



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministre De L'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

جامعة البشير الإبراهيمي برج بو عريريج

Université De Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة و علوم الأرض و الكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département Des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Qualité Des Produits Et Sécurité Alimentaire

Thème :

Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant, et des activités antimicrobienne et anti inflammatoire de l'extrait de *Thapsia garganica* L.

Présenté par : Seoud Omayma

Touahria Kaouthar

Soutenu le 7/7/2022 Devant le jury :

Président	BENYOUCEF Nabil.	MCB	(Univ BBA)
Encadrant	HIHAT Soraya.	MAA	(Univ BBA)
Examineur	BENBOUGUERRA Nawel.	MAB	(Univ BBA)

Année universitaire : 2021/2022.

Remerciements

Nous remercions d'abord le bon dieu d'avoir toujours été à coté de nous,
pour nous avoir donné la force et la patience.

Nos sincères remerciements pour le Dr. BENYOUCEF Nabil d'avoir
accepté de présider le jury d'examen de ce mémoire.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent à M^{me} HIHAT Soraya qui nous
a accordée l'honneur de diriger ce travail, pour la qualité de son encadrement, son
exactitude, elle nous a orienté vers le succès avec ses connaissances et pour ses
encouragements tout au long notre travail, et Dr. BENBOUGUERRA Nawel d'avoir
acceptée d'évaluer ce travail.

Un grand merci aux ingénieurs des laboratoires de l'université de B.B.A
pour leurs accueils, leurs sympathies et leurs idées.

Nous exprimons, enfin et surtout, nos plus profonde gratitude à tout nos familles, qui
ont su nous faire confiance et nous soutenir en toutes circonstances, ainsi qu'à toute nos
proches amis qui nous ont toujours soutenues et encouragées même dans les périodes les plus
difficiles.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents pour les efforts et les sacrifices faites pour moi

À toute ma famille élargie grands et petits

À mes amies et mes collègues

À tous les étudiants de la promotion master 2022

Omayma / Kaouthar

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre I Généralités sur <i>Thapsia garganica L.</i>	3
I.1. La famille des Apiacées	3
I.2. <i>Thapsia garganica L.</i>	3
<i>I.2.1. Taxonomie</i>	3
<i>I.2.2. Noms vernaculaires</i>	4
<i>I.2.3. Description</i>	4
<i>I.2.4. Distribution</i>	4
I.3. Utilisation en médecine traditionnelle et moderne	5
I.4. Toxicité	5
Chapitre II : Matériel et méthodes	7
II.1. Préparation du matériel végétal	7
II.2. Détermination de la teneur en eau du matériel végétal	8
II.3. Extraction des composés phénoliques des fractions	8
II.4. Taux d'extraction	9
II.5. Dosage des composés phénoliques	10
<i>II.5.1. Dosage des polyphénols totaux</i>	10
<i>II.5.2. Dosage des flavonoïdes</i>	10
II.6. Activités anti-oxydantes	11
<i>II.6.1. Piégeage du radical libre DPPH</i>	11
II.7. Activité antimicrobienne	12
<i>II.7.1. Pouvoir antimicrobien de l'extrait de <i>Thapsia garganica L.</i></i>	12
<i>II.7.2. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>Thapsia garganica L.</i></i>	12
<i>II.7.3. Activité antifongique</i>	13

II.8. Activité anti-inflammatoire in-vitro	15
II.9. Analyse statistique	16
Chapitre III Résultats et discussion	17
III.1. Rendement d'extraction	17
III.2. Teneur en eau	18
III.3. Dosage des polyphénols	18
III.4. Dosage des flavonoïdes	20
III.5. Etude de l'activité anti-radicalaire par le test au DPPH	21
III.6. Résultats des tests microbiologiques	22
<i>III.6.1. Pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique</i>	23
<i>III.6.2. Activité antifongique de l'extrait méthanolique des racines de Thapsia garganica L.</i>	27
III.7. Activité anti-inflammatoire In vitro de <i>Thapsia garganica L.</i> (Inhibition de la dénaturation des protéines)	29
Conclusion	31
Liste des références bibliographiques	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau I: Classification botanique de <i>Thapsia garganica</i> L. (Tropicos, 2015).....	4
Tableau II : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Thapsia garganica</i> L. .	19
Tableau III: Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Thapsia garganica</i> L.	20
Tableau IV: Activité antibactérienne des antibiotiques (Gentamicine, Erythromycine) sur les bactéries testés. (Diamètre des zones d'inhibition en mm).....	24
Tableau V : Antibiogramme des germes étudiés <i>Micrococcus luteus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur <i>Thapsia garganica</i> L. (Diamètre de la zone d'inhibition en mm).....	25
Tableau VI: Diamètres des zones d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait sur la souche fongique testée.	28

Liste des figures

Figure 1 : Photographie montrant la plante de <i>Thapsia garganica L.</i>	3
Figure 2 : Photographies montrant les tiges, les feuilles, les racines de <i>Thapsia garganica L.</i>	4
Figure 3 : Différentes étapes de la préparation de la poudre et des extraits de <i>Thapsia garganica L.</i>	7
Figure 4 : Diagramme décrivant l'extraction par les solvants organiques de la partie souterraine de <i>Thapsia garganica L.</i> (Cox <i>et al.</i> , 2010).....	9
Figure 5 : Diagramme décrivant les principales étapes pour le dosage des polyphénols (Georgé <i>et al.</i> , 2005).....	10
Figure 6 : Diagramme décrivant les principales étapes pour le dosage des flavonoïdes (Bahorun <i>et al.</i> , 1996).....	11
Figure 7 : Réaction du test DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) (Brand-William <i>et al.</i> , 1995).....	11
Figure 8 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité du radical libre DPPH. (Blois, 1958).	12
Figure 9 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro (Alhakmani <i>et al.</i> , 2013).....	16
Figure 10 : Teneurs en résidus secs obtenus par les différents solvants.	17
Figure 11 : Teneur en eau des racines de <i>Thapsia garganica L.</i>	18
Figure 12 : Photographie des zones d'inhibitions obtenus par l'extrait méthanolique de <i>Thapsia garganica L.</i> à différentes concentrations vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (A)100mg/ml, (B)50mg/ml, (C)25 mg/ml, (D)12,5 mg/ml et <i>Micrococcus luteus</i> (E)100 mg/ml, (F) 50mg/ml, (G)25mg/ml, (H)12,5mg/ml.	23
Figure 13 : Photographie des diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés (Gentamicine, Erythromycine) contre <i>Micrococcus et Pseudomonas.</i>	24
Figure 14 : L'effet de l'extrait de <i>Thapsia garganica</i> et le méthanol sur la croissance mycélienne du FOS.....	27
Figure 15 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'extrait et le standard (Diclofénac sodique).....	30

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

% : Pourcentage

Abs : Absorbance

Ac : Absorbance de contrôle.

AcEt : Extrait d'acétate d'éthyle

Ae : Absorbance de l'essai.

BSA : Albumine de sérum bovin

D : zones d'inhibition

DPPH : 2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl

ED : Eau distillé

FOS : *Fusarium oxysporum*

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

Mg EAG/g Ps : Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait

Mg EQ/g Ps : Milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait

MS : Matière sèche

Nm : Nanomètre

PCA : Plate Count Agar

PDA : Dextrosée à la pomme de terre

TCA : Acide trichloracétique

UFC/ml : Ultimate Fighting Championship par Milliliter

Introduction

Ces derniers temps, les médicaments de synthèse n'arrivent plus à résoudre les problèmes de santé sans altérer d'autres fonctions saines de l'organisme. Pour cette raison, les chercheurs conduits à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en recherche de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. L'Algérie est un pays très riche en plantes médicinales qui poussent généralement à l'état spontané (**Baba Aïssa, 1991**).

Pendant des siècles, l'homme utilise les plantes médicinales comme remèdes pour les maladies, et pour les besoins nutritionnels et sont la source majeure de drogues grâce à leurs richesses en composés naturels bioactifs. Parmi ces molécules, les polyphénols, constituent l'une des principales classes de métabolites secondaires. Les composés phénoliques suscitent un grand intérêt car ils possèdent un large éventail d'activités biologiques (antibactérienne, anti cancérigène, anti inflammatoire, anti oxydante, etc.) (**Psotová et al., 2003**).

Thapsia garganica L. est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. C'est une plante méditerranéenne de la famille des Apiacées, très utilisées en médecine traditionnelle car elle renferme plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, considérée comme spécifique pour le traitement de la douleur rhumatoïdes, les maladies respiratoires, le stress, et l'inflammation en vue de ses propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, anti oxydantes, elle est testée actuellement avec de bons résultats contre le cancer de la prostate, du sein et du foie, et largement utilisée dans la confection des médicaments (**Wasta, 2012**).

Dans le cadre de la connaissance et la valorisation des produits naturels d'origine végétale de notre pays. Nous procéderons à l'étude de l'espèce *Thapsia garganica* (famille d'Apiacées).

Le choix de cette plante est basé sur les critères suivants:

- Plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, comme remède contre les rhumatismes et contre les douleurs de sciatique (**Makunga et al., 2003**).
- Très répandue en Algérie et notamment dans la région de la Kabylie et de Laghouat.

Le présent manuscrit (mémoire) :

Le premier chapitre, sera consacré à la revue bibliographique des connaissances concernant *Thapsia garganica* L. Ses principaux métabolites, ses usages traditionnels et activités biologiques.

Le deuxième chapitre sera destiné au travail expérimental : Matériel et méthodes utilisés dans ce travail qui porte sur :

- Extraction des composés phénoliques de *Thapsia garganica*.
- Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et détermination de l'activité anti oxydante de l'espèce étudiée.
- Mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica* L.
- Evaluation de l'activité anti inflammatoire *In vitro* de l'extrait.

Alors que le troisième chapitre, est consacré à la présentation des résultats obtenus avec leurs discussions.

Synthèse bibliographique

Chapitre I Généralités sur *Thapsia garganica L.*

I.1. La famille des Apiacées

La famille des Apiacées (Apiaceae), appelées aussi Ombellifères (Umbelliferae). La famille des Apiacées est une famille de plantes appartenant à la classe des Magnoliopsida. Comportant 434 genres et environ 3700 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 (Alkhatib, 2010).

I.2. *Thapsia garganica L.*

Thapsia est un genre de plantes à fleurs avec 41 espèces, appartenant à la famille des Apiacées. Les plantes du genre *Thapsia* sont des plantes herbacées vivaces, Ils sont originaires d'Afrique, d'Asie et d'Europe, distribuées sur le pourtour méditerranéen, sur la péninsule hispanique et en Afrique du nord principalement (Pujadas-Salvaà et Plaza-Arregui, 2003).



Figure 1: Photographie montrant la plante de *Thapsia garganica L.*

I.2.1. Taxonomie

La systématique botanique permet de classer *Thapsia garganica L.* (**Tableau 1**) après une consultation le 14 juillet 2015 par **Tropicos** dans une base de donnée de taxonomie des espèces (**Tropicos, 2015**).

Tableau I: Classification botanique de *Thapsia garganica L.* (Tropicos, 2015).

Règne	Plantae
Classe	Equisetopsida
Sous- classe	Magnoliidae
Super- Ordre	Asteranae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Thapsia
Espèce	<i>Thapsia garganica L.</i>

1.2.2. Noms vernaculaires

Nom scientifique : *Thapsia garganica*.

Nom commun : Tapisia, درياس , بونافع (Hammiche *et al.*, 2013).

1.2.3. Description

Thapsia garganica est une plante herbacée vivace à une tige striée, glabre, ramifiée dans sa partie supérieure ; les tiges sont à entre-nœuds souvent creux, pouvant atteindre 1,50 mètre de haut. Les feuilles sont vertes, glabres, alternes, composées, pennées, palmées ou simples. La racine est volumineuse en forme de rhizomes, noir à l'extérieur, blanche à l'intérieur. L'inflorescence est une grande ombelle composée de 15 à 20 rayons, portant des fleurs jaunes. Les fruits sont ovales, atteignant plus de 2 cm de long (Pujadas-Salvaà et Plaza-Arregui, 2003).



(A)



(B)



(C)

Figure 2 : Photographies montrant les tiges, les feuilles, les racines de *Thapsia garganica L.*

1.2.4. Distribution

Thapsia garganica L. est une espèce répandue dans le bassin méditerranéen, qui a pour habitat le bord des routes et les champs. Elle pousse spontanément dans le bassin méditerranéen (Andersen *et al.*, 2015).

I.3. Utilisation en médecine traditionnelle et moderne

Thapsia garganica L. est une plante médicinale répandue dans la thérapeutique traditionnelle. Elle est connue par les Berbères et les Arabes dans le traitement des pathologies pulmonaires. Sa préparation est particulière : pour « l'engraissement », elle est préparée sous forme d'une pâte absorbée. Elle est indiquée contre les douleurs et les problèmes pulmonaires, les éleveurs utilisent la racine qui est préparée souvent avec de l'huile pour frotter la partie malade du corps (**Hammiche et al., 2013**).

Elle est connue pour ses effets diurétiques, émétiques et purgatifs. La plante a été utilisée dans le traitement pour soulager les douleurs rhumatoïdes comme anti-irritant (**Ali et al., 1985**).

Les racines sont utilisées pour traiter les toux et bronchites rebelles ainsi que la stérilité féminine. On l'utilise aussi les racines, mélangés avec la farine et du son, en cataplasmes, contre les morsures d'animaux venimeux ou enragés (**Bammi et Douira, 2002**).

Hakii et al. (1986) ont identifiés le thapsigargin comme non-ATP instigateur de tumeur dû à sa capacité d'inhiber le deuxième stade de carcinogenèse par l'intermédiaire d'un mécanisme qui ne fait pas impliquer directement l'activité de la protéine kinase C (**Makunga et al., 2003**).

Aussi des études ont montré que thapsigargin et ses analogues induisent l'apoptose (mort cellulaire programmée) des cellules cancéreuses humaines et sont actuellement développées comme des agents thérapeutiques pour le traitement du cancer (**Makunga et al., 2003**).

Hammiche et al. (2013) rapporte divers usages alimentaires de *Thapsia garganica L.* en Kabylie : les bulbes mis à bouillir servent à préparer un mets typique pour la célébration du 1er jour du printemps berbère : le couscous au *Thapsia* ou seksou uderyis.

Le couscous seul est consommé (et pas les bulbes) pour ses vertus digestives et tonifiantes. Le même auteur ajoute d'autres emplois de la thapsie : en usage externe, le bulbe trempé dans de l'huile d'olives et à masser les mamelles des animaux pour son effet galactogène. La thapsie a également la propriété de "gonfler" la peau, ainsi les vendeurs de bétail malhonnêtes en frottent leurs animaux avant de les vendre.

I.4. Toxicité

Dans les cas de la région de Djelfa qui nous ont été rapportés, notamment à Birine, les moutons ont consommé des graines séchées de *Thapsia*. Au début, ils ont présenté des signes d'hyperexcitabilité avec des tremblements, puis de l'abattement et de la prostration.

Après une phase de paralysie, ils sont entrés dans le coma. Des signes de gastro-entérite et d'hématurie ont été notés. Cette intoxication a affecté environ 5 à 10% des animaux du troupeau, notamment les brebis et surtout les agneaux.

Les mâles adultes, engraisés dans d'autres enclos, n'ont pas été concernés par l'intoxication. Les brebis se sont rétablies après une longue convalescence alors que les conséquences de cet empoisonnement sur les agneaux ont été très importantes avec un taux de mortalités de 100% les lésions observées correspondaient.

Le contact avec cette plante provoque des éruptions sur le corps, accompagnées de fièvre (**Rached, 2010**).

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Préparation du matériel végétal

La plante de *Thapsia garganica* a été collectée au mois de Mars où la plante est bien développée dans la région de Attallah (Willaya de Bejaia) après la récolte de la partie souterraine, et a été bien lavée à l'aide d'une brosse, et puis séchée à l'étuve à 40°C pendant 2 jours et ensuite broyée à l'aide d'un broyeur électrique. Et enfin tamisée par un tamiseur de 200 µm jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.



Figure 3 : Différentes étapes de la préparation de la poudre et des extraits de *Thapsia garganica* L.

II.2. Détermination de la teneur en eau du matériel végétal

- **Principe de la méthode**

La teneur en eau de la racine a été déterminée selon la méthode d'**Amadou, (2004)**, qui consiste à la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve $103 \pm 2^\circ\text{C}$. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$H(\%) = (M1 - M2) / M1 \times 100$$

H % = Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M1= Poids de l'échantillon en gramme avant le séchage (plante fraîche).

M2= Poids de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

II.3. Extraction des composés phénoliques des fractions

Au cours de cette étude, et afin de solubiliser un maximum de composés, trois solvants de polarités différentes (hexane, acétate d'éthyle et méthanol) sont employés.

Avant l'utilisation d'un nouveau solvant, le matériel végétal doit être séché du solvant précédent. Après la filtration, les extraits ont été concentrés sous vide à 45°C . Après la concentration, les extraits ont été séchés à l'étuve, on a obtenus 3 extraits bruts fractionnés.

- **Principe d'extraction**

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans cette plante en utilisant des solvants organiques.

• **Protocole de l'extraction**

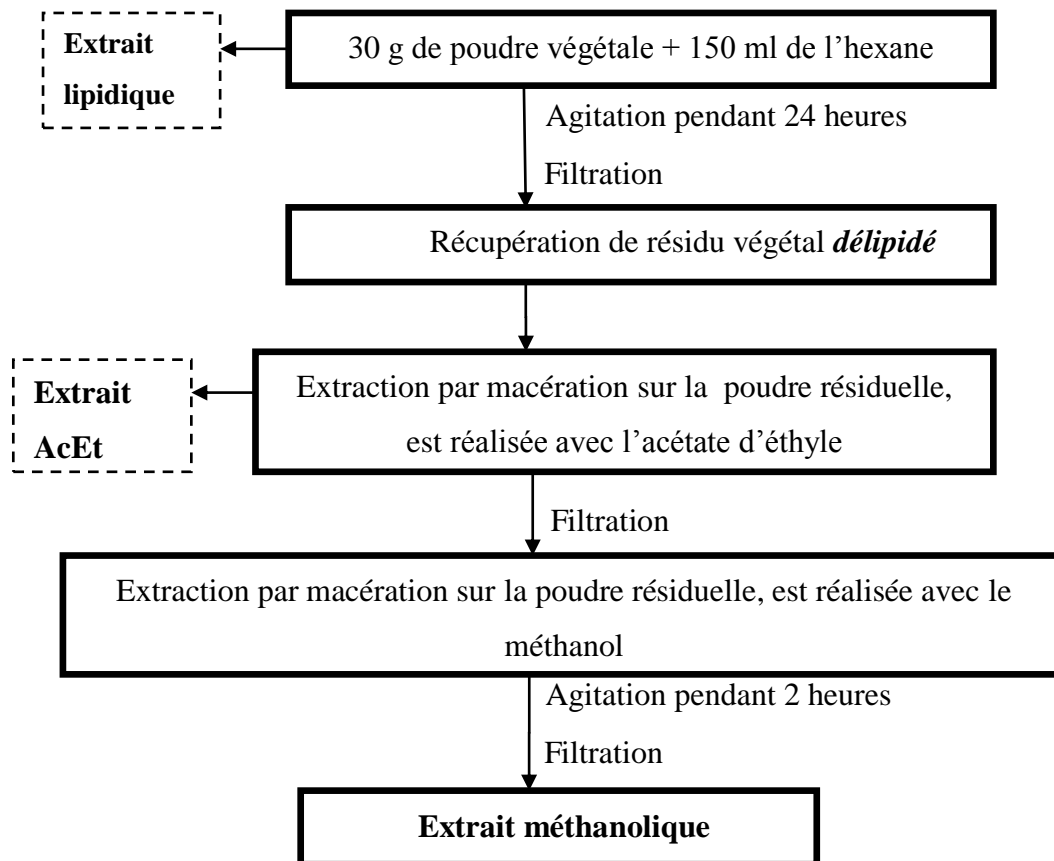


Figure 4 : Diagramme décrivant l'extraction par les solvants organiques de la partie souterraine de *Thapsia garganica L.* (Cox *et al.*, 2010).

II.4. Taux d'extraction

Pour la partie souterraine de la plante (Racines), le taux d'extraction est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P1-P0)] / E$$

P0 : Poids du bécher vide.

P1 : Poids du bécher et l'extrait après évaporation du solvant.

E : Poids de la poudre.

II.5. Dosage des composés phénoliques

II.5.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

L'évaluation des polyphénols totaux est réalisée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi en 1965**, qui basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation d'un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 735 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénol présent dans l'extrait (**Georgé et al., 2005**).

- **Mode opératoire**

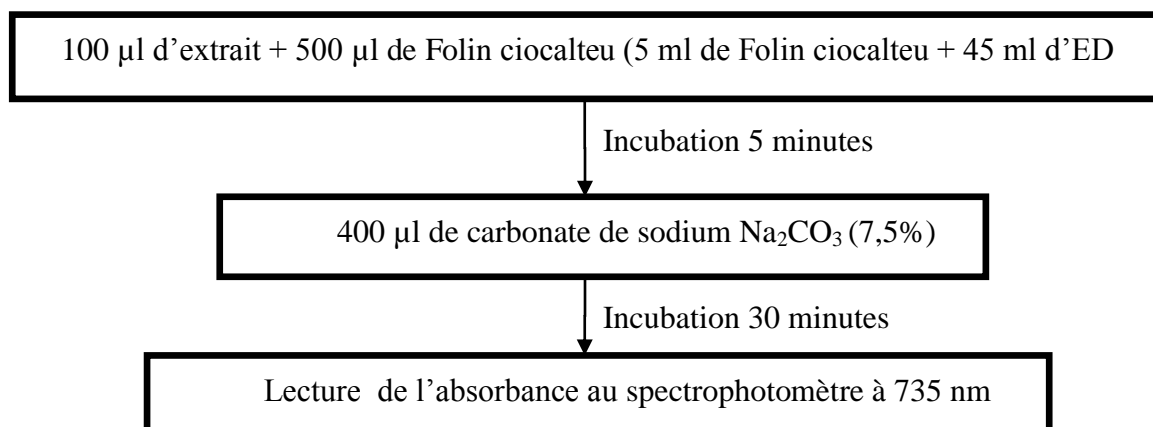


Figure 5 : Diagramme décrivant les principales étapes pour le dosage des polyphénols (**Georgé et al., 2005**).

- **Expression des résultats**

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

II.5.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Le dosage des flavonoïdes des racines de *T.garganica* est réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par **Bahorun et al. (1996)**. La réaction est basée sur la formation d'un complexe entre chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones des flavonoïdes ce qui donne une coloration jaune dont l'intensité est quantifiée à 430 nm.

- **Mode opératoire**

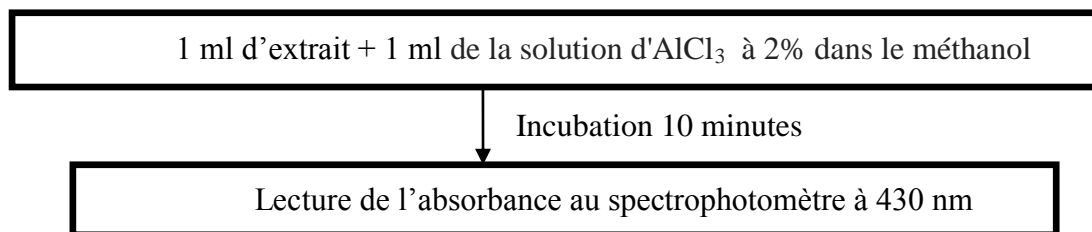


Figure 6 : Diagramme décrivant les principales étapes pour le dosage des flavonoïdes (Bahorun *et al.*, 1996).

- **Expression des résultats**

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/100g d'extrait sec).

II.6. Activités anti-oxydantes

II.6.1. Piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picryl hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

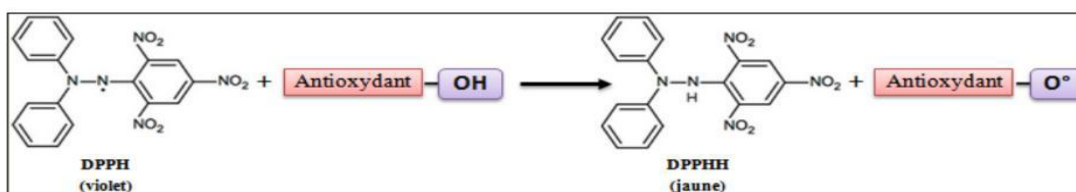


Figure 7 : Réaction du test DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) (Brand-William *et al.*, 1995).

- **Mode opératoire**

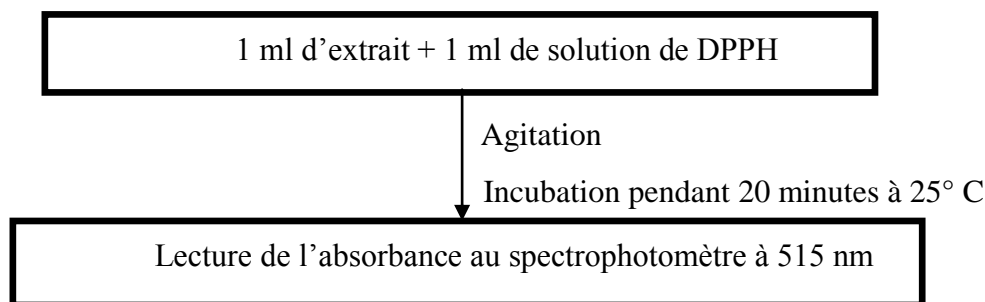


Figure 8 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité du radical libre DPPH. (Blois, 1958).

- **Expression des résultats**

Le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques expriment la capacité à piéger le radical libre et évalué par le pourcentage d'inhibition qui est donné par la formule suivante (Blois, 1958).

$$I\% = [(abs\ contrôle - abs\ échantillon) / abs\ contrôle] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition.

Abs : absorbance à la longueur d'onde 515nm.

II.7. Activité antimicrobienne

II.7.1. Pouvoir antimicrobien de l'extrait de Thapsia garganica L.

Les tests antimicrobiens ont pour but de rechercher l'activité biologique de l'extrait vis-à-vis des différents microorganismes : bactéries et moisissures.

- **Principe**

L'activité antimicrobienne des extraits a été testée in vitro par la méthode de diffusion sur gélose (Osato, 2009).

L'aromatogramme est basé sur la technique utilisée en bactériologie médicale appelé antibiogramme (Billerbek, 2007 ; Kaloustian *et al.*, 2008).

II.7.2. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de Thapsia garganica L.

- **Souches bactériennes utilisées**

Deux souches bactériennes ont été testées : *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*.

- **Milieux de culture utilisés**

Nous avons utilisé un milieu de culture : Gélose PCA (Plate Count Agar), Bouillon nutritif.

- **Méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme)**

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide, dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre l'extrait et le microorganisme (Billerbeck, 2007). L'effet de la substance antimicrobienne sur la souche cible est évalué par la mesure d'une zone d'inhibition (Karabay-yavasoglu *et al.*, 2007).

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

Chaque souche bactérienne a été revivifiée dans des bouillons nutritifs différents (*Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau peptone, et *Micrococcus luteus* dans le milieu cœur-cerveille) à 37°C pendant 24 heures, (Les suspensions ont une concentration initiale de 10⁸ UFC/ml) (Karabay-yavasoglu *et al.*, 2007).

- **Protocole expérimental**

Des disques de papier filtre de 6mm de diamètre imbibés dans différentes concentrations de l'extrait méthanolique (100, 50, 25, 12,5 mg/ml), déposés sur la surface de la gélose PCA préalablementensemencée par les bactéries, par écouvillonnage. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, la sensibilité a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition (Lesueur *et al.*, 2007).

Le méthanol absolu est utilisé comme un témoin négatif. Deux standards (Gentamicine, Erythromycine) sont également testés vis-à-vis de toutes les souches cibles.

- **Expression des résultats**

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Moreira *et al.*, (2005), ils sont classés le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

- Non sensible (-) : $D \leq 8$ mm ;
- Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm ;
- Très sensible (+ +) : $15 \leq D \leq 19$ mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : $D \geq 20$ mm.

II.7.3. Activité antifongique

- **Souche fongique testée**

Une souche fongique a été testée : *Fusarium oxysporum*.

- **Milieux de culture**

Nous avons utilisé le milieu de culture suivant : gélose dextrosée à la pomme de terre.

- **Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)**

- **Principe**

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs (Ela *et al.*, 1996).

- **Pré-culture des champignons**

Des boites de Pétri, contenant le milieu PDA solide, on dépose un disque au centre de la boite provenant d'une culture pure préparé au préalable, puis les boites sont incubées à 25°C pendant 7 jours.

Après incubation, deux ou trois colonies, bien isolées, ont été prélevées et mise en culture dans 10ml de l'eau physiologique.

- **Protocole expérimentale**

Des boites de Pétri contenant du dextrosée à la pomme de terre (PDA) sontensemencées par une suspension de 10^6 cellules/ml qui provient d'une culture de champignon. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Après le séchage des boites, la gélose est perforée en 3puits à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile. Dans chaque boite de Pétrie, les cavités ainsi formées sont remplies de 25µl de gélose molle puis attendre un certain temps pour la solidification de ce dernier et ajouter 25µl de l'extrait à différente concentration (250, 200, 150, 100, 40, 20 mg/ml).Les boites sont mises à incubées dans une étuve à 28°C pendant 48h (Ela *et al.*, 1996).

Témoin négatif : perforation de 2 puits remplies de 25 µl de gélose molle + 25 µl de méthanol dans chaque cavité de une boite de pétrie.

Témoin positif : Une boite de pétrie estensemencée par le champignon FOS + l'antifongique l'amphotéricine B.

- **Expression des résultats**

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (ELA *et al.*, 1996).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Moreira *et al.*, (2005)**, ils ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

- Non sensible (-) : $D \leq 8$ mm
- Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm
- Très sensible (+ +) : $15 \leq D \leq 19$ mm
- Extrêmement sensible (+++) : $D \geq 20$ mm

II.8. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

- **Principe**

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire par application de stress ou de composé externe, comme un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou une chaleur. La plupart des protéines biologiques perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (**Leelaprakash et Mohan Dass, 2011**). Sous l'action d'un traitement thermique, l'albumine peut subir des changements de conformation associés à un mauvais repliement de la structure 3D (**Militello *et al.*, 2003**).

La dénaturation des protéines est l'une des causes bien documentées de l'inflammation et conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (**Sangita et Priyanka, 2012**).

- **Mode opératoire**

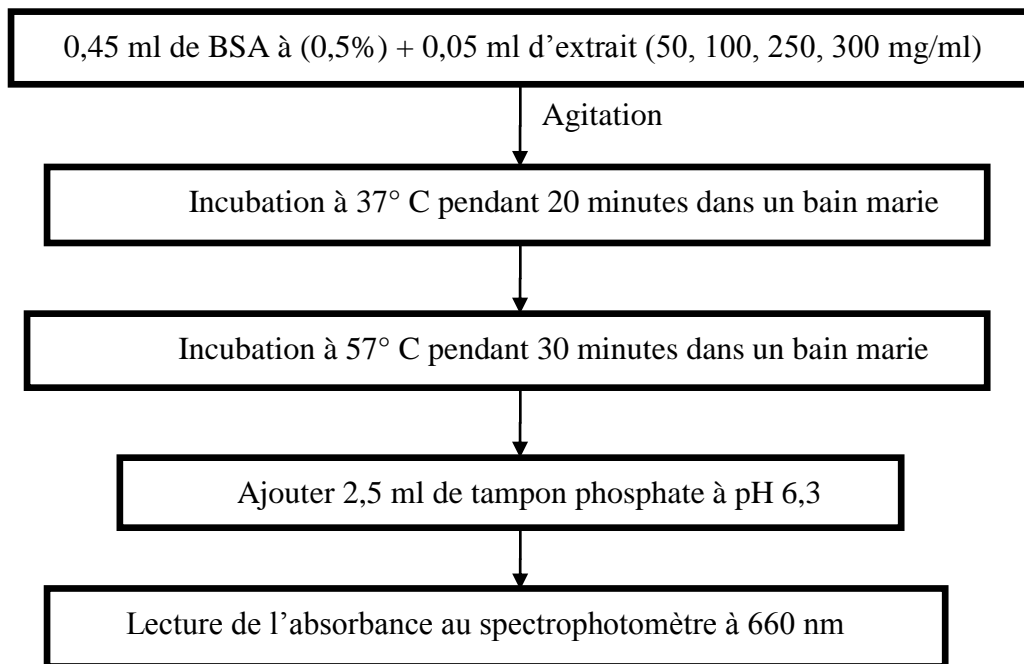


Figure 9 : Diagramme décrivant les principales étapes pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro (Alhakmani *et al.*, 2013)

Avec les mêmes conditions d'opération, le Diclofénac (molécule de traitement anti-inflammatoire) est utilisé comme standard.

- **Expression des résultats**

Selon Kar *et al.*, (2012), le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit:

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 10$$

Ac : absorbance de contrôle.

Ae : absorbance de l'essai.

II.9. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés par la moyenne et son écart type, à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2013. Toutes les expériences ont été reproduites trois fois.

Chapitre III Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction

La méthode d'extraction doit permettre l'extraction maximal des composés phénoliques et éviter leur modification chimique (**Hayouni et al., 2007**). La température, le temps de macération, la taille des particules et le volume du solvant peuvent affecter le taux d'extraction (**Pinelo et al., 2005**). La solubilité des composés phénoliques est régie par leur nature qui peut varier de simples substances aux composés fortement polymérisés et par la polarité des solvants (**Cacace et Mazza, 2003**).

Dans ce travail, nous avons effectué des extractions successives de la racine de la plante en utilisant des solvants à différentes polarités. Cette technique permet d'extraire le maximum de composés phénolique de *Thapsia garganica*.

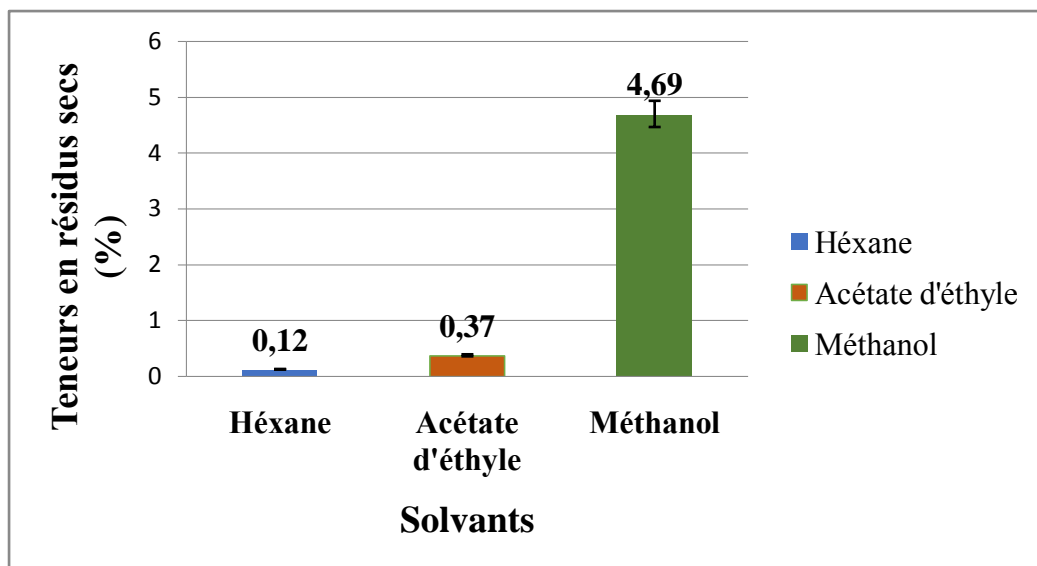


Figure 10 : Teneurs en résidus secs obtenus par les différents solvants.

En général, les rendements d'extraction représentés sur la figure 10 obtenus par les différents solvants utilisés varient de 0,12% à 4,69%. Il ressort de l'observation des résultats que le taux d'extraction varie en fonction du solvant utilisé. Le meilleur rendement est enregistré avec le méthanol avec un pourcentage de 4,69%.

Selon **Routray et Orsat (2013)**, le taux d'extraction augmente en fonction de la polarité du solvant. Le méthanol est un solvant de polarité élevée, ceci explique le rendement enregistré dans notre extrait méthanolique.

La différence entre les rendements de l'extraction obtenues dans cette étude est due à la plante elle-même (la partie de la plante utilisée, la période de récolte, les conditions extérieures), et le solvant d'extraction.

III.2. Teneur en eau

Avant d'évaluer la teneur en eau, nous avons effectués des pesés sur les racines de la plante étudiée. Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des racines de la plante étudiée.

La teneur moyenne en eau pour les racines de *Thapsia garganica L.* est de 78%, ceci signifie que 22% représente le taux de la matière sèche. Donc les racines sont très riches en eau .Ces résultats sont présentés sur la figure 11.

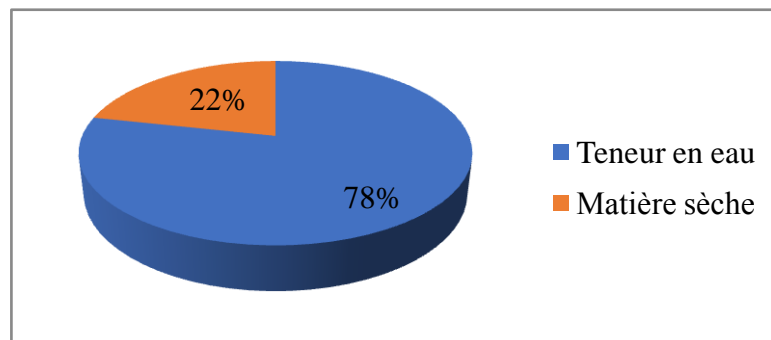


Figure 11 : Teneur en eau des racines de *Thapsia garganica L.*

III.3. Dosage des polyphénols

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que ces derniers sont généralement les molécules responsables sur la majorité des propriétés anti-oxydantes et antimicrobiennes des plantes assez importantes.

Une couleur bleue apparait 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**).

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de poids d'extrait sec (mg EAG/g ES).

A l'aide de la courbe d'étalonnage, les teneurs des polyphénols totaux est représentée dans **le tableau II**.

Tableau II : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Thapsia garganica L.*

Solvants	Hexane	Acétate d'éthyle	Méthanol
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ES)	1,53±0,08	15,27±0,14	44,81±0,58

Les teneurs en polyphénols totaux obtenues par les trois solvants sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec et varient de 1,53±0,08 à 44,81±0,58mg EAG/g Es.

La teneur la plus élevée en polyphénols totaux est obtenus par l'extrait méthanolique avec **(44,81 mg EAG/g Es)** et la plus faible teneur est obtenue avec **l'hexane (1,53±0,08mg EAG/g Es)**.

Nos résultats sont en concordance avec l'étude faite par **Routray et Orsat (2013)** qui ont rapportés que le méthanol est parmi les solvants les plus importants dans l'extraction des composés phénoliques à cause de sa polarité élevée (**Naczka et Shahidi, 2004**).

Wojdylo et al. (2007) ont réalisées une étude sur les extraits méthanolique des racines de *Petroselinum sativum* (famille des Apiacées), ils ont conclues que toutes les plantes étudiées, appartenant à la famille des Apiacées, présentent des teneurs très basses en polyphénols. Aussi, **Rached et al. (2010)**, ont trouvés une teneur en polyphénols totaux élevée de l'extrait de la racine de *Thapsia garganica L.* d'origine algérienne **(95,88 ± 1,09mg EAG/g d'extrait)**.

Idir et Ouadir (2012) ont montrés que la teneur la plus élevée en phénols totaux des racines a été marquée par l'extrait d'hexane **(79,1±2,26 mg EAG/g d'extrait)** qui est extrêmement supérieure à nos résultats. L'étude menée par **Sait et al. (2012)**, a montré que le méthanol était le meilleur solvant d'extraction des polyphénols parmi deux autres solvants de polarités différentes (dichlorométhane et hexane),et ses résultats sont en concordance avec nos résultats car on a trouvés une forte teneur en polyphénols extraites par le méthanol par port à l'hexane et l'acétate d'éthyle.

La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupes hydroxyle, du poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonée du squelette de base (**Mohammedi et al., 2011**). Les résultats obtenus dans le cadre de nos travaux confirment les conclusions du paravent que le rendement en polyphénols augmente avec

la polarité du solvant de l'extraction et préfère, pour améliorer cette dernière, l'utilisation des alcools et notamment du méthanol ou de l'éthanol est considéré comme meilleurs choix (Sripad *et al.*, 1982).

Il est à noter que le pouvoir extractif des trois solvants ne peut être jugé tant qu'ils sont utilisés successivement et non séparément, mais on peut avoir une idée de la composition des extraits en fonction de la polarité des solvants utilisés, ainsi l'hexane et l'acétate d'éthyle avec une polarité moyenne ont un pouvoir extracteur significatif des molécules à polarité moyenne comme les flavonoïdes aglycones (Soczewinski *et al.*, 2004). Le méthanol, qui est le solvant le plus polaire du système utilisé, permet d'obtenir des structures plus polaires.

Hamdy Roby *et al.* (2013) ont constatés le taux d'extraction par le méthanol est meilleur que celui obtenu par l'hexane concernant les parties aériennes de *Foeniculum vulgare* (Apiacées), ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans notre étude pour les extraits méthanoliques et hénaniques des racines.

III.4. Dosage des flavonoïdes

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids d'extrait sec (mg EQ/g ES).

Les teneurs en flavonoïdes totaux sont représentées dans le **tableau III**.

Tableau III: Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Thapsia garganica L.*

Solvants	Hexane	Acétate d'éthyle	Méthanol
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g ES)	0,8±0,12	1,2±0,04	6,8±0,78

Après extraction et dosage, les teneurs en flavonoïdes des différentes phases étudiés, sont représentés dans le **tableau III**. On remarque que les différentes phases étudiées, contient des flavonoïdes Cependant, certaines phases sont plus riches que d'autres ce qui laisse suggérer que certains solvants sont mieux adaptés que d'autres.

Le dosage révèle que l'extrait méthanolique reste le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de **6,8±0,78 (mg EQ/g ES)** alors que les autres extraits sont plus faible

($1,2 \pm 0,04$ mg EQ/g ES) pour l'extrait d'acétate d'éthyle et ($0,8 \pm 0,12$ mg EQ/g ES) pour l'extrait hexanique.

Selon **Marston A. et Hostettmann K. in Anderson Ø. M. et Markham K. R. (2006)**. L'acétate d'éthyle a une capacité d'extraire les flavonoïdes moyennement polaires (isoflavones, flavanones, flavones méthylés, et flavonols).

Une concentration des flavonoïdes a été trouvée dans l'extrait méthanolique par **Kholkhal et al. (2012)**, qui correspond à 1.13 mg équivalent de la rutine par gramme de matière sèche sachant que l'espèce était *Eryngium maritimum*, ces résultats reflètent la richesse des extraits méthanoliques en flavonoïdes où la polarité du solvant joue un rôle dans la solubilité et la teneur de ces composés dans la fraction organique.

Rached et al. (2010), ont obtenus des teneurs en flavonoïdes de la racine de *Thapsia garganica L.* de $23,98 \pm 1,09$ mg EQ/g d'extrait. Une autre étude menée par **Wojdylo et al., (2007)**, ont obtenus cette valeur à $923 \pm 0,65$ mg EQ/ 100 g ES quand l'extraction est réalisée avec l'acétate d'éthyle à 50 %. Ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Cependant, **Berri Yasmine (2011)**, a trouvée que la teneur en flavonoïdes de l'extrait acétate d'éthyle des racines de *Thapsia garganica L.* est $7,52 \pm 0,12$ mg EQ /100g ES. Cette teneur est relativement inférieure par rapport aux nos résultats.

III.5. Etude de l'activité anti-radicalaire par le test au DPPH

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'extrait méthanolique des racines de *Thapsia garganica L.* présente une activité anti-radicalaire importante vis-à-vis du piégeage du radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de 74%.

En effet, une étude réalisée par **Rached et al. (2010)**, ont montrés que les extraits des racines de *Thapsia garganica L.* ont exprimées un effet inhibiteur élevé pour le radical DPPH.

Idir et Ouadir (2012) ont montrés que toutes les parties de *T. garganica L.* ont une activité anti-radicalaire très forte, ces résultats sont en concordance avec ce nous avons trouvés.

Ce résultat peut être expliqué par la présence des antioxydants, notamment les polyphénols et les flavonoïdes dans notre extrait. Selon **kadda et al. (2017)**, il existe une corrélation forte entre la capacité 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, mais aussi aux interactions

existent entre les différentes formes (**Turkmen et al., 2006**). Selon **Kang et al. (2003)** ont suggérés que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires montrent une activité anti-radicalaire élevée.

III.6. Résultats des tests microbiologiques

- **Pouvoir antimicrobien**

D'après la littérature, la capacité anti bactérienne est attribuable aux substances antibactérienne (polyphénols, flavonoïdes.....).De ce fait, pour l'évaluation de l'activité anti oxydantes de notre extrait, nous nous sommes limités uniquement aux extraits ayant une teneur importante en polyphénols totaux.

Lors de cette étude, nous avons testé l'action d'extraits méthanolique de la partie souterraine de *Thapsia garganica L.* vis-à-vis de quelques souches bactériennes et mycéliennes. L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Moreira et al. (2005)**.

Ils sont classées le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

- ✓ Non sensible (-) : $D < 8$ mm
- ✓ Sensible (+) : $9 \geq D > 14$ mm
- ✓ Très sensible (+ +) : $15 < D < 19$ mm
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : $D > 20$ mm

III.6.1. Pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés de différentes concentrations d'extrait ont été mesurées. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 12 pour l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica*.

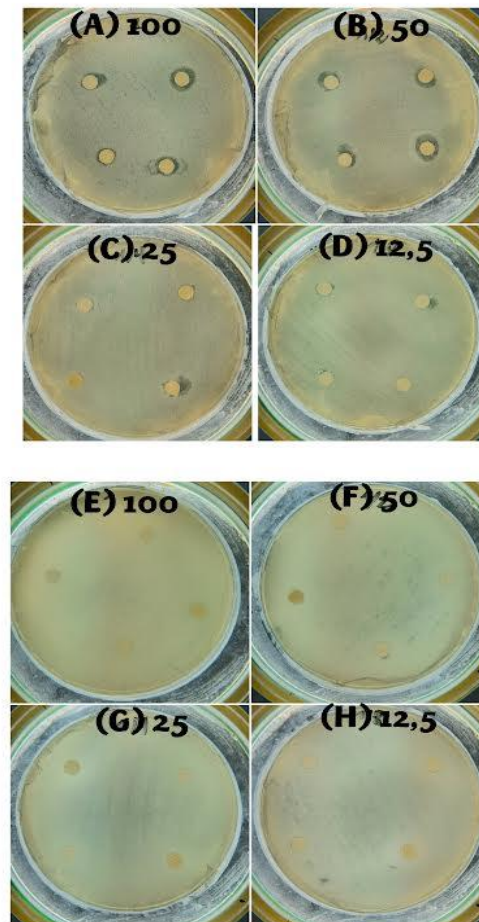


Figure 12 : Photographie des zones d'inhibitions obtenus par l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica* L. à différentes concentrations vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* (A)100mg/ml, (B)50mg/ml, (C)25 mg/ml, (D)12,5 mg/ml et *Micrococcus luteus* (E)100 mg/ml, (F) 50mg/ml, (G)25mg/ml, (H)12,5mg/ml.

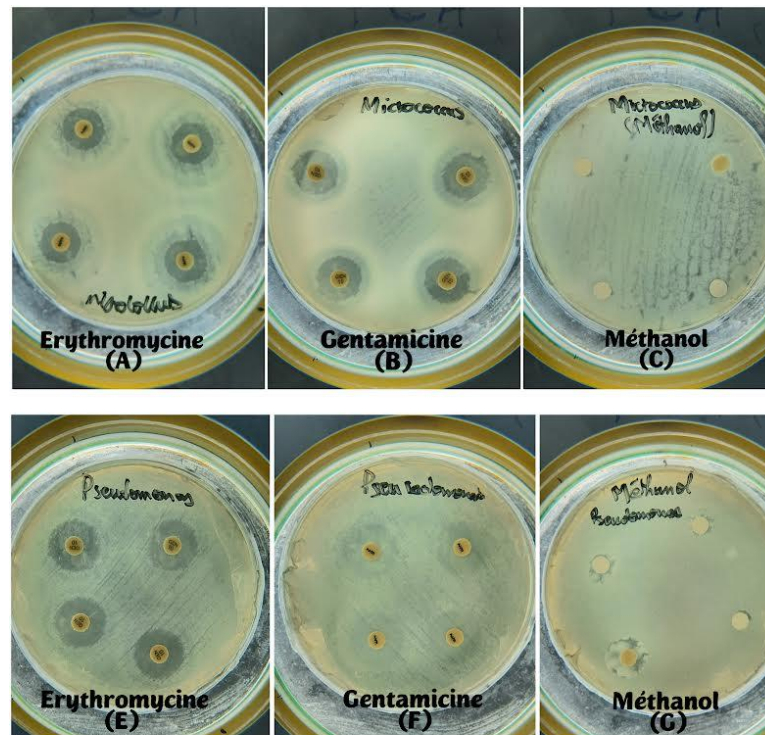


Figure 13 : Photographie des diamètres d’inhibitions des antibiotiques testés (Gentamicine, Erythromycine) contre *Micrococcus* et *Pseudomonas*.

Le **tableau IV** montre les diamètres mesurés des zones d’inhibition de la croissance des souches microbiennes testées par les antibiotiques.

Tableau IV: Activité antibactérienne des antibiotiques (Gentamicine, Erythromycine) sur les bactéries testées. (Diamètre des zones d’inhibition en mm).

Standard	Diamètre des zones d’inhibition (mm)	
	<i>Micrococcus luteus</i> (Gram+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)
Gentamicine	15 Très sensible (++)	17 Très sensible (++)
Erythromycine	15 Très sensible (++)	19 Très sensible (++)

L’antibiogramme est réalisé dans les mêmes conditions expérimentales que l’aromatogramme.

Les souches bactériennes ont révélés une sensibilité variée vis-à-vis les antibiotiques testés (suivant la dose de l'antibiotique et la virulence de la souche bactérienne), nous remarquons d'après le **Tableau IV** que :

- Pour la première souche, *Pseudomonas aeruginosa* est très sensible à l'antibiotique Gentamicine (15mm) et l'Erythromycine (15mm).
- Pour la deuxième souche, *Micrococcus luteus* est très sensible à l'antibiotique Gentamycine (17mm) et l'Erythromycine (19mm).
- Les deux antibiotiques utilisés comme témoin positif, présentent des diamètres d'inhibition élevés par rapport à notre extrait vis-à-vis les souches testées.

Le **tableau V** montre les diamètres mesurés des zones d'inhibition de la croissance des souches microbiennes testées par l'extrait méthanolique.

Tableau V : Antibiogramme des germes étudiés *Micrococcus luteus* et *Pseudomonas aeruginosa* sur *Thapsia garganica L.* (Diamètre de la zone d'inhibition en mm).

Concentrations d'extrait mg/ml	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
	<i>Micrococcus luteus</i> (Gram+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)
100	0 Non sensible (-)	13 Sensible (+)
50	0 Non sensible (-)	9,6 Sensible (+)
25	0 Non sensible (-)	9 Sensible (+)
12.5	0 Non sensible (-)	8 Non sensible (-)

D'après les résultats obtenus dans **tableau V**, Il ressort de l'étude que les extraits méthanoliques des racines de *Thapsia garganica L.* ne présente aucune activité antibactérienne vis-à-vis de *Micrococcus luteus* pour les différentes concentrations (12,5 ; 25 ; 50 et 100 mg/ml).

Les extraits de *Thapsia garganica L.* exercent une activité intermédiaire sur *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) avec les concentrations 25 ; 50 et 100mg/ml dont des diamètres d'inhibition sont respectivement (13mm, 9,6mm et 9mm). La meilleur zone d'inhibition (13mm) est obtenue par l'extrait méthanolique a une concentration de 100mg/ml. **Tajkarimi et al. (2010)**, ont rapportés que les espèces appartenant au genre Pseudomonas, et plus particulièrement *P. aeruginosa*, sont le groupe bactérien le moins sensible à l'effet des composés bioactifs.

Les variations de la composition chimique peuvent probablement expliquer les différences observées dans l'activité antimicrobienne de l'extrait avec les différentes concentrations. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**Essawi et Srour, 2000**).

L'activité remarquée par l'extrait méthanolique sur les souches bactériennes peut être s'expliquer par la présence de métabolites secondaires : les flavonoïdes, les tanins (**Cowan, 1999 ; Tiwari, 2011 ; Daglia, 2012**). Ces métabolites secondaires servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes, les insectes, les herbivores pathogènes et sont aussi des substances antibactériennes importantes (**Falleh et al., 2008 ; Shan et al., 2007**).

Gülçin et al. (2003), ont montrés que les extraits de l'anis (*Pimpinella anisum*), appartenant aux Apiacées, ont une meilleure activité à l'égard des bactéries Gram positives testées (*S. aureus, Streptococcus pneumoniae et Micrococcus luteus*) contrairement aux bactéries Gram négatives (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosae et Citrobacterkoseri*). Ces résultats sont différents de ceux obtenus dans notre étude.

Contrairement à notre résultat, **Shan et al. (2007)**, ont rapportés que les extraits méthanoliques de *Coriandrum sativum* et *Cuminum cyminum* ne montrent aucune activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches testées (*S. aureus, E. coli, B. subtilis, L.monocytogenes, B. cereuset, S. anatum*). Ces résultats sont probablement dû à la différence entre les souches bactériennes étudiées, à la nature des composés

phytochimiques présents dans les extraits (Aqil et Ahmed, 2003 ; Pesewu *et al.*, 2008) et aux différentes méthodes d'étude de l'activité antibactérienne (Lindberg *et al.*, 2004).

III.6.2. *Activité antifongique de l'extrait méthanolique des racines de Thapsia garganica L.*

La figure 14, représente l'effet de l'extrait méthanolique des racines de *Thapsia garganica L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*.

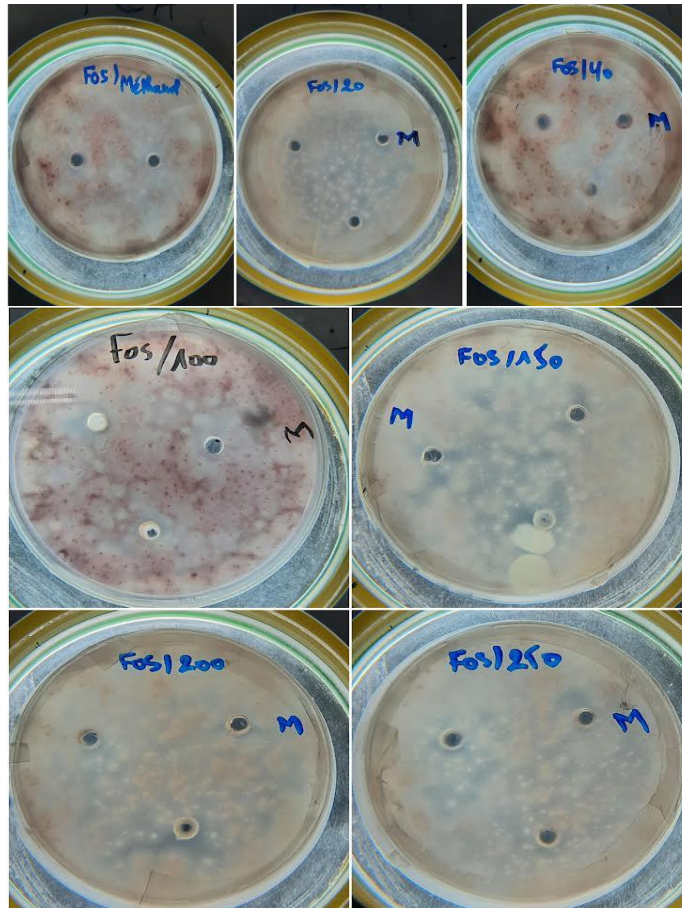


Figure 14 : L'effet de l'extrait de *Thapsia garganica* et le méthanol sur la croissance mycélienne du FOS.

L'activité antifongique de l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica L.* à l'égard de *Fusarium oxysporum* est résumée dans le **tableau VI**.

Tableau VI: Diamètres des zones d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait sur la souche fongique testée.

Souche fongique	Diamètre des zones d'inhibition (mm)							
	Concentration d'extrait (mg/ml)							
	250	200	150	100	40	20	Méthanol	ATF
<i>Fusarium oxysporum.</i>	0 NS (-)	0 NS (-)	0 NS (-)	0 NS (-)	0 NS (-)	0 NS (-)	0 NS (-)	8 NS (-)

NS : Non sensible.

ATF : antifongique (Amphotéricine B).

À la lumière de nos résultats, l'extrait n'a pas révélé d'activité antifongique contre la souche fongique testée pour tous les concentrations (250, 200, 150, 100, 40, 20 mg/ml).

L'analyse de nombreux travaux, a suggéré que l'activité antimicrobienne des extraits de plantes nécessitait dans la plus part de cas des fortes concentrations (**Adejare et al., 2013; Bagre et al., 2006; Biyiti et al., 2004**) ce qui laisse supposer probablement que les concentrations utilisées étaient certainement trop faibles et expliqueraient l'absence d'activité.

Cette absence d'activité antifongique pourrait s'expliquer par le fait que la souche de *Fusarium oxysporum* ait développé des mécanismes de résistance aux molécules antifongiques présentes dans l'extrait. Parmi ces mécanismes la capacité de *Fusarium oxysporum* à switcher ou capacité à changer de phénotype «switch phénotypique» (**Millon et al., 2002**). Effectivement, de nombreux travaux ont révélé que la variabilité phénotypique pourrait être une stratégie mise en place par certains micro-organismes pour échapper aux mécanismes immunitaires de l'hôte. Ainsi, la facilité avec laquelle *Fusarium oxysporum* peut changer de phénotype peut-être en relation avec sa résistance aux antifongiques (**Chen et al., 2003 ; Millon et al., 2002 ; Yang et al., 2005**).

Le témoin négatif (méthanol) n'a pas une activité sur la souche testée (*Fusarium oxysporum*).

D'après le **tableau VI**, la souche testée est résistante à l'antifongique (**amphotéricine B**). Plusieurs travaux ont montré qu'il existait des souches résistantes à l'AmphotéricineB, l'antifongique par excellence, contre la souche *d'Aspergillus fumigatus*

(Chen *et al.*, 2003; Traoré *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2005). L'émergence de la souche *Fusarium oxysporum* résistante aux antifongiques usuels rend difficiles leur éradication.

Il est également possible que les solvants utilisés lors de l'extraction, soit à l'origine de l'absence d'activité de l'extrait de la plantes. Indubitablement, le solvant utilisé n'a peut-être pas pu retenir les molécules recherchées à cause de sa polarité.

Par conséquent, l'activité biologique d'une plante naturelle est en relation directe et en corrélation avec sa composition chimique.

Le pouvoir antifongique mis en évidence pourrait être expliqué par les composés naturels appelés métabolites secondaires que contiennent ces plantes. Il est assez difficile d'attribuer l'effet antifongique à un seul métabolite que contient un extrait. Cet effet inhibiteur dépend de la substance ou des substances à caractère antifongique présentes dans l'extrait. L'extrait contient toujours un mélange de plusieurs composés chimiques et des composés phytochimiques majoritaires d'une plante, des éléments mineurs peuvent apporter une contribution significative à l'activité antifongique. Ces substances agissent simultanément ou différemment, empruntent des voies semblables ou différentes, agissent ensemble ou indépendamment sur une ou plusieurs cibles, conduisant ainsi à une activité antifongique efficace (Mohammedi, 2013).

III.7. Activité anti-inflammatoire *in vitro* de *Thapsia garganica* L. (Inhibition de la dénaturation des protéines).

Selon Rathiste *et al.* (2013), la méthode de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro*. L'activité anti inflammatoire de deux extraits par l'inhibition de la dénaturation de la BSA est effectuée selon la méthode de Rahman *et al.* (2012).

Les résultats d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'extrait méthanolique et le standard sont présentent dans le figure 15.

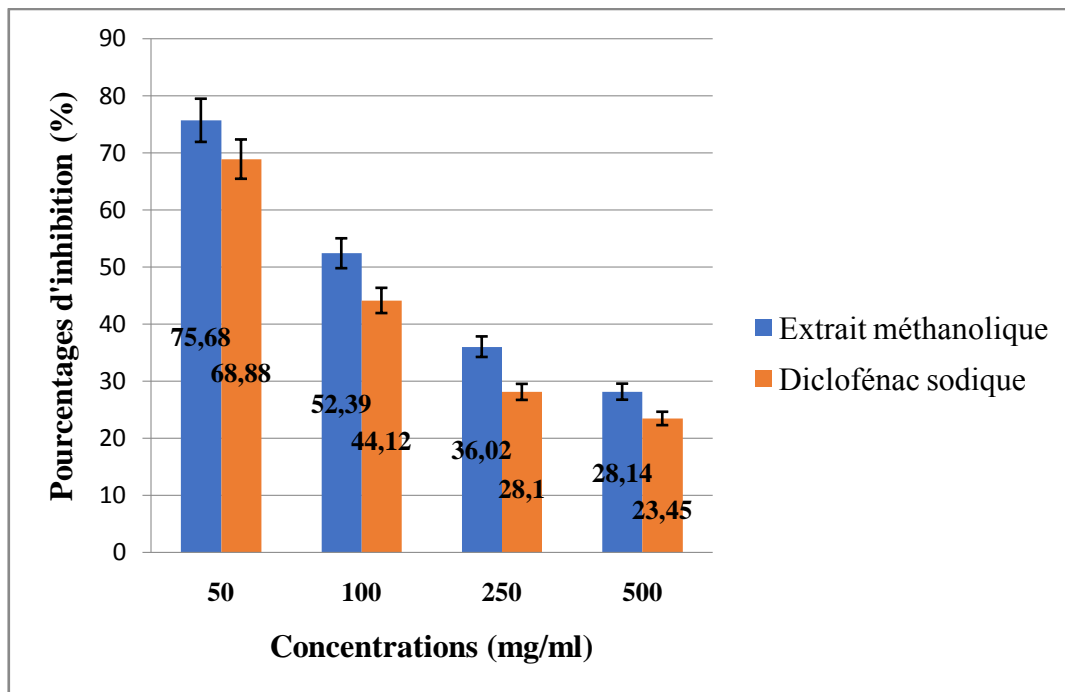


Figure 15 : Pourcentages d’inhibition de la dénaturation de BSA par l’extrait et le standard (Diclofénac sodique).

D’après l’histogramme, on n’observe que les pourcentages la dénaturation de BSA par l’extrait méthanolique de *Thapsia garganica L.* est plus élevés que le standard utilisé Diclofénac sodique (50mg) avec les différentes concentrations, par exemple à 50 mg/ml les pourcentages d’inhibition de la dénaturation de BSA par l’extrait méthanolique et le standard sont respectivement 75,68% et 68,88%. Donc l’activité d’inhibition de la dénaturation de notre extrait de *Thapsia garganica L.* est mieux que celle du standard utilisé.

D’autre part, on constate que l’effet anti dénaturant de l’extrait et du standard est inversement proportionnel à la concentration. Ces résultats coïncident avec les résultats de **Williams et al. (2008)** selon lesquels l’activité anti dénaturantes, des composants naturels isolés a partir des plantes, est plus portante lorsque la concentration est faible.

La dénaturation protéique est un phénomène durant lequel la protéine perd sa structure tridimensionnelle ou secondaire, suite à son exposition à la chaleur, à un agent infectieux ou chimique induisant l’exposition de certains sites qui vont devenir auto-antigènes (**Adarsh et al., 2011**).

Conclusion

Actuellement le concept d'une thérapie à l'aide d'antioxydants, dans le but de renforcer les défenses anti oxydantes endogènes, pour une protection plus efficace contre les différentes maladies représente un but thérapeutique important. En raison de la toxicité des antioxydants synthétiques, le recours aux plantes médicinales douées d'activité anti oxydante, antibactérienne et anti inflammatoire s'avère très avantageux et d'actualité.

Notre présente étude a porté sur l'espèce *Thapsia garganica L.*, plante très utilisée dans la médecine traditionnelle en raison de sa richesse en propriétés thérapeutiques. Pour ces raisons, nous avons évalué la teneur en composés phénolique, et aussi l'activité anti oxydante, l'activité antimicrobienne, l'activité anti inflammatoire d'extrait de la plante étudiée.

Les résultats de détermination de la teneur en eau, après séchage de la plante, indique une teneur en eau de 78%, et cela montre une richesse de la plante en eau.

L'extraction de la partie souterraine de *Thapsia garganica L.* a été réalisée par macération a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés. Le meilleur rendement est enregistré pour le méthanol avec un pourcentage de 4,69%.

L'extrait méthanolique de *Thapsia garganica L.* a montré une richesse en polyphénols et flavonoïdes avec des teneurs 44,81 mg EAG/g d'extrait et 6,8 mg EQ/g d'extrait respectivement par rapport aux autres extraits (hexane et acétate d'éthyle) en raison de ses faibles polarités. Les résultats obtenus montrent que le méthanol peut être un bon extracteur des composés phénoliques à partir cette plante. L'extrait méthanolique de la plante a montré une activité anti radicalaire élevée.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur deux souches bactériennes selon la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats montrent une activité de l'extrait sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* et l'absence d'activité sur la souche *Micrococcus luteus*. En comparant la sensibilité des souches cibles, on remarque une différence significative entre la susceptibilité des bactéries Gram(+) et Gram(-). Cela est en accord avec quelques études réalisées. La meilleure zone d'inhibition obtenue par l'extrait (10 mm) vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*. Les deux souches bactériennes sont très sensibles aux standards utilisés (Gentamicine, Erythromycine).

L'étude de l'activité antifongique d'extrait méthanolique de *Thapsia garganica* L. a révélé que ceci n'a pas montré une activité sur la souche testée (*Fusarium oxysporum*). La souche testée est résistante à l'antifongique (Amphotéricine B).

Nous avons également estimé le pouvoir d'inhibition de la dénaturation protéique lié au processus de l'inflammation. Les pourcentages d'inhibitions obtenus par l'extrait méthanolique avec différentes concentrations sont élevés en comparaison avec le Diclofénac sodique qui a donné un pourcentage d'inhibition de 68,88%.

L'ensemble de résultats obtenues in vitro, ne constitue qu'une première étape dans le chemin de la découverte et de l'exploitation des composés biologiquement actifs de l'espèce *Thapsia garganica* L., on est intéressés de faire les expérimentations suivantes :

- ✓ Evaluation de l'activité hémolytique d'extrait de racines de *Thapsia garganica* L. vis-à-vis des globules rouges humains.
- ✓ Etude de toxicité in vivo d'extrait de racines de *Thapsia garganica* L

Liste des références bibliographique

A

Alkhatib R. (2010). Etude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferula alycia* Boiss (Apiacées). Mémoire de Doctorat Sciences du médicament. Chimie. Université du Droit et de la Santé - Lille II. Français.

Adarshverma., Ajay Kumar P., Kavitha D., Anurag KB. (2011). Anti denaturation and antioxidant activities of *Annonacherimola* In-vitro. *International Journal of pharma and bio Sciences* **2**, 1-6.

Adejare OY, Oduyebo OO, Oladele RO, Nwaokorie FO, Ogunsola FT. (2013).In-vitro antifungal effect of *Garcinia Lola* and Garlic (*Alliums sativu*) on vaginal isolates of *Candida*. *African journal of clinical and experimental microbiology* **14**, 140-145.

Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringaoleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* **3**, 623-627.

Ali H., Brogger Christensen S., Foreman J. C., Pearce F. L., Piotrowski W., &Thastrup O. (1985). «The ability of thapsigargin and thapsigarginin to activate cells involved in the inflammatoryresponse ». *British Journal of Pharmacology* **85**, 705-712.

Amadou B.S. (2004). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretumglutinosum*Perr. Ex DC (Combretaceae). Thèse présentée et soutenue publiquement en vue d'obtention du grade de docteur en pharmacie dans la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'universite de BAMAKOMALI 1-141.

Andersen TB, López CQ, Manczak T, Martinez K, Simonsen HT. (2015). Thapsigargin: from *Thapsia L.* to mipsagargin. *Molecules* **20**, 6113–6127.

Aqil F et Ahmed I A. (2003). Spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **19**, 653–657.

B

Baba Aïssa F., 1991- Les plantesmédicinales en Algérie. Bouchèneet Ad. Diwanéd., Alger 181.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M. (1996).Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plantorgans and pharmaceutical preparations. *Arznei.Forschung* **46**, 1086-1089.

Bagre I, Bahi C, Meite S, Djaman A J, Guede G F. (2006). Evaluation et amélioration in vitro de l'activité antifongique de *Morinda Morindoides* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae) sur *Cryptococcus Neoformans*, un champignon responsable de mycose humaine. *J sci pharmacie Bio* **17**, 37-46.

Bammi, J. y Douira, A. (2002). Les plantes médicinales dans la forêt de l'Achach (Plateau Central, Maroc). *Acta Botanica Malacitana* **27**, 131-145.

Berri Yasmine. (2011). Etude de des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*. Mémoire en vue d'obtention du diplôme de Magister en biochimie appliquée aux substances végétales bioactives. Département de biochimie physico-chimique. Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Université de Abderahmene Mira. Bejaia.

Bessghier Djamel. (2014). Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'activité antimicrobienne de quelques plantes médicinales. Mémoire en vue d'obtention du diplôme de Magister en Biologie. Département de Biologie. Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Université A. Benbadis. Mostaganem.

Billerbeck V G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie* **5**, 249-253.

Biyiti LF, Meko'o DL, Tamze v.^, AmvamZollo PH. (2004). Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Pharm Méd Trad Afr* **13**, 11-20.

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

Boizot N. & Charpentier J.P. (2006). Méthodes rapides d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des techniques de l'INRA* 79-82.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., and Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol* **28**, 25-30.

C

Cacace, J. E. et Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering* **59**, 379- 389.

Chen Y-C, Chang S-C, Luh K-T, Hsieh W-C. (2003). Stable susceptibility of *Candida* blood isolates to fluconazole despite increasing use during the past 10 years. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **52**, 71-77.

Cowan M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. American Society for Microbiology, *Clinical microbiology* **12**, 564-582.

Cox, M., G. Arnold, and S. Villamayor Tomás. (2010). A review of design principles for community-based natural resource management. *Ecology and Society* **15**, 38.

D

Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology* **23**, 174–181.

E

Ela M.A., El-Shaer N.S. et Ghanem N.B. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixedolls. *Pharmazie* **51**, 993-995.

Essawi T et Srour M. (2000). Screening of some Palestinian medical plants for antibactériale activity. *Journal of Ethnopharmacology* **70**, 342-349.

F

Fabri R. L., Nogueira M. S., Braga F. G., Coimbra E. S. and Scio E. (2009). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects, *Bioresource Technology* **100**, 428-433.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M et Abdely C. (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies* **331**, 372-379.

G

Georgé S., Brat P., Alter P., Amiot MJ. Determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. (2005). *Journal of Agricultural and food chemistry* **53**, 1370-1373.

Gülçin L., Oktay M. E., Kireççi E. & Küfrevioğlu Ö. İ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry* **83**, 371-384.

H

Hakii, H., Fujiki, H., Sukanuma, M., Nakayasu, N., Tahira, T., Sugimura, T., Scheuer, P. J and Christensen. S. B. (1986). *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 111-177.

Mohamed Hussein Hamdy Roby., Mohamed Atef Sarhan., Khaled Abdel-Hamed Selim., Khalel Ibrahim Khalel. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products* **43**, 827-831.

Hammiche V., Merad R. & Azzouz M. (2013). Plantes toxiques à usage médicamenteux du pourtour méditerranéen. Springer, paris 285-286.

Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M. et Hamdi, M. (2007). Effet des solvants et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les activités biologiques in vitro de *Quercus coccifera* L. et *Juniperus phoenicea* L. tunisiens. Extrait de fruits. *Journal of Food Chemistry* **105**, 1126-1134.

I

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.

K

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* **20**, 860-863.

Kaloustian, J.; Chevalier, J.; Mikail, C.; Martino, M.; Abou, L. et Vergnes, M.-F. (2008). Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie* **6**, 160–164.

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.

Kar, B., Kumar, R. S., Karmakar, I., Dola, N., Bala, A., Mazumder, U. K., & Hadar, P. K. (2012). Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2**, 976-980.

Karabay-Yavasoglu N U, Sukatar A, Ozdemir G et Horzum Z. (2007). Antimicrobial Activity of Volatile Components and Various Extracts of the Red Alga *Jania rubens*. *Phytotherapy research* **21**, 153-156.

Kholkhal W., Ilias F., Bekhechi C. et Atik Bekkara F. (2012). *Eryngium maritimum*: A Rich Medicinal Plant of Polyphenols and Flavonoids Compounds with Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities. Maxwell Scientific Organization, *Current Research Journal of Biological Sciences* **4**, 437-443.

Khoudali, S., Benmessaoud, D., Essaqui, A., Zertoubi, M., & Azzi, M. (2014). Etude de l'activité antioxydante et de l'action anticorrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci* **5**, 887-898.

Kuda T, Tsunekawa M, Goto H et Araki Y. (2005). Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis* **18**, 625-633.

L

Lacombe, A. ; Wu, V. C. H. ; Tyler, S. et Edwards, K. (2010). Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology* **139**, 102–107.

Leelaprakash, G et Mohan Dass, S. (2011).In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *enicostemmaaxillare*.*International Journal of Drug Development & Research* **3**, 189-196.

Lesueur D., Serra D.de Rocca, Bighelli A., Hoi T.M., Ban N.K., Thai T.H., Casanova J. (2007).Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Merrill ex Dandy from Vietnam.*Flavour and Fragrance Journal***22**, 317-321.

Li H, Wang X, Li Y, Li P et Wang H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China Wines. *Food Chemistry*, **112**, 454-460.

Lindberg L E, Willför S M et Holmbom B R. (2004). Antibacterial effects of knotwood extractives on paper mill bacteria. *J Ind Microbiol Biotechnol***31**, 137-147.

M

MAKUNGA, N. P., JÄGER, A. K., et VAN STADEN, J. (2003). Micropropagation of *Thapsia garganica*—a medicinal plant.*Plant Cell Reports* **21**, 967-973.

Manal Benkaddour. (2019). Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques chez *Thapsia garganica* L. Mémoire en vue d'obtention du diplôme de Master. Département des Sciences Biologiques. Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la terre et l'univers. Université Mohamed El Bachir El Ibrahim. BBA.

Marston A. et Hostettmann K. in Anderson Ø. M. et Markham K. R. (2006). FLAVONOIDS Chemistry, Biochemistry and Applications.*Taylor & Francis*, 1199.

Michael Pfaller. (1998). Evaluation of the etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media.*Journal of Clinical Microbiology* **36**, 2586-1589.

Militello, V., Vetri, V. et Leone, M. (2003). Conformational changes involved in thermal aggregation processes of bovine serum albumin. *Biophys. Chem***105**, 133-141.

Millon L, Piarroux R, Monod M, Meillet D. (2002). Physiopathologie de la candidose oropharyngée au cours de l'infection par le VIH. *Médecine et Maladies Infectieuses* **32**, 696-703.

MOHAMMEDI Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université aboubekr Belkaid. Algérie 170.

Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Leaving Water Temperature* **38**, 565-570.

N

Naczka M. et Shahidi F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Elsevier. *Journal of Chromatography A* **1054**, 95–111.

O

Osato M. (2009). Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant *Helicobacter pylori*. *Int. J. Antimicrob. Agents* **17**, 39-44.

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

P

Pesewu A G, Cutler R et Humber DP. (2008). Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of Ethnopharmacology* **116**, 102-111.

Pinelo M., Rubilar M., Jerez M., Sineiro J. and Núñez M.J. (2005). Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of agricultural and food chemistry*, **53**, 2111–2117.

Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittelforschung* **46**, 1086-1089.

Psotová J, Lasovský J, Vicar J. (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behaviour, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed Pap* **147**, 147-153.

PUJADAS-SALVÀ, Antonio J. et PLAZA-ARREGUI, Laura. (2003). Studies on *Thapsia* (Apiaceae) from north-western Africa: a forgotten and a new species. *Botanical journal of the Linnean Society* **143**, 433-442.

R

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.

Ranalli A, Contento S, Lucera L, Di Febo M, Marchegiani D et Di Fonzo V. (2006). Factors Affecting the contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.). *Journal Agric. Food Chemistry* **54**, 434- 440.

Rathisre P. R., Mohan, R et Murugesan, K. (2013). In-vitro Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Root Extract of *Erythrina Indica* Lam. International. *Journal of Research in Chemistry and Environment* **3**, 48-51.

Reboulleau, s.d. (1856). Notice sur la résine de *Thapsia garganica* et sur son emploi en médecine comme agent révulsif sous forme d'emplâtre. Constantine, Imprimerie Abadie, 15.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition : Dunod. Paris, 173-201.

Roques J.(1835). Phytographie médicale : histoire des substances héroïques et des poisons, Edition Cormon & Blanc, Paris 2, 411.

Routray W. et Orsat V. (2013). Preparative Extraction and Separation of Phenolic Compounds. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. *Natural products*, 2014-2037.

S

Sait L., Smaoun N.(2013). Activité antibactérienne des extraits de *Thapsia garganica L.* Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en microbiologie. Département de Microbiologie. Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Université Abderahmane Mira. Bejaia.

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.

Sangita C., Priyanka C. (2012). Evaluation of in-vitro ant-inflammatory; 2(suppl1) 178- 180.

Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30, 3875-3883.

Scherer R. and Godoy H. T. (2009). Antioxydant Activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112, 654-658.

Shan, B.; Cai, Y.-Z.; Brooks, J. D. et Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology* 117, 112-119.

Shaikh M. Rahman^{‡1}, Rachel C. Janssen[‡], Mahua Choudhury^{‡2}, Karalee C. Baquero[‡], Rebecca M. Aikens[‡], Becky A. de la Houssaye[‡], and Jacob E. Friedman. (2012). CCAAT/Enhancer-binding Protein (C/EBP) Expression Regulates Dietary-induced Inflammation in Macrophages and Adipose Tissue in Mice. *The Journal of Biological Chemistry* 287, 34349-34360.

SOCZEWIŃSKI, E., WOJCIAK-KOSIOR, M., et MATYSIK, G. (2004). Analysis of glycosides and aglycones of flavonoid compounds by double-development thin-layer chromatography. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 17, 261-263.

Singleton, V.L ; Rossi, J.A.(1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.

SRIPAD, G., PRAKASH, V., et RAO, MS Narasinga. (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *Journal of Biosciences* 4, 145-152.

T

Tajkarimi M M, Ibrahima S A et Cliver D O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* **21**, 1199-1218.

Tian, F. ; Li, B. ; Ji, B. ; Yang, J. ; Zhang, G. ; Chen, Y. et Luo, Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Gallachinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry* **113**, 173-179.

Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. et Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale pharmaceuticasciencia* **1**, 98-106.

Traoré Y ; Ouattara K ; Yéo ; Doumbia ; Coulibaly A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactériennes des feuilles d'*Annonasenegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied Biosciences* **58**, 4234-4242.

TROPICOS. (2015). Missouri Botanical Garden. 08 Mar 2015 <http://www.tropicos.org/Name/1700552>

Turkmen N, Sari F Y et Velioglu 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.

W

Wasta V. (2012). « Drug from Mediterranean Weed Kills Tumor Cells in Mice » , sur *Johns Hopkins Kimmel Cancer Center* **410**, 955-1287.

Williams, J. ; Mallet, S. ; Leconte, M. ; Lessire, M. ; Gabriel, I. (2008). Les effets des fructo-oligosaccharides ou du blé entier sur les performances et le tube digestif des poulets de chair. *Br. Poule. Sci.*, **49**, 329-339.

Wojdyło A, Oszmiański J et Czemerys R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* **105**, 940-949.

Y

Yala, J. F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Kiseembe, Y. A., Lebesgue, N. A., & Sousa, A. (2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences* **103**, 9886-9893.

Yang, P., H. Wei, H.-L. Huang, BA Baum, YX Hu, GW Kattawar, MI Mishchenko et Q. Fu. (2005). Base de données des propriétés de diffusion et d'absorption des particules de glace non sphériques dans la région spectrale de l'infrarouge proche à lointain. *Appl. Opt.* **44**, 5512-5523.

المخلص

Thapsia garganica L. هو نبات طبي من عائلة Apiaceae مشهور في منطقة البحر الأبيض المتوسط لخصائصه العلاجية المختلفة. تم إجراء جرعة المركبات الفينولية وقياس نشاط مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات ومضادات الالتهاب لمستخلص جذور هذا النبات الطبي. تم الحصول على المستخلصات العضوية بالتعطين باستخدام ثلاثة مذيبات: الهكسان ، أسيتات الإيثيل والميثانول. المردود على التوالي : 0.12% ، 0.37% و 4.69%. يشير محتوى الماء إلى معدل 78%. أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات باختبار DPPH أن المستخلص الميثانولي من *Thapsia garganica L.* له فعالية معنوية مع نسبة تثبيط 74%. أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات أن المستخلص الميثانولي غير فعال ضد السلالة البكتيرية *Micrococcus luteus* بينما يكون فعالاً ضد السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* من ناحية أخرى ، لم يظهر المستخلص أي نشاط مضاد للفطريات التي تم اختبارها (*Fusarium oxysporum*). تتم مقارنة النسبة المئوية لتثبيط تمسخ البروتين بواسطة المستخلص الميثانولي مع مثيل ديكلوفيناك الصوديوم. أظهرت النتائج أن المستخلص له تأثير مثبط أفضل مقارنة بمضاد الالتهاب المستخدم كمعيار (ديكلوفيناك الصوديوم).

الكلمات المفتاحية : *Thapsia garganica L.* ، Apiaceae ، المستخلص ، البوليفينول الكلي ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للالتهابات ، النشاط المضاد للميكروبات.

Abstract

Thapsia garganica L. is a medicinal plant of the Apiaceae family popular in the Mediterranean region for its various therapeutic properties. The dosage of phenolic compounds, the measurement of the antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory activity of the extract from the roots of this medicinal plant were carried out. The organic extracts were obtained by maceration using three solvents: hexane, ethyl acetate and methanol. The respective yields are: 0,12%, 0,37% and 4,69%. The water content indicates a rate of 78%. The study of the antioxidant activity of these extracts by the DPPH test shows that the methanolic extract of *Thapsia garganica L.* has a significant activity with an inhibition percentage of 74%. the study of antimicrobial activity showed that the methanolic extract is inactive against the bacterial strain *Micrococcus luteus* while it is active against the bacterial strain *Pseudomonas aeruginosa*. On the other hand, the extract did not show any antifungal activity against the fungal species tested (*Fusarium oxysporum*). The percentage inhibition of protein denaturation by the methanolic extract is compared to that of sodium diclofenac. The results showed that the extract has a better inhibitory effect compared to the anti-inflammatory used as a standard (Diclofenac sodium).

Keywords: *Thapsia garganica L.*, Apiaceae, extract, total polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity.

Résumé

Thapsia garganica L. est une plante médicinale de la famille des apiacées populaire dans la région méditerranéenne par ses diverses propriétés thérapeutiques. Le dosage des composés phénoliques, la mesure de l'activité anti oxydante, antimicrobienne, anti inflammatoire, d'extrait des racines de cette plante médicinale ont été réalisés. Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant trois solvants: hexane, acétate d'éthyle et méthanol. Les rendements respectifs sont : 0,12%, 0,37% et 4,69%. La teneur en eau indique un taux de 78%. L'étude de l'activité anti oxydante de ces extraits par le test du DPPH montre que l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica L.* a une activité importante avec un pourcentage d'inhibition de 74%. L'étude de l'activité antimicrobienne a montré que l'extrait méthanolique est inactif contre la souche bactérienne *Micrococcus luteus* tandis qu'il est actif contre la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre, l'extrait n'a pas présenté une activité antifongique vis-à-vis d'espèces fongique testée (*Fusarium oxysporum*). Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique par l'extrait méthanolique est comparé à celui du Diclofénac sodique. Les résultats ont montré que l'extrait possède un meilleur effet inhibiteur en comparaison avec l'anti inflammatoire utilisé comme standard (Diclofénac sodique).

Mot clés : *Thapsia garganica L.*, Apiacées, extrait, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité anti oxydante, activité anti inflammatoire, activité antimicrobienne.