



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 بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون  
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

Pour l'obtention d'une Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biologie  
Spécialité : Toxicologie

## INTITULE

Etude de l'activité anti inflammatoire et antioxydante  
des extraits d'une plante médicinale  
(*Thapsia garganica*)

Présenté par :

- BELBAGRA Youcef
- BOUGUERRA Zakaria

Soutenule:

Devant le jury :

<i>Président</i>	BENSEGHIRHadjira	MAA	( Univ. De BBA)
<i>Encadrant</i>	DIAFATAbdelouahab	MCA	( Univ. De BBA)
<i>Examineur</i>	MOUMENIOuissem	MCB	( Univ. De BBA)

Année universitaire : 2021/2022

# *Remerciements*

- \* On remercie en premier dieu pour toutes ces bénédictions pendant toute notre vie scolaire et sociale
- \* Nous remercions nos parents pour tous leurs efforts et leur présence, pendant toutes les étapes de notre cursus scolaire et universitaire.
- \* Nous adressons également nos remerciements au professeur Diafat Abdelouahab ; pour ce qu'il a contribué dans notre travail.
- \* On remercie les membres du jurées : Dr. Moumeni Ouissem et Dr. Benseghir Hadjira.
- \* Nous remercions tous les professeurs qui nous ont enseigné tout au long de ma vie à vouloir continuer dans le domaine scientifique pour les années suivantes.
- \* Nous remercions toute l'équipe de labo pédagogique qui nous a ouvert les portes pour faciliter le travail.
- \* Allouani Mohammed, et toute autre personne qui nous a aidé pendant tout le long du travail.
- \* Nous remercions Monsieur le Pr. Bahloul Ahmed pour son aide dans notre travail



# Dédicaces

*Je voudrais saluer toute ma famille et ma femme ma mère et toutes les personnes qui m'ont aidé durant mes années universitaires avec leur encouragements c'est surtout grâce à leurs conseils que je suis arrivé où j'en suis aujourd'hui et je n'ai rien lâché  
je ne pourrais jamais les remercier pour l'aide qu'ils m'ont attribué ainsi j'aimerais remercier tous mes professeurs qui m'ont aidé pour réussir mon Parcours universitaire et qui se sont souciés de mon avenir.*



***BELBAGRA Youcef***



## Dédicace

*Je dédie ce travail a :*

- *Mes parents aimants, pour tous leurs sacrifices et leurs tentatives de me guider dans la vie avec amour et patience, et que je souhaite honorer.*
- *Mon frère BouguerraAchraf pour leur aide.*
- *Mon deuxième père Bouguerra Abdellah et mon cousin BouguerraFares pour leur aide et leur soutien tout au long de ce projet. Mes amis Meguenni Malik Amine, AllouaniMohammed, Abada Aymen, Harbi Hicham et Benkhlifaabd el raouf.*
- *Mon âme sœur, avec qui je voudrais passer le reste de ma vie.*



❖ **BOUGUERRA Zakaria**

## Sommaire

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 01

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur le *Thapsia garganica*..... 02

1.1. Représentation de la plante..... 02

1.2. Classification botanique..... 03

1.3. La composition chimique..... 03

1.3.1. Composés phénoliques ..... 03

1.3.1.1. Acides phénoliques ..... 04

1.3.2. Flavonoïdes..... 04

1.3.3. Coumarines ..... 04

1.3.4. Autres métabolites secondaires de *Thapsia garganica* L. .... 06

1.3.4.1. Sesquiterpènes lactones..... 06

1.4. Utilisation traditionnelle du *Thapsia garganica*..... 07

1.5. Activités pharmacologiques du *Thapsia garganica*..... 07

1.5.1. Activité anti-tumorale de la thapsigargine..... 08

1.5.2. Activité antioxydante..... 08

1.5.2.1. Les antioxydants dans *Thapsia garganica* ..... 08

1.5.3. Activité anti-inflammatoire..... 09

1.5.3.1. Effet de la thapsigargine sur la réponse inflammatoire, libération de

l'histamine..... 09

1.5.3.2. Action de la thapsigargine sur le calcium ..... 10

1.6. Les formes de toxicité par le *Thapsia garganica* ..... 10

1.6.1. Toxicité chez l'animal..... 10

<b>2. Activité anti-inflammatoire.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Définition de l'inflammation.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Anti-inflammatoires.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.1. Anti-inflammatoires conventionnels.....</b>	<b>11</b>
<b>3. Activité antioxydante.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1. Stress oxydatif.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1.1. Les radicaux libres .....</b>	<b>12</b>
<b>3.2. Les antioxydants.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2.1. Définition .....</b>	<b>12</b>
<b>3.2.2. Classification des antioxydants.....</b>	<b>13</b>

## **Chapitre II**

### **Matériel et méthodes**

<b>1. Matériel .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. La plante <i>Thapsia garganica</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. Les produits utilisés.....</b>	<b>15</b>
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Extraction des composés phénoliques.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.1. Préparation des extraits (EE)(EHM)(ECH)(EAC) .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3. Activités biologiques de la plante.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1. L'activité antioxydante.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1.1. Piégeage de radical DPPH .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1.2. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC).....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire in vitro.....</b>	<b>20</b>

## **Chapitre III**

### **Résultats et discussion**

<b>1. Résultats et discussion.....</b>	<b>21</b>
<b>1.2. Teneur en poly phénols et flavonoïdes.....</b>	<b>21</b>
<b>1.2.1. Teneur en poly phénols.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.2. Teneur en flavonoïdes.....</b>	<b>22</b>

<b>1.3. Activités biologiques de la plante.....</b>	<b>23</b>
<b>1.3.1. Activité anti-inflammatoire.....</b>	<b>23</b>
<b>1.3.2. Activité Antioxydante.....</b>	<b>24</b>
<b>2.Discussion .....</b>	<b>29</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>31</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## ملخص :

ثابسيا جارجانيكا او «ديرياس» هي احدى النباتات التي تستخدم في الطب الجزائري التقليدي لعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض، بما في ذلك نزلات البرد والتعب العام وآلام المفاصل ومشاكل الجهاز الهضمي. سعت هذه الدراسة إلى تحديد محتويات البوليفينول والفلافونويد بالإضافة إلى الإمكانيات المضادة للأكسدة للأجزاء هاته النبتة من مستخلصات الميثانول المائي والإيثانوليك والكلوروفورميك والأسيتونيك من ثابسيا جارجانيكا. تم تحديد كمية المركبات الفينولية باستخدام تقنيات قياس الألوان، واستخدمت تقنيتان لتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر؛ تقنية قياس الجهد الدوري (CV) واختبار التثبيط الجذري ل DPPH. تم استخدام قدرة المستخلصات المختلفة على منع تحلل BSA لتقييم الفعالية المضادة للالتهابات في المختبر. أظهرت النتائج أن ثابسيا جارجانيكا. لديه مستويات مرتفعة من الفلافونويد (EE: 68.51 0.1 ملغ EQ/g مستخلص) والبوليفينول (EE: 100 0.5 ملغ EAG/g extract). جميع مستخلصات النبات المدروس لها قدرات مضادة للأكسدة، كما يتضح من اختبارات التثبيط الجذري DPPH و VC. الأكثر نشاطاً هو EE، مع IC50 من 0.190 0.004 ملجم/مل (اختبار DPPH). يحتوي EE على IC50 لاختبار VC 0.2835±0.005mg/ml، بينما يحتوي فيتامين C على IC50 من 0.004±0.130 mg/ml. تمنع مستخلصات ثابسيا جارجانيكا تطهير BSA، وفقاً لنتائج فحص عملها المضاد للالتهابات في المختبر. في الختام، قد يكون ثابسيا جارجانيكا. مصدرًا للمواد النشطة بيولوجيًا ذات الخصائص المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة.

الكلمات الرئيسية: البوليفينول والفلافونويد ومضادات الأكسدة ومضادة الالتهابات؛ ثابسيا جارجانيكا

## Résumé :

La plante *Thapsia garganica* L. ou "derias", , est fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de maladies, y compris les rhumes, la fatigue généralisée, les douleurs articulaires et les problèmes digestifs. La présente étude a cherché à déterminer la teneur en polyphénols et en flavonoïdes ainsi que le potentiel antioxydant des parties aériennes et souterraines des extraits hydro-méthanoliques, éthanoliques, chloroformiques et acétoniques de *Thapsia garganica* L.. Les composés phénoliques ont été quantifiés à l'aide de techniques colorimétriques, et deux techniques ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante in vitro ; la technique de voltampérométrie cyclique (CV) et le test de piégeage des radicaux DPPH. La capacité des différents extraits à empêcher la dénaturation de la BSA a été utilisée pour évaluer l'efficacité anti-inflammatoire in vitro. Les résultats ont démontré que *Thapsia garganica* L. à des niveaux élevés de flavonoïdes (EE :  $68,51 \pm 0,1$  mg EQ/g d'extrait) et de polyphénols (EE :  $100 \pm 0,5$  mg EAG/g d'extrait). Tous les extraits de la plante étudiée ont des capacités antioxydantes, comme le démontrent les tests de piégeage des radicaux DPPH et VC. Le plus énergique est EE, ayant une IC50 de  $0,190 \pm 0,004$  mg/ml (test DPPH). L'EE a une CI50 pour le test VC de  $0,2835 \pm 0,005$  mg/ml, tandis que la vitamine C a une CI50 de  $0,130 \pm 0,004$  mg/ml. Les extraits de *Thapsia garganica* empêchent la dénaturation du BSA, selon les résultats d'un examen de leur action anti-inflammatoire in vitro. En conclusion, *Thapsia garganica* L. peut être une source de substances bioactives ayant des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes.

**Mots clés :** polyphénols, flavonoïdes, antioxydante et anti-inflammatoire ; *Thapsia garganica* L.

**Abstract:**

The plant *Thapsia garganica* L. or "derias", is frequently used in traditional Algerian medicine to treat a variety of ailments, including colds, generalized fatigue, joint pain and digestive problems. The present study sought to determine the polyphenol and flavonoid content as well as the antioxidant potential of the aerial and underground parts of the hydro-methanolic, ethanolic, chloroformic and acetic extracts of *Thapsiagarganica* L. Phenolic compounds were quantified using colorimetric techniques, and two techniques were used to assess the in vitro antioxidant activity; the cyclic voltammetry (CV) technique and the DPPH radical scavenging test. The ability of the different extracts to prevent denaturation of BSA was used to assess the anti-inflammatory efficacy in vitro. The results showed that *Thapsiagarganica* L. has high levels of flavonoids (EE:  $68,51 \pm 0.1$  mg EQ/g extract) and polyphenols (EE:  $100 \pm 0.5$  mg EAG/g extract). All the extracts of the plant studied have an antioxidant capacities, as demonstrated by the DPPH and VC radical scavenging tests. The most energetic is EE, having an IC<sub>50</sub> of  $0.190 \pm 0.004$  mg/ml (DPPH test). EE has an IC<sub>50</sub> for the VC test of  $0.2835 \pm 0.005$  mg/ml, while vitamin C has an IC<sub>50</sub> of  $0.130 \pm 0.004$  mg/ml. *Thapsiagarganica* extracts prevent the denaturation of BSA, according to the results of an examination of their anti-inflammatory action in vitro. In conclusion, *Thapsiagarganica* L. may be a source of bioactive substances with anti-inflammatory and antioxidant properties.

**Keywords:** polyphenols, flavonoids, antioxidant and anti-inflammatory; *Thapsiagarganica* L.

## Liste des abréviations

- *ASV* : voltampérométrie de strapping anodique.
- *CSV* : voltampérométrie de stripping cathodique.
- *OMS* : organisation mondiale de la santé
- *TG* : thapsigargin
- *.TC* : thapsigargin
- *EAC* : extrait acétonique
- *SERCA* : Pompatpase
- *ECS* : électrode au clonal saturée.
- *EHM* : extrait hydro-méthanolique.
- *ECH* : extrait chloroformique
- *EQ* : équivalent quercétine
- *O<sup>2-</sup>* : anion superoxyde
- *AE* : électrode d'accélération
- *RE* : électrode de référence
- *WT* : électrode de travail
- *VC* : voltampérométrie cyclique.
- *HCL* : hydrochloric acid
- *ALCL<sub>3</sub>* : aluminium chloridEhydrate
- *GAE* : équivalent acide gallique
- *EE* : extrait éthanolique
- *ROOH* : peroxyde dismutase
- *SOD* : super oxyde dismutase
- *H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>* : peroxydehydrogène
- *A2* : thromboxane
- *E2* : prostaglandine
- *COX* : cyclooxygénase
- *AINS* : anti inflammatoire non stéroïdiens
- *ERO* : espèce réactive de l'oxygène
- *PSMA* : une enzyme carboxypeptidase
- *G202* : pro drogue fabriquée à partir de la thapsigargin

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : la plante de <i>Thapsia garganica</i> dans La région Ghilassa wilaya de Bordj Bou Arreridj.	02
<b>Figure 02</b> : Structures des principaux composés phénoliques de <i>Thapsia garganica</i>	05
<b>Figure 03</b> : la structure de ses qui terpinos lactones de plante <i>Thapsia garganica</i>	06
<b>Figure 04</b> : Site d'échantillonnage de la plante <i>Thapsia garganica</i>	14
<b>Figure 05</b> : Issue du broyage de plante <i>Thapsia garganica</i>	14
<b>Figure 06</b> : le déroulement de la technique de VC	18
<b>Figure 07</b> : la courbe d'étalonnage de l'acide gallique	21
<b>Figure 08</b> : teneur des polyphénols totaux dans les différents extraits	22
<b>Figure 09</b> : courbe d'étalonnage de quercitrine	22
<b>Figure 10</b> : Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Thapsia garganica</i>	23
<b>Figure 11</b> : différents extraits dans le dosage des anti-inflammatoires	24
<b>Figure 12</b> : piégeage des radicaux de DPPH par les différents extraits	24
<b>Figure 13</b> : Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de la présence des différents volumes de EHMEE ECH (A) et de la vitamine C (B) sur l'oxygène.	25
<b>Figure 14</b> : Courbes représentant les variations du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes des composés EHM EE ECH EAC (aérienne et sous terrain)	28

### *Liste des tableaux*

<b>Tableaux 01 :</b> Nombre de cas (un cas peut représenter jusqu'à une centaine d'animaux.) d'intoxication par espèce animale et végétale en Algérie ente 1995 et 2013	10
<b>Tableau 02 :</b> Nombre d'intoxications par espèce animale et végétale en Algérie ente 1995 et 2013.	10

# **INTRODUCTION**



## INTRODUCTION

### INTRODUCTION :

La médecine traditionnelle est basée sur l'utilisation des plantes grâce à leurs propriétés thérapeutiques.

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la médecine traditionnelle est le principal fournisseur de soins de santé pour près de 80 % de la population mondiale.

Les herbes médicinales sont utilisées de diverses manières, notamment sous forme brute, en poudre, en infusion, etc. tous les composants de la plante (feuille, racine, tige, résine, etc.) peuvent être utilisés. Elles ont été employées pour l'extraction de substances bioactives essentielles et sont réputés pour leur usage historique et traditionnel pour soigner des maux ou des symptômes particuliers. Les médicaments traditionnels sont souvent moins chers que les produits pharmaceutiques modernes et sont parfois les seules thérapies naturelles disponibles dans les régions rurales éloignées des pays en développement. En outre la médecine traditionnelle est préférée par les habitants des zones rurales en raison de leur proximité avec les guérisseurs traditionnels et du fait que ces derniers connaissent bien leur culture et leur environnement, ainsi que leurs patients (Mbuni et al. 2020).

Malgré les progrès de la recherche scientifique, notamment dans le domaine médical, l'utilisation des ressources naturelles apparaît comme une option inévitable pour surmonter certains problèmes de santé qui rendent les patients dépendants des traitements médicamenteux.

Parmi ces ressources naturelles la plante *Thapsiagarganica* L. elle est traditionnellement utilisée comme répulsif en Algérie après exsudation d'un fluide visqueux dérivé de carbones ardents (Reboulleau, 1856).

Il est également utilisé pour traiter les rhumes, la fatigue générale, l'inconfort articulaire et les problèmes digestifs (Genevois, 1975).

Dans cette étude, nous avons tenté d'évaluer L'activité antioxydante et anti-inflammatoire de *Thapsia garganica* afin de déterminer sa valeur thérapeutique.

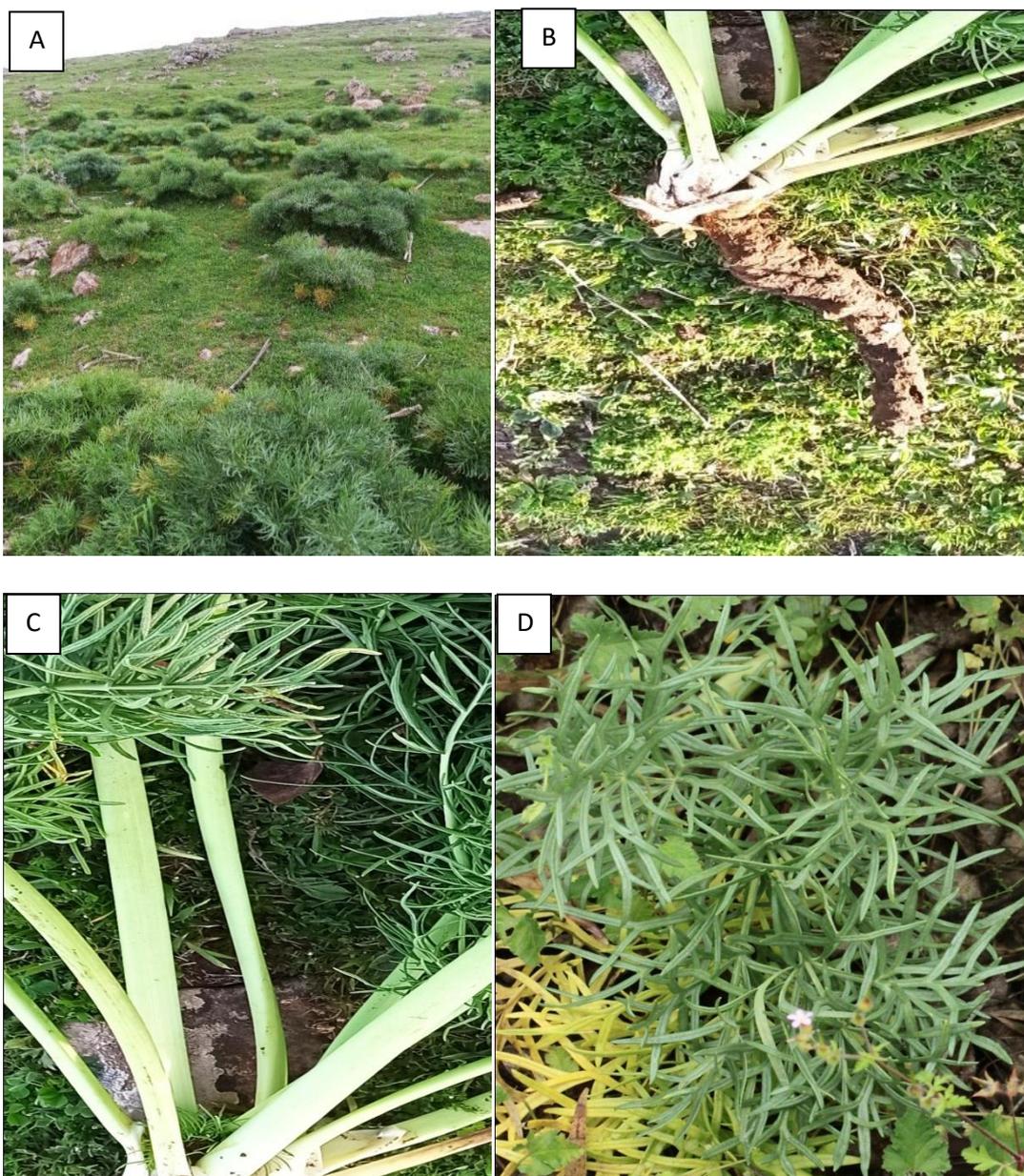
# **Chapitre I :**

## **Synthèse bibliographique**

## 1. Généralités sur *Thapsia garganica*

### 1.1. Représentation de la plante

Il s'agit d'une plante vivace robuste avec des tiges florales droites et peu ramifiées, atteignant une hauteur d'environ 1,50 mètre. (Meftah *et al.*, 2001).



**Figure 01** : la plante de *Thapsia garganica* dans La région de Ghilassa wilaya de Bordj Bou Arreridj.( Photo personnelle )

**A** : plante de *Thapsia garganica*

**B** : racine de *Thapsia garganica*

**C** : tige de *Thapsia garganica*

**D** : feuille de *Thapsia garganica*

**Les racines :** sont des rhizomes cylindriques épais avec un extérieur noirâtre et un intérieur blanc.

**La tige :** Elle se présente sous la forme de branches lâches, étalées et garnies de feuilles. Elle est fort, droit, légèrement striée, fistuleuse, ramifiée dans sa partie supérieure, atteignant 0,90 à 1,40m de hauteur (**Roques, 1835**).

**Les feuilles :** Feuilles vertes glabres Les feuilles primordiales sont petites, elliptiques et entières, tandis que les suivantes sont de forme palmée. Les feuilles à la base de la tige sont énormes, 2-3 pennées, tandis que les feuilles supérieures sont réduites à une large gaine (**Pottier-Alapetite, 1979**).

### 1.2 Classification botanique

Selon **Gómez (2007)** La systématique botanique de la plante *Thapsia garganica* est :

**Division :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous-classe :** Archychlamideae

**Ordre :** Umbeliflorales

**Famille :** Umbelliferae = Apiaceae

**Genre :** *Thapsia*

**Espèce :** *garganica*

**Nom Commun :** Tapisia, درياس, بونافع

### 1.3. La composition chimique

#### 1.3.1. Composés phénoliques

Dans les métabolismes secondaires, les composés phénoliques sont largement dispersés dans le règne végétal (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

L'existence d'un ou de plusieurs cycles aromatiques qui sont liés à un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction, est la structure de base qui les distingue (**Bruneton, 1999 ; Crozier et al., 2006**).

### 1.3.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques produits à partir d'acides benzoïque ou cinnamique qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Bruneton, 1999**).

Les principales catégories d'acides phénoliques sont les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) (**Cheyrier, 2005 ; Chira et al. 2008**).

Différents phénylpropanoïdes ont été identifiés à partir de plantes Apiaceae, dont *Thapsia garganica* L. Il s'agit d'un groupe de composés phénoliques fabriqués à partir de l'acide aminé phénylalanine (**Liu et al. 2006**). Ils font partie de la structure de la paroi cellulaire (**Hahlbrock et Scheel, 1989**). Les phénylpropanoïdes extraits de *Thapsia garganica* L. se sont révélés cytotoxiques dans une étude cytotoxique des composés bioactifs de *Thapsia garganica* L. (**Liu et al. 2006**).

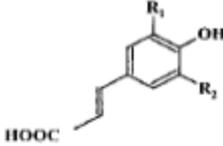
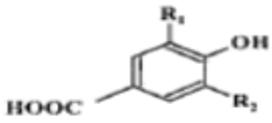
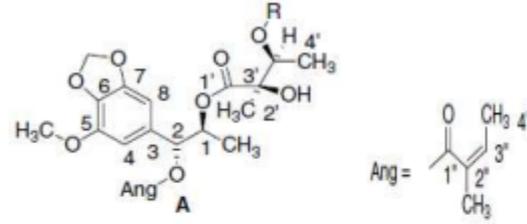
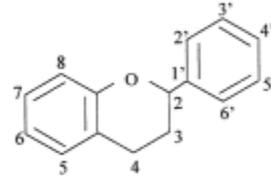
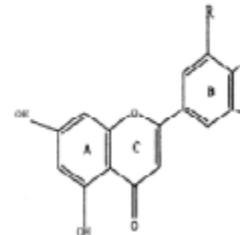
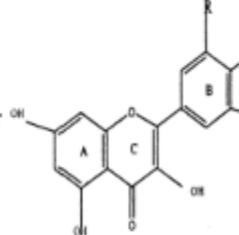
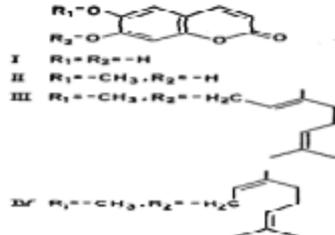
### 1.3.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes tels que les flavones et les flavonoles sont abondants dans les sections aériennes de *Thapsia garganica* L. (**Harrorne et Williams, 1972 ; Stocker et al. 2004 ; Djeridane et al. 2006**). Les flavonoïdes sont une collection de plus de 6 000 produits chimiques naturels que l'on trouve presque partout dans les plantes (**Erlund, 2004**). Ils ont une squelette carboné de C6-C3-C6, ou une activité phénylbenzopyrane (**Marais et al. 2006**).

Les flavonoïdes sont des pigments qui donnent à divers organes végétaux leurs couleurs jaune, orange et rouge (**Ghedira, 2005**).

### 1.3.1.3. Coumarines

On trouve des coumarines dans les racines de *Thapsia garganica* L. (**Larsen et Sandberg, 1970**). De nombreux groupes de dicotylédones, en particulier les Apiaceae, en possèdent à l'état libre ou sous forme d'hétérosides. Ces molécules sont extrêmement compliquées (**Bruneton, 1999 ; Ojala et al. 2000**). Elles tirent leur nom du nom vernaculaire de la fève tonka, " coumarou ", dont elles ont été isolées en 1820. Les coumarines sont formées lorsque la phénylalanine est décomposée en acide cinnamique, qui est l'acide 4-coumarique (**Bruneton, 1999**).

 <p style="text-align: center;"><b>Acide hydroxycinnamique</b></p> <p>(Cheynier, 2005)</p>	 <p style="text-align: center;"><b>Acide hydroxybenzoïque</b></p>
 <p>(Liu <i>et al.</i>, 2006) <span style="margin-left: 200px;"><b>Phénylpropanoïde</b></span></p>	
 <p>(Yumiko <i>et al.</i>, 2003) <span style="margin-left: 200px;"><b>Structure de base des flavonoïdes</b></span></p>	
 <p>(Aruoma <i>et al.</i>, 2003) <span style="margin-left: 50px;"><b>Flavones</b></span></p>	 <p style="text-align: center;"><b>Favonols</b></p>
 <p>(Larsen et Sandberg, 1970) <span style="margin-left: 200px;"><b>Coumarine</b></span></p>	

➤ **Figure 02** : Structures des principaux composés phénoliques de *Thapsia garganica*

### 1.3.4. Autres métabolites secondaires de *Thapsia garganica*

#### 1.3.4.1. Sesquiterpènes lactones

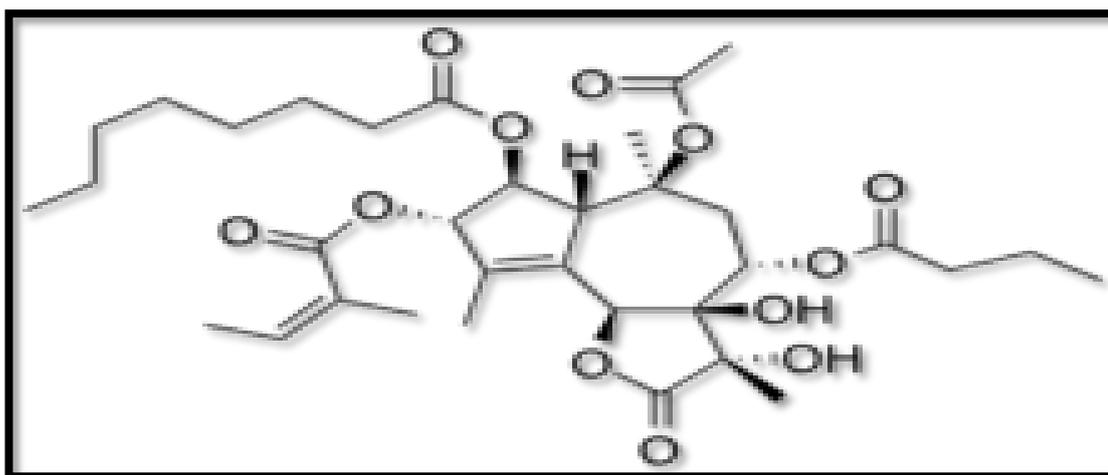
On trouve des sesquiterpènes lactones dans les tissus de *Thapsia garganica* L. Environ 3 000 structures connues sont décrites sous le terme suggestif de "principes amers", ce qui en fait un groupe quantitativement important (**Bruneton, 1999**).

Un grand nombre de composés ses terpéniques ont été identifiés à partir des plantes *Thapsia*, les plus importants étant ceux isolés des racines.

Les thapsigargines et les thapsigargicines, qui ont été isolées des racines de *Thapsia garganica* L., sont les plus importantes (Figure 2). (**Santarius et al., 1987 ; Liu et al., 2006 ; Kmonickova et al., 2008**).

La Tg (thapsigargin) est un produit chimique naturel essentiel. Ce produit chimique est un inhibiteur puissant et spécifique de l'enzyme endo/sarcoplasmique calcium ATPase (SERCA), qui provoque la mort cellulaire, et il est utilisé comme un nouveau chimiothérapeutique du cancer (**Kmoncková et al., 2008 ; Anthony et al., 2013**).

Les thapsigargicines (Tc) sont une autre lactone sesquiterpénique présentant des similitudes structurelles et fonctionnelles avec la Tg. Une analyse structurelle a révélé que la seule différence entre les deux composés est la présence de quatre groupes méthylène dans l'acyle (R) de la Tc contre six dans celui de la Tg (**Ali et al., 1985**).



➤ **Figure 03** : la structure de ses qui terpines lactones de plante *Thapsia garganica*

### 1.4. Utilisation traditionnelle du *Thapsia garganica*

L'écorce de la racine est le composant de la plante qui est utilisé, tandis que toutes les autres parties de la plante contiennent le même ingrédient actif en plus petites quantités (Dujardin-Beaumetz et Egasse, 1989).

L'écorce de la racine est encore utilisée dans la médecine traditionnelle maghrébine pour soigner la stérilité féminine, les douleurs rhumatismales, les entorses et surtout les affections pulmonaires graves, et la racine est décoctée et appliquée en externe sur les articulations enflées, les morsures de serpent, les plaies atones et les abcès (Ladjel *et al.*, 2011).

Cette plante était utilisée pour traiter les maladies respiratoires telles que la bronchite aiguë, la pneumonie et la toux dans l'ancienne Kabylie (Algérie). La racine fraîche est lavée et recouverte de cendres chaudes jusqu'à ce qu'elle ramollisse et que la résine s'extirpe, après quoi elle est grossièrement écrasée et placée dans une gaze. Le cataplasme ainsi obtenu est posé sur la poitrine et maintenu en place à l'aide d'un foulard jusqu'à ce que la sensation de brûlure se fasse sentir. Si nécessaire, le traitement est répété tous les jours. Une racine dont la section externe a été enlevée est utilisée pour les enfants. Lorsque l'affection est plus légère, une racine fraîche de *thapsia* frite dans de l'huile est appliquée comme révulsif sur les frictions du thorax, ou prise en interne à raison d'une cuillère à soupe par jour pour les adultes et d'une cuillère à café pour les enfants de plus de huit ans. Comme purgatif et emménagogue drastique, le jus frais est avalé avec une datte pour en camoufler l'âcreté (Hammiche *et al*, 2014 ; Dujardin-Beaumetz et egasse, 1989).

### 1.5. Activités pharmacologiques du *Thapsia garganica*

L'emplâtre de *Thapsia* est la seule préparation pharmacologique à base de la plante *Thapsia garganica* ; il est fabriqué en mélangeant la résine de *Thapsia* avec de la colophane blanche, du brai blanc, de la térébenthine et d'autres ingrédients. (Soubeiran, 1870).

Cet emplâtre a une application cutanée, qui s'enflamme, s'échauffe, rougit, et devient la source de démangeaisons atroces. Une éruption de nombreuses vésicules miliaires, très serrées et remplies d'une sérosité purulente, apparaît alors (Reboulleau, 1856). Il n'y a pas d'inconfort, et le plâtre peut être retiré après 4 à 6 heures (Ellingwood, 1919).

### 1.5.1. Activité anti-tumorale de la thapsigargin

L'action anti-tumorale de la thapsigargin a été étudiée en tant que pro-drogue dans une variété de troubles prolifératifs, notamment le cancer de la prostate et les carcinomes hépatocellulaires (Horn, 2018). Le G202, une pro-drogue fabriquée à partir de la thapsigargin, a été développé par des chercheurs. Une carboxypeptidase membranaire spécifique aux cellules cancéreuses de la prostate hydrolyse le G202 ; cette activation active le G202, qui bloque la pompe SERCA, entraînant la mort de ces cellules par apoptose (**Hamliche et al. 2013**).

La PSMA, une enzyme carboxypeptidase, a été utilisée pour lier la thapsigargin à un peptide court servant de substrat (carboxypeptidase prostate-specific membrane antigen). Le G202, une thapsigargin modifiée, ne peut inhiber la pompe à calcium membranaire qu'une fois qu'elle a été activée, ce qui est induit par l'hydrolyse du peptide par l'enzyme.

L'astuce est que de nombreuses cellules cancéreuses produisent également cette enzyme spécifique de la prostate. On en a trouvé dans 66 % des tumeurs malignes de l'estomac, 85 % des carcinomes colorectaux et 100 % des tumeurs de la vessie. Le G202 serait donc sans danger dans le sang et dans les tissus sains, mais il tuerait précisément et efficacement les cellules tumorales de diverses origines (**Denmeade et al. 2012**).

### 1.5.2. Activité antioxydante

Selon les résultats de diverses recherches, l'activité antioxydante des flavonoïdes présents dans *Thapsia garganica* peut intervenir en capturant directement les radicaux libres (**Shih et al. 2005**), en capturant les cations métalliques, ou en bloquant les enzymes responsables de la formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) . Les flavonoïdes (Flav-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydatifs (R) en raison de leur faible potentiel redox

#### 1.5.2.1 Les antioxydants dans *Thapsia garganica*

*Thapsia garganica* a été utilisé pour soulager la douleur et a un effet purgatif. Les racines ont également des propriétés diurétiques et émétiques.

Les feuilles et les racines de *Thapsia garganica* ont été étudiées par (**Idir et Ouadir, 2012**) et les conclusions suivantes ont été tirées :

- La teneur globale en phénols de la plante était élevée, les feuilles présentant la plus forte concentration.
- *Thapsia garganica* contient des niveaux modérés de flavonoïdes, avec les concentrations maximales trouvées dans les extraits aqueux. Les feuilles, par contre, étaient plus abondantes que les racines.
- Des tanins condensés ont été trouvés en quantités significatives dans les extraits de *Thapsia garganica*.
- L'activité de piégeage des radicaux DPPH des extraits de feuilles et de racines était extrêmement élevée. En outre, les extraits aqueux ont montré des pourcentages d'inhibition plus importants que les extraits organiques, ce qui est cohérent avec la teneur en tanins condensés.
- Les extraits de *Thapsia garganica* ne sont pas des chélateurs de fer efficaces.
- *Thapsia garganica* a un faible pouvoir réducteur ; ces résultats sont liés à la concentration totale en phénols de manière positive.
- Enfin, étant donné les relations établies entre les activités antioxydantes évaluées et les produits chimiques phénoliques, il semble que les composés phénoliques soient les plus probablement responsables de ces activités.

### 1.5.3. Activité anti-inflammatoire

Les flavonoïdes de *Thapsia garganica* ont des propriétés anti-inflammatoires, améliorent la perméabilité des capillaires et empêchent l'exsudation de protéines et le mouvement des leucocytes (Pelzer *et al.*, 1998). Ils peuvent modifier le métabolisme de l'acide arachidonique des plaquettes et prévenir la production de médiateurs inflammatoires, notamment les prostaglandines et les leucotriènes (Chi *et al.*, 2001 ; Delporte *et al.*, 2005).

#### 1.5.3.1. Effet de la thapsigargine sur la réponse inflammatoire, libération de l'histamine

L'histamine a été libérée lorsque des mastocytes péritonéaux traités par thapsigargine ont été incubés en présence d'ions calcium, même en faible quantité. cette libération s'ajoute aux effets irritants de la peau (Christensen, 2015). Lorsque la thapsigargin se lie aux récepteurs des mastocytes, elle induit une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité capillaire, qui sont toutes deux des signes d'inflammation. La thapsigargin a un effet comparable, mais elle n'est pas aussi efficace que la thapsigarginine (Ali *et al.*, 1985).

### 1.5.3.2. Action de la thapsigargine sur le calcium

Les effets biologiques de la thapsigargine sont invariablement associés à une augmentation du  $[Ca^{2+}]$  cytosolique (homéostasie du  $Ca^{2+}$ ). La suppression de la pompe  $Ca^{2+}$  ATPase du réticulum sarcoplasmique (SERCA : qui pompe les ions  $Ca^{2+}$  du cytosol vers le RE) a fourni la preuve ultime de cette idée.

La présence d'un site de reconnaissance sur ces pompes provoque cette inhibition (Lytton *et al*, 1991 ; Christensen, 2015). La thapsigargin augmenterait les niveaux de calcium intracellulaire sans inositol-1,4,5 triphosphate, un messenger intracellulaire impliqué dans la libération du calcium (Takemura *et al.*, 1989 ; Horn, 2018).

### 1.6. Les formes de toxicité par le *Thapsia garganica*

Le *Thapsia* est toxique et irritant pour la peau dans toutes ses sections, en particulier la racine, qui présente une résine très agressive à l'extérieur (Hammiche *et al.* 2014).

La présence de lactones sesquiterpéniques, notamment de thapsigargin, rend la *thapsia* toxique. Le contact direct entraîne un érythème, des démangeaisons et la production de minuscules cloques, qui sont autant de symptômes de dermatite (Mohamed *et al.*, 2018 ; Liu *et al.*, 2006)

#### 1.6.1. Toxicité chez l'animal

Des données épidémiologiques de Mohammedi *et al.*, (2014) ont permis d'avoir les résultats:

**Tableau I :** Nombre de cas (un cas peut représenter jusqu'à une centaine d'animaux.) d'intoxication par espèce animale et végétale en Algérie entre 1995 et 2013.

Plantes	Ovin	Bovin	Caprin	Dromadaires
<i>Thapsia garganica</i>	20	0	0	12

**Tableau II :** Nombre d'intoxications par espèce animale et végétale en Algérie ente 1995 et 2013

Plante	Ovin	Bovin	Caprin	Dromadaires
<i>Thapsia garganica</i>	170	0	0	36

### 2. Activité anti-inflammatoire

#### 2.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation, également appelée réaction inflammatoire, est la réponse de l'organisme à une agression physique, chimique ou biologique afin de maintenir son intégrité. L'objectif de l'inflammation est de démobiliser le système immunitaire afin qu'il puisse éliminer l'agent pathogène et restaurer les dommages tissulaires. En raison de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du site de l'inflammation ou d'une mauvaise régulation du processus inflammatoire, l'inflammation peut parfois être dangereuse. Rougeur, chaleur, inconfort et dommages fonctionnels sont les quatre symptômes les plus courants.

#### 2.2. Les Anti-inflammatoires

La thérapie anti-inflammatoire est principalement réalisée avec des molécules de synthèse de type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticostéroïdes). Ce sont des médicaments couramment utilisés, mais leurs effets indésirables peuvent être importants, notamment les atteintes rénales et intestinales (Das, 2010).

##### 2.2.1. Anti-inflammatoires conventionnels

###### \* Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Ce sont des analgésiques, des antipyrétiques et des anti-inflammatoires. Plusieurs classes ont été proposées, selon la structure, la puissance, les modes d'action et/ou la sélectivité anti-COX des AINS (Cuvillon et Viel, 2002). En effet, tous les AINS agissent en inhibant les deux isoformes de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2), diminuant la synthèse de la prostaglandine E2 et du thromboxane A2 (Risser *et al.*, 2009).

###### \* Les anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticoïdes)

Ils constituent le traitement le plus efficace des maladies auto-immunes et des maladies inflammatoires chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde (Kessel *et al.*, 2014). L'utilisation de glucocorticoïdes est liée à une variété d'effets secondaires, dont la probabilité augmente à mesure que la période de traitement se prolonge. Par conséquent, des affections aiguës telles que l'hypertension artérielle et l'ulcère gastroduodéal se développent (Henzen, 2003).

### 3. Activité antioxydante

#### 3.1. Stress oxydatif

Les antioxydants sont essentiels au métabolisme humain. Les interactions biologiques qui se produisent dans notre corps produisent des radicaux libres, qui déclenchent des réactions en chaîne d'oxydation qui endommagent les cellules de notre corps, les détruisant et accélérant le processus de vieillissement. Le corps humain maintient normalement un équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en créant simultanément les deux types de substances chimiques au cours du processus métabolique. Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre chimique entre ces deux types de molécules (**Yepez et al., 2002**).

Le stress oxydatif est une perturbation de l'équilibre métabolique cellulaire dans laquelle la production d'oxydants dépasse le système de défense antioxydant, par une augmentation de la production d'oxydants, ou par une diminution des défenses antioxydants (**Sorg, 2004**).

##### 3.1.1. Les radicaux libres

Les organismes multicellulaires ont besoin d'oxygène car il leur permet de générer de l'énergie en oxydant les matières organiques. Cependant, les cellules transforment une partie de cet oxygène en composés nocifs appelés radicaux libres (**Favier, 2003**).

Une entité chimique contenant un ou plusieurs électrons uniques sur sa couche externe est connue sous le nom de radical libre (**Zweier et Talukder, 2006**).

Ces radicaux peuvent être fabriqués à partir d'oxygène (espèces réactives de l'oxygène : ROS) ou d'autres éléments perturbés dans la cellule vivante, comme l'azote (**Koehilin-Ramonatxo, 2006**).

### 3.2. Les antioxydants

#### 3.2.1. Définition

Un antioxydant est décrit comme tout agent ayant le pouvoir de retarder, de prévenir ou d'inhiber la création d'un oxydant nocif, ainsi que d'arrêter et d'inactiver ceux qui ont déjà été formés, ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de propagation de l'oxydant (**Tang et Halliwell, 2010**).

### 3.2.2. Classification des antioxydants

Les antioxydants ont des propriétés différentes selon le type de tissu et de cellule, ainsi que selon qu'ils sont situés dans l'environnement intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003**). Il existe une variété d'antioxydants, notamment :

#### a) Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes endogènes de l'organisme peuvent métaboliser les ROS (**Morena *et al.*, 2002**). Parmi les plus connues figurent :

- L'anion superoxyde est dismuté en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et en oxygène par la superoxydedismutase (SOD).
- La glutathion peroxydase est une enzyme dépendant du sélénium que l'on trouve dans le cytosol et la matrice mitochondriale. La dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) est une de ses fonctions (**Valko *et al.*, 2006**).
- La catalase est une enzyme qui se trouve principalement dans les peroxysomes (**Valko *et al.*, 2006**). Elle permet de convertir deux molécules de  $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$ .

#### b) Les antioxydants non enzymatiques

D'autres substances issues de l'alimentation, comme les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique) et les caroténoïdes, capturent les radicaux et neutralisent l'électron non apparié, les transformant en molécules ou en ions stables (**Halliwell, 1994**).

Les antioxydants exogènes sont ceux qui sont obtenus principalement à partir des aliments, tout comme les oligoéléments nécessaires à la synthèse et au bon fonctionnement du système antioxydant enzymatique (**Rayman, 2000 ; Benzie et Strain, 2005**).

#### c) Les antioxydants d'origine végétale

Les plantes comprennent divers composés bioactifs ayant des capacités antioxydants dans la nature, en particulier dans le monde végétal. Citrulluscolocynthis, Limoniastrumfeeii, Pistacialentiscus et bien d'autres ont été signalés comme ayant des propriétés antioxydants (**Atmani *et al.*, 2009 ; El-Haci *et al.*, 2012**). L'alimentation contient une part considérable de ces composés. Les polyphénols, les acides phénoliques (benzoïques ou cinnamiques), les caroténoïdes flavonoïdes et les tanins sont les plus connus (**Pellegrini *et al.*, 1999**).

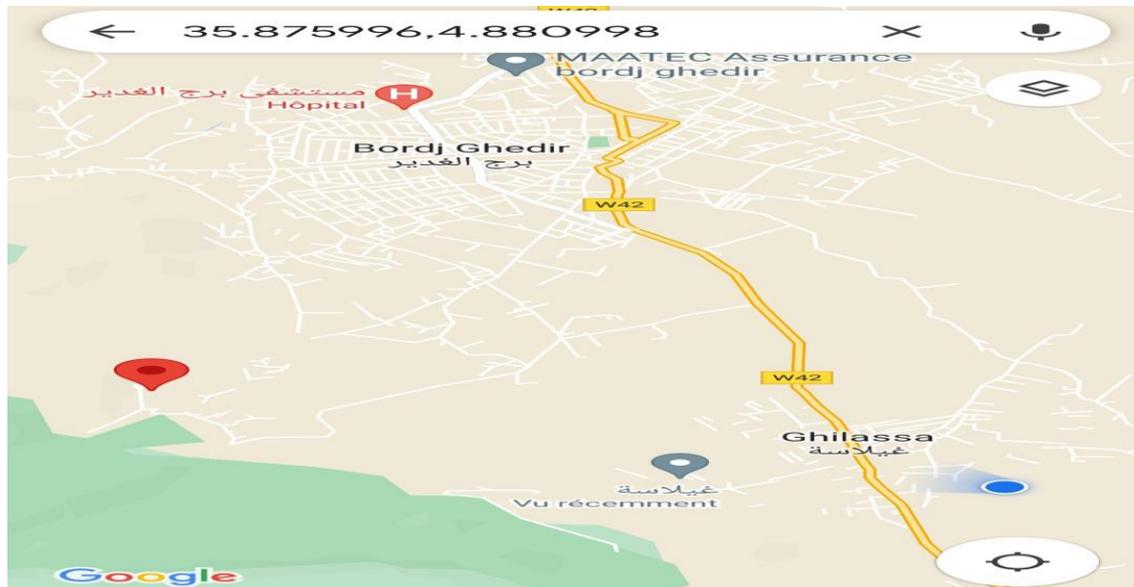
# Chapitre II :

# Matériel et méthodes

## 1. Matériel

### 1.1. La plante *Thapsia garganica*

La plante *Thapsia garganica* a été récoltée à partir de la région de Ghilassa wilaya de Bordj Bou Arreridj.



**Figure 04** : Site d'échantillonnage de la plante *Thapsia garganica*

Les plantes ont été nettoyées des impuretés, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique en poudre moyennement fine, à partir de laquelle des différents extraits ont été préparés



A : racine

B : feuilles

➤ **Figure 05** : poudre fine Issue du broyage de plante *Thapsia garganica*

### 1.2. Les produits utilisés

L'expérimentation est menée au cours de l'année universitaire 2021-2022 au niveau des laboratoires chimie de SNV à l'université de Bordj Bou Arreridj ; les produits utilisés dans cette expérimentation sont :

- Méthanol
- Éthanol
- Chloroforme
- Acétone
- Folincicalteu
- Acide galique
- Carbonate de sodium
- Quercétine
- Trichlorure d'aluminium
- 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>)
- TRIS/Hcl
- Acide ascorbique
- BSA
- 

### 2. Méthodes :

#### 2.1. Extraction des composés phénolique

##### 2.1.1. Préparation des extraits (EE)(EHM)(ECH)(EAC)

Avec quelques ajustements, l'extrait hydro-méthanolique a été préparé selon la méthodologie d'extraction de **Markham (1982)**. La poudre de la plante (50 g) a été extraite par macération dans un mélange méthanol/eau (85/15 : v/v) à température ambiante et dans l'obscurité pendant 72 heures avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Puis à travers le papier Wattman n°3 après filtration sur coton. Les filtrats ont été recombinaés et évaporés presque complètement par un rotatif (BÜCHI), les résidus résiduels étant séchés

dans une étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sous forme de poudre, stocké à -4°C jusqu'à son utilisation.

### 2.2. Dosage des composés phénolique

#### 2.2.1. Dosage des polyphénol totaux

La quantification de ces métabolites se fait à l'aide de diverses techniques analytiques. La méthode Folin-Ciocalteu est l'approche la plus fréquemment employée (**Georgé *et al.*, 2005**).

##### a. Principe

Une combinaison d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique constitue le réactif de Folin-Ciocalteu ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Dans une solution alcaline, les groupes oxydables des composés phénoliques oxydent le réactif de Folin-Ciocalteu, ce qui entraîne la création d'un mélange d'oxydes bleus. La quantité de polyphénols présents dans l'extrait examiné est liée à l'intensité de la couleur produite, dont l'absorbance maximale est de 765 nm.

##### b. Protocol

A 200 µl d'échantillon ou d'étalon, on ajoute 1000 µl de réactif de Folin (dilution 10 fois) avec les dilutions appropriées. Après 4 minutes, le milieu réactionnel est complété par 800 µl de solution de carbonate de sodium (75 mg/ml). L'absorbance est mesurée à 765 nm après 2 heures d'incubation à température ambiante. La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-160 µg/ml) et est exprimée en µg d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg extrait).

#### 2.4.2. Dosage des flavonoïdes

##### a. Principe

Cette approche fonctionne en formant un lien covalent entre l' $AlCl_3$  et les groupes OH des flavonoïdes, ce qui donne lieu à un complexe de couleur jaune dont l'absorbance maximale est de 430 nm (**Huang *et al.*, 2004**).

##### b. Protocol

1 ml de solution d' $AlCl_3$  (2 % dans le méthanol) est ajouté à 1 ml d'échantillon. Les absorbances sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre à 430nm après 10 minutes

d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Toutes les manipulations sont effectuées trois fois. La gamme d'étalonnage de la quercitrine (5-40 µg/ml) est établie dans les mêmes conditions. L'équation de régression de la ligne d'étalonnage est utilisée pour calculer la quantité de flavonoïdes.

Les résultats sont donnés en équivalents quercitrine par milligramme d'extrait (µg QE/mg d'extrait).

### 2.3. Activités biologiques de la plante

#### 2.3.1. L'activité antioxydante

Deux procédures ont été utilisées pour évaluer l'effet antioxydant des extraits végétaux de *Thapsia garganica* : le radical 2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le test antioxydant par électrochimie.

##### 2.3.1.1. piégeage de radical DPPH

###### a. Principe :

On utilise la méthode de **Blois (1958)** pour inhiber le radical libre 2,2-diphényle-2-picrylhydrazyl (DPPH.). Cette méthode permet de calculer la concentration inhibitrice médiane IC50 des composés antioxydants et de quantifier leur capacité de piégeage. Le DPPH est un radical libre violet (forme oxydée) qui devient jaune (forme réduite) lorsque des produits chimiques antioxydants qui lui donnent un proton interagissent avec lui. L'activité anti-radicaux libres de l'extrait est inversement proportionnelle à sa couleur violet foncé, qui peut être mesurée à 517nm (**Locatelli et al., 2010**).

###### b. Protocole

1,5 ml de l'extrait ou de la solution standard est ajoutés à 0,5 ml de solution DPPH à des concentrations bien définies (0,004 %). Après agitation, les tubes sont incubés pendant 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité. Un spectrophotomètre réglé sur 517 nm lit l'absorbance par rapport à un blanc produit pour chaque concentration. L'examen est effectué trois fois. L'équation suivante est utilisée pour calculer le pourcentage de piégeage des radicaux DPPH. : **% de piégeage**=  $[(A_1 - A_2) / A_1] * 100$

**A<sub>1</sub>** : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

**A<sub>2</sub>** : absorbance en présence d'extrait.

### 2.3.1.2. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC)

En électrochimie, la VC est la technique la plus utilisée. Elle donne des résultats quantitatifs sur les catalyseurs et les réactions électrochimiques, tels que la réponse électrochimique du catalyseur, l'interaction du catalyseur avec l'électrolyte et l'activité catalytique du catalyseur (Li et Thomas, 2020). Il vous renseigne également sur les processus de réaction redox, la réversibilité de la réaction et la cinétique de transfert d'électrons d'une espèce électroactive en solution. (Nnamchi et Obayi, 2018).



➤ **Figure 06** : le déroulement de la technique de VC

#### Les matériaux VC qui ont été utilisés

Une cellule électrochimique et trois électrodes (WT : électrode de travail, RE : électrode de référence, et AE : électrode auxiliaire) constituent les composants de base d'un analyseur voltampérométrique (contre-électrode).

- **Un circuit électronique** : potentiostat est un circuit électronique qui modifie le potentiel et enregistre le courant.
- **Électrode de travail (électrode indicatrice)** : c'est une microélectrode de faible surface qui est au cœur de tous les systèmes voltampérométriques. Hg, Au, Pt, Ir et CV sont les électrodes de travail les plus souvent utilisées en voltampérométrie (carbone vitreux).
- **Électrode de référence** : Cette électrode possède un potentiel précis et constant, permettant d'imposer à l'électrode de travail un potentiel bien défini. L'électrode au calomel saturé ECS :  $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{C}_2/\text{KCl}$  (EECS = 241 mV) et l'électrode saturée au

chlorure d'argent Ag/AgCl/KCl ( $E_{Ag/AgCl/KCl} = 199 \text{ mV}$ ) sont les électrodes de référence les plus utilisées.

- **Électrode auxiliaire** : elle garantit le passage du courant dans la solution et sa mesure. Elle est souvent construite en platine ou en carbone (graphite) et présente une surface plus importante que l'électrode de travail (**Abollino *et al.*, 2018**).
- **a. Le principe de la voltampérométrie cyclique**
- La mesure d'une réponse en courant en fonction de la tension fournie à une cellule de voltampérométrie est la base de la voltampérométrie. Les deux types de SV sont la voltampérométrie par stripping anodique (ASV) et la voltampérométrie par stripping cathodique (CSV).
- La nature de leurs procédures de pré-concentration et de stripping diffère entre les deux variantes de SV. En VSV, les courants anodiques (d'oxydation) sont mesurés après une étape préliminaire de concentration cathodique, suivie d'un balayage du potentiel vers des potentiels plus positifs. Dans la VSV, les courants cathodiques (de réduction) sont déterminés après une phase préliminaire de concentration anodique, suivie d'un balayage de potentiel vers des potentiels plus négatifs (**Achterberg *et al.*, 2018**).

### **b. Procédures et conditions de travail**

- Un potentiostat / galvano stat Voltalab 40 type PGZ301 (RadiometerAnalytical) est relié à une cellule électrochimique comportant trois électrodes pour l'étude par voltamétrie cyclique (CV) : - une électrode en carbone vitreux de 2,0 mm de diamètre.
- Comme contre-électrode, une plaque de platine d'une surface de 1,2 cm<sup>2</sup> est utilisée.
- Comme électrode de référence, une électrode au calomel saturé (SCE) a été utilisée.
- Un micro-ordinateur équipé du logiciel Volta Master 4, version 7.08, contrôle l'ensemble du système.
- Avant chaque manipulation, l'électrode de travail est polie avec du papier Joseph, puis rincée à l'eau distillée et à l'acétonitrile et essuyée avec du papier absorbant. Dans une cellule électrochimique remplie de 10 ml d'une solution comprenant l'électrolyte de base (T<sub>Bu</sub>NPF<sub>6</sub>, 0,1 mol.L<sup>-1</sup>) dissous dans l'acétonitrile, la réaction entre les différentes molécules et l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) est réalisée ; cette solution est soumise à un barbotage d'oxygène pendant 15 minutes.

- . A température ambiante, le voltammogramme d'oxygène a été enregistré à une vitesse de balayage de 50 mV/s avec une gamme de potentiel de 0 à -1V / ECS. L'activité de piégeage des radicaux superoxydes de chaque composé est testée en ajoutant 0,1 ml de sa solution aux voltammogrammes, qui sont ensuite enregistrés dans les mêmes circonstances expérimentale

### 2.3.2 Évaluation de l'effet anti-inflammatoire in vitro

#### a. Principe

L'efficacité anti-inflammatoire de plusieurs extraits de *Thapsia garganica* L. est évaluée in vitro en utilisant le test d'inhibition de la dénaturation de la BSA selon la méthodologie de **Williams *et al*, (2002)**. Brièvement, 500 µl de BSA (0,2 pour cent) préalablement préparés dans un tampon tris-HCl ont été ajustés à pH 6,3 et ajoutés à 500 µl des différentes concentrations de l'extrait, ce mélange a été incubé à 37°C pendant 20 min puis à 65°C pendant 10 min après refroidissement, les absorbances ont été mesurées à 660 nm, et le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant l'équation ci-dessous.

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ teste}) / A \text{ contrôle}] * 100$$

# **Chapitre III :**

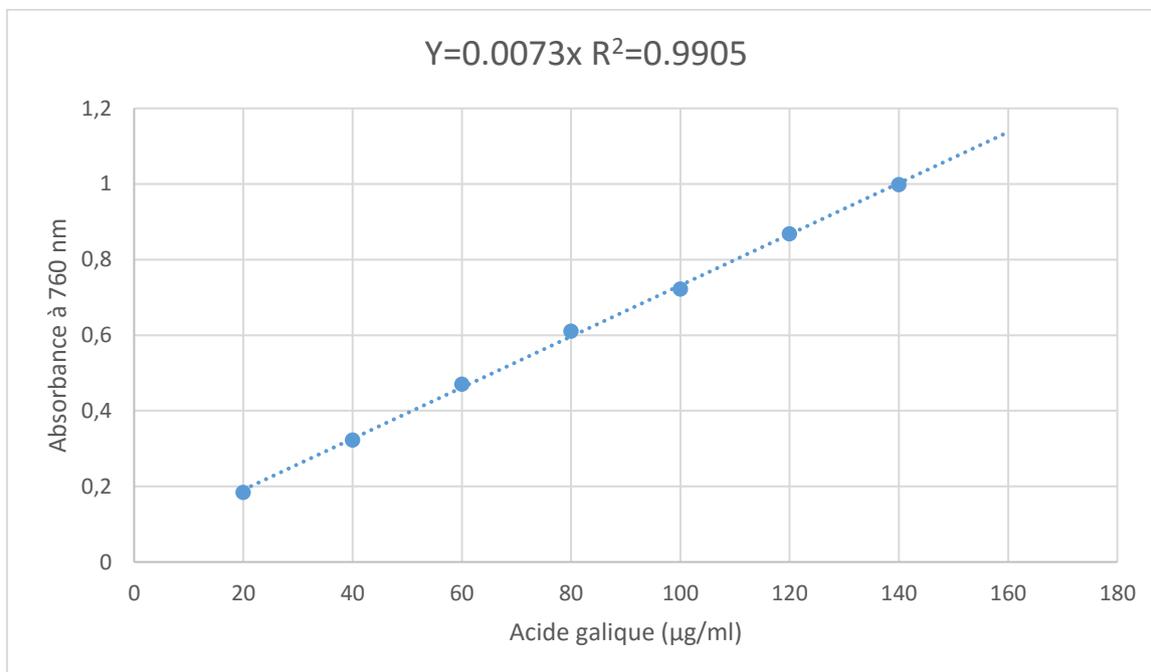
## **Résultats et discussion**

### 1. Résultats

#### 1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes

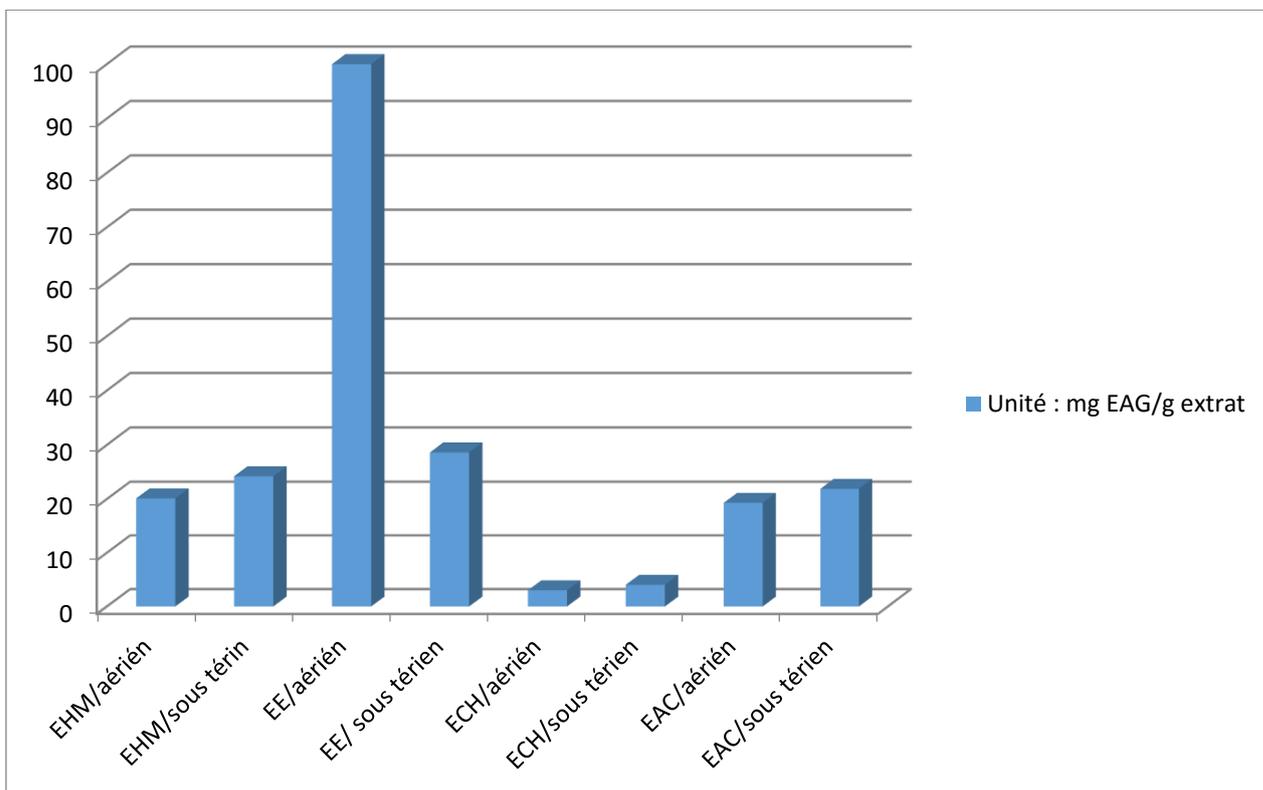
##### 1.2.1. Teneur en polyphénols

La technique Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols de divers extraits méthanolique(EHM) et éthanolique(EE), chloroformique(ECH), acétonique(EAC) de feuilles et racines de *Thapsia garganica*. Elle est mesurée en grammes d'EAG par milligramme d'extrait sec de feuilles et racines. L'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été utilisée pour calculer les concentrations en polyphénols



➤ **Figure 07** : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

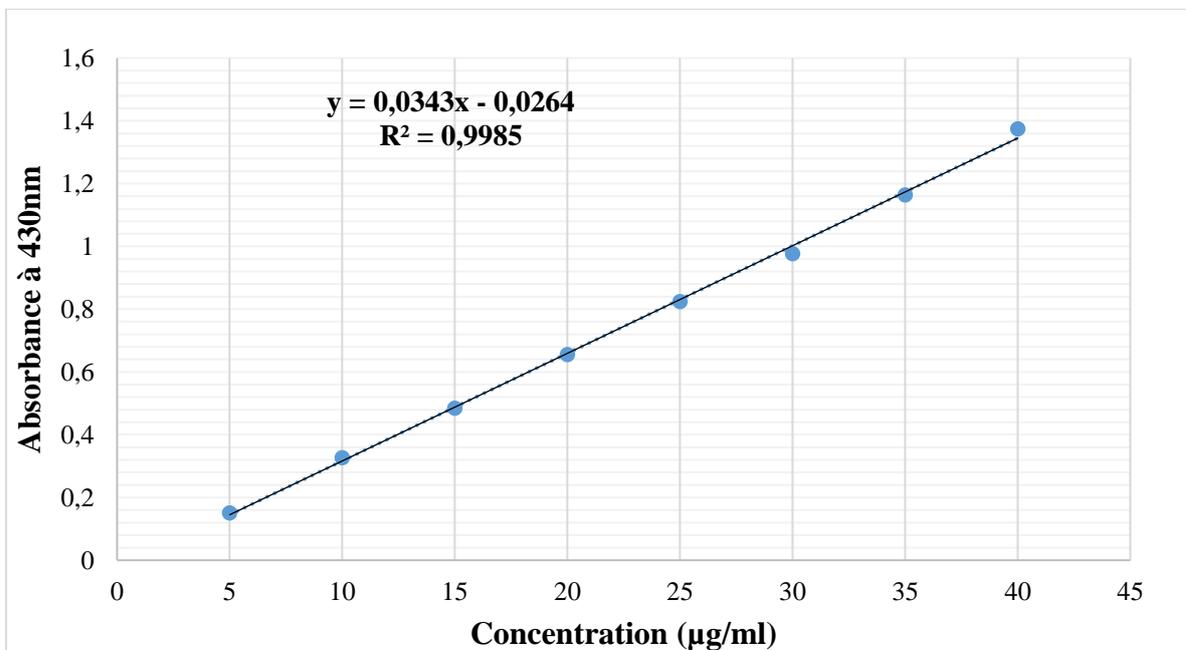
La figure 8 montre la teneur en polyphénols totaux des divers extraits de la plante *Thapsia garganica*. Par rapport aux autres extraits, EE présente la plus forte concentration en polyphénols.



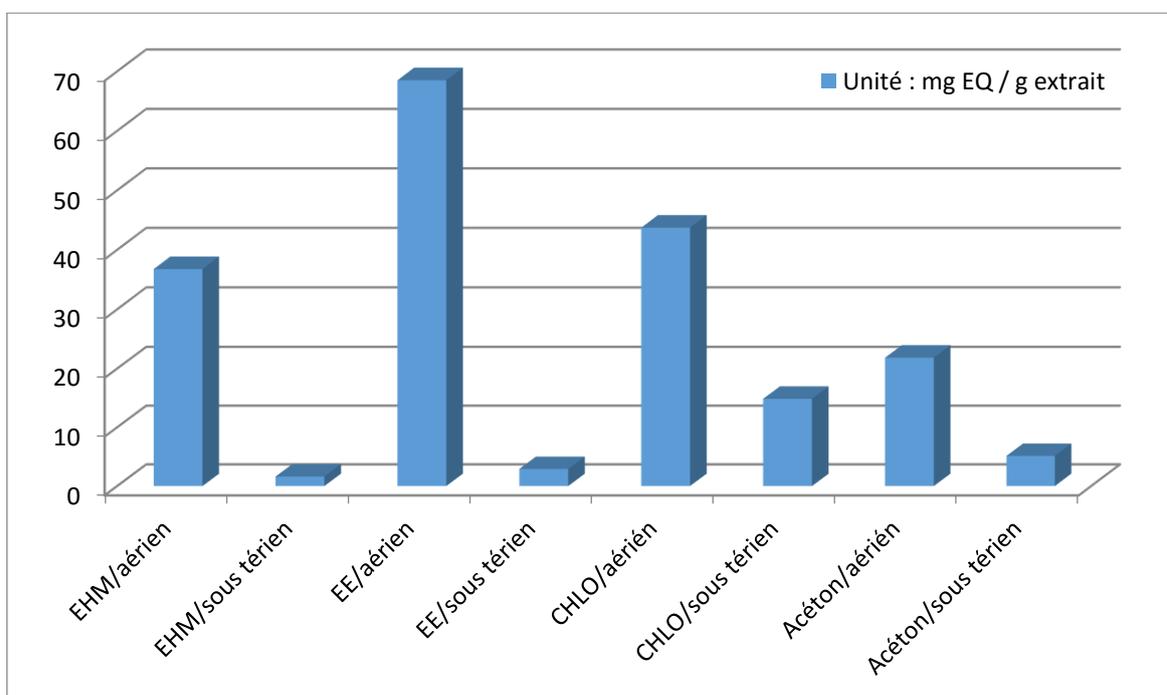
➤ **Figure 08** : teneur des polyphénols totaux dans les différents extraits

### 1.1.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été estimée par la méthode colorimétrique d'ALCl<sub>3</sub>.



➤ **Figure 09** : courbe d'étalonnage de quercitrine



➤ **Figure 10** : Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Thapsia garganica*

Les résultats de dosage des flavonoïdes ont révélé que EE aérien est le plus riche en flavonoïdes ( $68 \pm 0.51$  mg EQ/g d'extrait), ensuite l'extrait ECH aérien, EHM aérien EAC aérien ( $36.77$  mg EQ/g d'extrait), ( $43.73$  mg EQ/g d'extrait), ( $21.86$  mg EQ/g d'extrait) respectivement.

### 1.3. Activités biologiques de la plante

#### 1.3.1 .L'activité anti-inflammatoire in vitro

Le potentiel des extraits de feuilles et racines de *Thapsia garganica* à supprimer la dénaturation induite par la BSA a été mesuré afin d'évaluer leur impact anti-inflammatoire in vitro. Selon les résultats, les extraits de feuilles et racines de *Thapsia garganica*. Suppriment la dénaturation de la BSA. Cette inhibition est similaire à celle de l'activité anti-inflammatoire standard (Diclofénac) à la même concentration, qui est de  $75.20 \pm 0.45\%$  à  $250 \mu\text{g/ml}$ . Cependant, à  $250 \mu\text{g/ml}$ , les pourcentages d'inhibition obtenus avec les extraits de feuilles et racines de *Thapsia garganica*. sont de  $58.32 \pm 0.80\%$  pour EHM et  $60.23 \pm 0.60\%$  pour cent pour EE,  $44.30 \pm 0.89\%$  ECH et  $39.60 \pm 0.95\%$  EAC.

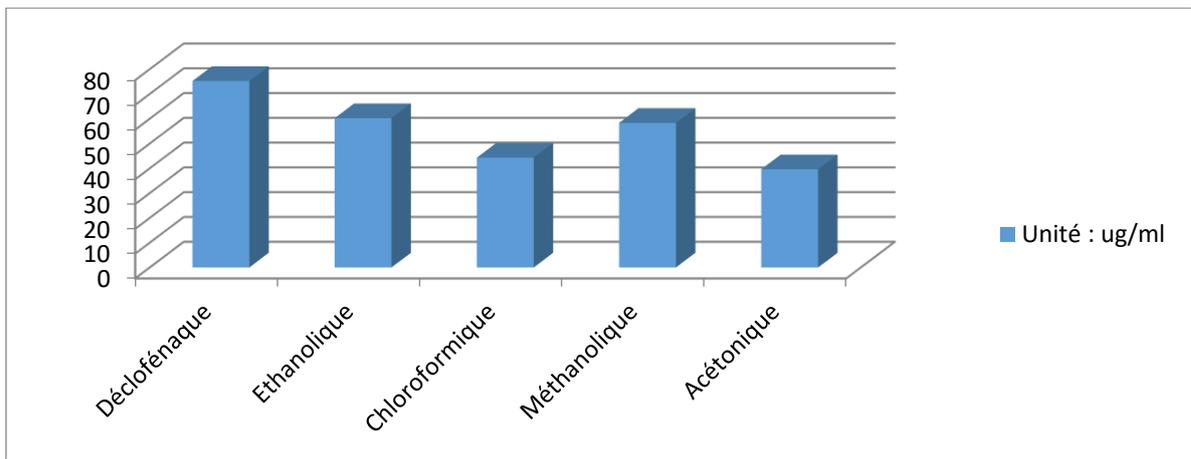


Figure 11 : différents extraits dans le dosage des anti-inflammatoires

### 1.3.2. Activité Antioxydante

#### a. Inhibition du radical DPPH

Pour évaluer la capacité antioxydante des substances polyphénoliques, le DPPH, un radical libre persistant ayant une bande d'absorption à 517 nm, est utilisé. L'activité anti-radicalaire des extraits de feuilles et racines de *Thapsia garganica* L. a été comparée à celle d'autres antioxydants courants comme l'acide ascorbique et exprimée en valeur CI50. Cette mesure est la quantité d'extrait qui peut piéger efficacement 50 % des radicaux DPPH présents dans le mélange réactionnel. Les résultats montrent que les différents extraits de *Thapsia garganica* L. sont capables de capturer des radicaux DPPH avec des valeurs IC50 de  $93,38 \pm 2,08 \mu\text{g/ml}$  et  $152,86 \pm 12,46 \mu\text{g/ml}$  pour EE et EHM respectivement.

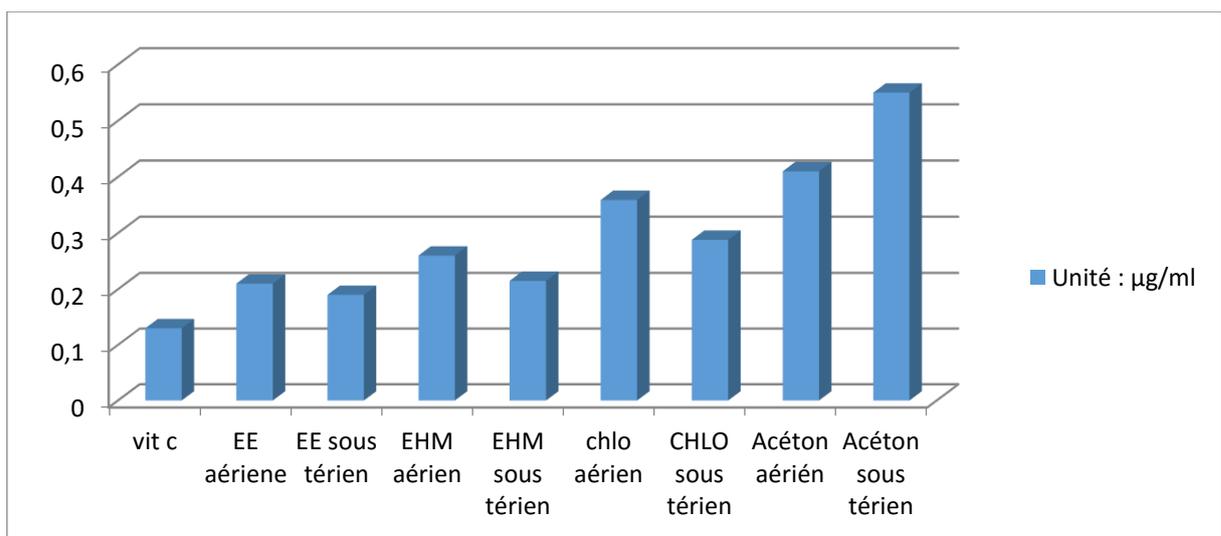
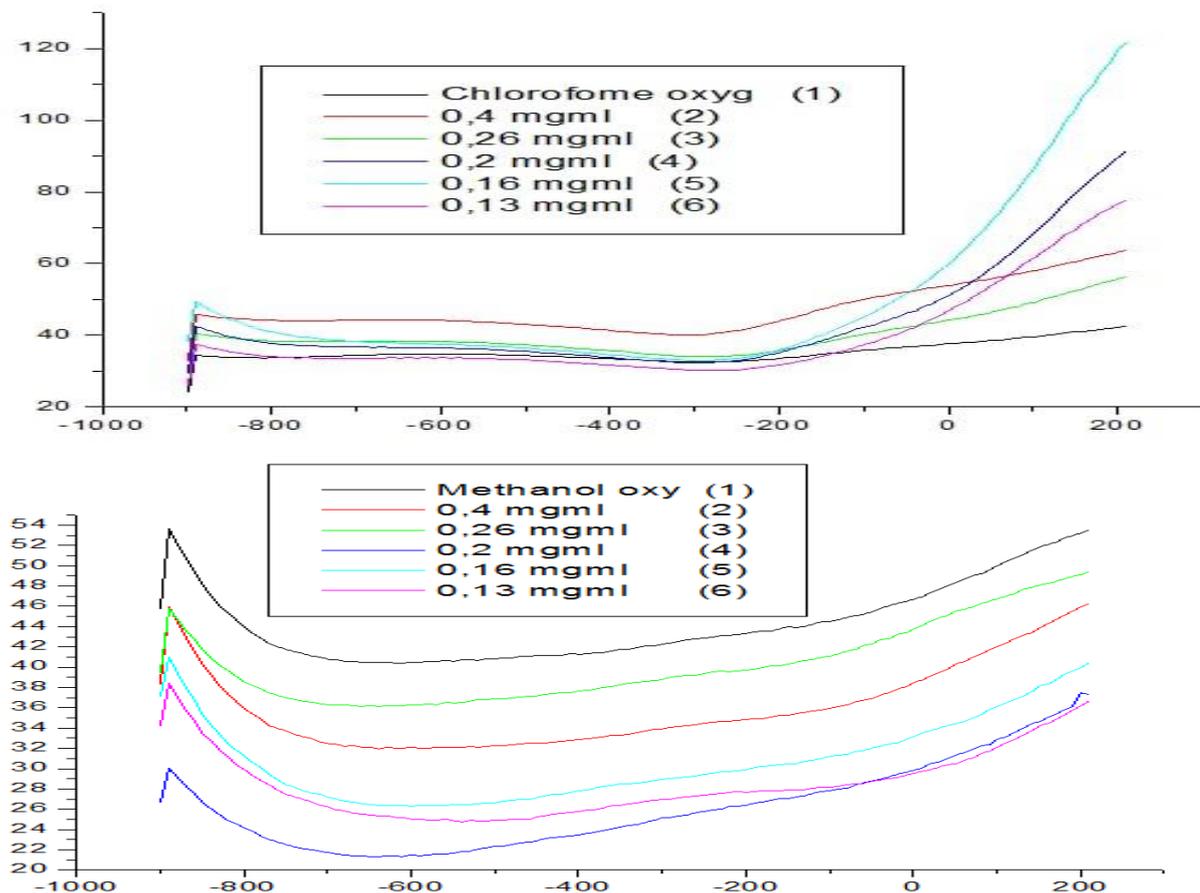


Figure 12 : piégeage des radicaux de DPPH par les différents extraits

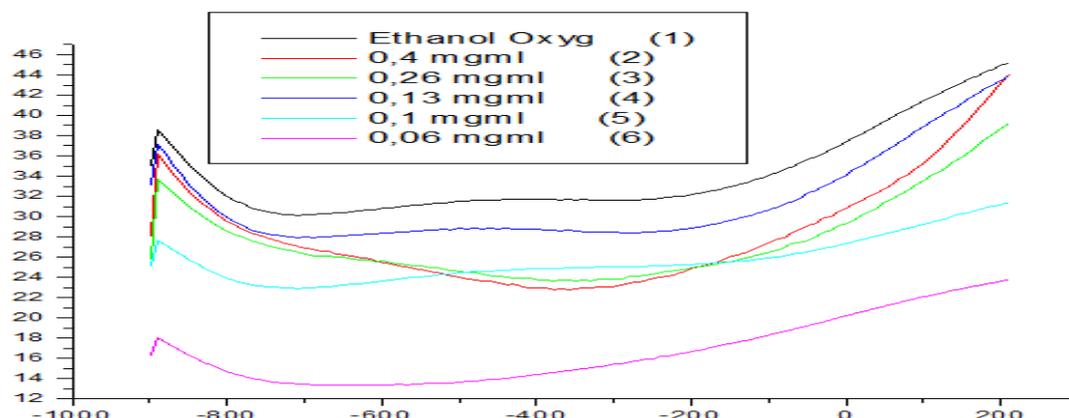
a. Comportement électrochimique de l'oxygène en présence d'extract et de vitamine C

En présence de différentes concentrations d'extract (EHM,EE, ECH, et vitamine C), on observe les voltampérogrammes cycliques de réduction de l'oxygène

A



B



**Figure 13 :** Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de la présence des différents volumes de EHM EE ECH (A) et de la vitamine C (B) sur l'oxygène.

Pour vérifier l'action antioxydante de l'extract sur l'oxygène, une voltamétrie cyclique est effectuée. Le radical superoxydé  $O_2$  est créé pendant la réduction de l'oxygène ( $O_2 + 1e-$

O<sub>2</sub>). La quantité de radical O\* qui se forme dépend du milieu électrolytique, et la présence d'un système enzymatique (extrait) dans la solution électrolytique qui a un impact sur cette quantité. Cette interaction se produit lorsque les molécules de l'extrait et les molécules d'oxygène entrent en contact, et il devient plus fort que la puissance antioxydant de l'extrait augmente. Les résultats démontrent que l'EHM et la vitamine C ont une interaction avec la molécule d'oxygène, ce qui entraîne une réduction proportionnelle du courant cathodique. Le calcul suivant est utilisé pour déterminer le pourcentage d'interaction ou d'inhibition de la molécule d'oxygène avec le EHM et la vitamine C

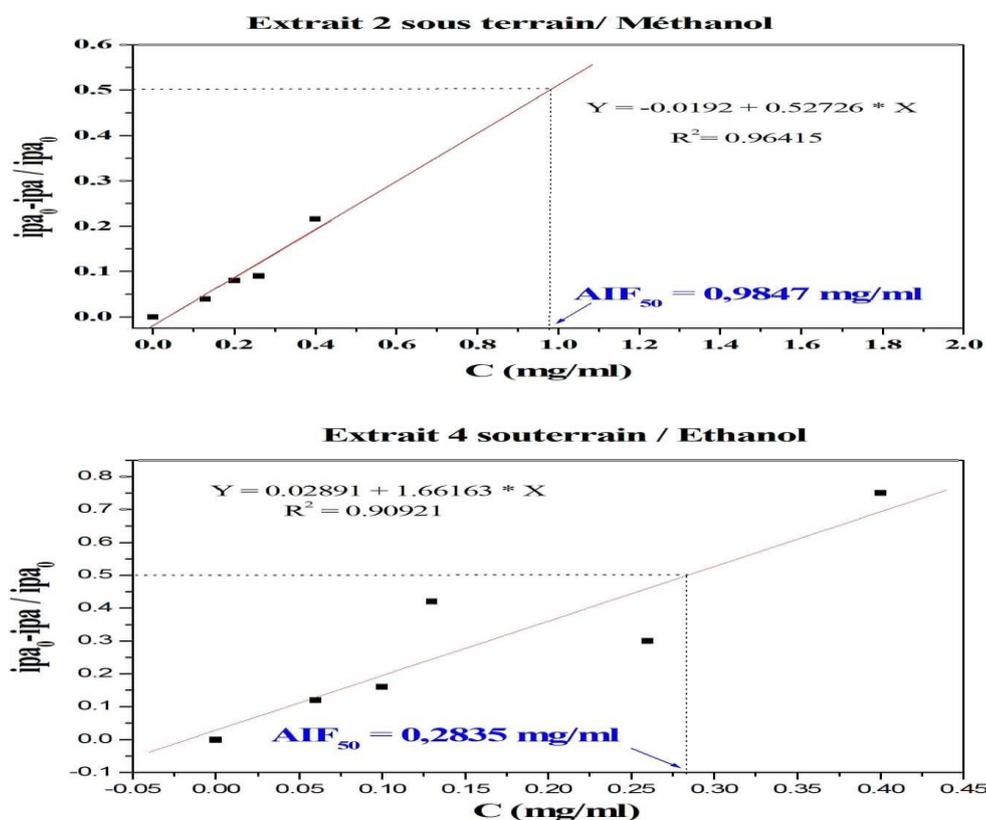
$$IC \% = \frac{ipc0 - ipc}{ipc0} \times 100 \%$$

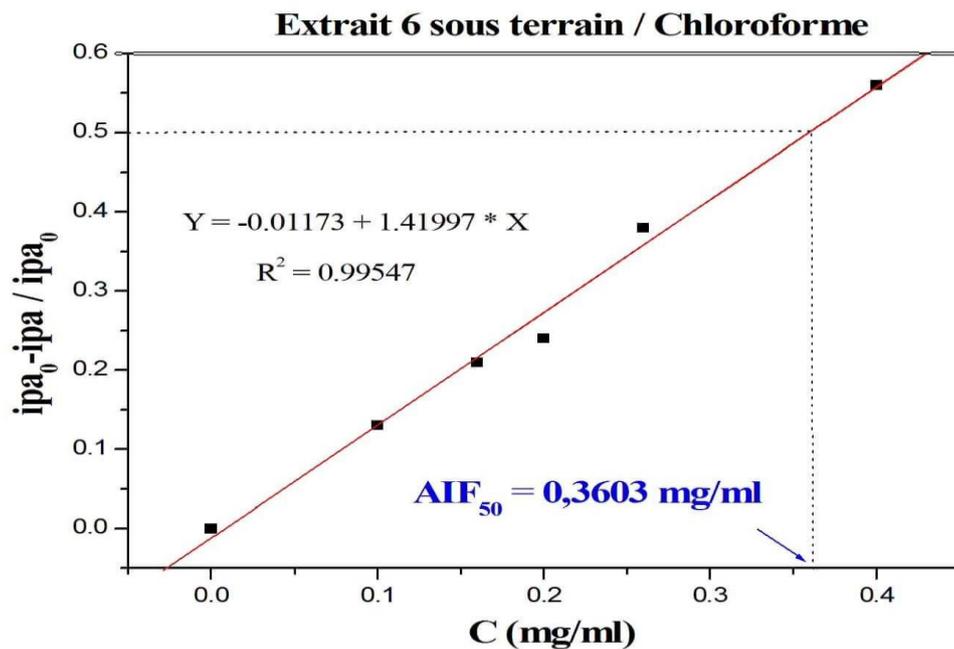
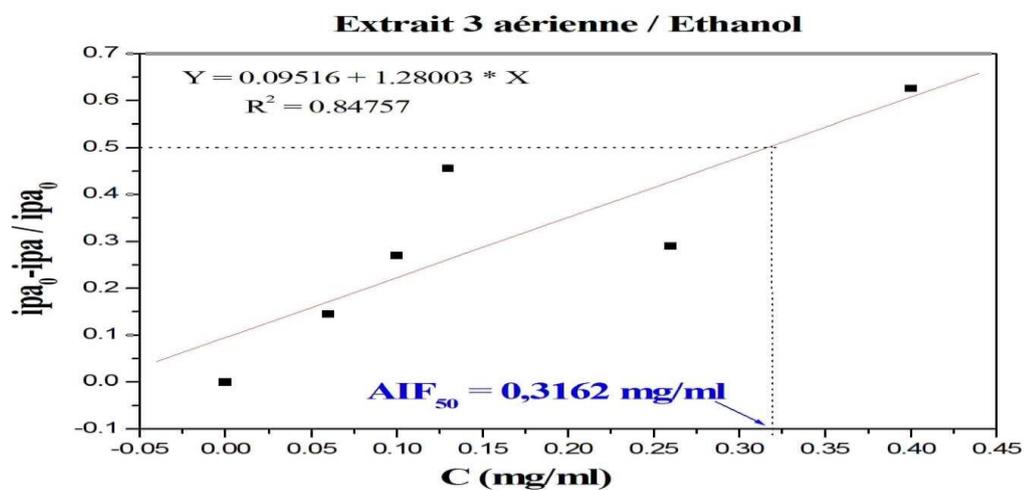
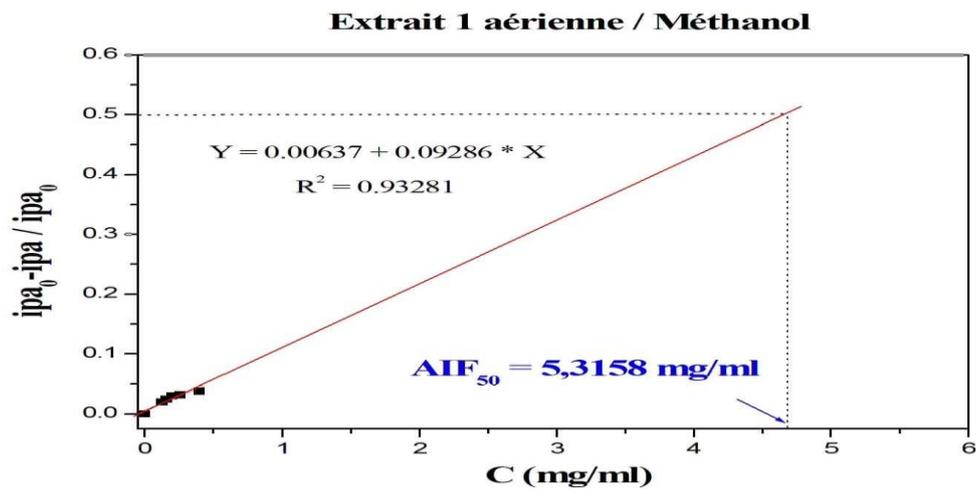
IC% : proportion d'inhibition ou d'interaction.

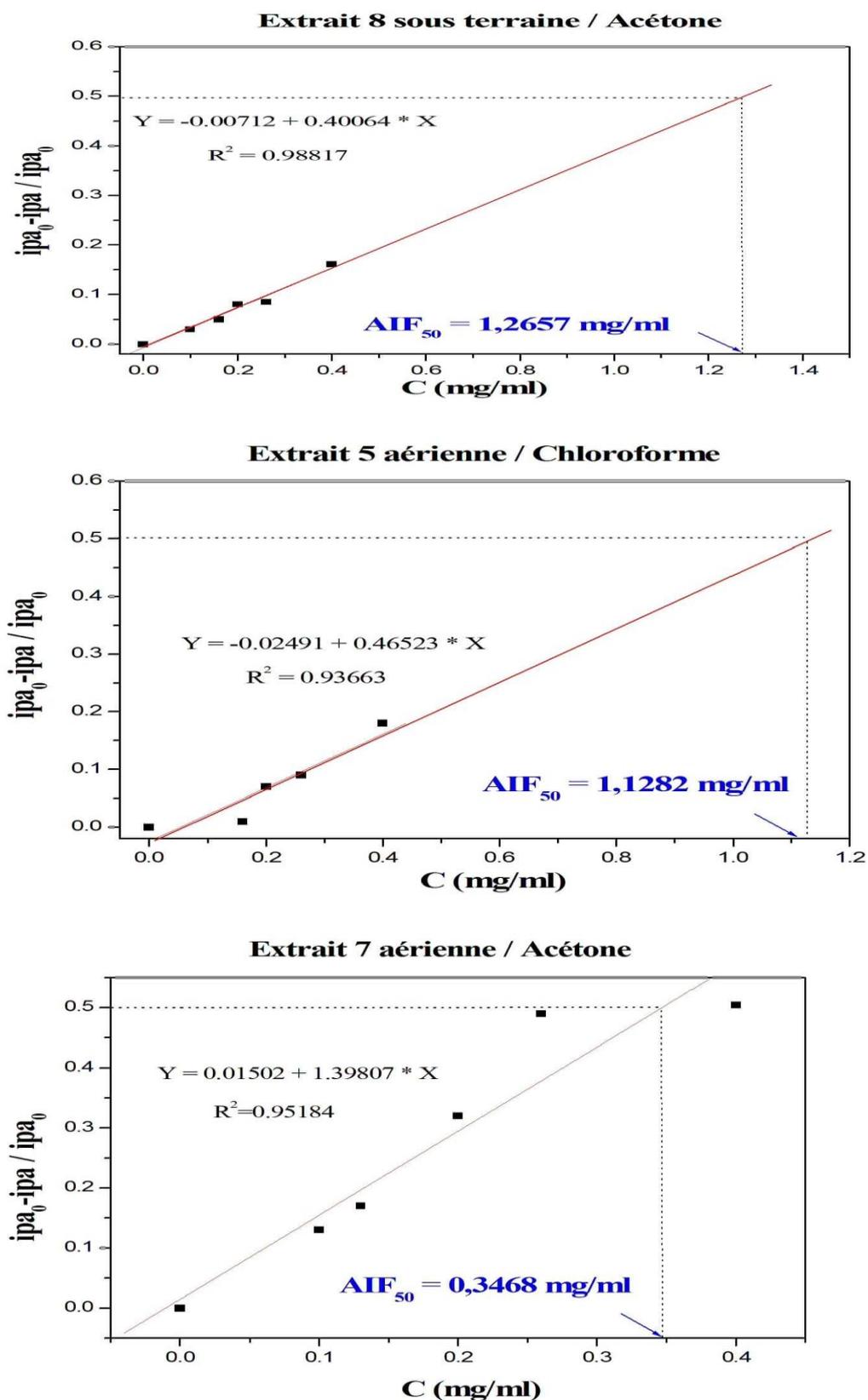
ipco : intensité du courant de cathode d'oxygène en l'absence d'extrait

ipc : intensité de courant de cathode d'oxygène par litre d'extrait.

La valeur de la concentration inhibitrice (CI50), qui est déterminée à l'aide de courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes ajoutés, est utilisée pour évaluer l'activité de l'antioxydant.







**Figure 14 :** Courbes représentant les variations du pourcentage d’inhibition en fonction des volumes des composés d’EE ,EHM , EAC et ECH ( aérien et sous terrain)

### 2. Discussion

Les poly phénols sont des molécules omniprésentes qui ont récemment attiré l'attention dans le domaine de la nutrition. Un nombre croissant d'études suggèrent que la consommation de poly phénols pourrait être cruciale pour contrôler la santé métabolique, le poids, les maladies chroniques et la prolifération cellulaire (*Cory et al., 2018*)

A partir de ces résultats, nous constatons que EE est la plus riche en poly phénols (100 mg EAA/g d'extrait) que les autres extraits qui présente un taux moins de 30 mg EAA/g d'extrait

La classe la plus répandue des molécules trouvées dans les plantes sont appelées flavonoïdes, qui sont une collection de composés phénoliques naturels largement distribués avec un noyau flavone (**Babu et Liu, 2009**). EE présente la plus forte concentration de flavonoïdes, selon les résultats des dosages de flavonoïdes totaux (68.51 g d'extrait EQ/mg), suivi de EHM (36.77 g d'extrait EQ/mg).

L'inflammation est Une réponse complexe à une maladie ou à une blessure. Il peut être bénéfique pour la santé humaine de rechercher des substances organiques et des phyto-constituants qui peuvent bloquer ces voies en réduisant l'inflammation chronique. Nous sommes intéressés dans notre étude à examiner ou à évaluer l'activité anti-inflammatoire de *Thapsia garganica*

Nous résultats montrent que l'effet anti-inflammatoire de EE et EHM a été supérieur à celui de ECH et EAC, mais ils restent toujours inférieur au déclofénac

Dans notre étude, l'évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire de extrait méthanolique de *Thapsia garganica* L a révélé que la capacité de EHM à inhiber la dénaturation de BSA à 150 µg/ml était de 86.17%.

Dans l'organisme, les radicaux libres et les ROS sont éliminés en grande partie grâce aux antioxydants. La limitation ou l'inhibition de la réaction d'oxydation des molécules sensibles à l'oxydation (lipides, protéines et acides nucléiques) est appelée activité antioxydante (**Guclu et al., 2021**). Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des différents extraits de *Thapsia garganica*. in vitro : Le piégeage des radicaux libres DPPH et la voltampérométrie cyclique (CV).

Ce radical stable (DPPH) peut être réduit en 2,2-diphényle-1-hydrazine (DPPH-H), qui a une couleur jaune pâle et peut être facilement détecté à l'aide d'un spectrophotomètre, par les antioxydants ou d'autres espèces radicalaires en donnant un électron ou un atome

d'hydrogène (**Mfotie, 2021**). Les résultats de test de DPPH démontrent clairement que chaque extrait étudié est un puissant piègeur de radicaux libres et un antioxydant. Comparé à EE sous terrain (IC50 : 0.190±0.004 mg/ml), EE aérien (IC50 : 0.210±0.004 mg/ml) EHM aérien (IC50 : 0.260±0.005 mg/ml), EHM sous terrain (IC50 : 0.215±0.003mg/ml), ECH aérien (IC50 : 0.359±0.002 mg/ml), ECH sous terrain (IC50 : 0.288±0.007mg/ml), EAC aérien (IC50 : 0.410±0.004mg/ml), EAC sous terrain (IC50 : 0.550±0.005mg/ml). EE sous terrain a été déterminé comme ayant l'activité de piégeage la plus élevée (IC50 : 0.190±0.004mg/ml), selon les valeurs IC50. L'extrait EE ont montré une activité de piégeage DPPH inférieure à celle de la Vit C, qui a été utilisée comme antioxydant de référence (IC50 : 0.130±0,004mg/ml).

Sur la base de ces résultats, les extraits de racines de *Thapsia garganica* L. ne présentent qu'une action marginale de piégeage du radical DPPH. En fait, **Rached et al., (2010)** ont démontré que les extraits d'écorce, de racines et de feuilles de *Thapsia garganica* L. exprimaient une inhibition positive du radical DPPH. En contraste avec ce que nous avons découvert, une étude différente par **Idir et Ouadir, (2012)** a montré que toutes les sections de *Thapsia garganica* L. avaient une activité anti radicalaire très robuste avec une différence mineure entre les extraits organiques et aqueux. Selon l'évaluation de **Chibani et al., (2014)**. Des feuilles et des fleurs de *Thapsia garganica* L. en fonction de la concentration, l'activité de piégeage des radicaux libres varie de 28,5 à 73,2% pour les fleurs et de 28,3 à 68,7% pour les feuilles.

Les résultats obtenus démontrent que les extraits de *Thapsia garganica* L. inhibent le radical DPPH de manière dose-dépendante, c'est-à-dire que le pourcentage d'inhibition du DPPH augmente avec la concentration des extraits jusqu'à atteindre un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

# **Conclusion et perspectives**

La phytothérapie est l'utilisation des plantes ou l'extrait des plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies, cette méthode est largement utilisée par nombreux des individus, vu que ces plantes et substances sont d'origine naturelle et n'ont généralement pas d'effets nocifs.

La plante *Thapsia garganica* est une plante largement distribuée dans la région méditerranéenne, elle a plusieurs effets bénéfiques, elle traite de nombreuses maladies.

L'objectif de notre étude est d'évaluer cette plante par deux méthodes, premièrement un effet anti-inflammatoire et un effet antioxydant.

Nos résultats ont montré d'une part, que cette plante a un effet anti-inflammatoire où EE a induit une diminution de la dénaturation de BSA de l'ordre de 86.17 mg/ml

D'autre part, les résultats de test de DPPH ont montré que EE présente l'activité antioxydante la plus élevée (IC<sub>50</sub> : 0.190±0.004 mg/ml).

Ces résultats sont proches de ceux de la substance de référence le Vit C (IC<sub>50</sub> : 0.130±0,004mg/ml).

Le test voltamétrique est un test très-répondant et sensible pour évaluer la capacité antioxydante des extraits, et a montré que EHE est le meilleur effet antioxydant

(IC<sub>50</sub> EHE :0.3162mg/ml . )

Dans des études ultérieures la plante *Thapsia garganica* peut être valorisée en utilisant des tests *in vivo* pour démontrer la capacité antioxydante de cette plante, aussi pour démontrer un effet anti-inflammatoire plusieurs techniques peuvent être utilisées telles que l'induction de l'inflammation par le carrageenan ou l'induction de l'arthrite par le collagène.

# **Références bibliographiques**

**Abollino, O., Giacomino, A., Malandrino, M. (2018).** Stripping Voltammetry. Reference Module in Chemistry. Molecular Sciences and Chemical Engineering, 2.

**Achterberg, E. P., Gledhill, M., Hawkes, J.A., Avendano, L.C. (2004).** Voltammetry, Cathodic Stripping, in Encyclopedia of Analytical Science, edited by P. J. Worsfold, A. Townshend, C. F. Poole, 2nd Edition, , Elsevier. ISBN: 0-12-764100-9

**Ali H, Brogger C S, Foreman J C, Piotrowski W et Thastrup O. (1985).** The ability of Thapsigargin and thapsigargin to activate cellule involved the inflammatory response. Br. J. Pharmac, 85, 705-712.

**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.

**Anthony O, Raphael G, Xavier C, Meriane D, Ardisson J, BoutefnouchetS etDeguin B. (2013).** Large scale purification of the SERCA inhibitor Thapsigargin from Thapsigarginica L. roots using centrifugal partition chromatography. Journal of Chromatography 13, 1-24.

**Atmani D., Chafer N., Berboucha M., (2009) :** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry 112, 303–9.

**Blois M. S., (1958) :**Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958.1199– 1200.

**Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J., DurandG., Jardillier J. C., (2003) :** Radicaux libres et antioxydants. Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires : Médecine-sciences Flammarion Paris 9-81.

**Bruneton J. (1999).** PharmacognosiePhytochimie Plantes médicinales. Edition : Tec & Doc. Paris, 1120 p.

**Chi YS, Jong HG, Son KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP, (2001).** Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: Cyclooxygenases and lipoxygenases. BiochemicalPharmacology62: 1185-1191.

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

**Cos P, Ying L, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Van-Poel B, Pieters L, Vlietinck AJ, VandenBerghe D (1998).** Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. J Nat. Prod 61 : 71-76.

**Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., Mattei, J. (2018).** Le rôle des polyphénols dans la santé humaine et les systèmes alimentaires : une mini-revue. Frontièresen nutrition, 5, 87.

**Crozier A, Clifford M N et Ashihar H. (2006).** Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edition : Blackwell Publishing Ltd. Singapore, 372p.

**Cuvillon, P., Viel, E., (2002):** Anti-inflammatoires non stéroïdiens anti-COX-2. Une nouvelle approche thérapeutique de la douleur aiguë ? Le Courrier de l'algologie (1), 19-23.

**Das K., Tiwari R.K.S. and Shrivastava D.K., (2010):** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, 4(2), 104-111.)

**Delporte C, Backhouse N, Erazo S, Negrete R, Vidal P, Silva X, López-Pérez JL, San Feliciano A, Mufioz O. (2005)** . Analgesic-antiinflammatory properties of *Proustia pruriifolia*. Journal of Ethnopharmacology 99: 119-124.

**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. SciTransl Med. 140: 86- 140.

**Djeridane A, Yousfi M, Nadjimi B, Boutassouna D, Stocker P et Vidal N. (2006).** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97, 645-660.

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

**Ellingwood F. (1919).** American Material Medical, therapeutics and pharmacognosy. Southwest School of Botanical Medicine (1919): 431.

**Erlund I. (2004).** The flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. Nutrition Research, 24, 851-874.

**Favier A. (2003):** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité chimique, 108 -115.

**Genevois H. (1975).** Le rituel Agraire. Edition : Dioc, Algerie, 63p

**Georgé S, Brat P, Alter P, & Amiot JM., (2005)** . Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1370-1373.

**Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 4, 162-169.

**Gómez F. L. M. (2007).** Síntesis de análogos de las thapsigarginas. Mémoire en vue d'obtention du grade de doctorat en chimie. Département de chimie organique. Faculté des sciences. Université de Cádiz. Puerto Real. Espagne

**GUCLU, Gamze, KELEBEK, Hasim, et SELLI, Serkan. 2021.** Antioxidant activity in olive oils. In : *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Academic Press, p. 313-325.

**Hahlbrock K et Scheel D. (1989).** Physiology and Molecular Biology of phenylpropanoid Metabolism. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 40, 347-369.

**Halliwell B., (1994) :** Free radicals and antioxidants : à personal view. *Nutr Rev* 52, 253-265.

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

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

**Harrorne J B et Williams C A. (1972).** Flavonoid patterns in the fruits of The Umbelliferae. *Phytochemistry*, 11, 1741-1750.

**Henzen, C. (2003) .** Traitement aux glucocorticoïdes : risques et effets secondaires. In *Schweiz Med Forum*, Vol. 19, pp. 442-6.

**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.

**Huang D. J., Lin C. D., Chen H. J., Lin Y. H., (2004) .** Antioxidant and anti proliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam 'Tainong 57') constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin* 45, 179-186

**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.

**Kessel L., Tendal B., Jorgensen K.J., Erngaard D., Flesner P. andresen J.L. and Hjortdal J., (2014) .** Postcataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops. *Ophthalmology*, 121(10), 1915-1924.)

**Kmoníčková E, Melkusová P, Harmatha J, Vokáč K, Farghali H et Zidek Z. (2008).** Inhibitor of sarco-endoplasmic et B M iculum Ca<sup>2+</sup> ATPase thapsigargin stimulates Production of nitric oxide and secretion of interferon-gamma. *European Journal of Pharmacology*, 588, 85-92.

**Koechlin-Ramonatxo C. (2006):** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20, 165-177.

**Ladjel S, Zellagui A et Gherraf N. (2011).** Reinvestigation of essential oil content of *Thapsiagarganica* grown in the east of Algeria. *Revue des sciences fondamentales et appliquées*, 3, 30-34.

**Larsen P K et Sandberg F. (1970).** Constituents of umbelliferous plants. *Acta chem. Scand* 24, 1113-1114.

**Lauzer M. (1868).** *Revue de thérapeutique médicochirurgicale* Pp : 39.

**Li, S., Thomas, A. (2020).** Emerged carbon nanomaterials from metal-organic precursors for electrochemical catalysis in energy conversion. *Advanced Nanomaterials for Electrochemical Based Energy Conversion and Storage*, 400.

**Liu H, Jensen K, Linh My Tran L M, Chen M, Lin Zhai L, Olsen C E, Sohoel H, Denmeade S R, Isaacs J T et Christensen S B. (2006).** Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsiagarganica*. *Phytochemistry*, 67, 2651- 2658.

**Locatelli M., Travaglia F., Coisson J. D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M., (2010) .** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola Piemonte PGI*) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry* 119, 1647-1655

**Marais J P J, Deavours B, Dixon R A et Ferreira D. (2006).** The Stereochemistry of Flavonoids In *The science of flavonoids*. Edition : BS/DH. USA, 1-46.

**Markham KR 1982:** Chapter.1 and 2. Techniques of flavonoid identification. Academic press, (London), 1-113

**Martin S et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Cellular mechanism of vasculoprotection induced by polyphenols on the endothelium, *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51, 304-315.

**Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou LA, Watcho P, & Nguelefack TB., (2011):** Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. var *sativa*. (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.

**Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou LA, Watcho P, & Nguelefack TB. (2011) .** Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. Var *sativa*. (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9

**Mbuni Y.M., Zhou Y., Wang S., Ngumbau V.M., Musili P.M., Mutie F.M., Njoroge B., Kirika P.M., Mwachala G., Vivian K., et al (2019).** An annotated checklist of vascular plants of Cherangani hills, Western Kenya. *PhytoKeys*.;120:1–90. doi: 10.3897/phytokeys.120.30274.

**Meftah T., Sengui R., Djennas A. & Benabbes O. (2001).** Connaissance, valorisation et contrôle de l'utilisation de la flore sauvage en médecine traditionnelle (plantes médicinales). Programme U.I.C.N. pour l'Afrique du nord

**Mohammedi, D., Mohammedi, S., & Keck, G. (2014).** Principales intoxications végétales chez les ruminants en zone méditerranéenne. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 67(4), 163-171.

**Morena, M., Martin-Mateo, M., Cristol, J. p et Canaud, B. (2002)** . Stress oxydant, hémoincompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*. 5 : 201-208

**Nnamchi, P.S., Obayi, C.S. (2018).** Electrochemical Characterization of Nanomaterials. *Characterization of Nanomaterials*, 117.

**Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K et Vuorela P. (2000).** Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 299-305.

**Pellegrini A., Proteggente A., Pannala M., Yang C., 1999** :Rice-Evans, *Free Radic. Biol. Med* 26,1231- 1237. Inthèse de doctorat l'université Toulouse III- paul Sabatier

**Pelzer LE, Guardia T, Juarez AO, Guerreiro E. (1998)** . Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. *flFarmaco*53: 421-424.

**Pottier-Alapetite G. (1979).** Flore de la Tunisie. Volume 1. Publié par les soins de A. Nabli. Tunis, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et Ministère de l'Agriculture, 612 p.

**Rayman M. P., (2000)** : The importance of sélénium to human Health. *Lancet* 356, 233-241.

**Reboulleau SD. (1856)** . Notice sur la résine de thapsia garganica et sur son emploi en médecine comme agent révulsif sous forme d'emplâtre. Edition Abadie constantine; (2): 15

**Risser A., Donovan D., Heintzman, J., (2009)** : NSAID prescribing precautions. *American familyphysician*, 80(12), 1371-8.

**Roques J. (1835).** Phytographie médicale, histoire des substances héroïques et des poisons. Pp: 411.

**Santarius K A, Falsone G et Haddad H. (1987).** Effect of sesquiterpene lactone tetraestresthapsigargin and thapsigargin, from roots of *Thapsiagarganica* L. on isolated spinach chloroplasts. *Taxicon*, 25, 389-399

**Shih PW, Lai PL, Jen H. (2006)** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry* 99: 775-783.

**Sorg O (2004)** . Oxidative stress: a theoretical model or à biological reality. *Comptes Rendus Biologies*.327, 649- 662.

**Soubeiran E. (1870)** . Traité de pharmacie théorique et pratique, volume 2, édition victor Masson & fils, Paris (1870) . 861.

**Stocker P, Yousfi M, Djerridane O, Perrier J, Amziani R, El BoustaniS et Moulin A. (2004)**. Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie*, 86, 919-925.

**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.

**Tang S. Y., Halliwell B., (2010)** :Medicinal plants and antioxydants : What do welearn from cell. Culture and Caenor habditiselegans studies ? *Biochemical and Biophysical Research Communications* 394, 1-5.

**Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., (2006)** : Free radicals metals and antioxydants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 16 ,1-40.

**WHO, IUCN and WWF (1993)**.Guidelines on the conservation of medicinal plants. Gland, Switzerland, 38pp

**Williams, L. A. D., Vasquez, E. A., Milan, P. P., Zebitz, C., & Kraus, W. (2002)**. In vitro anti-inflammatory and antimicrobial activities of phenylpropanoids from Piper betle L.(Piperaceae). In *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application* (pp. 221-227). Springer, Dordrecht.

**Yepez B., Espinosa M., López S. and Bolaños G., (2002)** : Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction, *Fluid Phase Equilibria* 194-197, 879-884.

**Zweier J.L. and Hassan Talukder M.A., (2006)** : The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovas. Res.* 70(2), 181-190.