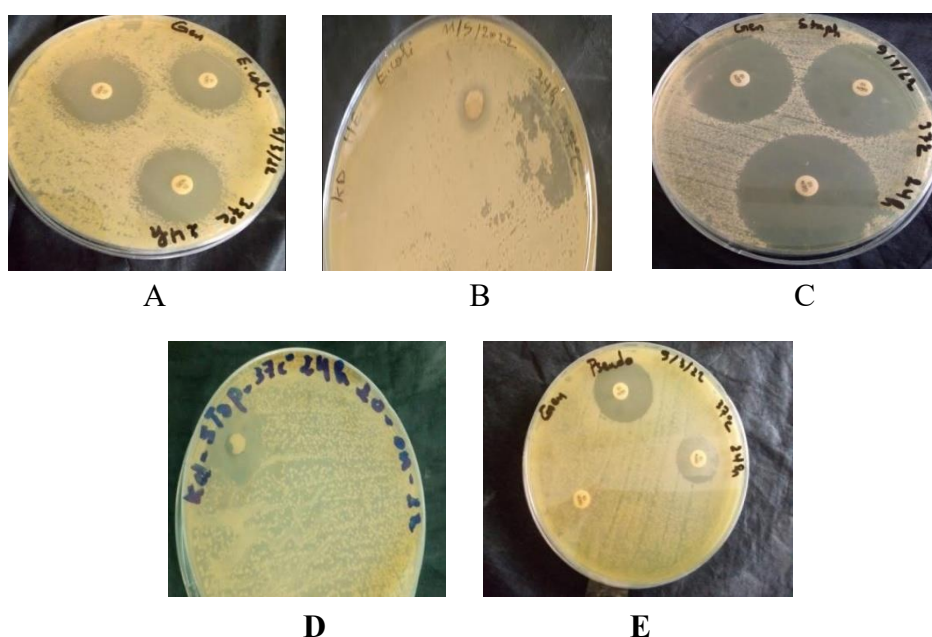


Figure 10 : Activité antibactérienne de l'HE de *T. garganica* vis-à-vis d'*E. coli* (B), *S. aureus* (D) et de la gentamicine vis-à-vis d'*E. coli* (A), *S. aureus* (C) et *P. aeruginosa* (E).

Selon les résultats obtenus, tous les extraits de la plante n'ont montré aucun effet contre les souches testées à une concentration maximale de 200 mg/ml. Par contre, l'huile essentielle pure obtenue à partir des racines de la plante a montré une activité contre les deux souches *E. coli* et *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 15 et 20 mm, respectivement ; ces souches sont donc très sensibles à l'HE de la plante.

L'antibiotique utilisé comme témoin positif pour évaluer l'activité antibactérienne est la gentamicine (10 µg/disque) et appartient à la famille des aminosides qui ont un large spectre d'activité à la fois contre les bactéries Gram positif et Gram négatif (Nauciel et Vildé, 2005).

Toutes les bactéries testées ont été extrêmement sensibles à la gentamicine, avec des zones d'inhibition allant de 20.5 à 35.33 mm. Les résultats ont montré que le DMSO n'a montré aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes.

Selon les résultats obtenus par Alghazeer et ses collaborateurs (2012), les extraits des feuilles de *T. garganica* ont montré une activité contre des bactéries de Gram positif et de Gram négatif, avec des zones d'inhibition allant de 8 à 18 mm. Une autre étude effectuée par Sidhoum Djaffer et *al.* (2012), a montré que l'effet antibactérien de l'extrait d'acétone à partir des feuilles de la plante était plus actif que la fraction acétonique des racines, avec des zones d'inhibition allant de 6 à 32mm. En plus, l'extrait méthanolique des racines n'a montré aucun effet sur les mêmes souches utilisées dans notre étude comme confirmé par Aici et Benmehdi (2021).

Conclusion
Et perspectives

Les plantes médicinales continuent toujours d'être la provenance idéale des principes actifs, ce qui explique leur exploitation accrue en industrie pharmaceutique. Les polyphénols sont les composés végétaux les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours. Dans notre travail, on a évalué les activités antioxydantes et antibactériennes de la plante *Thapsia garganica*.

L'étude phytochimique de cette plante a montré la présence des flavonoïdes, tannins, quinones et terpénoïdes dans les extraits de la plante. L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé la présence de la quantité la plus élevée de ces métabolites dans l'extrait acétonique. La fraction acétonique était aussi la plus riche en flavonoïdes et en tannins.

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que la meilleure capacité réductrice de fer est présentée par l'extrait acétonique. Le pouvoir antioxydant évalué par le test de β -Carotène/acide linoléique a montré que l'extrait d'hexane avait le pourcentage d'inhibition le plus important.

Les résultats des tests antimicrobiens in vitro, en utilisation la méthode des puits de diffusion, ont montré que les extraits n'ont pas un effet inhibiteur sur les souches testées. Quant à l'huile essentielle, des zones d'inhibition de 20 et 15 mm ont été obtenues vis-à-vis de *Staphylocoques aureus* et *E.coli*, respectivement.

Comme perspectives, on propose d'autres études complémentaires pour identifier les composés phytochimiques, précisément les molécules impliquées dans l'effet antioxydant et antibactérien et évaluer les autres activités biologiques probables de cette plante.

Références

- **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N.,(2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78, 189-.199
- **Aici, D., & Benmehdi, H. (2021).** Phytochemical Content, Antioxidant and Antimicrobial Effects of *Thapsia garganica* L. Leaves and Roots Grown Wild in Northwest Algeria. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(5), 519-526.
- **Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., Godbout, S., & Valero, J. R. (2011).** Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(3), 227-249
- **Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N., Al-Najjar, A., & Hebail, F. (2012).** Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural science*, 4(5), 324-335.
- **Alilou, H., & Akssira, M. (2021).** Chemical composition, antibacterial, antioxidant and insecticidal activities of moroccan *Thapsia transtagana* essential oil. *Saudi journal of biological sciences*, 28(12), 6756-6764.
- **Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., Jamoussi, B., & Lebdi, K. (2014).** Essential oils as biological alternatives to protect date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (*Lepidoptera*: *Pyralidae*). *Chilean journal of agricultural research*, 74(3), 273-279
- **Andersen OM., Markham KR., (2006).** Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. CRC Press, Taylor & Francis Group. USA. P. 2.
- **Andrews, S. P., Ball, M., Wierschem, F., Cleator, E., Oliver, S., Högenauer, K & Ley, S. V. (2007).** Total Synthesis of Five *Thapsigargins*: Guaianolide Natural Products Exhibiting Sub-Nanomolar SERCA Inhibition. *Chemistry–A European Journal*, 13(20), 5688-5712.
- **Athmouni, K., Belghith, T., Bellassouad, K., & EL, A. (2015).** Effect of solvent polarity on the content of biomolecules and antioxidant activity of *Thapsia garganica* (*Apiaceae*). *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3), 194-208.
- **Avato, P., & Rosito, I. (2002).** Essential Oils from the Roots of *Thapsia garganica* L. *Journal of Essential Oil Research*, 14(1), 20-22.

- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*, 46(11), 1086-1089.
- **Berger M.M., (2006).** Manipulation nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *nutrition clinique et métabolisme*, 20 :48-53.
- **Bouderdara, N. (2013).** Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L.
- **Boudjemaa, N., Ben Guegua, H., 2010:** L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Mémoire de fin d'études. Université d'Ouargla. p. 2.
- **Bouimeja, B., El Hidan, M. A., Touloun, O., Laaradia, M. A., Dra, L. A., El Khoudri, N., ... & Boumezzough, A. (2018).** Anti-scorpion venom activity of *Thapsia garganica* methanolic extract: Histopathological and biochemical evidences. *Journal of ethnopharmacology*, 211, 340-347.
- **Boussoualim N., 2014 :** Activités biologiques de plantes médicinales: *Anchusa azurea* L. et *Globularia alypum* L, 50
- **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- **Calixto J. B., 2005:** Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. *Journal of Ethnopharmacology* 100, 131 – 134.
- **Chibani, S., Al-Dabbas, M., Abuhamdah, S., Aburjai, T., Bencheraiet, R., Kabouche, A., ... & Kabouche, Z. (2014).** Flavonoids and antioxidant activity of *Thapsia garganica* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(2), 357-359.
- **Christensen S.B, Andersen A, Smitt, U.W. (1997).** Sesquiterpene Lactones from *Thapsia* species and medicinal chemistry of Thapsigargin. *Fortschritte de chemie organischer naturstoffe/ progress In the Chemistry of Organic Natural Products.* pp 243-252
- **Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., et Chou, S. T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean

- **Cowan M. M., 1999:** Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12 (4), 564 – 582.
- **Diallo, A., (2005)** . Etude de la pytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* willd.(Myrtaceae). Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, spécialité : Pharmacie, Université d'Odonto-Stomatologie de Bamako, Mali. P100.
- **Djerroumi, A., & Nacef, M. (2013).** *100 Plantes médicinales d'Algérie*. Ed. Houma.
- **Favier, A., (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 :390-396.
fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2454-2458
- **Gazim, Z. C., Rodrigues, F., Amorin, A. C. L., Rezende, C. M. D., Soković, M., Tešević, V., ... & Cortez, D. A. G. (2014).** New natural diterpene-type abietane from *Tetradenia riparia* essential oil with cytotoxic and antioxidant activities. *Molecules*, 19(1), 514-524.
- **Gnanaprakash K., Madhusudhana Chetty C., Ramkanth S., alagusundaram M., Tiruvengadarajan V.S., Angala Parameswari S. & Mohamed Saleem T.S., 2010 :** Aqueous extract of *Flacourtia indica* prevents Carbon Tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *International Journal of Biological and Life Sciences* 6 (1), 51-55.
- **Gomez, F. L. M. (2007).** *Síntesis de análogos de las taspigargas* (Doctoral dissertation, Universidad de Cádiz).
- **Guezel, p., & Santa, s. (1963).** *Nouvelle Flore de l'algerie ET de s regions destriques meridionales* (no.581.965 Q8).
- **Guillouty, A. (2016)** Plantes médicinales et antioxydants. [En ligne]. Université Toulouse Iii Paul Sabatier.p32. Disponible sur <http://thesesante.upstlse.fr/1635/1/2016TOU32103.pdf>
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38
- **Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999).** (Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press;

- **Hassen, I., M'Rabet, Y., Belgacem, C., Kesraoui, O., Casabianca, H., & Hosni, K. (2015).** Chemodiversity of volatile oils in *Thapsia garganica* L. (*Apiaceae*). *Chemistry & Biodiversity*, 12(4), 637-651.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- **Himed, L., Merniz, S., Benbraham, M., Boudjouada, E., & Barkat, M. (2020).** Preservation du concentré de tomate par un agent antifongique (Huile essentielle du citron). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 20(2), 15608-15618.
- **KHRIBCH, J., NASSIK, S., EL HOUADFI, M., ZRIRA, S., & OUKESSOU, M. (2018).** Activité Antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine Aviaire. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6(3), 300-307.
- **Ladjet S., Zellagui A. & Gherraf N., (2011).** Reinvestigation of essential oil content of *thapsiagarganica* grown in the east of Algeria. *Revue des sciences fondamentales et appliquées*. 3 (2): 30-34
- **Lahlou, M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.
- **Lakhdar djarri., (2011).** contribution a l'étude des huiles essentielles et des métabolites Secondaires de trois plantes algériennes de la famille des apiaceae. thèse de doctorat. Chimie Organique .Université mentouride. Constantine.
- **Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- **Macé, F. (2012).** Approche efficace des *thapsigargines* (guaianolides) et synthèse d'azulènes rouges via un intermédiaire commun de type bicyclo [5.3. 0] décane (Doctoral dissertation, Grenoble).

- **Makkar, H. P., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007).** *Plant secondary metabolites* (vol.393pp. 1-122). Totowa, NJ, USA:: Humana Press.
- **Martin S. & Andriantsitohaina, R. (2002, December).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51: 304-315.Elsevier Masson
- **Maruthamuthu Vijayalakshmi & Kandasamy Ruckmani., 2016 :** Ferric reducing anti-oxidant Power assay in plant extract. *Bangladesh J Pharmacol*.
- **Melila M., Poutouli W., Amouzou K.S., Tchangbedji G., Tchaou M., Doh A. & Goto C. (2012).** Induction du stress oxydatif chez l'homme suite à la bioconcentration des éléments Traces métallique (cadmium et plomb) par voie trophique à kpémé (sud du togo). *Int. j. biol. chem. Sci.* 6: 1263-1270.
- **Merad R., & Hammiche, V. (1992).** The inventory of toxic plants of Algeria. *Recent advances in toxinology research* 3, 7–11.
- **Migdal C., & Serres M., (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med/ Sci.* 27 (4): 405-412.
- **Mohammadi, N., Mohammadi, S., Abdossi, V., & Akbar-Boojar, M. A. (2012).** Effect of UV-C radiation on antioxidant enzymes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa). *J Agric Biol Sci*, 7(10), 860-864.
- **Muylaert, A, & Mainil, J. (2012).**Résistance bactériennes aux antibiotique, les mécanismes et leur 'contagiosité'. In *Annales de médecine vétérinaire* (vol.pp.109-123). ULg-université de Liège.*Nigeria: Spectrum Books*
- **Nauciel Charles et Louis Vildé Jean, (2005).** Livre de Bactériologie médicale *Staphylo-Coccus aureus*. 2èmeEd. Masson, Paris. P: 5, 10, 77,141.
- **Nebeg, H., Benarous, K., Serseg, T., Lazreg, A., Hassani, H., & Yousfi, M. (2019).** Seeds, leaves and roots of *Thapsia garganica* as a source of new potent lipases inhibitors: in vitro and in silico studies. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 19(5), 683-696.
- **Nelson M.N. & Stolz B.M. 2007.** Progress toward the Synthesis of the Basiliolides andTranstaganolides: An Intramolecular Pyrone Diels-Alder Entry into a Novel Class of Natural Products. *Organic Letters*. 3-7.

- **Prasanth D. S. N. B. K., Atla S.R. & Rajendra P.Y., 2017** : phytochemical, in vitro antioxidant and antibacterial activities of *argyreia pilosa* wight & arn. (whole plant), Journal of Pharmacognosy ·
- **Pujadas-Salvà, Antonio J. Et Plaza-Arregui, Laura.(2003)**. Studies on *Thapsia* (*Apiaceae*)-From north-western Africa: a forgotten and a new species. Botanical journal of the Linnean Society, vol. 143, no 4, p. 433-442.
- **Rached w ., (2009)**. évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimiques. *Thèse de Doctorat. biochimie végétale appliquée .université d'oran Es-sénia* .
- **Reduron, J. P. (2020)**. TAXONOMY, ORIGIN AND IMPORTANCE. *Carrots and Related Apiaceae Crops*, 33, 1.
- **Rira, M. (2019)**.les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la producton du methane entérique par les ruminants en milieu tropical (doctoral dissertation, université Clermont auvergne).Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat d'état. *La faculté de pharmacie*. Université Secondaires de trois plantes algériennes de la famille des apiaceae.thèse de doctorat. Chimie Organique .Université mentouride. Constantine.
- **Sidhoum Djaffer, A., Yasmina, H., Malia, T., Karima, S., & Fatiha, B. (2012)**. Study of the antibacterial activity of acetone extracts of *Thapsia garganica* L. growing wild in Algeria. In *Microbes In Applied Research: Current Advances and Challenges* (pp. 575-577).
- **Siracusa L., Saija A., Cristani M., Cimino F., Manuela D'Arrigo., Domenico T., Felice R., & Giuseppe R., 2011** : Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves Characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity.
- **Srikrishna A., & Anebousely K. (2009)**. Enantiospecific total synthesis of ent-10, 11- thapsane 10-ol.
- **Sunil H. G., Shweta P. D. &Patil S. U., 2012** : Preliminary Phytochemicals Investigation and TLC Analysis of *Ficus racemosa* Leaves. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.
- **Vandal, J., Léo G, L, Garry ferroni, G& Abou-zaid, M(2015)**.activité antimicrobienne de produits naturels originaires du nord de l'ontario.

- **Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.
- **Youssef, M.A.(2006).** Aït. Plantes médicinales de Kabylie. Ibis Press,. P 313-316
- **Zuzarte, M., Gonçalves, M.-J., Cavaleiro, C., Canhoto, J., Vale-Silva, L., Silva, M.-J., Pinto, I., Salgueiro, L., (2011).** Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Hér. *Journal of Medical Microbiology*, 60 (5) : 612–618.

19-22 MAY, 2022

Biological Activities of Extracts and Essential Oil of *Thapsia garganica* Roots Collected From The Region of M'sila in North-East Algeria**Khadija DEHIMI^{1,2}, Mounira MERGHEM², Hedda DJERARDA¹, Ghania BOUSSADIA¹, Sarra BOUAFIA¹**¹*Department of Microbiology and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of M'sila, Algeria.*²*Laboratory of Phytotherapy applied to chronic diseases, University of Setif 1, Algeria.*
khadija.dehimi@univ-msila.dz**ABSTRACT**

Thapsia garganica (Apiaceae) is an endemic herbal medicine growing spontaneously in the Mediterranean area, known in Algeria as «Derias or «Bounafaa». It is used in traditional medicine as diuretic, emetic and purgative, but especially as an anti-inflammatory agent in the treatment of rheumatism. In the present study, phenolic profile, antioxidant and antibacterial activities of extracts (hexane, acetone, methanol and aqueous) and essential oil from *T. garganica* are evaluated. Among studied extracts, acetone fraction was the most rich in polyphenols (35.93 µg GAE/mg extract), in flavonoids (17.65 µg QE/mg E) and in tannins (73.02 µg TAE/mg E). In the FRAP assay, the same extract (acetone) showed the best capacity to reduce iron with a maximal absorbance value of A = 0.83 at a concentration of 6 mg/ml. Interestingly in the β-carotene / linoleic acid test, the highest percentage inhibition was obtained by hexane extract (75.82 % after 24h of incubation). Antibacterial activity of the studied plant was evaluated using Agar well and Agar disc diffusion methods. The highest inhibition zones were obtained by the plant essential oil against *S. aureus* and *E.coli*.

Key words: *Thapsia garganica*, polyphenols, essential oil, antioxidant, antibacterial.

REFERENCES

- Sidhoum Djaffer, A., Yasmina, H., Malia, T., Karima, S., & Fatiha, B. (2012). Study of the antibacterial activity of acetone extracts of *Thapsia garganica* L. growing wild in Algeria. In *Microbes In Applied Research: Current Advances and Challenges* (pp. 575-577).
- Athmouni, K., Belghith, T., Bellassouad, K., & EL, A. (2015). Effect of solvent polarity on the content of biomolecules and antioxidant activity of *Thapsia garganica* (Apiaceae). *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3), 194-208.

CERTIFICATE OF ATTENDANCE

This certificate is proudly presented to

Khadidja DEHIMI

We would like to thank you for your valuable contributions
as a participant with the online oral presentation entitled

*Biological Activities of Extracts and Essential Oil of Thapsia gorganica Roots Collected From The
Region of M'sila in North-East Algeria*

at the 5. International Conference on Life and Engineering Sciences
with the sponsorship of Anand International College of Engineering,
Antalya-TURKEY, May 19-22, 2022.



Assoc. Prof. Dr. Gökhan ÖMEROĞLU
Cochair of ICOLES 2022

22.05.2022