



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie

## Intitulé

**Evaluation de l'activité antioxydante de  
*Thapsia garganica* L.**

Présenté par : Siham KHAMADJ & Wissem DAHMANI

Devant le jury :

<b>Président :</b> M. Hichem MEZDOUR	MCB	(Univ de B.B.A)
<b>Directeur :</b> M. Rédha DJENIDI	Professeur	(Univ. de B.B.A)
<b>Examineur :</b> M. Youba BELLIK	MCA	(Univ de B.B.A)

Année universitaire : 2018/2019

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au bon Dieu de nous avoir donné le courage et la force pour terminer notre travail et pour sa bienveillance.*

*Nous remercions le **Dr. Hichem MEZDOUR** d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance.*

*Nos remerciements vont également au **Dr. Yuva BELIK**, membre de ce jury en tant qu'examinateur, qui a eu l'amabilité de juger notre travail.*

*Nous tenons à remercier sincèrement notre Directeur de mémoire, le **Professeur Redha DJENIDI** et le **Dr. Fahima FELLAH**. Nous tenons à leur exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude pour nous avoir guidées, aidées, encouragées et pour leur patience, gentillesse, fidélité et surtout pour leur disponibilité tout au long de notre travail malgré tout les moments difficiles. Nous avons été heureuses de travailler avec vous.*

*Nos remerciements s'adressent également aux ingénieurs de laboratoire de l'université de BBA : Madame Sabrina et Monsieur Makhoukh Nasreddine pour leur aide et leurs conseils en permanence.*

*Nous remercions l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude. Nous tenons à leur exprimer notre sincère reconnaissance pour leur patience, gentillesse, sacrifices, encouragements tout au long de ce chemin.*

*Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, et à tous ceux qui ont apporté leur soutien et encouragements durant la réalisation de ce travail.*

***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail,*

*A mes parents les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, qui ont été toujours là pour moi. J'espère que par ce travail, je vous rends un peu de sentiments et de fierté que j'éprouve d'être votre fille, « je vous aime ».*

*A notre promoteur Prof. DJENIDI et au Dr. FELLAH qui ont été toujours avec nous.*

*A mes très chère frères : Hamza, khaled et sallah.*

*A mes très chère sœurs : Firouz, Yasmina et Houria.*

*A ma meilleure amie siham et sa famille.*

*A toute la famille DAHMANI.*

*A mes collègue Kenza et Merbouha.*

*A toute personne qui me connais.*

*A tous ceux qui ont été à mes côtés de près ou de loin*

***Wissem***

---

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail,*

*A mes parents les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, qui ont été toujours là pour moi. J'espère que par ce travail, je vous rends un peu de sentiments et de fierté que j'éprouve d'être votre fille, « je vous aime ».*

*A notre promoteur Prof. DJENIDI et au Dr. FELLAH qui ont été toujours avec nous.*

*A mes très chère frères : Louanas et Yousef.*

*A mes très chère sœurs : Kahina et Zineb.*

*A ma meilleure amie Wissem et sa famille.*

*A toute la famille KHAMADJ.*

*A mes collègue Kenza et Merbouha.*

*A toute personne qui me connais.*

*A tous ceux qui ont été à mes côtés de près ou de loin*

*Siham*

---

## Sommaire

Remerciments	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Abréviations et symboles	
Introduction	1
Partie bibliographique	
<b>Chapitre I: <i>Thapsia garganica</i> L.</b>	3
1-Les Apiaceae	3
1-1-Caractéristiques des Apiaceae	3
1-2-Distribution	3
1-3-Reproduction	4
2-L'espèce <i>Thapsia garganica</i> L.	4
2-1-Taxonomie	4
2-2-Description morphologique	4
2-3-Composition chimique	5
2-3-1-Les lipids	5
2-3-2-Les huiles essentielles	5
2-3-3-Les composés phénoliques	6
2-3-4-Les composés terpéniques	6
2-4-Usage traditionnel	7
2-5-Propriétés biologiques de <i>Thapsia garganica</i> L.	8
2-5-1-Cytotoxicité	8
2-5-2-Effet de thapsigargine sur la réponse inflammatoire, libération de l'histamine	8
2-5-3-Action de la thapsigargine sur le calcium	8
2-5-4-Activité anti-tumorale de la thapsigargine	9
<b>Chapitre II : Les radicaux libres et les antioxydants</b>	10
1-Stress oxydatif	10
2-Les radicaux libres (pro-oxydants)	10
3-Sources des radicaux libres	10
3-1-Sources endogènes	10
3-2-Sources exogènes	11

4-Conséquences du stress oxydatif	12
4-1-Rôle physiologique	12
4-2-Rôle pathologique	13
4-2-1-Principales cibles biologiques des ROS	13
4-2-1-1-Oxydation de l'ADN	13
4-2-1-2-Oxydation protéique	13
4-2-1-3-Oxydation lipidique	13
4-2-1-4-Les lipoprotéines	13
5-La thapsigargine inducteur prototypique du stress oxydatif au réticulum endoplasmique(ER)	14
6-Définition des antioxydants	14
7-Système de défense antioxydant	15
7-1-Le système antioxydant enzymatique	15
7-1-Le système antioxydant enzymatique	15
7-1-1-Super oxyde dismutase	15
7-1-2-Catalase	15
7-1-3-Les glutathion peroxydases (GPxs)	16
7-2-Le système antioxydant non enzymatique	16
7-2-1-La vitamine C	16
7-2-2-La vitamine E	17
7-2-3-Oligoéléments	17
7-2-4-Glutathion	17
7-2-5-Les polyphénols	17
7-2-5-1-L'activité antioxydante des polyphénols	18
8-Application des polyphénols	18
8-1-Dans l'industrie agroalimentaire	18
8-2-Dans l'industrie cosmétique	18
<b>Chapitre III : Matériels et méthodes</b>	19
1-Préparation du matériel végétal	19
1-1-Récolte de la plante	19
1-2-Nettoyage	19
1-3-Séchage	19
1-4-Broyage et tamisage	19

2-Préparation des extraits	19
3-Dosage des polyphénols totaux	21
3-1-Principe	21
3-2-Expression des résultats	21
4-Activité antioxydante	22
4-1-Activité antioxydante totale (TAC)	22
4-1-1-Principe	22
4-1-2-Expression des résultats	22
4-2-Pouvoir réducteur	23
4-2-1-Principe	23
4-2-2-Expression des résultats	23
4-3-Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	24
4-3-1-Principe	24
4-3-2-Expression des résultats	24
4-4-Chélation du fer ferreux	25
4-4-1-Principe	25
4-4-2-Expression des résultats	25
4-5-Détermination de l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène	26
4-5-1-Principe	26
4-5-2-Expression des résultats	26
4-6-Test de blanchissement du $\beta$ carotène	26
4-6-1-Principe	26
4-6-2-Expression des résultats	26
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion</b>	<b>28</b>
1-Résultats	28
2-Discussion	29
2-1-Teneur en polyphénols totaux	29
2-2-Activité antioxydante	30
2-2-1-Pouvoir réducteur	31
2-2-2-Activité antioxydante totale (TAC)	31
2-2-3-Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	32
2-2-4-Chélation du fer ferreux	33
2-2-5-Test de blanchissement du $\beta$ -carotène	33

Conclusion et perspectives	35
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classification de <i>Thapsia garganica</i> L.	<b>4</b>
<b>Tableau II</b> : Résultats des différents tests réalisés sur l'extrait de <i>Tapsia garganica</i> L.	<b>28</b>

**Liste des figures**

Figure 1 : Photographies des racines et parties aériennes de <i>Thapsia garganica</i> L.	5
Figure 2 : Structure des phenylpropanoïdes isolés de <i>Thapsia garganica</i> L.	6
Figure 3 : Structures des sesquiterpènes de <i>Thapsia garganica</i> L.	7
Figure 4 : Production d'O <sub>2</sub> <sup>-</sup> lors du mécanisme de la respiration mitochondriale.	11
Figure 5 : Différents mécanismes de production des ROS.	12
Figure 6 : Mécanisme d'action de la thasigargine sur le stress oxydatif au niveau du réticulum endoplasmique.	14
Figure 7 : Mode d'action des antioxydants enzymatiques sur les ROS.	15
Figure 8 : Piégeage des ROS par différents oxydants : SOD, catalase, GPX.	16
Figure 9 : Les différentes étapes de la préparation de la poudre et des extraits de <i>Thapsia garganica</i> L.	20
Figure 10 : Diagramme décrivant les principales étapes pour le dosage des polyphénols.	21
Figure 11 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité antioxydante totale.	22
Figure 12 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation du pouvoir réducteur.	23
Figure 13 : Réaction du test de DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	24
Figure 14 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité scavenger du radical DPPH.	24
Figure 15 : Diagramme décrivant les principales étapes pour la réalisation du test de chélation du fer ferreux.	25
Figure 16 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène.	26
Figure 17 : Diagramme décrivant les principales étapes pour la réalisation du test de blanchissement du β-carotène.	27
Figure 18 : Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Mn <sup>+</sup> ).	33

## Abréviations et symboles

**μl** : Micro litre.

**μM** : Micro mole.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AG** : Acide gras.

**AP** : Activatrice protéine.

**Ca<sup>2+</sup>**: Calcium

**CAT**: Catalase.

**C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>**: Acide thapsique

**DPPH**: 2, 2'-diphényle-1-picryl hydrazyl.

**ROS** : Espèce réactive oxygénée.

**EDTA** : Ethylene diamine tetra-acetic.

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux.

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer(III).

**EGA**: Equivalent Acid Gallic.

**G**: Gramme.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**HNO<sub>2</sub>** : Acide nitrique.

**HOCl** : Acide hypochlorique.

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.

**H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphomolybdique.

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungestique.

**H<sub>8</sub>MoN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>** : Molybdate d'ammonium.

**KDa** : Kilo Dalton.

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

**mg** : Milligrammes.

**mm** : Millimètre

**Mm** : Milli mole.

**Mn-SOD** : Manganese-dependent superoxide dismutase

**MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>** : Molybdate.

**MoO<sup>2+</sup>** : molybdène.

**Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : Oxyde de Molybdène.

**MS** : Matière sèche.

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide.

**NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Sodium phosphate.

**SERCA** : Réticulum sarcoplasmique Ca<sup>2+</sup>-ATPase.

**TAC**: Total Antioxidant Capacity.

**TCA**: Acide trichloracétique.

**TNF α**: Tumor Necrosis Factor alpha.

**UV** : Ultra-violet.

**W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : Oxyde de Tungstène.

### Introduction

La phytothérapie est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours, ces deux types de médications se retrouvent intimement liés puisque le modèle moléculaire de la plupart des médicaments mis sur le marché, a pour origine la plante (**Belkacem, 2009**).

Depuis des milliers d'années, l'Homme utilise diverses ressources trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner certaines maladies. Les plantes médicinales sont les plus utilisées en phytothérapie. La valeur médicinale de ces plantes est liée à leurs composés phytochimiques (**Mohamed et al., 2009**). L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes (**Karou et al., 2005**).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une grande variété de molécules bioactives qui le rend un sujet d'intérêt scientifique (**Falleh et al., 2008**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacologie. (**Vercauteren et al., 1998**). Parmi ces composés, on retrouve essentiellement les métabolites secondaires, qui se sont surtout illustrés en thérapeutique (**Bahorun, 1997**).

*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, de la cataracte et des arthrites rhumatoïdes (**Nelson et Stoltz, 2007**). Elle appartient à la Famille des Apiacées qui forme un ensemble de plantes dicotylédones très homogène, une des plus faciles à reconnaître de la flore, grâce à ses inflorescences en ombelles (**Iariushin, 2012**).

Le stress oxydatif est défini comme étant une oxydation excessive due à un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et celle des systèmes antioxydants. Ces espèces pro-oxydantes sont responsables de la dénaturation et de l'altération des molécules biologiques et engendrent de ce fait l'apparition de diverses pathologies dégénératives (**Pasquier, 1995**).

Durant le métabolisme énergétique, en addition à d'autres voies, des espèces dérivées de l'oxygène sont générées, très réactives, assurant habituellement le bon fonctionnement de l'organisme et la santé des Mammifères. En outre, ces derniers possèdent des systèmes moléculaires de neutralisation du surplus de production de ces espèces réactives de l'oxygène, grâce à leur pouvoir antioxydant. Toutefois, dans des conditions physiopathologiques, la balance penche en faveur du rehaussement des taux en substances pro oxydantes, où leur excès peut être néfaste en s'attaquant à des biomolécules telles que : les protéines, les glucides, les lipides et l'ADN (**Favier, 2003**). A des concentrations élevées, les ROS jouent un rôle dans le processus de vieillissement ainsi que dans un certain nombre de maladies humaines, notamment le cancer, l'ischémie et les défaillances de l'immunité et des fonctions endocriniennes (**Matés, 1999**).

Pour cette raison, notre travail portera sur l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits des racines de *Thapsia garganica L.* Pour cela, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Extraction des composés phénoliques contenus dans les racines de *Thapsia garganica L.*
- Dosage des composés phénoliques totaux des extraits obtenus.
- Evaluation de l'activité antioxydante de ces extraits par la mesure du pouvoir réducteur, la réalisation du test du DPPH, TAC, chélation du fer, test de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et blanchissement du β carotène.

**Chapitre I: *Thapsia garganica* L.**

**I -1- Les Apiaceae**

Comprenant 434 genres et environ 3 700 espèces, la Famille des Apiaceae est un ensemble relativement homogène de plantes dicotylédones. Ses espèces sont souvent aromatiques et réparties dans la majeure partie du globe, mais elles sont plus communes dans les régions montagneuses tempérées et relativement rares dans les régions tropicales. Elles se caractérisent par des tiges creuses, des racines pivotantes et des grappes de fleurs à sommet plat appelées ombelles, d'où son nom d'ombellifère (**Lariushin, 2012**). Certaines sont toxiques et leur toxicité est due à des carbures acétyléniques (Ciguë aquatique), ou des lactones comme *Thapsia garganica* L. (**Bruneton, 2005**).

**I -1-1 Caractéristiques des Apiaceae**

La majorité des Apiaceae sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces. La caractéristique principale de cette Famille est l'inflorescence : à ombelles composées ou simples parfois en cymes. Les fleurs sont blanches ou plus rarement jaunâtres, généralement hermaphrodites. L'appareil souterrain pérenne est très varié : racines, rhizomes et tubercules. Les feuilles sont alternes, sans stipules, et le plus souvent composées, à folioles finement découpées, mais certaines espèces ont des feuilles entières. Les racines et les feuilles sont parcourues par des canaux sécréteurs qui contiennent un mélange d'essence et de résine. Les fruits, secs, sont des schizocarpes (diakènes) qui se scindent en deux à maturité, chaque partie contenant une graine. Ils sont très diversifiés par leurs formes externes : présence de crochets ou d'épines, de protubérances ou de poils, parfois d'ailes, qui sont importants à observer pour la détermination des espèces. Les tiges sont fistuleuses et elles sont à entre-nœuds souvent creux, à canaux sécréteurs contenant des huiles essentielles et des résines, des saponines triterpéniques, des coumarines, falcarinone, trisaccharide comme élément de réserve (**Lariushin, 2012 ; Gasse, 1989**).

**I -1-2 Distribution**

Les Genres se répartissent entre les divers continents, avec une prédominance pour l'Asie (265), l'Amérique (197), l'Europe (139), l'Afrique (126) et l'Australie (36). Les Apiaceae occupent une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (**Jubrane et al., 2009**).

### **I -1-3- Reproduction**

La plupart des Apiaceae sont pollinisées par les insectes, principalement des mouches, moustiques, ou certaines abeilles et papillons. L'autofécondation est pourtant fréquente. (Egasse, 1989).

### **I -2 L'espèce *Thapsia garganica* L.**

D'après Lauzer (1968) le nom *Thapsia garganica* L. est composé de deux mots :

- Thapsia : mot tiré de l'île de Thapsos où elle a été découverte pour la première fois.
- garganica : épithète donné par rapport au nom d'une montagne en Italie nommée Gargano où elle se trouve en abondance (Cheurfa et Bachagha, 2013).

#### **I-2-1 Taxonomie**

**Tableau I : Classification de *Thapsia garganica* L. (Hammiche et al., 2013).**

Position systématique		Noms vernaculaires	
Règne	Plante	En arabe	En français
Ordre	Apiales	بونافع  الدرياس	Thapsie  Thapsie du mont Gargan
Famille	Apiaceae		
Genre	<i>Thapsia</i>		
Espèce	<i>Thapsia garganica</i> L.		

#### **I -2-2 Description morphologique**

Plante vivace, sa racine est épaisse allongée, grisâtre à l'extérieur et blanche à l'intérieur, remplie d'un suc laiteux, très caustique (**Fig. 1**). Sa tige est forte, droite légèrement striée et fistuleuse. Elle se ramifie en rameaux lâches, étalés, garnis de feuilles pétiolées, deux ou trois fois ailées, glabres à folioles lancéolées, aiguës, d'un vert luisant en dessus, plus pâles, nerveuses et ridées en dessous. Les pétioles s'élargissent à leur base en une gaine ample et membraneuse. Les fleurs, d'un jaune pâle, forment plusieurs ombelles composées de huit à douze rayons. Les fruits mesurent de 15 à 25 mm x 10 à 15 mm (**Roques, 1835 ; Kadda et al., 2017**).



**Figure 1** : Photographies des racines et parties aériennes de *Thapsia garganica* L.

Photos personnelles (2019).

### I -2-3 Composition chimique

Les études photochimiques sur *Thapsia garganica* L. montrent que la plante est riche en différents constituants bioactifs. D'après **Dujardin-Beaumetz et Egasse (1989)** ses racines sont constituées de : Amidon : 22,510%, Gomme : 5,179%, Gomme résine : 5,759%, Résine : 2,554%, Albumine : 1,354%, Matières inorganiques : 8,760%. La proportion de la résine varierait de 2% dans les racines fraîches à 15 % dans les racines sèches. Par contre, d'autres études n'en trouvent que 5 %. Après une étude chimique de *Thapsia garganica* L. **Canzoneri (1883)**, avait obtenu les composés suivants :

- 1- Un acide bibasique de la série oxalique appelé acide thapsique de formule  $C_{16}H_{30}O_4$ .
- 2- De l'acide caprylique.
- 3- Une substance vésicante en lamelles fusibles soluble dans l'alcool et l'éther.
- 4- Un peu de cire et de résine (**Riche, 1895**).

#### I -2-3-1 Les lipides

L'analyse de l'extrait des fruits de *T. garganica* L. indique la présence de lipides, dont deux ont été principalement isolés : le 2-hydroxyméthyl-1,4-dioxacycloicosane-5,20-dione et le 3-hydroxy-1,5-dioxacyclohénicosane-6,21-dione. Ces lipides macrocycliques sont sans précédent dans le règne végétal (**Huizhen et al., 2004**).

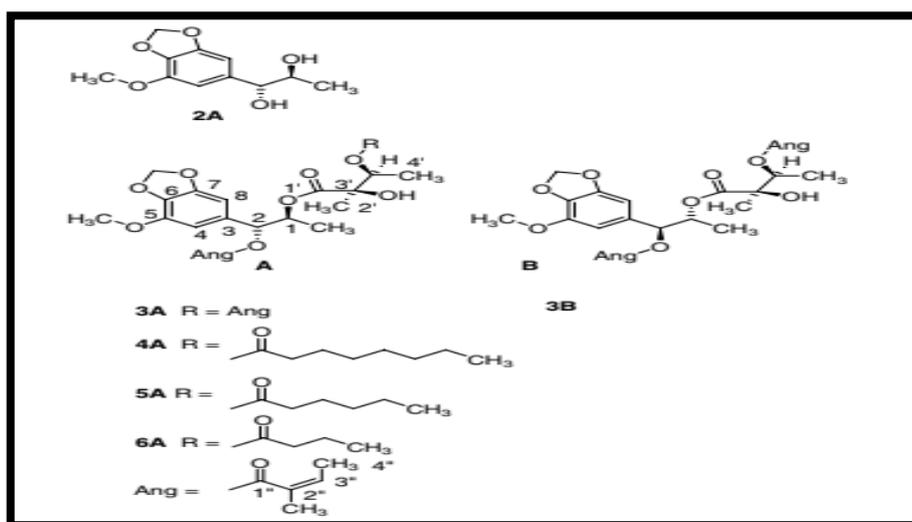
#### I -2-3-2 Les huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles de l'écorce des racines (en Algérie), des feuilles, des fleurs et des tiges (Italie, Tunisie) de *T. garganica* L. il a permis d'identifier 37 composés représentant 97,01% de la composition totale de l'huile. Les composés prédominants dans les huiles de toutes les parties de la plante sont les hydrocarbures sésquiterpéniques et les monoterpènes oxygénés. Parmi ces composés, la myristicine, la  $\beta$ -thujone et l'élémicine

étaient les composants dominants, contribuant à 15,07%, 14,86% et 13,06% du total, respectivement. Il n'a pas été signalé d'autres cas de  $\beta$ -thujone en tant que constituant majeur de *T. garganica* L. (Kadda *et al.*, 2017; Avato, 1991).

### I -2-3-3 Les composés phénoliques

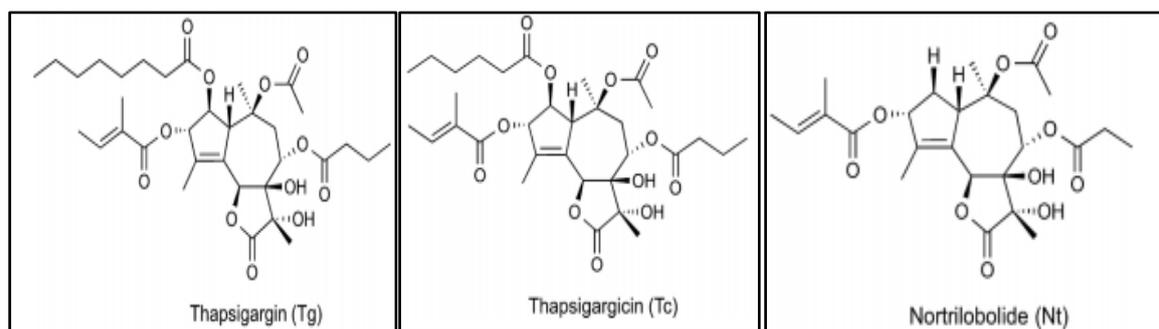
Djeridane *et al.* (2007) ont révélé que la composition phénolique des extraits éthanoïques de *Thapsia garganica* L. était relativement faible, soit de 2,5 mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche. L'analyse par HPLC de ces extraits a révélé que les flavonoïdes représentent 98% (m/m) des composés phénoliques totaux avec la détection de la quercétine, et aussi que les dérivés de l'acide hydroxycinnamique représentent 2% (m/m) des composés phénoliques totaux et que les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont inexistantes (Barri, 2011). L'étude de l'effet cytotoxique de l'extrait des fruits de *T. garganica* L. permet d'isoler des esters phénylpropanoïdes. Ils sont identifiés comme étant 4 acyl différents (Fig. 2). Ce sont : l'angeloyl (3A), l'octanoyl (4A), l'hexanoyl (5A), et le butanoyl (6A) (Liu *et al.*, 2006).



**Figure 2 :** Structure des phénylpropanoïdes isolés de *Thapsia garganica* L. (Liu *et al.*, 2006).

### I-2-3-4 Les composés terpéniques

Les composés terpéniques que l'on retrouve chez le Genre *Thapsia* sont des lactones sesquiterpéniques. Les lactones sesquiterpéniques de l'espèce *T. garganica* L. sont des hexaoxygénées guaianolides appelées thapsigargines (Fig. 3). Des analyses par HPLC quantitative des thapsigargines, effectuées sur différents organes, indiquent qu'elles sont principalement riches en thapsigargine, thapcigargicine, nortrilobolide, et thapsivillosine I et J (Smitt *et al.*, 1995 ; Christensen, 2015).



**Figure 3 :** Structures des sesquiterpènes de *Thapsia garganica* L. (Ibrahim *et al.*, 2018)

#### I -2-4 Usage traditionnel

La partie employée de la thapsie est l'écorce de la racine, bien que toutes les autres parties de la plante referment le même principe actif mais en quantité moindre (Dujardin-Beaumetz et Egasse, 1989). L'écorce de la racine trouve encore quelques emplois en médecine traditionnelle maghrébine, pour traiter la stérilité féminine, les douleurs rhumatismales, les entorses et surtout pour les maladies pulmonaires graves (Hammiche *et al.*, 2013).

En grande Kabylie (Algérie), cette plante a été utilisée pour traiter les maladies de l'appareil respiratoire : la bronchite aiguë, la pneumonie et la toux. La racine fraîche est lavée et recouverte de cendres chaudes jusqu'à ramollissement et exsudation de la résine, puis grossièrement broyée et placée dans de la gaze. Le cataplasme ainsi obtenu est appliqué sur le thorax, préalablement enduit d'huile d'olive, et maintenu par un foulard jusqu'à la sensation de brûlure. Le traitement est renouvelé chaque jour si nécessaire. Pour les enfants, on utilise une racine débarrassée de sa partie externe. Lorsque l'affection est moins sévère, l'huile dans laquelle on fait cuire une racine fraîche de thapsie est utilisée soit comme révulsif en frictions sur le thorax, soit en usage interne à raison d'une cuillère à soupe par jour pour l'adulte et une cuillère à café pour l'enfant au-dessus de huit ans. Le suc frais est absorbé avec une datte qui en dissimule l'âcreté, comme purgatif drastique et emménagogue (Hammiche *et al.*, 2014 ; Dujardin-Beaumetz et Egasse, 1989).

En Kabylie, au printemps, il est d'usage de faire une cure dépurative. On procède de la manière suivante : dans la partie inférieure d'un couscoussier, on fait durcir sept œufs avec une bonne poignée de racines ; la vapeur traverse la semoule disposée dans la partie supérieure. Les œufs accompagnés d'un bol de semoule, sont absorbés chaque matin, à jeun. Une phase d'excitation proche de l'ivresse précéderait la débâcle intestinale. D'autre part, mijotée pendant 10 minutes à plusieurs heures dans un récipient clos, avec de l'eau, de l'huile ou du beurre, la racine fournit un décocté, un liniment ou une pommade ayant les mêmes

indications thérapeutiques. Un fragment de racine calmerait, par contact direct, les algies dentaires (**Hammiche et al., 2013**). Il est à noter aussi qu'une décoction de 150 g de racines dans un litre de lait, ce breuvage, détermine suivant le patient, des coliques, de la diarrhée et provoque souvent l'avortement (**Dujardin-Beaumetz et Gasse.1989**).

### **I -2-5 Propriétés biologiques de *Thapsia garganica* L.**

#### **I -2-5-1 Cytotoxicité**

Toutes les parties de la thapsie sont toxiques et irritantes pour la peau, particulièrement la racine dont la partie externe renferme une résine très agressive. (**Hammiche et al., 2014**). La toxicité de la thapsie est due à la présence de lactones sesquiterpéniques, et notamment de la thapsigargine. Le contact direct cause une dermatite qui se manifeste par un érythème, des démangeaisons et la formation de petites vésicules (**Mohamed Ibrahim et al., 2018**). **Liu et al., (2006)** ont effectué des tests sur des cellules cancéreuses de la leucémie, du carcinome du sein traité par la thapsigargine et des phénylpropanoïdes isolés des fleurs de *T. garganica* L. Les résultats ont montré que la thapsigargine a une cytotoxicité élevée par rapport aux phénylpropanoïdes.

#### **I -2-5-2 Effet de la thapsigargine sur la réponse inflammatoire, libération de l'histamine**

L'incubation des mastocytes péritonéaux traités par la thapsigargine en présence d'ions calcium, même à des faibles concentrations, a provoqué une libération d'histamine. Cette libération contribue probablement aux effets irritants de la peau (**Christensen, 2015**). La fixation de la thapsigargine sur les récepteurs des mastocytes, provoque une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité capillaire, signe d'une réponse inflammatoire. Un effet similaire a été observé avec la thapsigarginine, mais sans être aussi efficace (**Ali et al., 1985**).

#### **I -2-5-3 Action de la thapsigargine sur le calcium**

Les effets biologiques de la thapsigargine sont toujours liés à une augmentation de la  $[Ca^{2+}]$  cytosolique (l'homéostasie du  $Ca^{2+}$ ). Une preuve finale de cette hypothèse a été trouvée lors de l'inhibition de la pompe à  $Ca^{2+}$  ATPase (SERCA : qui pompe les ions  $Ca^{2+}$  du cytosol vers le RE) du réticulum sarcoplasmique. Cette inhibition est due à la présence d'un site de reconnaissance sur ces pompes (**Lytton et al., 1991 ; Christensen, 2015**). La thapsigargine augmenterait la concentration intracellulaire de calcium sans l'implication de l'inositol-1, 4,5 triphosphate, messenger intracellulaire impliqué dans la libération du calcium (**Takemura et al., 1989 ; Horn, 2018**).

**I -2-5-4 Activité anti-tumorale de la thapsigargine**

L'activité anti-tumorale de la thapsigargine a été étudiée en tant que pro- drogue dans un certain nombre de maladies prolifératives, en particulier le cancer de la prostate et des carcinomes hépatocellulaires (**Horn, 2018**). Les chercheurs ont conçu, à partir de la thapsigargine, une pro-droge appelée G202. La G202 est hydrolysée par une carboxypeptidase membranaire, spécifique des cellules cancéreuses prostatiques ; cette hydrolyse active la G202 qui inhibe la pompe SERCA, ce qui induit la mort de ces cellules par apoptose (**Hammiche et al., 2013**).

La thapsigargine a été couplée à un petit peptide, substrat d'une enzyme de type carboxypeptidase le PSMA (carboxypeptidase prostate-specific membrane antigen). Cette thapsigargine modifiée (appelée G202) ne peut inhiber la pompe calcique membranaire qu'après son activation, elle-même provoquée par l'hydrolyse du peptide par l'enzyme. L'astuce est que cette enzyme spécifique de la prostate est par ailleurs exprimée par de nombreuses cellules cancéreuses. Elle a ainsi été identifiée dans 66 % des cancers gastriques, 85 % des carcinomes colorectaux, et 100 % des cancers de la vessie. La G202 serait donc sans danger dans la circulation sanguine ou pour les tissus sains, mais induirait de façon spécifique et efficace la mort de cellules tumorales de différentes origines. (**Denmeade et al., 2012**).

## Chapitre II : Les radicaux libres et les antioxydants

### II-1- Stress oxydatif

Le stress oxydant est classiquement défini comme un déséquilibre en faveur de la production des ROS qui conduit à une oxydation accrue des composants cellulaires essentiels. Ce déséquilibre pro-oxydant/antioxydant peut avoir une origine exogène : molécules oxydantes, toxines comme les métaux lourds toxiques, ou une origine endogène : disfonctionnement de certaines sources de production et systèmes d'élimination des ROS (Melila *et al.*, 2012).

### II-2- Les radicaux libres (pro-oxydants)

Un radical libre est une espèce chimique, neutre ou chargée, qui a la particularité de porter un électron célibataire sur sa couche externe, ce qui le rend généralement instable, à durée de vie très courte, mais pendant ce laps de temps il est capable de réagir plus ou moins rapidement avec d'autres molécules chimiques (Carrière *et al.*, 2006).

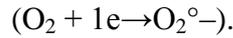
En biologie, les radicaux libres sont généralement formés par un gain d'électrons issus de l'oxygène (Koechlin-Ramontaxo, 2006). Parmi eux on distingue un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie : les radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003). Ces pro-oxydants sont généralement soit des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que des espèces réactives de l'azote (RNS) résultant du processus d'oxydo-réduction cellulaire. Les ROS et RNS regroupent des espèces radicalaires, comme le radical super oxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), peroxyde ( $RO_2^{\bullet}$ ), hydro peroxydyle ( $HO_2^{\bullet}$ ), alkoxyde ( $RO^{\bullet}$ ), peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ), oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ ), dioxyde d'azote ( $NO_2^{\bullet}$ ) et peroxyde d'hydrogène ( $LOO^{\bullet}$ ). Des espèces non radicalaires existent en tant qu'oxydants comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'acide hypochlorique ( $HOCl$ ), l'ozone ( $O_3$ ), l'oxygène singulet ( $-^1O_2$ ), le peroxyde nitrique ( $ONOO^-$ ), l'acide nitrique ( $HNO_2$ ), le trioxyde di nitrogène ( $N_2O_3$ ) et le peroxyde lipidique ( $LOOH$ ) (Irshad et Chaudhuri, 2002).

### II-3 Sources des radicaux libres

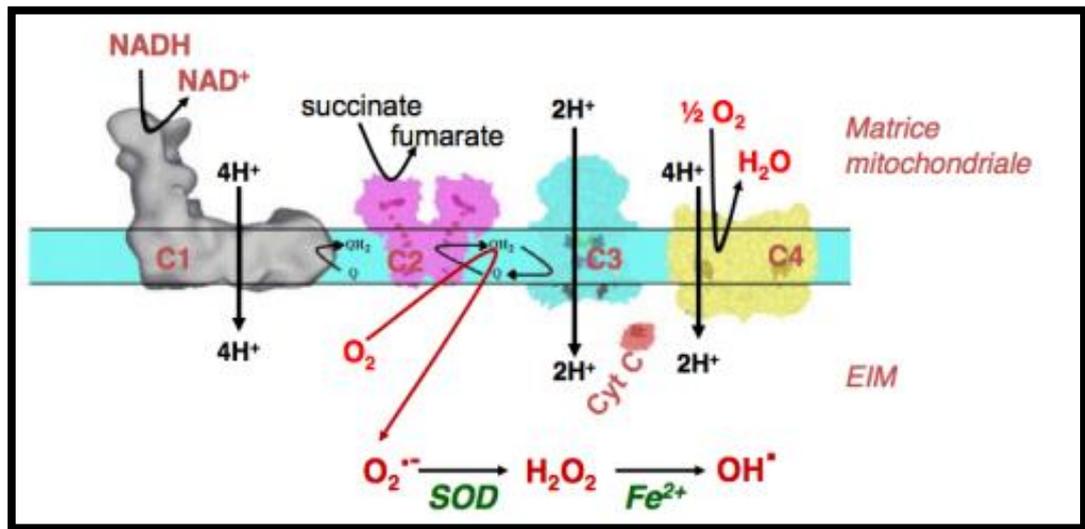
#### II-3-1 Sources endogènes

Par sa configuration électronique, l'oxygène moléculaire est un radical libre. Il possède en effet deux électrons non appariés. Dans l'organisme, une partie de cet oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors la

formation du chef de file des espèces oxygénées réactives : l'anion superoxyde. (Koechlin-Ramontaxo, 2006).



Les oxydases (xanthine oxydase, NO synthase, eicosanoïdes ...etc. et la réaction de transition des métaux, constituent également des sources cellulaires de la production d'anion superoxyde (Fig. 4). Ce radical superoxyde va alors conduire, au cours de véritables chaînes d'oxydoréductions, à la formation de nombreuses espèces très réactives. C'est ainsi que dans la mitochondrie, à l'état physiologique, il existe lors du transport électronique le long de la chaîne respiratoire, une fuite d'électrons au niveau du complexe III issus du NADH et du succinate, à l'origine de la production de l' $O_2^{\circ-}$  (Koechlin-Ramontaxo, 2006).



**Figure 4 :** Production d' $O_2^{\circ-}$  lors du mécanisme de la respiration mitochondriale. (Giudicelli, 2012).

C1 : Complexe 1    C2 : Complexe 2    C3 : Complexe 3    C4 : Complexe 4

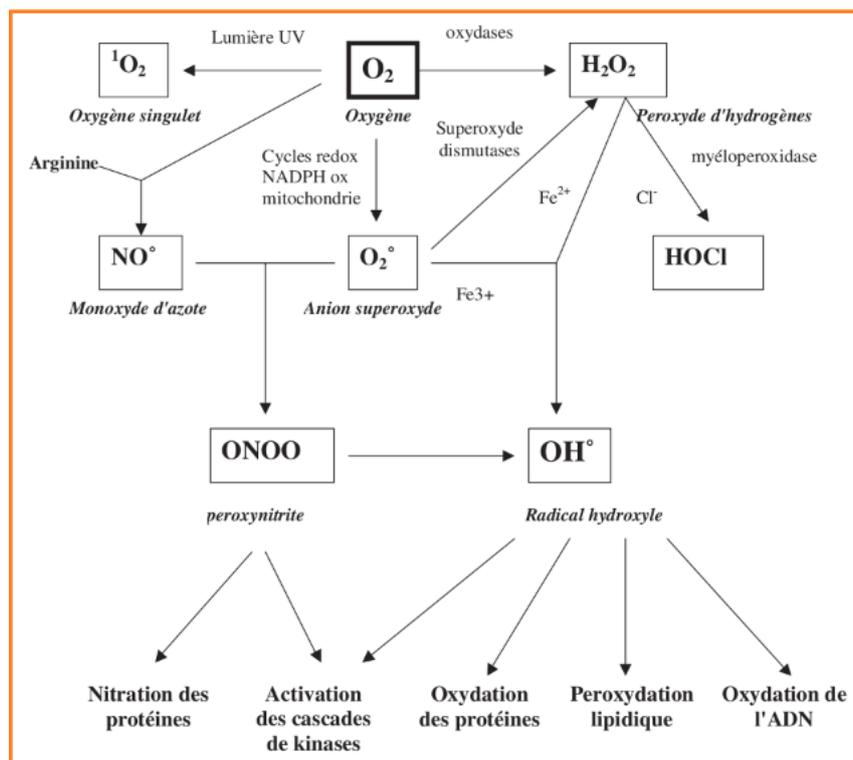
CYT C : cytochrome c

### II-3-2 Sources exogènes :

D'après Bagchi et Puri (1998) et Sen (2010), on peut citer :

- Les rayons UV, les rayons X, les radiations gamma et les micro-ondes.
- L'interaction avec les produits chimiques, les échappements d'automobiles et la fumée de cigarette.
- Les brûlures de matières organiques pendant la cuisson, incendies de forêt, activités volcaniques.

- Les effluents industriels, les produits chimiques en excès, la consommation de certains médicaments et de produits alcooliques, certains pesticides et herbicides, des ions métalliques, des toxines fongiques et xénobiotiques (**Fig. 5**).



**Figure 5** : Différents mécanismes de production des ROS (Favier, 2003).

## II-4 Conséquences du stress oxydatif

### II-4-1 Rôle physiologique

Les radicaux libres considérés comme des espèces indispensables à la vie, participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes. (Favier, 2003). Comme exemple, au niveau musculaire, les travaux de Reid *et al.*, (2001), montrent que l'exposition de fibres musculaires au H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> augmente toutes les caractéristiques de la contraction musculaire.

Enfin, les ROS régulent de nombreux facteurs de transcription tels que la protéine activatrice (AP-1) qui active des gènes dits « protecteurs » pour la cellule. En effet, ces gènes

régulent l'expression de molécules de défense telles que les antioxydants contribuent aux processus de réparation et de régénération cellulaire (**Koechlin-Ramontaxo, 2006**).

## **II-4-2 Rôle pathologique**

Grâce à leur réactivité, les EOA ont des cibles différentes dans l'organisme, ce qui le rend dangereuses.

### **II-4-2-1 Principales cibles biologiques des ROS**

#### **II-4-2-1-1 Oxydation de l'ADN**

L'ADN est une cible privilégiée pour les ROS. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH• pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguano- sine (8-OH-dg) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique, impliquées dans le déclenchement du cancer et dans le vieillissement (**Haleng et al., 2007**).

#### **II-4-2-1-2 Oxydation protéique**

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ROS. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des 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**).

#### **II-4-2-1-3 Oxydation lipidique**

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H + à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction. Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire (**Haleng et al., 2007**).

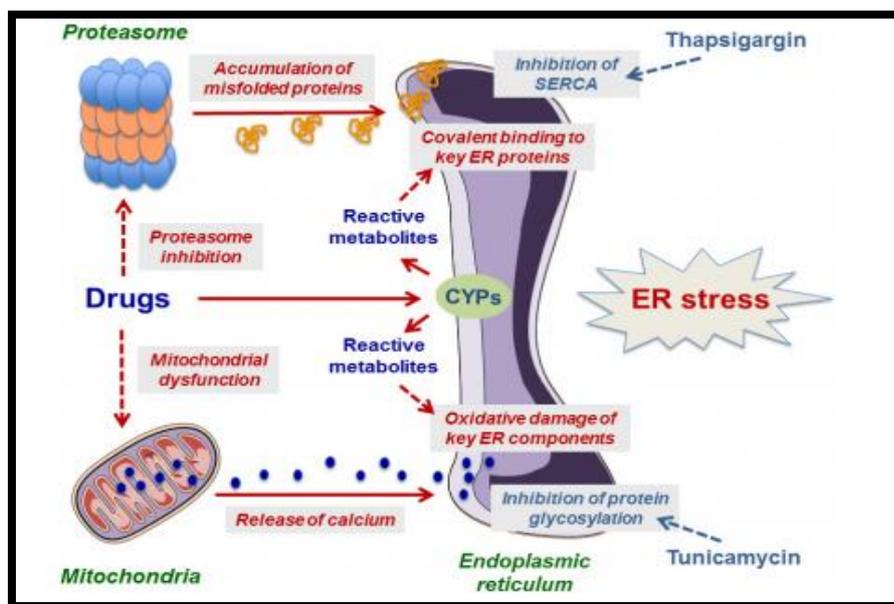
#### **II-4-2-1-4 Les lipoprotéines**

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les

macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans l'athérosclérose). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages (Haleng *et al.*, 2007). Des concentrations élevées de ROS jouent un rôle dans le vieillissement et dans un certain nombre de maladies comme le cancer, l'ischémie et les défaillances de l'immunité et des fonctions endocrines (Matés, 1999).

## **II-5 La thapsigargine inducteur prototypique du stress oxydatif au réticulum endoplasmique(ER)**

La thapsigargine est l'un des indicateurs de stress oxydant dans le réticulum endoplasmique (Fig. 6), grâce à sa capacité d'inhiber les pompes SERCA, cette inhibition entrainer une augmentation du Ca<sup>++</sup> libre (Foufelle et Fromenty, 2016). Le Ca<sup>++</sup> intracellulaire élevé peut être critique pour la toxicité des oxydants (Liu *et al.*, 1998).



**Figure 6 :** Mécanisme d'action de la thapsigargine sur le stress oxydatif au niveau du réticulum endoplasmique (Foufelle et Fromenty, 2016).

## **II-6 Définition des antioxydants**

Les antioxydants sont des inhibiteurs du processus d'oxydation, même à une concentration relativement faible, et jouent donc divers rôles physiologiques dans le corps. Les constituants antioxydants du matériel végétal agissent en tant que piègeurs de radicaux et contribuent à la conversion des radicaux en espèces moins réactives. Une variété d'antioxydants éliminant les radicaux libres, se trouve dans des sources alimentaires telles que les fruits, les légumes et le thé (Mandel *et al.*, 2009).

## II-7 Système de défense antioxydant

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux, à savoir les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Certains sont produits de manière endogène, notamment des enzymes, des molécules de faible poids moléculaire et des cofacteurs enzymatiques. Parmi les antioxydants non enzymatiques, beaucoup sont obtenus à partir de sources alimentaires. Les antioxydants alimentaires peuvent être classés dans différentes classes, les polyphénols étant la plus grande classe. Ils sont constitués d'acides phénoliques et de flavonoïdes. Les autres classes d'antioxydants alimentaires comprennent les vitamines, les caroténoïdes, les composés organosulfurés et les minéraux (Ratnam *et al.*, 2006).

### II-7-1 Le système antioxydant enzymatique

Les antioxydants enzymatiques considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (Fig. 7) telles que le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase (Blandine, 2006).

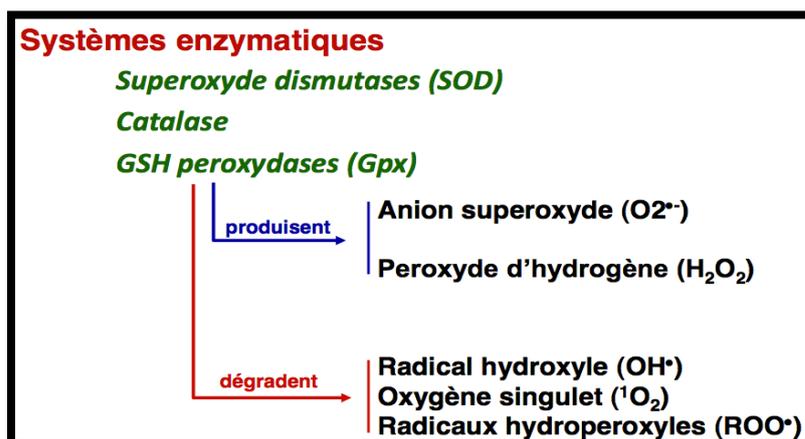


Figure 7 : Mode d'action des antioxydants enzymatiques sur les ROS. (Giudicelli, 2012)

#### II-7-1-1 Super oxyde dismutase

Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en OH<sup>+</sup> et OH<sup>-</sup> (Mn SOD dans la mitochondrie, CuZn SOD dans le cytosol et les érythrocytes). Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusable et dangereux à distance (Goudable *et al.*, 1997).

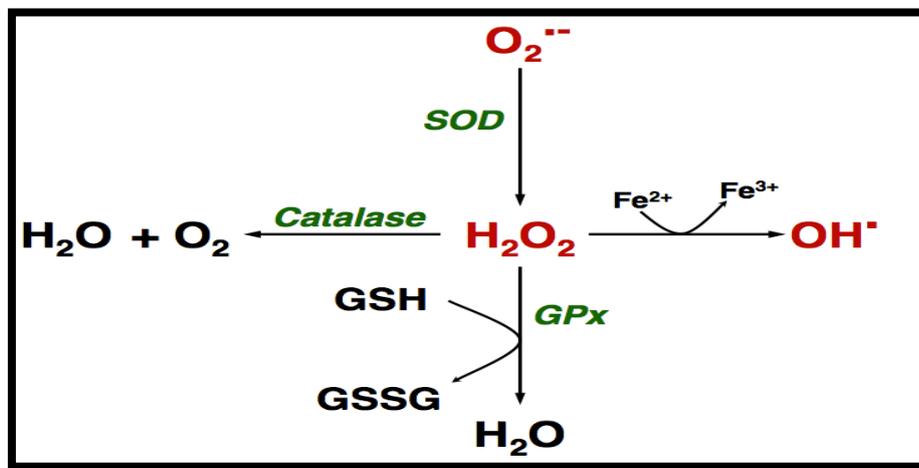
#### II-7-1-2 Catalase

La catalase est une enzyme tétramère constituée de quatre sous-unités identiques agencées de manière tétraédrique de 60 kDa. Le CAT réagit très efficacement avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire. Chez les animaux, le peroxyde d'hydrogène est

détoxifié par le CAT et le GPX. La catalase protège les cellules du peroxyde d'hydrogène qu'elles génèrent. Elle joue un rôle important dans l'acquisition de la tolérance au stress oxydant dans la réponse adaptative des cellules (Matés, 1999).

### II-7-1-3 Les glutathion peroxydases (GPxs) :

La GPx est une sélénoprotéine qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx s'effondre en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence (Fig. 8). Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau (Haleng *et al.*, 2007).



**Figure 8:** Piégeage des ROS par differnts oxydants : SOD, catalase, GPX (Giudicelli, 2012)

### II-7-2 Le système antioxydant non enzymatique

Les antioxydants non enzymatiques sont également divisés en antioxydants métaboliques (endogènes) et antioxydants nutritifs (exogènes). Les antioxydants produits par le métabolisme dans l'organisme sont l'acide lipoïde, le glutathion, L-arginine, coenzyme Q10, mélatonine, urique acide, protéines chélatant les métaux, etc., bien qu'il existe les antioxydants nutritifs comme la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, les traces de métaux (sélénium, manganèse, zinc), flavonoïdes, oméga-3 et acides gras oméga-6, etc. (Pham-Huy1, 2008).

#### II-7-2-1 La vitamine C

La vitamine C est avant tout, un excellent piègeur des ROS ( $HO \cdot$  ou  $O_2^{\bullet -}$ ), en oxydant l'acide ascorbique en acide déhydrascorbique. Elle inhibe également la peroxydation

lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (**Haleng *et al.*, 2007**).

### **II-7-2-2 La vitamine E**

Elle agit *in vivo* et *in vitro* en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assurée par la vitamine C. La vitamine E permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire et au sein des LDL (**Goudable et Favier, 1997**).

### **II-7-2-3 Oligoéléments**

Les oligoéléments ou éléments traces (fer, azote, soufre, phosphore, magnésium et calcium) jouent un rôle, soit en tant que composant d'enzyme, soit comme activateurs d'enzymes (**Coic et Coppenet, 1989**). Certains oligoéléments comme le cuivre, le zinc et le sélénium sont indispensables pour l'activité antioxydante. Le zinc est également un inducteur des métallothionéines, protéine à activité antioxydante et un inhibiteur des réactions de production d'ROS induite par le cuivre (**Pincemail *et al.*, 2002**).

### **II-7-2-4 Glutathion**

Le glutathion (gamma-glutamyl-cystényl-glycine ou GSH) est un tri-peptide contenant de la cystéine, doté de propriétés réductrices et nucléophiles, qui joue un rôle important dans la protection cellulaire des dommages oxydatifs des lipides, des protéines et des acides nucléiques. Le GSH régule le métabolisme des protéines et leurs activités au moyen d'un échange thiol-disulfure. Au cours du stress oxydatif, le GSH joue un rôle clé de protection et de détoxification en tant que cofacteur de la glutathion peroxydase et de la glutathion-S-transférase (GST). Il existe des interactions synergiques entre le GSH et d'autres composants du système de défense antioxydant, tels que la vit C, vit E et le superoxyde dismutase (**Monnier et Chaudière, 1996**).

### **II-7-2-5 Les polyphénols**

Ce sont des molécules possédant plus de deux groupes aromatiques OH<sup>-</sup> et au moins un noyau aromatique benzène. Les polyphénols sont impliqués dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydant grâce à leur propriétés antioxydantes (**Rock, 2003**). Les polyphénols ont la capacité de capturer et de désactiver les radicaux libres. Ils agissent par empêchement de la fixation des radicaux libres sur l'ADN, par l'activation du système de détoxification et par protection des parois capillaires (**Lahouel *et al.*, 2004**). Ils peuvent inhiber

la peroxydation lipidique et détruisent certaines espèces réactives telles que HO<sup>•</sup> et NO<sub>2</sub><sup>•</sup> (**Halliwell et Gutteridge, 2008**).

#### **II-7-2-5-1 L'activité antioxydante des polyphénols**

Des nombreuses études existent sur l'activité antioxydant des polyphénols *in vitro* sur des enzymes ou des cultures cellulaires.

- ✓ *In vivo*, l'activité des polyphénols, le plus souvent est de former des métabolites conjugués dans le plasma (**Halliwell et al., 2005**).
  
- ✓ La consommation des aliments riches en polyphénols (thé, vin, fruits rouges) permettent l'augmentation de la capacité antioxydante au niveau du plasma (**Rein et al., 2000**). Cela montre que certains métabolites formés conservent une activité antioxydante au niveau du sérum (**Serafini et al., 2000**), et même que les polyphénols peuvent agir après déconjugaison des métabolites au niveau cellulaire (**O'Leary et al., 2001**).

#### **II-8 Application des polyphénols**

##### **II-8-1 Dans l'industrie agroalimentaire**

Les polyphénols sont utilisés comme additifs alimentaires pour la conservation des aliments, en les protégeant contre les réactions d'oxydation qui accélèrent leur dégradation (vieillesse). Ceci est dû essentiellement à l'oxygène de l'air, la lumière, les traces de métaux et éventuellement certaines enzymes. Egalement, les polyphénols exercent un effet majeur sur les caractères organoleptiques des produits (rancissement, changement de couleur). (**Marc et al., 2004**).

##### **II-8-2 Dans l'industrie cosmétique**

Les flavonoïdes font partie des nombreux produits cosmétiques sous la forme d'extraits de plantes. Une activité biochimique favorable des flavonoïdes est la raison principale de la croissance constante de leur popularité. Le facteur essentiel qui influence l'activité des flavonoïdes dans la peau est leur capacité de pénétration dans le tissu cutané (**Arct et al., 2002**).

Ils sont également utilisés dans les domaines anti-âge, anti-cellulite, anti-couperose et éclaircissants. D'autres formes d'activités importantes des flavonoïdes sont : le renforcement des capillaires, l'effet anti-inflammatoire, la protection contre les radiations, l'effet humidifiant, adoucissant, apaisant, antiseptique et autres (**Prakash et al., 2003**).

---

**Chapitre III : Matériels et méthodes**

**III-1 Préparation du matériel végétal**

L'étude expérimentale a été réalisée sur les racines de *Thapsia garganica* L. Le choix de cette plante fut basé sur son utilisation en cuisine et en médecine traditionnelle kabyle (**Fig. 9**).

**III-1-1 Récolte de la plante**

Les plantes de *Thapsia garganica* L ont été récoltés en janvier 2019 dans la région de Tasarast (Mansoura) de la wilaya de BBA. Loin de tout impact de pollution.

**III-1-2 Nettoyage**

Après la récolte, les racines de la plante ont été lavées à l'eau courante afin de les débarrasser des poussières et autres particules contaminants. A l'aide d'un éplucheur on a pelé tous les parties externes de la racine pour garder juste la partie blanche.

**III-1-3 Séchage**

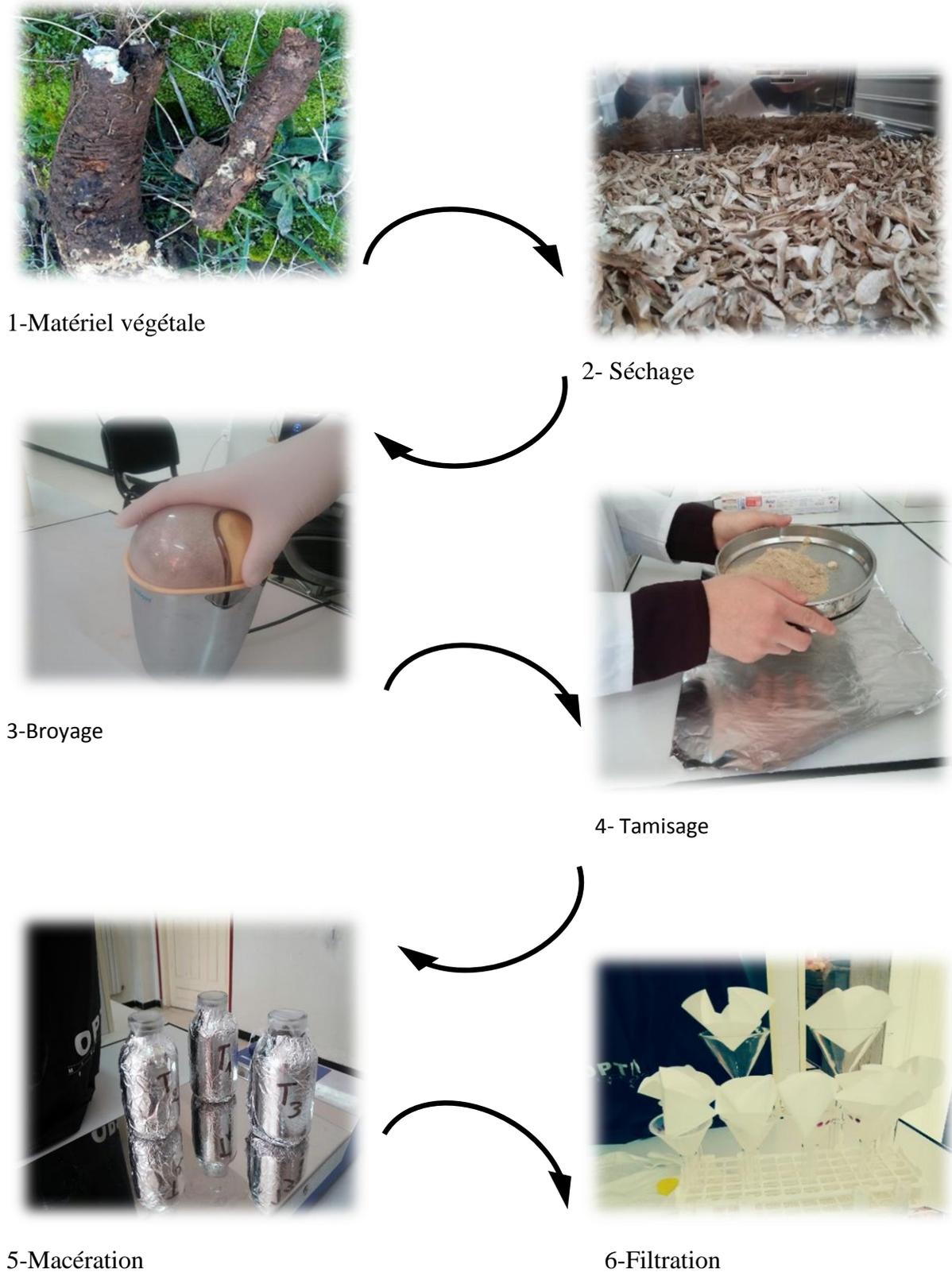
Après le nettoyage, les racines ont été d'abord coupées en petits morceaux dans le but d'accélérer le séchage, après mises à sécher dans un endroit sec, à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant trois semaines, et un deuxième séchage est effectué dans l'étuve pendant 48h à 40 °C.

**III-1-4 Broyage et tamisage**

La matière sèche obtenue est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine qui sera tamisée à l'aide d'un tamis de 0.2mm de diamètre pour avoir à la fin. La poudre a été conservée dans des flacons opaques jusqu'à leur utilisation ultérieure.

**III-2 Préparation des extraits**

Les polyphénols sont extraits par macération de 100 mg de la poudre dans 10 ml de l'éthanol à 25% sous agitation pendant 1 heure, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre puis conservé dans des tubes en verre.



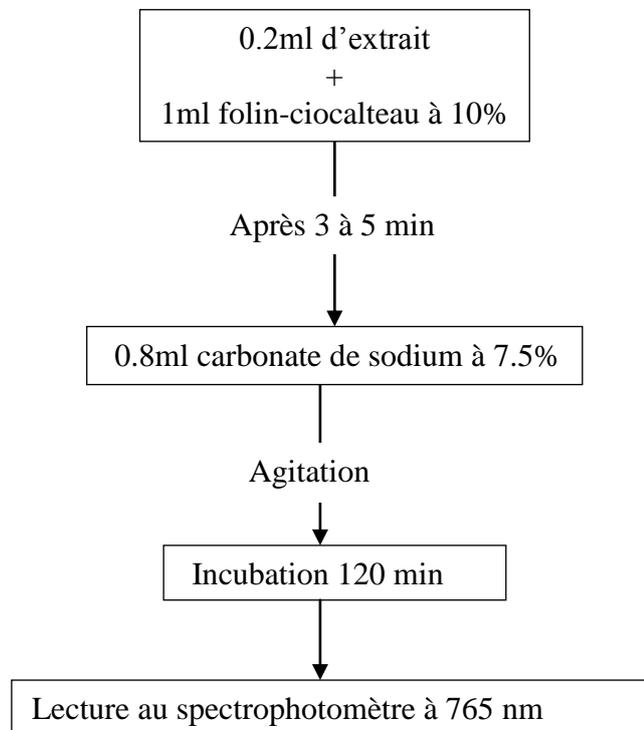
**Figure 9:** Les différentes étapes de la préparation de la poudre et des extraits de *Thapsia garganica* L.

### III-3 Dosage des polyphénols totaux

#### III-3-1 Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de folin-ciocalteau décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (**kayumba, 2001**). Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25%. Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon les étapes décrites dans la figure 10.



**Figure 10:** Diagramme décrivant les principales étapes pour le dosage des polyphénols. (**Singleton et Rossi, 1965**).

#### III-3-2 Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche de thapsie (mgEAG/100g MS).

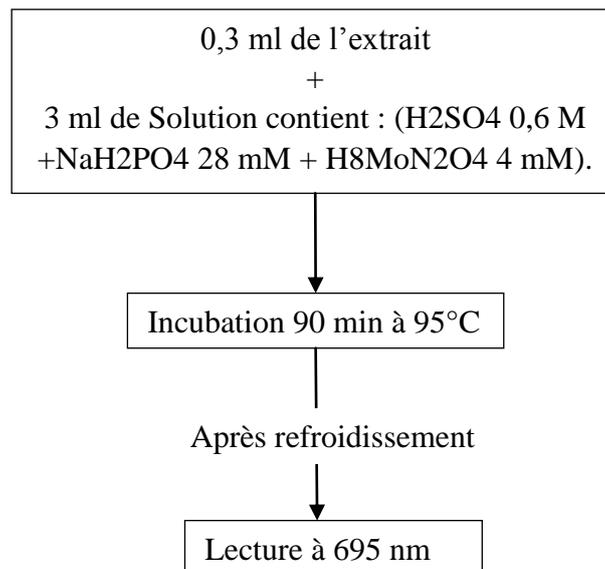
### III-4 Activité antioxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits des composés phénoliques a été réalisée par 6 techniques : la capacité antioxydante totale (TAC), la réduction du fer, le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir chélateur du fer, le test de l'inhibition de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le test de blanchissement de  $\beta$  carotène.

#### III-4-1 Activité antioxydante totale (TAC)

##### III-4-1-1 Principe

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode du phosphomolybdène de **Prieto *et al.* (1999)**. Cette technique est basée sur la réduction du molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdates  $\text{MoO}_4^{2-}$  en molybdène Mo (V)  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo (V) à pH acide (**Benhammou, 2012**). Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25%. La démarche expérimentale pour la réalisation de ce test est résumé dans la figure 11.



**Figure 11:** Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité antioxydante totale. (**Prieto *et al.*, 1999**).

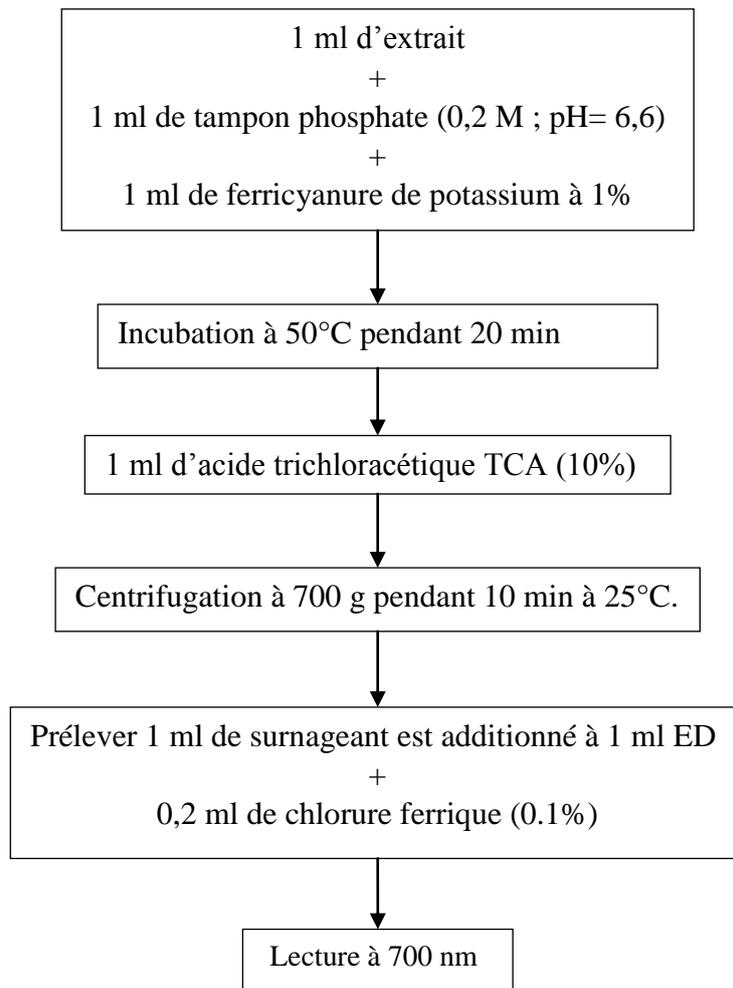
##### III-4-1-2 Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de matière sèche de thapsie (mg EAG/100g MS).

### III-4-2 Pouvoir réducteur

#### III-4-2-1 Principe

Le test a été déterminé en utilisant la technique **d'Oyaizu (1986)**. Le pouvoir réducteur est la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) (**Blázovics *et al.*, 2003**). En solution, cette forme réduite prend une couleur vert-bleue, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (**Ferruzzi et Blakeslee, 2007**). Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25%. La démarche expérimentale pour la réalisation de ce test est résumé dans la figure 12.



**Figure 12:** Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation du pouvoir réducteur. (**Oyaizu, 1986**).

#### III-4-2-2 Expression des résultats

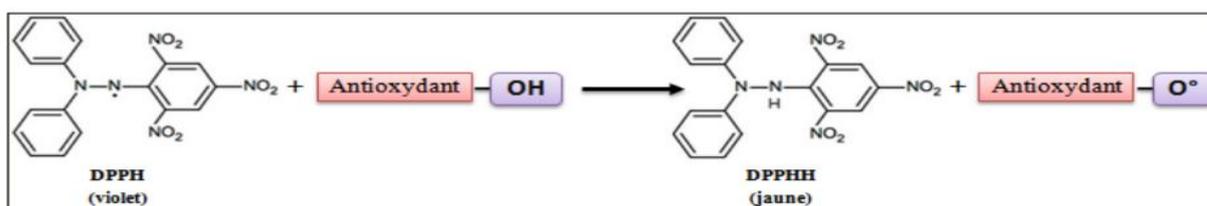
Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en

milligrammes (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de matière sèche de thapsie (mg EAG/100g MS).

### III-4-3 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

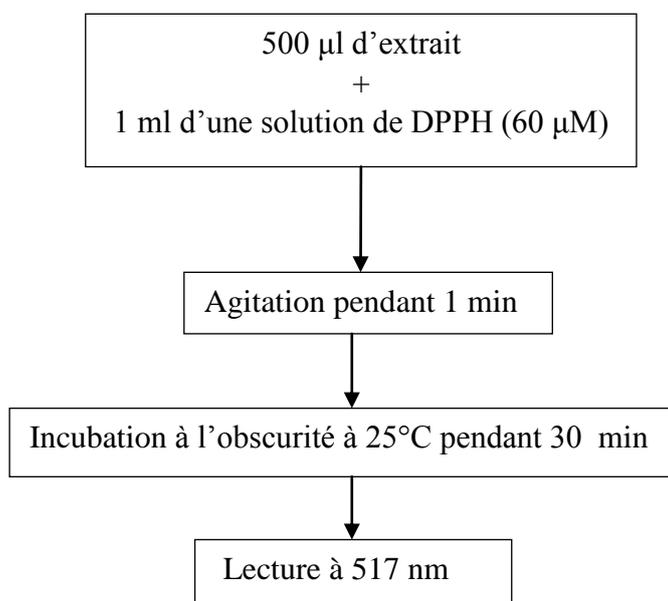
#### III-4-3-1 Principe

Le pouvoir anti radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH $\cdot$  de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**). Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25% (**Fig. 13**).



**Figure 13:** Réaction du test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl). (**Liang et Kitts, 2014**).

La démarche expérimentale pour la réalisation de ce test est résumé dans la figure 14.



**Figure 14:** Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité scavenger du radical DPPH. (**Blois,1958**).

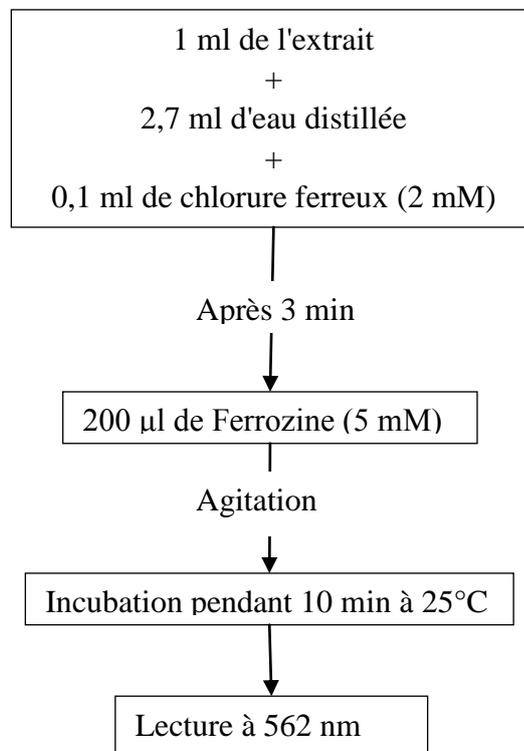
### **III-4-3-2 Expression des résultats**

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. L'activité scavenger est exprimée en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche de thapsie (mg EAG/100g MS).

### **III-4-4 Chélation du fer ferreux**

#### **III-4-4-1 Principe**

La capacité chélatrice des extraits a été estimée par la méthode modifiée de **Dinis *et al.* (1994)**. Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25%. La démarche expérimentale pour la réalisation de ce test est résumé dans la figure 14.



**Figure 15:** Diagramme décrivant les principales étapes pour la réalisation du test de chélation du fer ferreux. (**Dinis *et al.*, 1994**).

### **III-4-4-2 Expression des résultats**

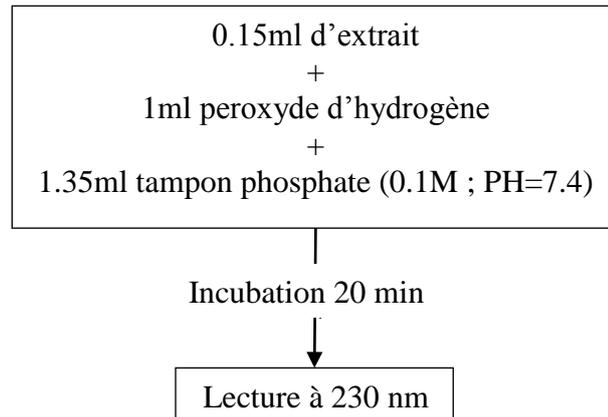
Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'EDTA comme contrôle positif. La capacité de chélation exprimée en milligramme (mg) équivalent d'EDTA par cent grammes de matière sèche de thapsie (mg EEDTA/100g MS).

### **III-4-5 Détermination de l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène**

#### **III-4-5-1 principes**

La capacité de l'extrait à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesurée selon la méthode rapportée par **Atmani et al. (2009)**.

Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25%. La démarche expérimentale pour la réalisation de ce test est résumé dans la figure 16.



**Figure 16 :** Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène. (**Atmani et al., 2009**).

#### **III-4-5-2 Expression des résultats**

Le pouvoir antioxydant est exprimé en % d'inhibition du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(At-Ae) / At] \times 100$$

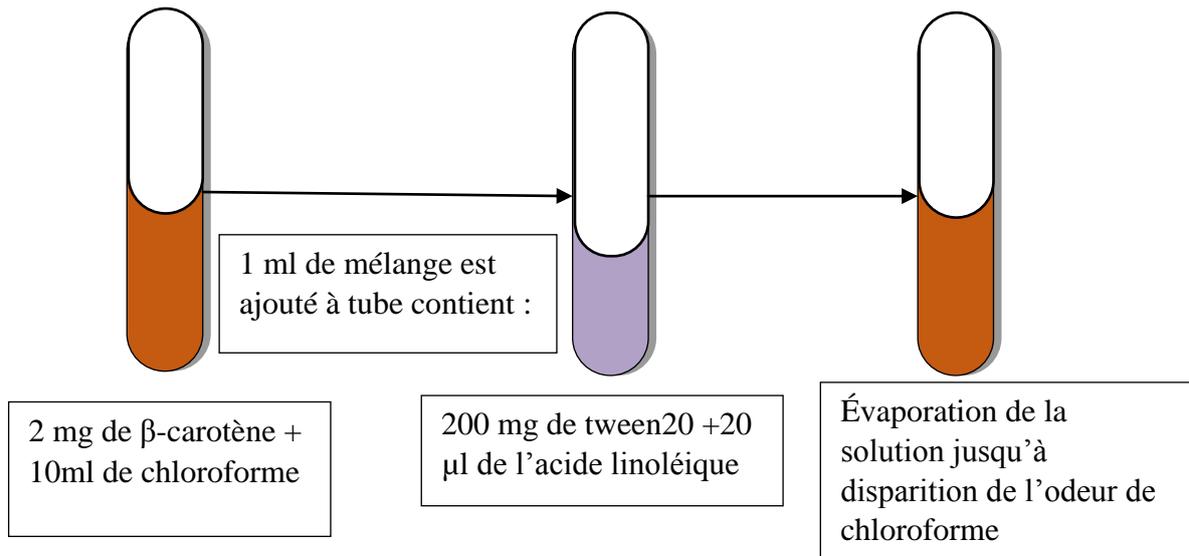
At : Absorbance du témoin.

Ae : Absorbance de l'échantillon.

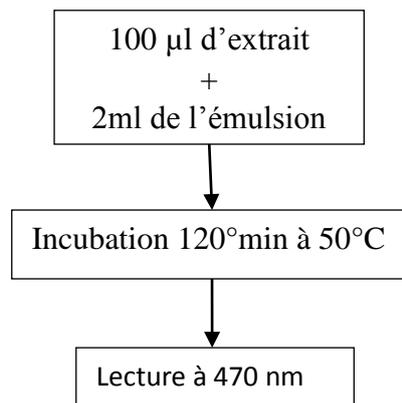
### **III-4-6 Test de blanchissement du $\beta$ carotène**

#### **III-4-6-1 principe**

Le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène a été réalisé par la méthode de **Sun et Ho (2005)**. L'acide linoléique qui est dans un système d'émulsion aqueuse, génère des radicaux peroxydes qui vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène en neutralisant les radicaux libres dérivés et permet donc de prévenir l'oxydation et le blanchissement de  $\beta$ -carotène (**Unten et al., 1997**). Le blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol à 25%. La démarche expérimentale pour la réalisation de ce test est résumé dans la figure 17.



- Puis, un volume de 100 ml de peroxyde d'hydrogène à 10% ajouté dans la fiole et le mélange (l'émulsion) résultant est agité vigoureusement.



**Figure 17 :** Diagramme décrivant les principales étapes pour la réalisation du test de blanchissement du  $\beta$ -carotène. (Sun et Ho, 2005).

### III-4-6-2 Expression des résultats

Le pouvoir antioxydant est exprimé en % de blanchissement du  $\beta$  carotène selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de blanchissement du } \beta\text{-carotène (\%)} = [(A_{A(120)} - C_{C(120)}) / (C_{C(0)} - C_{C(120)})] \times 100$$

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

$C_{C(120)}$  : représente l'absorbance du contrôle à  $t = 120$  min

$C_{C(0)}$  : représente l'absorbance du contrôle à  $t = 0$  min



**Chapitre IV : Résultats et discussion**

**IV-1 Résultats**

Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écart type en utilisant Microsoft Excel 2013, et sont présentés dans le Tableau 2. Compte tenu des résultats obtenus, nous concluons que *T. garganica* a une teneur en polyphénols remarquable, avec une activité antioxydante totale importante par rapport aux autres activités évaluées.

**Tableau N° II : Résultats des différents tests réalisés sur l'extrait de *Tapsia garganica* L.**

Test	Moyenne (mg EAG/100g MS)	Ecart type
Dosage des polyphénols totaux	507.79	$\pm 10.104$
Pouvoir réducteur	110.777	$\pm 11.976$
Activité antioxydant totale	1809.243	$\pm 105.708$
Activité anti-radicalaire	17.677	$\pm 1.355$
Chélation du fer	95.633	$\pm 15.3$
En pourcentage %		
L'activité inhibitrice de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	29.603	$\pm 4.1$
Blanchissement du $\beta$ -carotène	83.889	$\pm 7.4$

En ce qui concerne la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons, les résultats, exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS)

Le résultat que nous avons obtenu pour le pouvoir réducteur à l'issue des analyses est exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS) :  $110,777 \pm 11,976$  mg EAG/100g MS.

En ce qui concerne la capacité antioxydante totale de nos échantillons, les résultats exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS) sont de :  $1809.243 \pm 105.708$  mg EAG/100g MS.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les extraits des racines de *Thapsia garganica* L. présentent une activité antioxydante remarquable. Ce résultat peut être expliqué par la présence des antioxydants, notamment les polyphénols, dans notre extrait.

En ce qui concerne l'activité scavenger du radical DPPH de nos échantillons, les résultats, exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS), sont de :  $17.677 \pm 1.355$  mg EAG/100g MS.

Pour l'activité chélatrice du fer de notre extrait, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS) :  $95.633 \pm 15.3$  mg EAG/100g MS.

Le pouvoir antioxydant est exprimé en % d'inhibition du peroxyde d'hydrogène :  $29,603 \pm 4,1$  %. Ce résultat prouve l'activité inhibitrice de l'extrait des racines de *T. garganica* L. de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A notre connaissance, il n'y a pas de travaux sur cette activité pour cette espèce.

Le pouvoir antioxydant est exprimé en % d'inhibition du blanchissement du  $\beta$ -carotène :  $83,889 \pm 7,4$  %.

## IV.2 Discussion

### IV.2.1 Teneur en polyphénols totaux

Une couleur bleue apparaît après l'ajout du carbonate de sodium, confirmant la présence des polyphénols qui réduit le réactif de Folin-Ciocalteu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Une étude réalisée par **Rached et al. (2010)** a montré qu'un extrait de la racine de *Thapsia garganica* L. d'origine algérienne a laissé apparaître une teneur en polyphénols totaux de  $95,88 \pm 1,09$  mg EAG/g d'extrait. Nos résultats sont largement inférieurs à cette valeur. Par contre, une étude faite par **Kacem et al. (2014)**, qui ont dosé les polyphénols totaux dans un extrait méthanolique de racines de *Thapsia garganica* L., indique une valeur de  $42,00 \pm 0,14$  mg EAG/g MS. Cette teneur reste relativement élevée par rapport à nos résultats. En outre, selon **Outroune et Ramini, (2012)**, l'extrait éthanolique des racines de *Thapsia garganica* L., est de faible concentration en polyphénols totaux, de l'ordre de  $1,20 \pm 0,10$  mg EAG/g MS, ce qui est inférieur aussi à nos résultats ( $507,79 \pm 10,104$  mg EAG/100g MS). **Djeridane et al. (2006)**, ont obtenu une teneur en composés phénoliques des parties aériennes de *Thapsia garganica* L. de  $7.63$  mg EAG/g MS, ce qui est supérieur à la valeur obtenue dans notre étude avec les racines. Une autre étude de **Djeridane et al. (2007)**, donne une valeur différente en composés phénoliques des parties aériennes de *Thapsia garganica* L. estimée à  $2,5$  mg EAG/g MS, ce qui reste aussi inférieur de nos résultats obtenus avec les racines.

Ces variations peuvent être expliquées par la variation de plusieurs facteurs à savoir :

- La différence de solvant d'extraction : Dans notre travail nous avons utilisé l'éthanol à 25% pour l'extraction. Cela montre que d'autres solvants comme l'acétone et d'autres concentrations d'éthanol pourraient être plus efficaces pour l'extraction que l'éthanol à 25%. La différence dans la polarité des solvants d'extraction semble aussi influencer la solubilité des constituants chimiques des échantillons, ainsi que le rendement d'extraction (**Sulaiman et al., 2011**). Pour une bonne extraction des composés phénoliques il est préférable d'utiliser les solvants acétoniques plutôt que le méthanol ou l'éthanol, car ils ont l'avantage de précipiter les protéines et d'extraire faiblement les sucres, ou peuvent interférer avec le Folin (**Boizot et Charpentier, 2006**).
- La région de récolte : Par exemple, **Djeridane et al. (2006)** ont récolté la plante dans le Sahara algérien en juin à Laghouat, où les conditions climatiques difficiles (températures chaudes, forte exposition solaire, sécheresse, etc.) augmentent le métabolisme phénolique de ces plantes, alors que nos échantillons ont été récoltés en région méditerranéenne, plus au Nord, et durant l'hiver (au mois de janvier 2019).
- La méthode spectrale du dosage, qui peut amener à une surestimation de la teneur en composés phénoliques totaux dans l'échantillon, et cela serait dû au chevauchement des réponses spectrales aux interférents, et au diamètre des particules de l'échantillon (**Naczk et Shahid, 2004**).
- La méthode d'extraction : Elle est l'un des facteurs importants influençant le rendement d'extraction (**Turkmen et al., 2006 ; Rached et al., 2010**), et pour le dosage des polyphénols, il est nécessaire de passer par une délipidation de l'extrait de manière à ne doser que les polyphénols, car le Folin n'est pas spécifique aux polyphénols (**Tawaha et al., 2007**).
- La partie analysée de la plante : Des évaluations sur le rendement des polyphénols de *Thapsia garganica* L. indiquent que les feuilles sont les plus riches en composés phénoliques que les racines. Cette différence peut être expliquée par la répartition des composés phénoliques qui varient d'une partie à une autre au sein de la même plante (**Macheix et al., 2005**), alors que les feuilles sont le siège principal de la synthèse de ces métabolites (**Del Rio et al., 2003**).

## IV.2.2. Activité antioxydante

### IV.2.2.1. Pouvoir réducteur

Pour nos échantillons nous constatons que l'extrait des racines de *Thapsia garganica* L. a un faible pouvoir réducteur. Cette activité a fait l'objet de plusieurs travaux :

- Une étude réalisée par **Idir et Ouadir (2012)** confirme nos résultats, en obtenant des absorbances allant de 0,01 à 0,4 nm pour les extraits des feuilles, racines et fleurs de *Thapsia garganica* L, avec des solvants d'extraction différents, où l'extrait hexatonique des racines à un pouvoir réducteur de 0.01 nm qui est la même valeur obtenue pour nos extraits .
- D'autres études faites par **Barri (2011)**, **Alghazeer et al. (2012)**, **Cheurfa et Bachagha, (2013)**, ont montré que les extraits des feuilles et des fleurs présentent une meilleure activité réductrice que l'extrait des racines.

Selon **Moreira (2008)**, les différences de pouvoir réducteur constatées entre les extraits pourraient être liées à la teneur en composés donneurs d'électrons (polyphénols), ainsi que le nombre de groupements hydroxyles des composés phénoliques et leur position spatiale contrôlant l'intensité du pouvoir réducteur (**Kranl et al., 2005**). Selon **Ozturks et al. (2006)**, le pouvoir réducteur d'un extrait permet une évaluation semi quantitative des composés participant à la réaction réductrice. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (**Huang et al., 2005**).

### IV.2.2.2. Activité antioxydante totale (TAC)

Les polyphénols sont des molécules possédant plus de deux groupements aromatiques OH (**Rock, 2003**), leur permettant de capturer et de désactiver les radicaux libres (**Lahouel et al., 2004**). L'addition d'un second OH sur le cycle aromatique augmente fortement l'activité antioxydante des acides phénoliques, particulièrement quand le second OH est en ortho ou para du premier : ortho = para > méta46 ou para > ortho > méta39 un troisième OH sur le cycle renforce également le caractère antioxydant (**Nkhili, 2009**).

D'autre part la nature des polyphénols présents dans un extrait influence leur capacité antioxydante, où la présence de composés O-diphénols (acide caféique) et des acides hydroxycinamiques et leurs esters, augment la capacité antioxydante. Par contre, la liaison glycosidique des O-diphénols diminue cette activité. Les acides hydroxycinamiques et leurs esters sont à l'origine des activités antioxydantes (**Nkhili, 2009**).

**Djeridane et al. (2010)**, ont estimé l'activité antioxydante totale de plusieurs plantes dont *T. gargania* L. La meilleure activité a été obtenue avec *Anthemis arvensis* et la plus

faible avec *Ruta montana*, classant ainsi *T. garganica* en sixième position sur les 11 plantes testées.

Il est important de noter que l'extrait éthanolique ne contient pas que les polyphénols. On trouve aussi des lipides, de la chlorophylle, etc. qui peuvent influencer négativement sur l'activité des substances antioxydantes (**Garcia Alonso et al., 2004**).

### IV.2.2.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) est largement utilisé pour étudier les activités de piégeage de plusieurs composés naturels tels que les composés phénoliques et anthocyanidines ou des mélanges bruts tels que l'extrait d'éthanol des plantes. Le radical DPPH est piégé par les antioxydants par le biais de la donation d'un proton formant le DPPH réduit (diphénylpicryl-hydrazine). La couleur passe du violet au jaune après la réduction. (**Huang et al., 2005**), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-M, 2002**).

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les extraits des racines de *Thapsia garganica* L. présentent une activité faible vis-à-vis du piégeage du radical DPPH. En effet, **Rached et al. (2010)** ont montré que les extraits des écorces des racines, et les feuilles de *Thapsia garganica* L. ont exprimé une inhibition positive du radical DPPH, mais négative pour la partie racinaire centrale. Une autre étude réalisée par **Idir et Ouadir (2012)** a montré que toutes les parties de *T. garganica* L. ont une activité anti-radicalaire très forte avec une légère différence entre les extraits organiques et aqueux, contrairement à ce que nous avons trouvé. **Chibani et al. (2014)** ont évalué l'activité anti-radicalaire des feuilles et des fleurs de *T. garganica* L. en fonction de la concentration, qui a donné des valeurs de 28,5 à 73,2% pour les fleurs et de 28,3 à 68,7% pour les feuilles. Selon (**kuda et Ikemori, 2009**), il y a une corrélation forte entre la capacité scavenger du radical DPPH et le contenu phénolique de l'extrait.

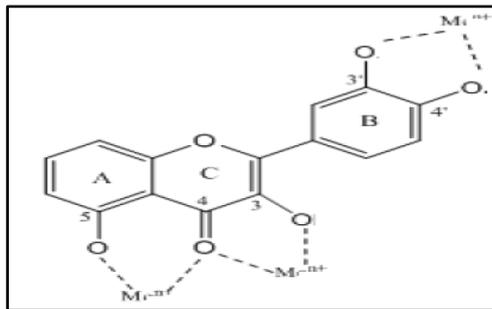
L'activité inhibitrice du radical DPPH peut être attribuée à la présence d'un groupement hydroxyle, à la structure moléculaire du composé **Dawidowies et al. (2006)**, mais aussi aux interactions existent entre les différentes formes (**Turkmen et al., 2006**). **Kang et al. (2003)** ont suggéré que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires montrent une activité anti-radicalaire élevée. Les acides cinnamiques ont une activité anti-radicalaire supérieure à celle de l'acide benzoïque correspondant (**Nkhili, 2009**).

#### IV.2.2.4. Chélation du fer ferreux

Ce résultat nous permet de constater que l'extrait éthanolique des racines de *T. garganica* L. a une très faible activité chélatrice du fer, ce qui peut être expliqué par la nature des composés qui les constituent, et par la teneur faible de notre extrait en polyphénols, cependant, des rapports indiquent que il y a pas de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité chélatrice, et ils sont pas responsables de l'activité antioxydante. **Wang et al., 2012**

Divers polyphénols sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques. La chélation des ions métalliques par les polyphénols induit typiquement un déplacement batho-chrome de leur bande d'absorption dans le domaine UV-Visible. **(Nkhili, 2009).**

Les études menées par **Van Acker et al. (1996)** sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes, ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques



**Figure 18 :** Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques ( $Mn^{+}$ ). **(Nkhili, 2009).**

Une étude réalisée par **Idir et Ouadir (2012)**, a montré que les extraits aqueux et organiques des feuilles et des racines de *T. garganica* L. sont caractérisés par une faible activité chélatrice du fer, les extraits aqueux ayant chélaté le fer avec des pourcentages supérieurs à ceux des extraits organiques car ils sont riches en flavonoïdes qui sont de bons chélateurs du fer **(Cillard et Cillard, 2006).**

#### IV.2.2.6. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que l'extrait a un pourcentage d'inhibition important. Cela serait dû à la polarité et la composition chimique de l'extrait. **Rached et al. (2010)**, ont montré que les extraits des racines de *Thapsia garganica* L. ont donné un résultat positif pour le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène.

Un extrait qui inhibe le blanchissement du  $\beta$ -carotène peut être décrit comme un piègeur des radicaux libres et comme un antioxydant primaire (**Liyana-Pathirana *et al.*, 2006**). Selon plusieurs auteurs, le test d'inhibition de l'acide linoléique couplé à celui du  $\beta$ -carotène, paraît utilisé comme un modèle mimétique de la peroxydation lipidique dans les membranes biologiques (**Ferrera *et al.*, 2006**).

### Conclusion

Dans le présent travail nous nous sommes intéressées à l'évaluation de la teneur en composés phénolique des racines de *Thapsia garganica* L. et la détermination de l'activité antioxydant de ces substances bioactives.

Les racines de *Thapsia garganica* L. présentent une fiable teneur en composés phénoliques totaux de  $507.79 \pm 10.104$  mg EAG/100g MS.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antioxydante a révélé que :

- L'extrait de *Thapsia garganica* L. n'a pas été un bon chélateur du fer.
- *Thapsia garganica* L. possède une faible activité réductrice.
- L'extrait de *Thapsia garganica* L. a une activité antioxydante totale remarquable et une activité anti-radicalaire faible.
- L'extrait de *Thapsia garganica* L. a une activité inhibitrice du  $\beta$ -carotène faible.

En perspective, il serait important

- ✓ De confirmer l'effet antioxydant *in vitro* des racines et des feuilles sur des animaux de laboratoire.
- ✓ De faire des études à l'échelle moléculaire pour déterminer, d'une part les composés de la plante *Thapsia garganica* L. et notamment en ce qui concerne l'identification et la purification des composés terpéniques (tapsigargin) qui ont un effet thérapeutique important et d'autre part, le mécanisme par lequel ces composés accomplissent leurs effets biologiques.
- ✓ D'évaluer l'activité de la plante contre les maladies telles que la bronchite, les maladies de l'appareil digestif, rhumatisme ...etc.
- ✓ De faire l'étude de la toxicité aigüe et chronique chez les rats.
- ✓ D'approfondir les constituants actifs responsables de l'activité sur une gamme de souche microbienne et d'identifier les constituants actifs responsables de l'activité bactérienne antifongique de cette espèce.

**Références bibliographiques**

**Avato A., 1991.** Essential oil of *Thapsia garganica* L. *Journal de planta medica.* **57:** 585-586.

**Ali H., Christensen S.B., Foreman J.C., Perarce F.L., Piotrowski W. & Thastrup O., 1985.** The ability of ceils involved in the inflammatory response. *British journal of pharmacology.* **85:** 705-712.

**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:** 324-335.

**Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H. & Debbache N. 2009.** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* **112:** 303-309

**Benhammou N., 2012.** Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. *Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen.*

**Blois M.S., 1958.** Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* **26:** 1199-1200.

**Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius.* **60:** 83-94.

**Bruneton J., 2005.** Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. *Tec & doc Lavoisier.* 618.

**Barri. Y., 2011.** Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxique et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica* L. *Mémoire. Université Abderrahmane Mira, Bejaïa.* 119.

**Bagchi K., & Puri S., 1998.** Free radicals and antioxidants in health and disease. *Journal de la revue de santé de la méditerranée orientale.* **4:** 350-360.

**Blandine G., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaires) ou par voie gazeuse (hyporoxie) et effet de la Glisodin. *Thèse de doctorat. Université de Joseph Fourier. Grenoble. France.*

**Boizot N. & Charpentier J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'INRA.* 79-82.

**BlàzovicsA., LugasiA., Szentmihályi K. & Kéry A., 2003.** Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum fectorum* *in vitro* and *in vivo*. *Actabiologica Szegediensis.* **47:** 99-102.

**Belkacem S. 2009.** Investigation phytochimique de la phase n-butanol de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes de *Centaurea parviflora* (Compositae). *Mémoire de magister, Univ Mentouri, Constantine*. 106.

**Cheurfa L. & Bachagha H., 2013.** Caractérisation de l'activité antioxydant des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia gargnica* L. *Mémoire de magister. Université Abderrahmane Mira, Bejaïa*, 109.

**Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.C., Pénicaud L. & Casteilla L., 2006.** Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Med SCI (paris)*. **22**: 47-53.

**Chibani S., Al-Dabbas M., Abuhamdah S., Aburjai T., Bencheraiet R., Kabouche A., Jay M. & Kabouche Z., 2014.** Flavonoids and antioxidant activity of *Thapsia garganica* L. from Algeria. *Russian journal of chemistry of Natural compound*. **50**.

**Cillard J. & Cillard P., 2006.** Mécanisme de la peroxydationlipidique et de l'anti-oxydation. *Oléagineux Corps Gras Lipides*. **13**: 24-29.

**Djeridane A., Yousfi M., Michel Brunal J. & Stock P. 2010.** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful Antioxidant from *Cleome Arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Journal of food and chemical toxicology*. **48**: 2599-2606.

**Dawidowies A., Wianwoska D. & Baraniak B., 2006.** The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucusnigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT*. **39**:308-315.

**Denmeade S.R., Mhaka A.M., Rosen D.M, Brennen WN., Dalrymple S., Dach I., Olesen C., Gurel B., Demarzo A.M., Wilding G., Carducci M.A., Dionne C.A., Møller J.V., Nissen P., Christensen S.B. & Isaacs J.T. 2012.** Engineering a prostate-specific membrane antigen-activated tumor endothelial cell prodrug for cancer therapy. *Sci Transl Med*. **140**: 86-140.

**Dinis T.C., MadeiraV.M. & Almeida L.M., 1994.** Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **315**: 161-169.

**Dujardin-Beaumetz. & Ègasse E., 1989.** Les plantes médicinales Indigènes et exotiques, leurs usages thérapeutiques, pharmaceutiques et industriels. *Octave Doin, paris*. 845.

**Djeridane A.,Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N. 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **97**: 654–660.

**Del Rio J.I., Baidez A.G., Botia J.M. & Ortuno A. 2003.** Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *phytophthora* sp. *Food chemistry*. **83**:75-78.

**Ferrerai A., Proenca C., Serralheiro M.L.M. & Araujo M.E.M. 2006.** The *in vitro* screening for acetylcholin esterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*. **108**: 31-37.

**Favier A., 2003.** Le stress oxydant (Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique). *Journal de l'actualité Chimique*. **108**.

**Foufelle F. & Fromenty B. 2016.** Role of endoplasmic reticulum stress in drug-induced toxicity. *Journal of pharma Res per*. **4**: 1-28.

**Ferruzzi M.G. & Blakeslee J. 2007.** Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*. **27**: 1-12.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdelly C. 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biologicalactivities. *C. R. Biologies*. **331**: 372-379.

**Garcia-Alonso M., Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C. & Pivas-Gonzalo J.C. 2004.** Evaluation of antioxidant properties of fruits. *Food chem*. **84**: 13-18.

**Goudable J. & Favier A. 1997.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol*. **11**: 115-120.

**Gérard-Monnier D. & Chaudière J. 1996.** Metabolisme and antioxydant function of glutathione. *Pathologie-biologie*. **44**: 77-85.

**Giudicelli., 2012.** Stress oxydant et espèce réactif de l'oxygène

**HammicheV., Merad R. & Azzouz M. 2013.** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. *Springer, paris*. 285-286.

**Hammiche V. 2014.** Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle. *Journal de phytothérapie*. **13**: 358-372.

**Horn M., Kroef V., Allmeroth K., Schuller N., Miethe S., Peifer M., Penninger J.M., Elling U. & Denzel M.S. 2018.** Unbiased compound-protein interface mapping and prediction of chemoresistance loci through forward genetics in haploid stem cells. *Journal Onco Target*. **9**: 9838-9851.

**Haleng J., Pncema J., DefraGne J.O. & Charler C. 2007.** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. **62**: 628-638.

**Halliwel B., Rafter J. & Jenner A. 2005.** Promotion de la santé par les flavonoïdes, les tocophérols, les tocotriénols et d'autres phénols : effets directs ou indirect ? Antioxydant ou pas ? *Journal américain de nutrition clinique*. 81: 268-276.

**Huang D.J., Chen H J., Lin C D. & Lin Y.H. 2005.** Antioxydant and anti-proliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatic* Forsk) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 46: 99-106.

**Idir N. & Ouadir k. 2012.** Etude de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* (la thapsie). *Mémoire de magister. Université Abderrahmane Mira, Bejaïa.* 85.

**Ibrahim A.M., Martinez-Swatson k.A., Benkaci-Ali F., Cozzi F., zoulikha F. & Simonsen H.T. 2018.** Effets de l'irradiation aux rayons gamma et de la comparaison de différentes méthodes d'extraction sur les rendements en lactone sesquiterpénique de la plantes *thapsia garganica* L. (Apiaceae). *Journal de recherche appliquée sur les plantes médicinales et aromatiques.* 8: 26-32.

**Irshad M. & Chaudhuri P.S. 2002.** Oxydant-antioxydant system: role and significance in human body. *Indien journal of experimental biology.* 40: 1233-1239.

**Jabrane A., Jannet H.B., Harzallah-Skhiri F., Mastouri M., Casanova J., & Mighri Z. 2009.** Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *Maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and <sup>13</sup>C- NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial. In **Noui A., 2018.** Etude phytochimique et évaluation des activités biologique de la plante *Daucus muricatus*. Thèse doctorat. Université des Freres Mentouri, Constantine. 104.

**Kranl K., Schlesier K., Bitsch R; Hermann H., Rohe M. & Bohm V. 2005.** Comparing ant-oxidative food additives and secondary plant products-use of different assays. *Food chemistry.* 93: 171-175.

**Kang D.G., Yun C.K. & lee H.S. 2003.** Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of ethnopharmacology.* 87: 231-236.

**kadda H., Mébarki M., Hartani A., Benabdesslem Y. & Kaid-Harche M. 2017.** Essential oil composition of the root bark of *Thapsia garganica* L. growing in northwestern Algeria. *Journal of Essential oil bearing plants.*

**koehlin-Ramontaxo.C., 2006.** Oxygène, stress oxydant et supplémentation antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Journal de nutrition clinique et métabolisme.* 20: 165-177.

**Karou D., Dicko M.H., Simpore J. & Traore A.S. 2005.** Antioxydant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology.* 4: 823-828.

**Lariushin B.** 2012. Apiaceae Family volume 1. *Lulu.com*.

**Liu H., Olsen CE. & S-Brogger C.H.** 2004. Lipids captifs de *Thapsia garganica* L. *Journal de naturel products*. **67**: 1439-1440.

**Liu H., Jensen K.G., Tran L.M., Chen M., Zhai L; Olsen C.E., SØhoel H., Denmeade R., Isaacs T. & S. B Christensen.** 2006. Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica* L. *Journal de Photochemistry*. **67**: 2651–2658.

**Lytton J., Westlin M. & R-Hanley M.** 1991. La thapsigargine inhibe la famille Ca-ATPase des pompes à calcium du reticulum sarcoplasmique ou endoplasmique. *Journal of Biological chemistry*. **266**: 17067-17071.

**Lahouel M., Boulkour S., Segueni N. & fillastre J.P.** 2004. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie biologie* **52**: 314-322.

**Liyana-Pathirana C.M. & Shahidi F.** 2006. Antioxydant proprieties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticumaestivium* L.) and their milling fractions. *Journal of the science of food and agriculture*. **86**: 477-485.

**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.

**Matés J.M., Perez-Gomez C. & Castro I.N.** 1999. Antioxidants enzyme and human diseases. *Clinical biochemistry*. **32**: 595-603.

**Mandel S., Yadav S.A., Yadav S.U. & Nema R.K.** 2009. Antioxidant: A review. *Journal of chemical and pharmaceutical research*. **1**: 102-104.

**Macheix J.J., fleuriet A. & Jay-Allemand C.** 2005. Les Composés Phénoliques des végétaux. *Press Polytechniques ET Universitaires Romandes*.

**Moreira L., Dias L.J., Pereira J.A. & Estevinho L.** 2008. Antioxydant properties, total phenol and pollen analysis of proplis samples from Portugal. *Food and chemical toxicology*. **46**:3482-3485.

**Mohamed A.A., Khalil A.A. & El-beltagi H.E S.** 2009. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum Palm (*Hyphaene thebaica*) cultivated in Egypt. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. **2**: 71-79.

**Naczk M. & Shahid F.** 2004. Extraction and analysis of phenolics in foods. *Journal of chromatograph*. **1054**: 95-111.

**Nkhili EZ-Z. 2009.** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec lésions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. *Thèse doctorat. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, Montpellier.* 378.

**Nelson M.N. & Stolz B.M. 2007.** Progress toward the Synthesis of the Basiliolides and Transtaganolides: An Intramolecular Pyrone Diels-Alder Entry into a Novel Class of Natural Products. *Organic Letters.* 3-7.

**O'Leary K.A., Day A.J., Needs P.W., Sly W.S., O'Brien N.M. & Gray. 2001.** Les glucuronides flavonoïdes sont des substrats de la  $\beta$ -glucuronidase hépatique. *Lettres FEBS.* **503** :103-106.

**Outroune S. & Ramini Z. 2012.** Détermination de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Thapsia garganica*. *Mémoire de magister. Université Abderrahmane Mira, Bejaïa.* 55.

**Ozturks M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M.E. & Topçu G. 2006.** Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. *Food chemistry.* **103**: 623-630.

**Oyaizu M. 1986.** Studies on products of browning reaction: ant-oxidative activity of products of browning reaction. *Japanese Journal of Nutrition.* **44**: 307-315.

**Pham-Huy L.A. & Phm-HUY C. 2008.** Free radicals, antioxidants, disease, and health. *International journal of biomedical science.* **4**: 89-96.

**Pincemail J., Bonjean K., Cayeux k. & Defraigne J.O. 2002.** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme.* **16** :233-239.

**Pasquier C. 1995.** Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires.* **276**: 87 - 92.

**Prieto P., Pineda M. & Aguilar M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry.* **269**: 337-341.

**QuyhnhDoan N.T. & Christensen S.B. 2015.** Thapsigargine, origine, chimie, relation structure-activité et développement de pro-médicament. *Journal de conception pharmaceutique actuelle.* **21**: 5501-5517.

**Roques J. 1835.** Phytographiemédicale, histoire des substances héroïques et des poisons tirés du règne végétal, 2. *G Carmon et Blanc, Barcelona.* 560.

**Ried M.B. & Y-P L.I. 2001.** Cytokines and oxidative signaling in skeletal muscle. *Actaphysiol scand.* **171**: 225-232.

**Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K. & kumar M.N.V.R. 2006.** Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*. **113**: 189-207.

**Rock. E. 2003.** Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra-CRNH, unité des maladies métabolique et micronutriment 63122 ST Genés Champanelle. *Université d'été de nutrition Clermont Ferrand*. 37-42.

**Rein D., Lotito S., Holt R. R., Keen L.C., Schmitz H.H. & Cesar G. 2000.** Epicathéchine dans le plasma humain : détermination in vivo de chocolat sur l'état d'oxydation plasmatique. *The journal of nutrition*. **130**: 2109-2114.

**Rached W., Benamar H., Bennaceur M. & Marouf. 2010.** Screening of the Antioxidant Potential of Some Algerian Indigenous Plants. *Journal of Biological Sciences*. **10**: 316-324.

**Sun T. & Ho C.T. 2005.** Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem*. **90**: 743-749.

**Smitt U.W., Jager A.K., Adsersen A. & Gudiksen L. 1995.** Etude comparatives en phytochimie et anatomie du fruit chez *Thapsia garganica* L. et *T. transtagana*, Apiaceae (umbelliferae). *Journal of Botanique de la société linnéenne*. **117**: 281-292.

**Sen S., Chakraborty R., Sridhar C., Reddy Y.S.R. & Biplab D.E. 2010.** Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*. **3**: 91-100.

**Sulaiman S.F., Sajak A.A.B., Ooi K.L. & Seow M. 2011.** Effet des solvants sur l'extraction de polyphénols et d'antioxydants de certains légumes crus. *Journal of Food composition and analysis*. **24**: 506-515.

**Sanchez-Moreno. C. 2002.** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food. Sci. Tech. Int*. **8**: 121-137.

**Sanchez-M. 2002.** Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International* **8**: 121.

**Singleton V.L. & Rossi J.A. 1965.** Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. **16**:144-158.

**Takemura H., Hughes A.R., Thastrup O. & Putney J.W. 1989.** Activation of calcium entry by the tumor promoter thapsigargin in parotid acinar cells. Evidence that an intracellular calcium pool and not an inositol phosphate regulator. *Journal of Biological chemistry*. **264**: 12266-12271.

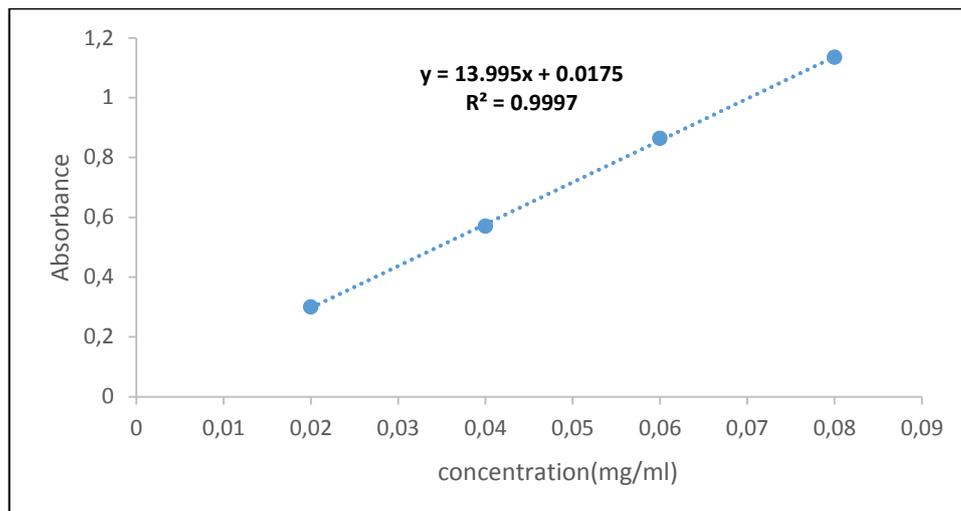
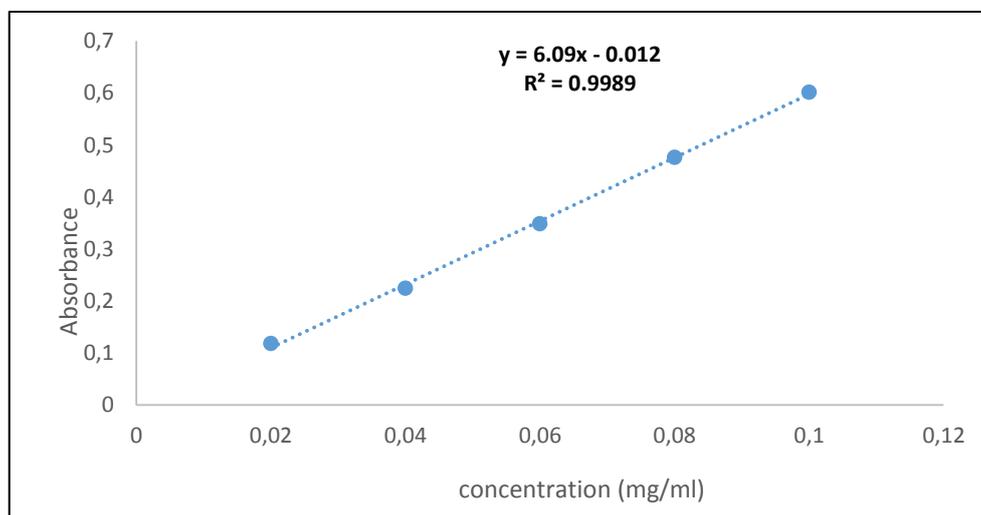
**Turkmen N., Sari F. & Velioglu Y.S. 2006.** Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*. **99**: 835-841.

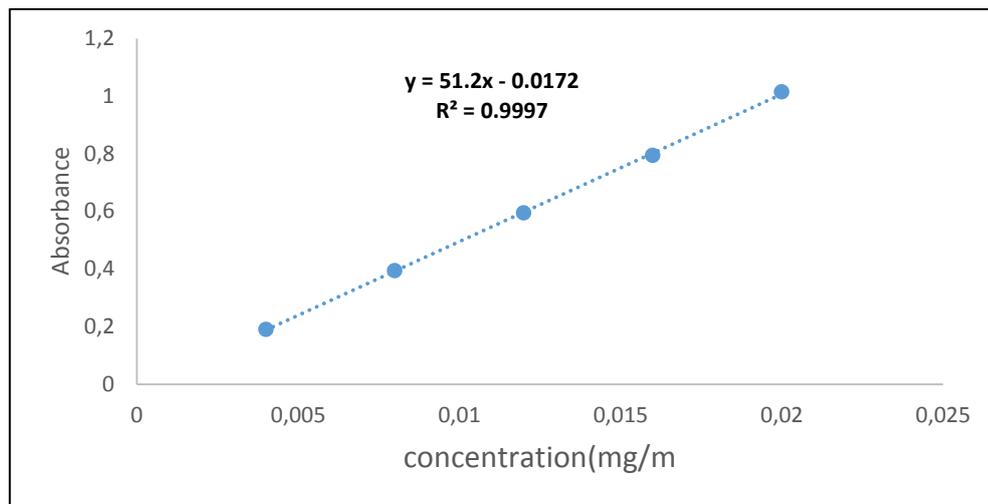
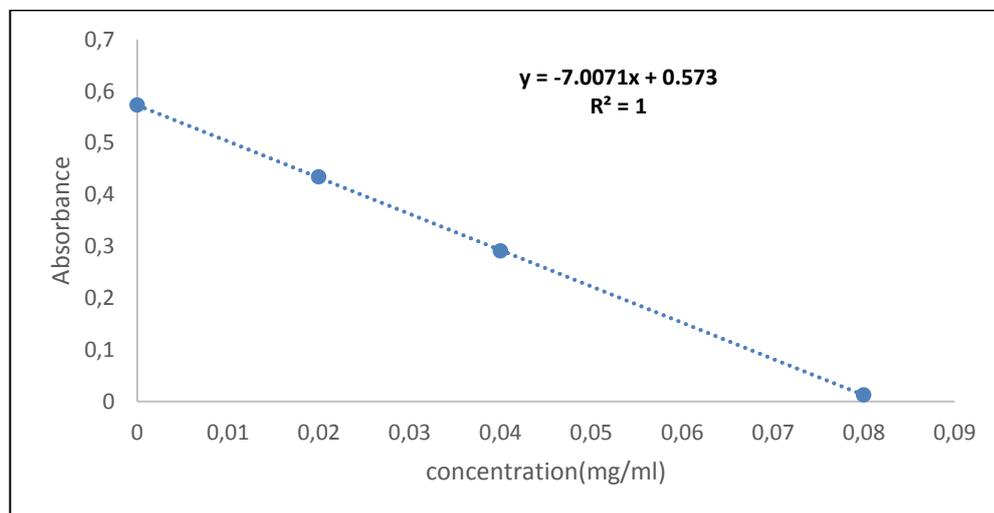
**Tawaha k., Alali F., Gharaibeh M., Mohammad M. & El-Elimat T. 2007.** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*. **104**:1372-1378.

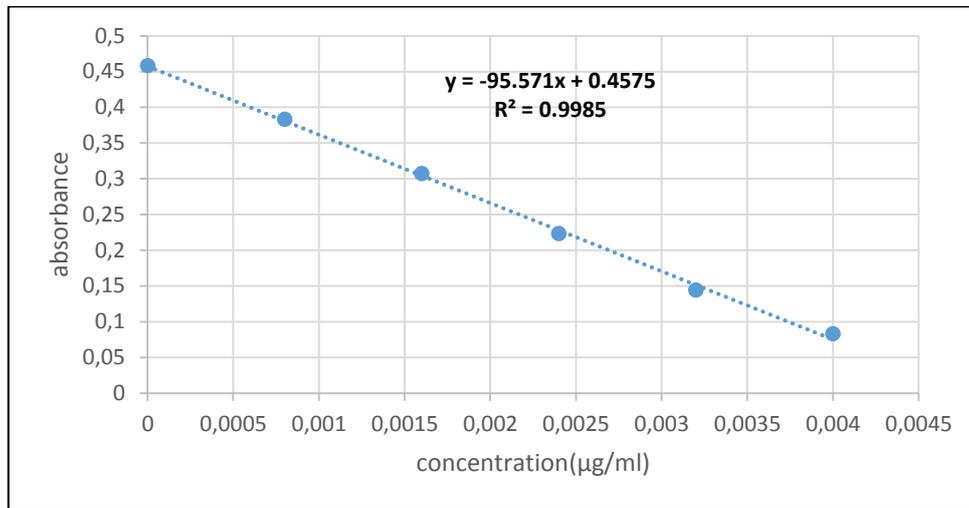
**Unten L., Koketsu M. & Kim M. 1997.** Antidiscoloring Activity of Green Tea Polyphenols on  $\beta$ -Carotene. *J. Agric. Food Chem.* **45**: 2009–2012

**Vercauteren J. & Chèze C. 1998.** Polyphénols 96 : 18<sup>ème</sup> conférence internationale sur les polyphénols, Bordeaux. france. 289.

**Vallierd A. 1895.** Journal de pharmacie et de chimie. *Librairie de Louis Colas, paris*. 316-317.

**Annexe 1** : Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul de teneur en phénols totaux**Figure01** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux ( $\lambda=765$ ).**Annexe 2** : Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul l'activité antioxydant totale (TAC)**Figure 02** : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le calcul de l'activité antioxydant totale ( $\lambda=695$ ).

**Annexe 3** : Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul du pouvoir réducteur**Figure 03** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le calcul de l'activité réductrice ( $\lambda=700$ )**Annexe 4** : Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul l'activité chélatrice de fer**Figure 04** : Courbe d'étalonnage de l'EDTA pour le calcul de l'activité chélatrice du fer ( $\lambda=562$ ).

**Annexe 5** : Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul l'activité anti-radicalaire

**Figure05** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le calcul de l'activité anti-radicalaire ( $\lambda = 517$ ).

*Thapsia garganica* L هي نبتة من عائلة Apiacées واسعة الانتشار في الجزائر خصائصها الدوائية ناتجة عن ثرائها بالمواد الفعالة. تلعب مضادات الأكسدة دوراً أساسياً في القضاء على الفائض السام لأنواع الأوكسجين التفاعلية التي تسبب الأمراض التنفسية المختلفة. لذلك، كنا مهتمين بتقييم نشاط مضادات الأكسدة للمركبات الفينولية المستخرجة من نبتة طبية محلية *Thapsia garganica* L، أولاً، قمنا بمعايرة المركبات الفينولية، ثم قياس نشاط مضادات الأكسدة في مستخلصات جذور *Thapsia garganica* L وذلك عن طريق إجراء ستة اختبارات: النشاط المضاد للأكسدة الإجمالي، القدرة على إرجاع الحديد، نشاط محاصرة الجذر الحر DPPH، عملية إزالة المعدن الثقيل، اختبار تثبيط بيروكسيد الهيدروجين واختبار تبييض  $\beta$  Caroténe، كشفت النتائج التجريبية أن مستخلصات جذور *Thapsia garganica* L لديها محتوى الفينول الإجمالي يساوي  $507.79 \pm 10.104$  mg EAG / 100g MS، النشاط المضاد للأكسدة الإجمالي يساوي  $1809,243 \pm 105,708$  mg EAG / 100g MS، القدرة على إرجاع الحديد  $110,777 \pm 11,976$  mg EAG / 100g MS، نشاط محاصرة الجذر الحر  $17,677 \pm 1,355$  mg EAG / 100g MS، عملية إزالة المعدن الثقيل  $95.633 \pm 15.3$  mg EAG / 100 g MS، اختبار تثبيط بيروكسيد الهيدروجين  $29.603 \pm 4.1$  و اختبار تبييض  $83.889 \% \pm 7.4$ .  $\beta$ carotene

الكلمات المفتاحية: *Thapsia garganica*, المركبات الفينولية, مضادات الاكسدة

## Résumé

*Thapsia garganica* L. est une plante de la famille des Apiacées, largement répandue en Algérie. Ses multiples effets pharmacologiques sont dus à sa richesse en substances actives. Les antioxydants jouent un rôle fondamental dans l'élimination de l'excès toxique en espèces réactives de l'oxygène à l'origine de diverses maladies dégénératives. Par conséquent, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques extraits à partir de cette plante médicinale locale. D'abord, nous avons effectué le dosage des composés phénoliques, puis la mesure de l'activité antioxydante des extraits des racines de *Thapsia garganica* L. en réalisant six tests : l'activité antioxydante totale, le pouvoir réducteur, l'activité scavenger du radical DPPH, l'activité chélatrice du fer, le test d'inhibition du peroxyde d'hydrogène et le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène. Les résultats expérimentaux ont révélé que les extraits des racines de *Thapsia garganica* L., ont une teneur en composés phénoliques totaux de  $507,79 \pm 10,104$  mg EAG/100g MS. L'activité antioxydante totale est de  $1809,243 \pm 105,708$  mg EAG/100g MS, le pouvoir réducteur est de  $110,777 \pm 11,976$  mg EAG/100g MS, l'activité scavenger du radical DPPH de  $17,677 \pm 1,355$  mg EAG/100g MS. En outre, l'activité chélatrice du fer est de  $95,633 \pm 15,3$  mg EAG/100g MS, le test d'inhibition du peroxyde d'hydrogène a donné  $29,603 \% \pm 4,1$  et le test de blanchissement du  $\beta$  carotène est de  $83,889 \% \pm 7,4$ ).

**Mots clés :** *Thapsia garganica* L, Apiacées, Activité antioxydante, DPPH, Effet scavenger, Peroxyde d'hydrogène,  $\beta$ -carotène, Polyphénols totaux.

## Summary

*Thapsia garganica* L. is a plant of the Apiaceae Family, widely distributed in Algeria. Its multiple pharmacological effects are due to its richness in active substances. Antioxidants have a fundamental role in eliminating the toxic excess of reactive oxygen species that causes various degenerative diseases. Therefore, we were interested in evaluating the antioxidant activity of total phenolic compounds extracted from this local medicinal plant, *Thapsia garganica* L. First, we performed the determination of phenolic compounds, then measuring the antioxidant activity of the extracts of the roots of *Thapsia garganica* L. by carrying out six tests: the total antioxidant activity, reducing power, the scavenger activity of the radical DPPH, the chelating activity of the iron, the test of inhibition of hydrogen peroxide and  $\beta$ -carotene bleaching test. Experimental results revealed that the extracts of the roots of *Thapsia garganica* L., have a total phenolic compounds content  $507.79 \pm 10.104$  mg EAG / 100g MS. The total antioxidant activity is  $1809,243 \pm 105,708$  mg EAG / 100g MS, the reducing power is  $110,777 \pm 11,976$  mg EAG / 100g MS, scavenger activity of the radical DPPH of  $17,677 \pm 1,355$  mg EAG / 100g MS. In addition, the iron chelating activity was  $95.633 \pm 15.3$  mg EAG / 100 g MS, the hydrogen peroxide inhibition test yielded  $29.603 \pm 4.1$  and the  $\beta$ -carotene bleaching test  $83.889 \% \pm 7.4$ .

**Key words:** *Thapsia garganica* L., Apiaceae, Total phenolic compounds, Antioxidant activity, Scavenger effect, DPPH.