



République Algérienne Démocratique et Populaire



Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION : Biochimie appliquée

Thème

*Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne de
l'extrait méthanolique de la plante médicinale
Thapsia garganica*

Présentées par :

NESSAH Racha

BAARA Hanan

Encadrée par :

KARA-ALI. Wahiba

Jury de soutenance :

Présidente : M^{me} BENSOUISSI. K

M.A.A

Univ. Abbès Laghrou-Khenchela-

Encadreur : M^{me} KARA-ALI. W

M.A.A

Univ. Abbès Laghrou-Khenchela-

Examinatrice : M^{me} SEBIHI. FZ

M.A.A

Univ. Abbès Laghrou-Khenchela-

Promotion : 2016

**Le travail a été réalisé au laboratoire de
- Khenchela**

Sommaire

Remerciement.

Dédicace.

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction	1
Chapitre I : Revue Bibliographique.....	3
I. La phytothérapie, les plantes médicinales et les métabolites secondaires.....	3
I.1. Définition de la phytothérapie.....	3
I.2. Les plantes médicinales.....	3
I.3. Métabolites secondaires des plantes médicinales.....	3
I.3.1. Flavonoïdes.....	4
I.3.2. Tanins.....	4
I.3.3. Alcaloïdes.....	4
I.3.4. Terpènes et stéroïdes.....	4
I.3.5. Saponosides.....	5
I.3.6. Coumarines.....	5
II. La plante médicinale <i>Thapsia garganica</i>.....	5
II.1. Description botanique.....	5
II.2. Position systématique	7
II.3. Répartition géographique.....	7
II.4. Utilisation médicinale.....	7
II.5. Composition Tbiochimique. <i>Garganica</i>del'e... 8	8
III. Les agents antimicrobiens.....	8
III.1. Les différents types d'agents....	8
III.1.1. Les agents physiques.....	8

III.1.1.1.	Chaleur.....	8
III.1.1.2.	Radiations	9
III.1.1.3.	Pression.....	9
III.1.1.4.	Elimination mécanique	9
III.1.2.	Les agents chimiques.....	9
	agents chimiothérapeuti..	9
III.1.4.	Les substances naturelles.....	9
III.2.	La résistance aux	9
	antibactériens.....	10
IV.	Stress oxydant, radicaux libres et antioxydant.....	10
IV.1.	Les radicaux libres et les Espèces Réactives de l'Oxygène..	10
	sources des RL ou ERO.....	12
IV.2.1.	Les sources endogènes.....	12
IV.2.2.	Les sources exogènes.....	13
IV.3.	Le rôle physiologique des EROs	13
IV.4.	Les cibles des ERO.....	14
IV.4.1	Oxydation des lipides.....	14
IV.3.2.	Oxydation des protéines.....	14
IV.3.3.	Oxydation d'ADN.....	15
IV.5.	Les maladies liées aux stress .	15
IV.6.	Les systèmes de protection ant....	15
	Définition.....	16
IV.6.2.	Les antioxydants	16
	enzymatique.....	16
IV.6.2.1.	La catalase (CAT).....	16
IV.6.2.2.	La Sueroxyde dismutase (SOD).....	16
IV.6.2.3.	La glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réduct...	17
IV.6.3.	Les antioxydants non.....enzymat	17
IV.6.4.	Les antioxydants d'origine végétale.....	17
IV.6.4.1.	La vitamine E.....	17

IV.6.4.2. La vitamine C.....	18
IV.6.4.3. Les caroténoïdes.....	18 V.
Les flavonoïdes	18
V.1. Définition	18
V.2. Structure.....	19
V.3. Classification des flavonoïdes.....	19
V.4. Rôles des flavonoïdes pour les plantes.....	21
V.5. Propriétés biologiques des flavonoïdes.....	22
V.5.1. Propriétés antimicrobiennes.....	22
V.5.2. Propriété anti-oxydante.....	22
V.5.3. Autres propriétés.....	22
Chapitre II : Matériels et Méthodes	23
I. Matériels	23
I.1. Matériels biologique (Echantillonnage).....	23
I.1.1. Matériel végétal.....	23
I.1.2. Les souches bactériennes.....	24
I.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	24
II. Méthodes	24
II.1. Préparation trait méthanolique de l'ex.....	24
II.2. Screening phytochimique de l'extrait.....végétal	26
II.2.1. Mise en évidence des tanins	26
II.2.2. Mise en évidence des saponosides	26
II.2.3. Mise en évidence des flavonoïdes.....	26
II.2.4. Mise en évidence des composé	26
I.2.5. Mise en évidence des coumarines.....	26
II.2.5. Mise en évidence des alcaloï....	27
II.2.7. Mise en évidence des Stérols.....	27

II.2.8. Mise en évidence des quinones	27
II.2.9. Mise en évidence des anthraquinones.....	27
II.3. Dosage des flavonoïdes.....	27
II.4. Chromatographie sur couche mince.....	28
II.4.1. Protocole de CCM sur gel de silice.....	28
II.4.2. Calcul du Rapport frontal.....	28
II.5. Etude des activités biolo <i>T.Gargiqueanic</i> ...	29
II.5.1. Estimationcavengerinraitvitrovisde-à-visl'extduderadicall'efflibre DPPH°	30
II.5.2. Etude de -Méthodel'activitédesdisques-Testsantibactd'ef...	31
II.6. L'analysestique.....stati	31
Chapitre III. Résultats et discussions.....	32
I. Le rendement de extrait.....	32 II.
Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques.....	33 III.
Dosages des flavonoïdes.....	34 IV.
Résultats de la Chromatographie sur Couche Mince.....	35
IV.1. Composés identifiés dans EMTG par le système solvant (Acide acétique/ Eau distillée) (15 / 85).....	35
IV.2. Composés identifiés dans EMTG par le système solvant BAW (Butanol1/Acide acétique/ Eau distillée) (40/10/50).....	37
V. Etude des activités biologiques <i>T.garganica</i>.....de.....	40
V.1. Détermination de l'activité-radicalaire deantil'extrait méthanolique <i>T.garganica</i> par la méthode de DPPH° (effet scavenger).....	40
V.2.Etude de l'activité-Méthodedesdisquesantibactérie-Testsd'eff	41
Conclusion et perspectives.....	46

Résumés

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1. Quelques photos de <i>Thapsia garganica</i> . (A) la plante entière,(B) les fleurs, (C) la racine.....	6
Figure 2. Les principales sources.....desERO	12
Figure 3. Mécanisme de la peroxydation.....lip	14
Figure 4. Troubles liés au stress oxydatif.....	15
Figure 5. Structure de base des flavonoïdes.....	19
Figure 6. Carte géographique représente la localisation d'obtention <i>Thapsia garganica</i> (Ain touila -Khenchela-).....	23
Figure 7. La poudre végétale dans le mélange hydroalcoolique (ME 7/3) -la macération-	25
Figure 8. Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher notre extrait méthanolique.....	25
Figure 9. La réaction de réduction du radical DPPH	29
Figure 10. Le pourcentage d'extrait <i>T.garganica</i> méthano.....	32
Figure 11. Courbe d'étalonnage de la quercétin....	34
Figure 12. Photo de chromatogramme résultant sur gel de silice par le système solvant : Acide acétique/ Eau distillée (15 / 85) révélation à l'UV, $\lambda=365\text{nm}$	36
Figure 13. Photo de chromatogramme résultant sur gel de silice par le système solvant Butanol1/Acide acétique/ Eau distillée (40/10/50) : révélation, $\lambda=365\text{nm}$ à l'UV.....	38
Figure 14. La concentration de l'extrait méthanolique de <i>T.garganica</i> qui inhibent 50 % du radical DPPH°.....	41
Figure 15. Photos montrant l'effet Gentamicine antibiotique témoin (-) contre <i>Staphylococcus aureus</i> (A, B,.....C).....	43
Figure 16. Photos montrant l'effet Gentamicine antibiotique témoin (-) contre <i>Escherichia coli</i> (A, B,.....C).....	43
Figure 17. Photos montrant l'effet Gentamicine antibiotique témoin (-) contre <i>Bacillus subtilis</i> (A, B, C).....	44

Figure 18. Photos montrant l'effet Gentamicine antibactérien (-)
contre *Pseudomonas aeruginosa* (A, B, C)..... **44**

Liste des tableaux

Tableau 1. Espèces Réactives de l'Oxygène.....	11
Tableau 2. Principales classes des flavonoïdes.....	20
Tableau 3. Le rendement.....del'extrait	32
Tableau 4. Analyse phytochimique prélimina <i>T.garganica</i>	33
Tableau 5. Teneur en flavonoïdes de l'EMTG.....	34
Tableau 6. Résultat de la CCM de EMTG : système solvant Acide acétique/ Eau distillée (15 / 85) : Adsorbant : gel de silice.....	35
Tableau 7. Résultat de la.SystèmeCCMsolvantdeButanol1/Acidel'EMTGacétique/ Eau distillée (40/10/50) : Adsorbant : gel de silice.....	37
Tableau 8. Interprétation des couleurs des spots en différentes classes des flavonoïdes	39
Tableau 9. Les pourcentages de réduction du radical.....DP	40
Tableau 10. Diamètre des zones d'inhibition.....deEM...	42

Liste des abréviations

ATTC : Américaine Type Culture Collection

AW : Acide Acétique/ Eau Distillée

BAW : Butanol1/Acide Acétique/ Eau Distillée

CAT : Catalase

CCM : Chromatographie Sur Couche Mince

D: Diametre

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH : Diphénylpicryl-Hydrazyl

EMTG : Extrait Méthanolique De *Thapsia Garganica*.

ERO : Espèce Réactive De l'Oxygène

Gpx : Glutathion Peroxydase

GR : Glutathion Réductase

GSSG : Glutathion Disulfure

H₂O₂: Peroxyde D'hydrogène

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

IC₅₀ : La concentration du substrat qui inhibe 50% de l'activité de

dpph= ec50 LOO° : Radical Peroxyle

LOOH : Peroxyde Lipidique

NO : Monoxyde D'azote

O₂ : Oxygène Singulet

O₂•-: Anion Superoxyde

OH•: Radical Hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la

Santé Rf : Rapport Frontal

RL : Radical Libre

RLO : Radical Libre Oxygéné

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RNS: Reactive Nitrogene Species

SD: Standard Déviation

SH : groupement sulfhydrile

SOD : superoxydedismutase

UV : rayonnements Ultraviolet

XO : xanthine oxydase

Introduction

Introduction

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle **(1, 2, 3)**. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientés vers la valorisation de la médecine traditionnelle utilisées et d'établir des règles**(2)**. scientifi

Un grand nombre de plante, aromatiques, médicinales et autre possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture **(5, 6, 10)**.

Cependant, l'évaluationpropriétésphytothérapeutiquesdesComme antioxydantes et antimicrobiennes, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente médicinales folklorique. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font et in vitro, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels : les flavonoïdes, les terpènes, les tannins et les saponosides **(6, 10)**.

L'utilisation de substancesnthèseantibactériennesou chimiquesantioxydantesest de accompagnée toujoursndésirables,d'effetsalorsquel'utilisatsecondaireson d phytochimiques s'avère utile**(3)**. et sans effets seco

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques ainsi que les manifestations cliniques résultantes des symptômes de la fièvre ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse **(3)**.

Parmi de ces plantes nous avons choisi, la plante *Thapsia garganica* ; Cette plante est beaucoup utilisée en médecine traditionnelle Comme diurétique, émétique, antalgique et purgative **(4)**.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de notre plante *thapsia garganica* en métabolites secondaires et à déterminer leur propriété biologique. Pour cela notre étude englobe trois aspects, dont le premier chimique est basé principalement d'ordre sur la préparation de l'extrait méthanolique *Thapsiagarganica*, il porte également sur les traitements méthanolique, et la mise en évidence des principaux flavonoïdes dans cet extrait.

Le second aspect est d'étudier la propriété antioxydante de l'extrait.

Le troisième aspect est consacré à une évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique sur des souches test : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*.

Chapitre I

Revue bibliographique

Chapitre I : Revue bibliographique

I. La phytothérapie, les plantes médicinales et les Métabolites secondaires

Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (l'OMS) plus de 80% de la population mondiale a recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (9).

I.1. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie est le traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes (9). Ce terme vient du grec : « *phytos* » : la plante, et « *therapiae* » : la thérapie (10, 13).

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (9).

I.2. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée si au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (7, 8). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales (9). Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (11).

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (9).

I.3. Métabolites secondaires des plantes médicinales

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et

stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large(12). gamme d'ac

I.3.1. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (10, 13), les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes (13).

I.3.2. Tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires (10, 13, 14), très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (10, 15), existent dans presque chaque partie de la plante : feuilles, fruits et racines, ils sont caractérisés par leur capacité antioxydant et leur propriété thérapeutique (10, 13, 14) ; Les tanins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (10, 13, 16). Ils sont divisés en deux groupes :

- **Les tanins hydrolysables**, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'estér avec l'acide gallique (11).
- **Les tanins condensés**, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (11).

I.3.3. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer et certains sont fortement toxiques (11). Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine), et comme agent anticancéreux (vincristine et la vinblastine) (11).

I.3.4. Terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$ selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, ... (11). Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (11).

I.3.5. Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon (11), Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins. Ces molécules sont connues pour leur propriété tensio-active ou encore leur capacité à lyser les globules rouges (hémolyse) (10, 13).

I.3.6. Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxy cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (9). Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (10, 13, 16).

II. La plante médicinale *Thapsia garganica*

Thapsia garganica est une espèce dans le genre *Thapsia* (18) et la famille des *Apiacées* (anciennement nommées « *Ombellifères* ») (8, 17) ; compte plus de 3000 espèces réparties en 420 genres (17, 26), C'est une famille très homogène inflorescence en ombelles composées, Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (8).

Les propriétés biologiques de *Thapsia garganica* sont dues à sa richesse en substances bioactives (19, 20) Notamment la thapsigargine et la thapsigargicine, connues pour leurs effets bénéfiques dans certaines affections pulmonaires, tels que le rhume et pour soulager les douleurs rhumatismales (20), Elle contient dans toutes ses parties une résine réulsive extrêmement active.

II.1. Description botanique

Plante vivace (21, 22, 23), à tige herbacée, rigide, cylindrique, légèrement striée (24), atteignant environ 1,50 m de haut. Grandes feuilles en touffes, très découpées, à division linéaires (22), leur pétiole est dilaté en gaine à la partie inférieure (23), d'un risâtrevertcommeg la tige. Petites fleurs jaunes (25), disposées en grandes ombelles presque sphériques, atteignant plus de 2 cm de long, largement ailés, fruits ovales (22), de grande taille (25 mm de longueur sur 15 mm de largeur), de couleur jaune paille (23). Leur floraison dans la période située entre Avril et Juillet (22, 24) (Figure 1).



Figure 1. Quelques photos de *Thapsia garganica*. (A) la plante entière, (B) les fleurs, (C) la racine.

II.2. Position systématique

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Eucaryotes*
- Embranchement : *Spermatophytes*
- Sous-embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Dicotylédones*
- Ordre : *Apiales*
- Famille : *Apiaceae*
- Genre : *Thapsia*
- Espèce : *garganica* (26).

Nom vernaculaire :

- Bou-nafaa, Dryas;
- Adbib, Tafsia, Adrias Toufelt (23).

II.3. Répartition géographique

Thapsia garganica est une plante africaine (8), présente sur toute la côte méditerranéenne (20, 21 27), au Maroc et en Libye (28) et plus particulièrement en Algérie (21, 29, 30) ou il est adapté à la sécheresse méditerranéenne et à l'aridité des steppes et des montagnes sahariennes ; tous les sols lui conviennent, depuis les sables maritimes jusqu'aux sables sahariens du nord en passant par toutes les formes d'argiles sèches ou gorgées d'eau (23).

II.4. Utilisation médicinale

Les propriétés thérapeutiques de *Thapsia garganica* sont dues à sa richesse en substances bioactives (19, 20) Notamment la thapsigargine et la thapsigargicine, connues pour leurs effets bénéfiques dans certaines affections pulmonaires, tels que le rhume et pour soulager les douleurs rhumatismales (31, 32), Dans la pharmacopée traditionnelle la plante est utilisée comme diurétique, émétique, antalgique et purgative (4).

II.5. Compositions biochimiques de l'espèce *T.garganica*

L'espèce *T.garganica* est une source de diverses classes de produits naturels tels que les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les composés réducteurs, les stéroles, les alcaloïdes (115), Les huiles essentiels (4), la thapsigargine et la thapsigargicine, Elle contient dans toutes ses parties une résine.

III. Les agents antimicrobiens

Le terme « agent antimicrobien » désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance. Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisée de diverses manières, selon les objectifs recherchés et selon leur spécificité d'action, cette dernière(10,

33):

- **Bactéricide** : Propriété de tuer les bactéries ;
- **Bactériostatique** : Propriété d'inhibéementlacroissancemomentané bactérienne;
- **Fongicide** : Propriété de tuer les champignons ;
- **Sporicide** : Propriété de tuer les spores bactériennes ;
- **Virucide** : Propriété de tuer les virus (10).

III.1. Les différents types d'agents

III.1.1. Les agents physiques

En raison de leur faible spécificité, la plupart des agents physiques antimicrobiens sont efficaces sur l'ensemble-organismes, affectant deslesacides micronucléiques ou les protéines, les agents les plus fréquemment employés sont (10, 33) :

III.1.1.1. Chaleur : on distingue la chaleur humide et sèche :

- **Chaleur humide** : à 120°C et pendant 30 minutes, certaines bactéries, et les spores sont détruits, la stérilisation à la vapeur est réalisée dans un autoclave.
- **Chaleur sèche** : à 180°C et pendant 30 minutes, certaines bactéries et les spores sont détruits, la stérilisation à la vapeur est réalisée dans des fours électroniques (four PASTEUR) (10, 33).

III.1.1.2. Radiations : ce sont les radiations ultraviolettes, produites par le soleil ou les lampes à UV empêchent la germination en altérant la structure chimique des cellules eucaryotes et procaryotes. Les principaux types de radiations sont électromagnétiques, électroniques et soniques **(10)**.

III.1.1.3. Pression : les fortes pressions (ultrapressions) sont capables de détruire les micro-organismes. Elles sont couramment utilisées en recherche pour faire éclater les cellules bactériennes **(10)**.

III.1.1.4. Elimination mécanique : deux procédés mécaniques p micro-organismes d'un milieu suspension : liquidelafiltrationetlacentrifugationouils so **(10)**.

III.1.2. Les agents chimiques

Les agents chimiques sont des produits chimiques permettent de tuer ou éliminer les micro-organismes et/ou d'inactiver: Leslesalcools,virusLes i colorants, les oxydants, les métaux lourds et leur sels **(10)**.

- **Les alcools** : dénaturent les protéines, qu'on c l'action antimicrobienne. Les solutions efficaces **(10, 34)** ;
- **Les colorants** : les principaux sont : bleu de méthylène, vert brillant, certains agissent en altérant la membrane et**(10,34)**l'éthyle; viol
- **Les oxydants** : l'eauoxygénée, chlore et dérivés **(10, 33)** ;
- **Les métaux lourds et leurs sels** : mercure, argent, zinc, cuivre et or **(10, 33)**.

III.1.3. Les agents chimiothérapeutiques

Ce sont des agents chimiques utilisés dans le domaine thérapeutique, telle que : les antiviraux, les antiparasitaires et les antibiotiques **(10)**. Qui sont, sensu stricto, des agents antimicrobiens d'origine biologique. Ils so micro-organismes, ce qui en fait des médicaments des infections systémiques **(10, 35)**.

III.1.4. Les substances naturelles

Ces dernières années, nous avons assisté à un grand regain des phytothérapeutes pour les produits riches en polyphénols, et prin

montré qu'ils avaient des propriétés très vastes. Nous pouvons dire que ce sont notamment de grands antioxydants et antimicrobiens **(10, 15)**.

III.2. La résistance aux antibactériens

La résistance aux antibactériens est une des menaces les plus sérieuses pour un traitement efficace. Elles deviennent d'une résistance à la maladie aux antimicrobiens. Les bactéries ont différentes manières :

- En empêchant la pénétration; d'antibi
- En inactivant les antimicrobiens par des modifications chimiques ;
- Certains agents pathogènes ont, dans leur membrane plasmique des translocases, appelées souvent pompes effluentes, elles expulsent les drogues **(10, 34)**.

IV. Stress oxydant, radicaux libres et antioxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre dans la balance pro-oxydants / antioxydants, que ce soit par déficit en antioxydants ou par radicaux libres. Il se traduit par l'accumulation (lipides, protéines, acides nucléiques) au niveau plasmique et au niveau cellulaire **(36, 37, 38, 39)**.

IV.1. Les radicaux libres et les Espèces

Les radicaux libres (RL) sont des entités chimiques (atome, molécule, fragment de molécule) hautement réactives (demi-vie courte) possédant un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) sur la couche orbitale la plus externe qui cherchent à se stabiliser par appariement avec des électrons arrachés sur proche **(40, 41, 42, 43, 44, 45)**. Ils peuvent être des radicaux dérivés de l'Oxygène-(ERO) ou d'autres radicaux dérivés de l'Azote (RNS) comme les radicaux azote **(46)**

sont parfois mentionnées comme appartenant à un atome **(47)** d'oxygène. On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires

avec des entités biochimiques **(48, cellulaires 49, 50)**. (

Les ERO regroupent les radicaux dérivés oxygénés libres non radicalaires (38, 43), ce sont des molécules ne possédant pas un fort pouvoir oxydant car elles peuvent être des précurseurs de radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). (H

Tableau 1. Espèces Réactives de l'Oxygène

ERO	Formule chimique
Dioxygène singulet	1O_2
Anion superoxyde	O_2^-
Radical hydroxyle	OH^\cdot
Radical hydroperoxyde	HOO^\cdot
Radical peroxyde	ROO^\cdot
Hydroperoxyde	$ROOH$
Radical alkoxyde	RO^\cdot
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical oxyde nitrique	NO^\cdot
Peroxinitrite	$ONOO^-$
Hypochlorite	ClO^-

IV.2. Les sources des RL ou ERO

Les principales sources des radicaux libres sont soit endogènes ou exogènes, elles sont résumées dans la (Figure 2).

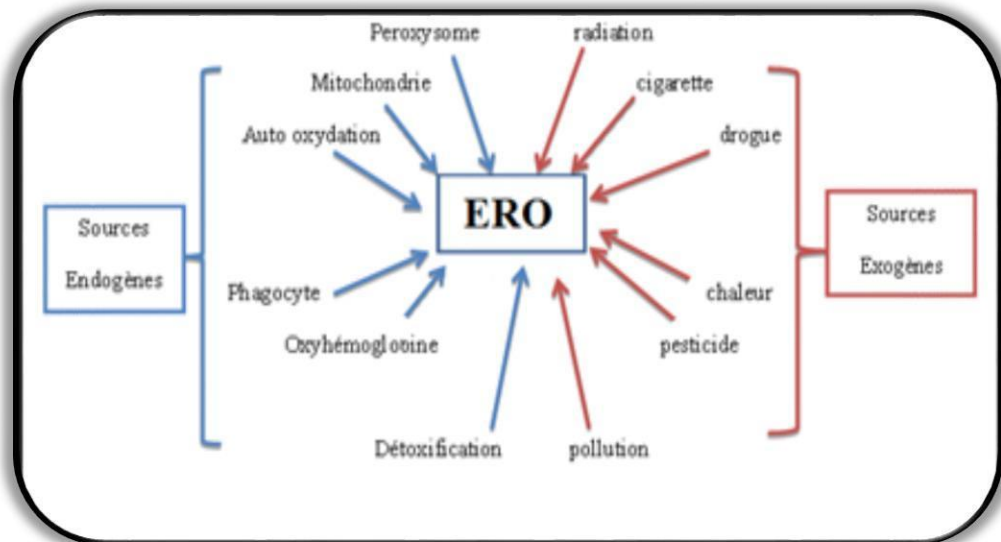


Figure 2. Les principales sources des ERO (51).

IV.2.1. Les sources endogènes

La mitochondrie est la source de produit intermédiaire de sa chaîne respiratoire.

Le peroxysome est une source importante dans la production cellulaire de H_2O_2 car cet organe contient de nombreuses enzymes (oxydases). Ces enzymes oxydent leur substrat en utilisant le dioxygène comme accepteur final de l'électron (50,52,53).



Ces réactions sont importantes dans les processus de détoxification présents dans le foie et le rein (54, 55, 56).

Le NADPH oxydase joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire (57). En effet, lors de la phagocytose, cette enzyme présente dans la membrane plasmique des phagocytes, catalyse la formation de $O_2^{\bullet-}$ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat (49).

NADPH oxydase



La XantineOxydase (XO) est une enzyme soluble qui génère les ERO en réduisant l'hypoxanthine en xanthine(59). Dans la deuxième réaction l'oxygène moléculaire agit comme 2° un(37, 40, accepte 43, 49, 52, 58).

XO



Le réticulum endoplasmique lisse contient les enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles(60,61).

La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 (53) qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi les EROs. (62).

IV.2.2. Les sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agresseur naissance à des radicaux libres. Sous l'influence transformé en $^1\text{O}_2$ (39, 63).

Des toxiques tels que NO et NO₂ peuvent aussi réagir avec le H₂O₂ produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires et donner naissance à des radicaux OH $^{\cdot}$.

L'ingestion d'alcool est suivie de divers mécanismes de la forme XO et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le avec production 2° (64) $^{\cdot}$ d'O

Les antibiotiques anticancéreux, tels que les anthracyclines, sont également capables de générer des radicaux libres. La formation d'espèce d'action anticancéreuse toxicité(64). et de leur

IV.3. Le rôle physiologique des EROs

Les EROs, utiles à (48) l'organisme. Elles participent à divers processus faibles vitaux tels que :

- La défense contre les infections et la destruction par apoptose des cellules tumorales (53, 65) ;

- La participation au fonctionnement de certaines enzymes et la transduction des signaux cellulaires ;
- L'expression des gènes qui (65) participent; à
- Le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire (53).

IV.4. Les cibles des ERO

Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques (38, 53).

IV.4.1 Les lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque capable de l'OHd'arracher un hydrogène doubles liaisons (66), qui conduisent à la formation des radicaux et des Hydroperoxyde (LOOH). Cette réaction est appelée peroxydation lipidique (Figure 3) (48).

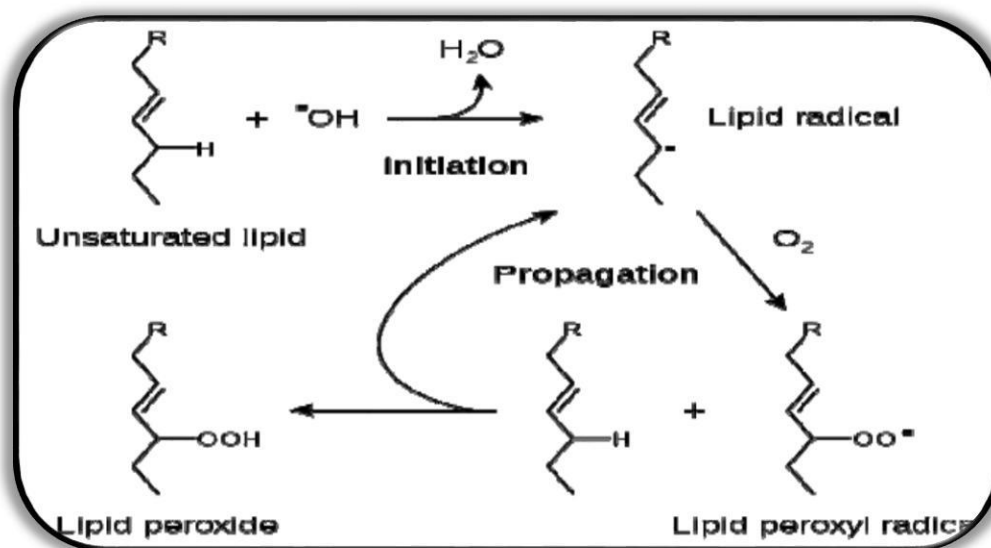


Figure 3. Mécanisme de la peroxydation lipidique (48).

IV.3.2. Oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organismes, les protéines sont la cible privilégiée des EROs. Il a été estimé que les protéines pouvaient piéger la majorité des EROs générés (50–75%) (37). Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui

comportent un SH (53, 67). Les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques et deviennent plus sensibles aux protéases (67, 68).

IV.3.3. Oxydation d'ADN

L'ADN est très sensible à l'attaque des bases. Elle peut aussi se faire au niveau de la liaison entre la base et le désoxyribose ou même se faire directement au niveau du sucre et ainsi provoquer une coupure de la chaîne. Toutes ces attaques peuvent conduire à des perturbations des mécanismes de réplication de l'ADN(69).

IV.5. Les maladies liées aux stress oxydant

Le stress oxydatif est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies ; parmi ces maladies on cite les maladies cardiovasculaires (70, 71, 72), le diabète, le cancer, de l'infer masculine (45), les maladies auto-immunes (sclérose en plaque), les maladies du système nerveux et les maladies neurodégénératives (Alzheimer (73), Parkinson (74, 75, 76)),...les problèmes de vision (cataracte), les troubles rénaux, les maladies respiratoires, et les maladies inflammatoires... (77). La plupart de ces maladies apparaissent lorsque les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (66).

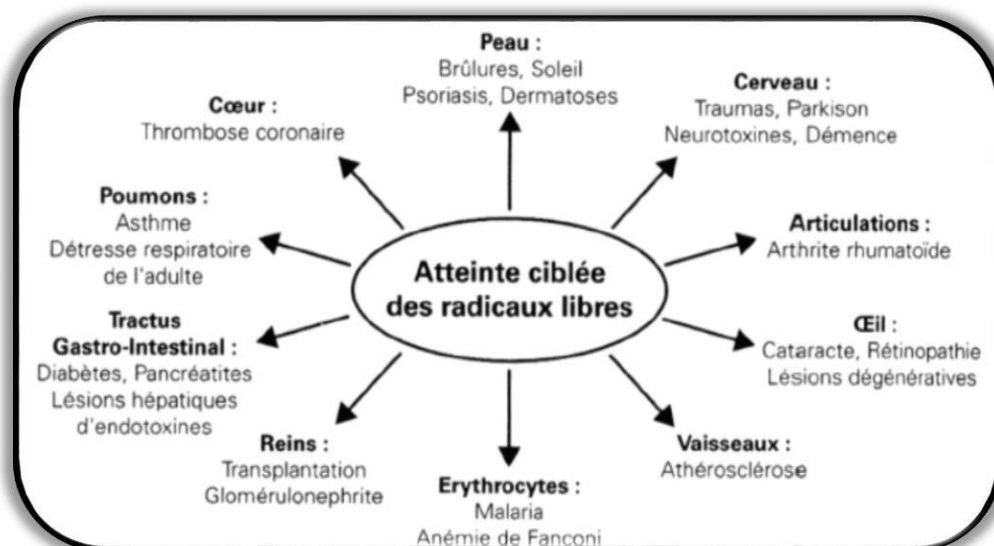


Figure 4. Troubles liés au stress oxydatif (66).

IV.6. Les systèmes de protection antioxydants

IV.6.1. Définition

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ce substrat. Cette définition fonctionnant comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles (78).

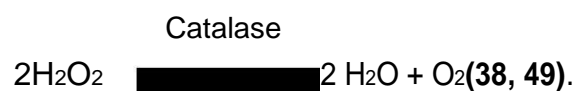
Il existe deux sources de défenses anti sous forme de fruits et de légumes riches en vitamine C, vitamine E, caroténoïdes, flavonoïdes... Tandis que l'autre est composée d'enzymes (dismutase, glutathion peroxydase, catalase) ou de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine)-éléments. A comme cela le sélénium, s'ajoute le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité AO (38).

IV.6.2. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les EROs (38).

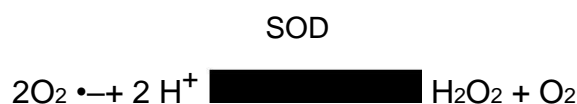
IV.6.2.1. La catalase (CAT)

La catalase (EC : 1.11.1.6) est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les cellules et essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries (79)). La réaction catalysée par cette enzyme est une (38): dismutation. Transforme le H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire (38).



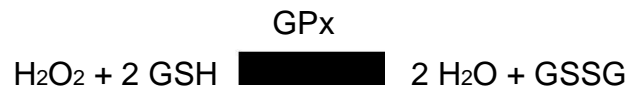
IV.6.2.2. La Superoxyde dismutase (SOD)

Catalyse la dismutation de l'oxygène superoxyde en H₂O₂ selon la réaction suivante de l'O₂ (38).

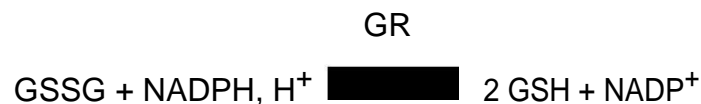


IV.6.2.3. La glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR)

La GPx catalyse la transformation du H₂O₂ et des hydroperoxydes de type lipidique (LOOH) (38).



Le (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la GR utilisant le NADPH comme donneur d'électron(38,48,80).



IV.6.3. Les antioxydants non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique) (81). Des protéines tel que la ferritine, la ceruloplasmine et l'al leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle via la réaction de fenton (81).

IV.6 .4. Les antioxydants d'origine végétal

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydantes remarquables. Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vita (81).

IV.6.4.1. La vitamine E

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme-tocophérol. Cettelavitamineplusestdécriteactivecommeétantétant le principal antioxydant liposoluble dans l les lipoprotéines et-tocophérol dans les estmembranes,capable, chimiquement l'oxygène(1O₂)ens'oxydantsingleten quinone, d' radical hydroxyle (OH•). Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux

peroxydes (ROO•) pour
vitamine C, ou **(82)** l'acide.

former-tocophérol unestrégénééré, radicalparla t
ascorbique

IV.6.4.2. La vitamine C

C'est l'un des principaux antioxydants intra- et extra-cellulaires. La vit C peut directement réagir avec des EROs comme HO• ou O₂•. Elle peut recycler-tocophérol'α pour aider à **(38)** prévenir l'ox

IV.6.4.3. Les caroténoïdes

Ce sont des pigments orange, rouge et jaune, liposolubles, synthétisés par les plantes. Ils regroupent les carotènes (dont les lycopènes) et les xanthophylles. Certains caroténoïdes jouent un rôle important dans la synthèse de la vitamine A. Ils présentent des propriétés antioxydants agissant surtout sur l'oxygène O₂ **(83)** singlet. ¹

V. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E. Chervreul en 1814 **(9)**, mais ont été réellement découverts qu'en 1936 **(47, 84)** par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins **(9, 47, 63, 64, 84, 85, 86)**. Cette notion de vitamine P n'exi correspond pas à la définition classique des vitamines **(9, 47, 63, 64, 84, 85)**.

Le mot flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange **(9)**, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus (jaune) **(9, 86, 87)**. Ils sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxyd **(88, 89)**.

V.1. Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes **(16)**, Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, est converti en flavonoïdes **(63, 87)**. Au sens strict, les flavonoïdes sont définis comme étant des pigments végétaux quasiment universels dans la plupart des végétaux, presque toujours hydrosolubles **(67, 87)**, responsables de la coloration des fleurs, des

fruits, parfois des feuilles (64, 84, 88, 90, 91), Ils sont présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles.

V.2. Structure

Les flavonoïdes partagent une structure chimique commune : le C6-C3-C6 (C15) (92, 93), constitué de deux cycles benzéniques (94) Cette structure est appelée aussi la molécule de flavone (95) (Figure 5).

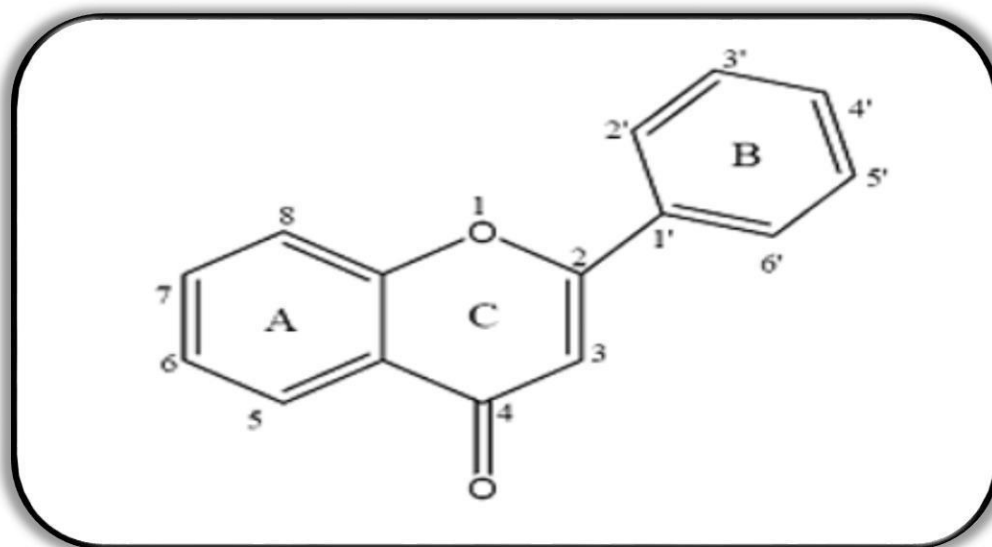
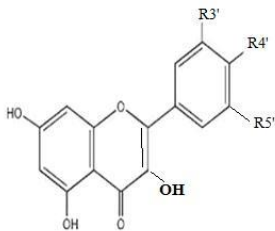
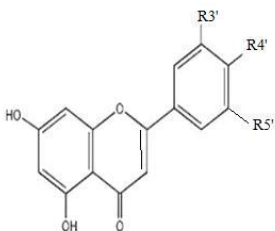
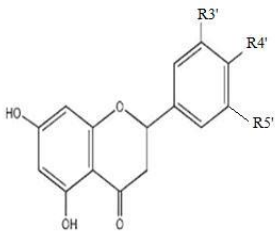


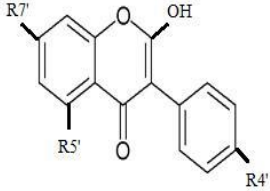
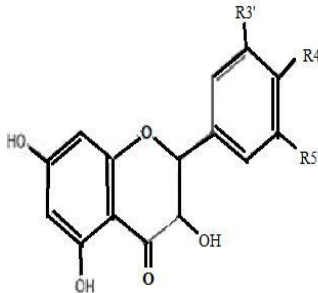
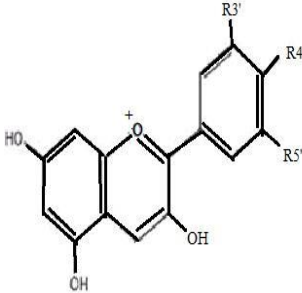
Figure 5. Structure de base des flavonoïdes (96).

V.3. Classification des flavonoïdes

Selon les variations d 'hétérocycle C (soit le degré d'oxydation, de saturation et d'hydroxylation) ainsi que selon la position de la connexion entre le cycle B et C (43, 63, 94, 97), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, le chalcones, les aurones, les anthocyanidols et l'isoflavones (Tableau2). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre - aglycones- ou sous forme de glycosides - hétérosides - (98).

Tableau 2. Principales classes des flavonoïdes (9).

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
Flavonols 	Quercétine	Oignon, poireau, brocolis, pomme, Vin rouge, Thé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Flavones 	Lutéoline Apigénine	Persil, céleri.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques, les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration
Flavanones 	Naringénine Eriodictyol	Fruits du genre Citrus.	Sont caractérisés par l'absence liaison C2-C3, le Flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.

<p>Isoflavones</p> 	<p>Genisteine Daidzeine</p>	<p>Graines de soja et produits qui en dérivent.</p>	<p>Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.</p>
<p>Flavan3-ols</p> 	<p>Catéchine Epicatéchine Epigallocatec- -hine</p>	<p>Vin rouge, thé noir, thé vert, cacao, chocolat.</p>	<p>Flavan3ols ainsi que flavan3, 4diols sont tous les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques</p>
<p>Anthocyanidines</p> 	<p>Cyanidine Delphénidine</p>	<p>Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.</p>	<p>Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.</p>

V.4. Rôles des flavonoïdes pour les plantes

Les plantes étant immobiles, elles ont dû mettre en place un système de résistance pour combattre les effets de l'environnement. La résistance à la sécheresse est parfois attribuée aux flavonoïdes et autres composés phénoliques (90, 98, 99, 100). Les flavonoïdes montrent d'autres rôles physiolo

- La coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**16, 63, 64, 84, 86, 87, 101**).
- Les flavonoïdes permettent aux plantes de survivre sur les sols riches en métaux toxiques comme l'aluminium(**99**).
- La protection contre les UV en absorbant les radiations UV (**63, 64, 67, 99**).
- Le contrôle de la croissance et du développement des plantes de manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance (**63**).
- La défense contre les prédateurs, attraction des pollinisateurs, pigmentation des organes, croissance (**67**).

V.5. Propriétés biologiques des flavonoïdes

V.5.1. Propriétés antimicrobiennes

Le mécanisme des effets antimicrobiens des flavonoïdes est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut mentionner : L ; la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer et l'inhibition(**73,86**). du métabolisme

V.5.2. Propriété anti-oxydante

Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par :

- Le piégeage direct des ERO ;
- La suppression de la formation des ERO chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production ;
- La protection des systèmes de(**63,86**)défense. an

En fait, l'activité antiradicalaire des flavonoïdes nécessite :

- La structure ortho-diphénolique du cycle B, qui est essentielle pour les flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé ;
- La double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons; stabilisant
- Les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale (**64**).

V.5.3. Autres propriétés

Propriétés anti-ulcéreuses, anti-cancérogènes, antifongique et anti-insecticide.

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Chapitre II. Matériels et Méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objectif l'activité antibactérienne de la plante médicinale : *Thapsia garganica*. La partie expérimentale est réalisée au laboratoire de biochimie et de microbiologie, Université Abbés Laghrour - Khenchela-.

I. Matériels

I.1. Matériels biologique (Echantillonnage)

I.1.1. Matériel végétal

L'espèce sélectionnée « *T.garganica* » a été récoltée dans la région de Khenchela -ain touila- en Mars 2016 et identifiée par Mr Zeraib A docteur Abbés à l'université Laghrour - Khenchela.

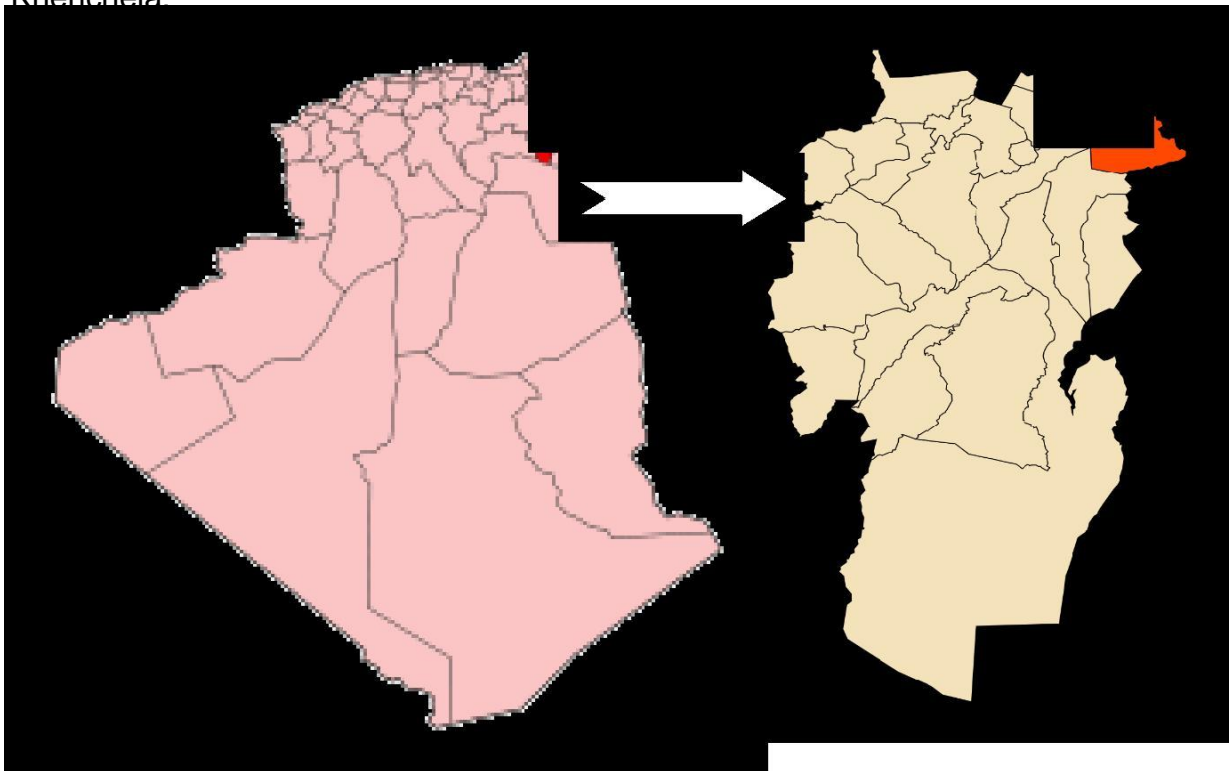


Figure 6. Carte géographique représente la localisation d'obtention de la *Thapsia garganica* (Ain touila -Khenchela-) (121).

La partie aérienne de la plante récoltée a été ensuite séchée à l'abri de la lumière du soleil. Enfin, la plante sèche a été pulvérisée au broyeur pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

I.1.2. Les souches bactériennes

Afin de tester le potentiel *T.garganica* inantibactériovitro, quatre souches bactériennes, deux Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Bacillus subtilis* (ATCC 21332), et deux Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) sont utilisées.

I.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits : FeCl₃, acide sulfurique (H₂SO₄), HCl, acide acétique, NaOH, NH₄OH, KI, I₂, NaCl, AlCl₃, diméthyl sulfoxide (DMSO), quercétine, méthanol, proviennent tous de Sigma-Aldrich.

Parmi l'appareillage vapeur (HAHNVAPOR), utilisé spectrophotomètre: RotaUV-Vis à double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS), «264/365nm» Cha (VILBER COURMAT), Bain Marie (MEMMERT), Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation (MEMMERT), *Agitateur magnétique (SCIOLOGEX)*, *vortex (VELP)*, Autoclave (SANO. Clav) et Balance (OHAUS).

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait métha

La partie aérienne de la plante *T. Garganica* a été bien nettoyée et séchée à température ambiante, ensuite broyée. La méthode de à Markham l'aide (102). Etait d'un suivi br pour la préparation de l'extrait méthanolique

Suivant cette méthode ; 225g de la poudre de *T. Garganica* est introduit dans un bécher qui contient le mélange hydroalcoolique ; méthanol /H₂O (7 :3) pendant une nuit (macération alcoolique) (Figure 7). Cette technique est effectuée 3 f et soumis à une évaporation rotative à 50 °C utilisant un rotavapeur (HAHNVAPOR) pour obtenir l'extrait (Figure brut 8). méthanolique

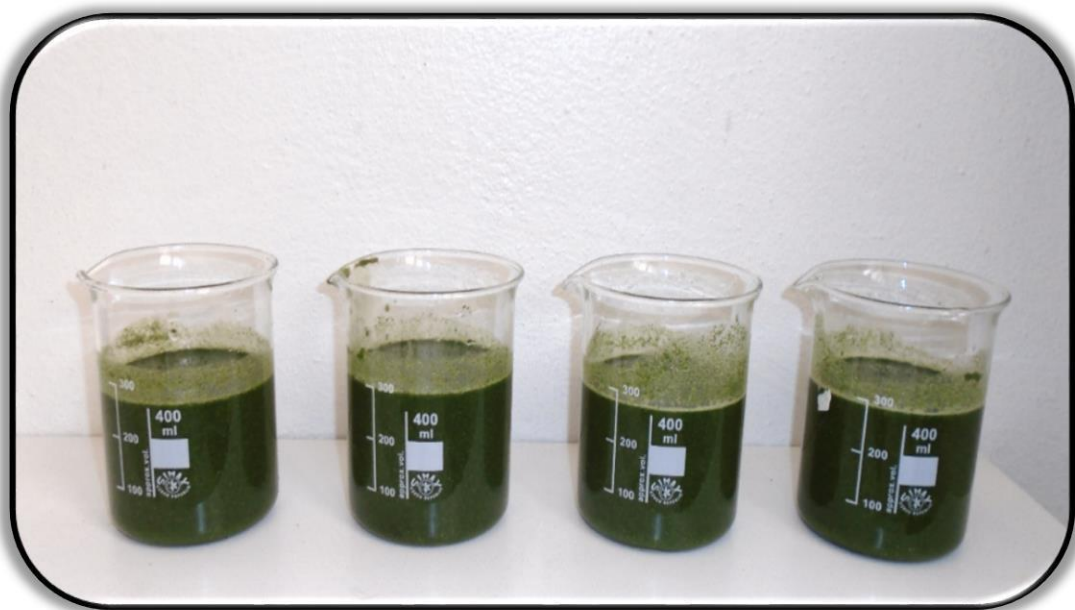


Figure 7. La poudre végétale dans le mélange hydroalcoolique (ME 7/3) -la macération-



Figure 8. Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher notre extrait méthanolique.

II.2. Screening chimique de l'extrait végétal

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les tests phytochimiques brut méthanoliques sont de *T. réalisésgarganica* sur

II.2.1. Mise en évidence des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de FeCl_3 à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait b solution obtenue est reposée pendant quelques minutes. Le testa e l'apparition d'une-noireetun précipitécoloration(103). bleue

II.2.2. Mise en évidence des saponosides



Test 1 : 5 ml de l'extrait brut sont mélangés La formation d'une mousse persistantelaprésencedes saponosides (103).



Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés ave sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d présence des triterpènes hétérosidiques (104).

II.2.3. Mise en évidence des flavonoïdes

5 ml d'extrait sont traités₃(1%).La avecprésence desquelq flavonoïdes est confirmée (104)par. l'apparition

II.2.4. Mise en évidence des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5 ml d'acide traces de FeCl_3 et 5 ml d'acide sulfurique₃sontajoutéscontenantà1mlde l'extrait. La présenceconfirméedespar la composésformationdedeuxphases,réduct une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (104).

II.2.5. Mise en évidence des coumarines

La mise en évidence des coumarines se fait selon la méthode décrite par **Benmahdi**. Placer 1 g d'échantillon tehumidedansundetube à essaila. Couvrirplanletube avec un papier

imbibé d'une solution de NaOH et le placer

Ajouter 0,5 ml de NH₄OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines **(104)**.

II.2.6. Mise en évidence des alcaloïdes

Ce test est fait pour révéler la présence sont ajoutés à l'extrait bain-marie. Après la filtration, chauffer le filtrat traité avec dans le réactif de Wagner solubilisé (2 g de K dans 100 ml d'eau) de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels **(104)**.

II.2.7. Mise en évidence des stérols

100 mg de l'extrait sont mélangés avec 3 ml de chloroforme et 4 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré. Le développement d'une coloration bleue à l'interface confirme la présence des stérols **(107)**.

II.2.8. Mise en évidence des quinones

Placer 1 g d'échantillon dans un tube à essai et ajouter la poudre à 30 ml de diéther de pétrole après agitation, La solution obtenue est reposée pendant 15 min. Après la filtration, le filtrat est traité avec quelques gouttes de NaOH (10%) Le test est considéré positif s'il y a apparition d'une coloration **(108)**. rouge viol

II.2.9. Mise en évidence des anthraquinones

Quelques gouttes de la solution aqueuse de KOH (10 %) sont ajoutés, après à l'agitation la présence des anthraquinones est confirmée par le changement de couleurs de la phase aqueuse vers le rouge **(109)**.

II.3. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes méthanolique d'extrait été quantifié par la méthode du trichlorure d'aluminium **(110)**;

1 ml de l'extrait (préparés dans le méthanol) ajouté à 1 ml de 2% solution dans le d'AlCl₃ méthanol). Ap l'absorbance a été lue à 430 nm. La concen

à partir d'une courbe d'étalonnage à différentes concentrations (0-40 µg / ml, chacune a été préparée

mêmes conditions opératoires que les extraits serviront à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimé en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg EQ / g E).

II.4. Chromatographie sur couche mince

Cette méthode se repose sur la séparation leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant, adapté au type de séparation rechercher, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements (Rapport frontal -Rf- et coloration) susceptibles d'orienter vers un

II.4.1. Protocole de CCM sur gel de silice

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques de silica gel, sur support rigide en aluminium ; 20/20 cm.

L'extrait est déposé à l'aide d'une micropipette de la plaque. Ensuite, les plaques sont placées dans les cuves de développement dans lesquelles se trouve un système de solvants approprié appelé phase mobile, à environ 0,5 cm de hauteur. La migration est suivie et effectuée: par l'usage

- Butanol/Acide acétique/(40/10/50); l'eau distillée
- Acide acétique/15/85). l'eau distillée (

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 365 nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les Rf (**111**).

II.4.2. Calcul du Rapport frontal

Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant/ la distance parcourue par le solvant. Ce facteur permet de mentionner une information préliminaire sur la structure des substances flavoniques.

II.5. Etude des activités biologiques de l'extrait *T.garganica* mé

II.5.1. Estimation in vitro de l'effet à vis de radical libre scavenger

DPPH°

La capacité de l'extrait à piéger les r colorimétrique, simple et rapide. La méthode de **Koleva (112)**, utilise le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH°) qui, à l'état une coloration stable, violette foncée, possède cette dernière devient jaune **Figure 9**). Ce changement de couleur de l'état est traduit par une réduction du radical DPPH° à 517 nm.

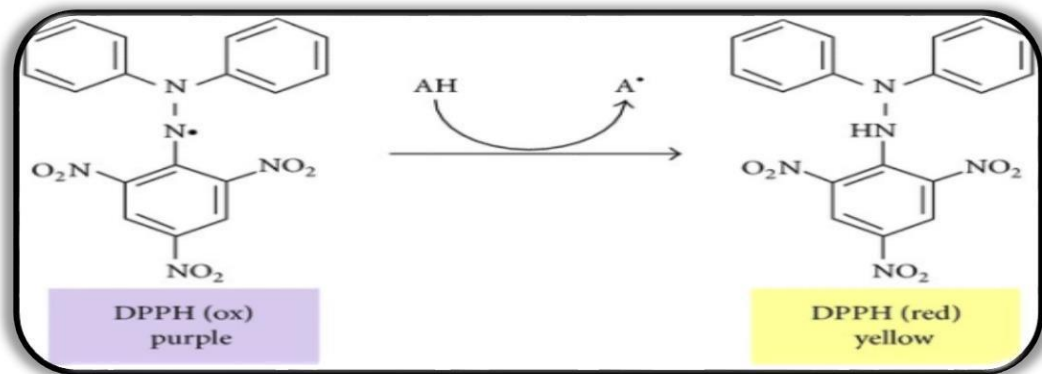


Figure 9. La réaction de réduction du radical DPPH (122).

A- Réalisation de l'essai

Le DPPH° 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) est solubilisé dans du méthanol absolu pour avoir une solution de 100 μ M.

A partir d'une solution $C_1 = 40$ mg/ml méthanolique de l'extrème suivantes ont été préparées : C_2 : 20 mg/ml, C_3 : 10 mg/ml, C_4 : 5 mg/ml, C_5 : 3 mg/ml, C_6 : 2 mg/ml, C_7 : 1 mg/ml, C_8 : 0,5 mg/ml, 0.250 mg/ml, 0.125 mg/ml.

A chaque volume de 1,5 ml de la solution méthanolique du DPPH°, un volume de 15 μ l de chaque concentration préparée de l'extr température ambiante pendant 15 min, les densités optiques des mélanges réactionnels sont

mesurées par le spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol.

L'activité antioxydante est comparée à c quercetine qui est à son tour déterminée de la même façon que celle d

B- Expression des résultats

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH° de 50%, les résultats sont exprimés et donnés en pourcentage la formule suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire \%} = [(A_B - A_E) / A_B] \times 100$$

A_B et A_E sont les valeurs de l'absorbance du 517 nm. Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures \pm écart type.

II.5.2. Etude antibactérienne de l'activité - Méthode des disques - Tests d'efficacité

Dans le présent test, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieu gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques décrite par Bauer (113).

L'étude du pouvoir par cette technique antibactérienne est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est l'extrait méthanolique.

A. Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure (sur un maximum milieu 24h), gé racler à l'aide d'une anse de platine q identiques. Décharger l'anse dans 5ml d'homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à 0.5 Mack

Ferland (DO=0.08-0.10 lue à 625nm). L'ensemencement après la préparation de l'inoculum.

B. L'ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Couler 20ml de la gélose Muller-Hinton dans chaque boîte de pétri, et laisser solidifier. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'éco de haut en bas, en stries serrées. Répéter 60° à chaque fois, sans écouvillon oublier sur lui-même. de Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon s

NB. Dans le cas de l'ensemencement de p l'écouvillon à chaque fois.

C. Préparation des disques d'aromatogramme

- Stériliser du papier Wattman n°3 coupé à 121°C pendant 15 minutes ;
- Imprégner les disques avec 30µl de l'e stérile composé d'eau distillée(v/v)à raison de 200 µg/ml (6mg par disque). Finalement on stérile composé d'eau distillée et de D serviront de contrôle négatif. Des disques Gentamicine ont été également utilisés

comme antibiotique de référence (contrôle positif) pour déterminer la sensibilité de chaque souche bactérienne testée ;

- Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Il en est de même pour les disques de contrôle.

D. Incubation et lecture

- Les diamètres des zones autour d'inhibition (Z) des disques après une pré-incubation de 30 minutes à incubation à température à 37°C pendant 24 ou 48 heures selon le germe ;

-Les expériences sont réalisées en trois répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD (standard déviation) $\leq D \leq 14$ mm, $15 \leq D \leq 19$ mm, $D > 20$ mm est considérée comme résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++).

II.6. L'analyse statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple, Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm (déviat ion standard (n=3)).

Chapitre III

Résultats et discussions

Chapitre III. Résultats et discussion

Le présent travail porte sur l'étude- oxydante et antibactérienne de l'extrait médicinale « *Thapsia garganica* ».

I. Le rendement de l'extrait

L'extrait a été préparé à partir *T.garganica*. Les résultats sont représentés dans le (Tableau 3) et la (Figure 10)

Tableau 3. Le rendement de l'extrait.

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids des extraits en (g)	Le rendement en (%)
<i>Thapsia garganica</i>	225g	79g	35.11

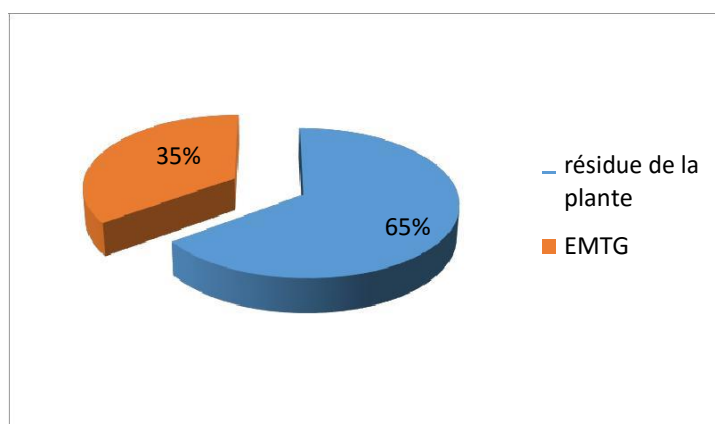


Figure 10. Le pourcentage d'extrait *T.garganica*. méthanol

L'opération de l'extraction *T.garganica* à l'aide du matériel végétal sec a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute de

Le calcul des rendements en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante (Tableau 3) a montré que l'EMTG représente un r

Car la macération est une méthode discontinue, le solvant la matière végétale soit épuisée (114), il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale relatif; il dépend. En effet, la méthode et des conditions dans lesquelles l

II. Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les tests phytochimiques réalisés sur EMTG révèlent la présence de plusieurs familles de composés dont les résultats sont présentés dans le **(Tableau 4)**.

Tableau 4. Analyse phytochimique préliminaire *T.garganica*. d'e

Composés	EMTG	Observation
Tanins	+	Apparition d'une bleue-noire et cou précipité
Saponosides	-	Absence de la formation persistante après 15 min
Flavonoïdes	+	Apparition d'une après 15 min cou
Composés réducteurs	+	Formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique)
Coumarines	+	Observation d'une f à la lampe UV
Alcaloïdes	+	Présence de turbidité ou de précipitation
Stérols	+	Développement d'une coloration bleue à l'interface
Quinones	-	Absence de la couleur jaune, rouge ou violet
Anthraquinones	-	Absence de la couleur rouge

Les résultats sont interprétés comme suit : (+) Réaction positive, (-) Réactions négatives

L'étude phytochimique a montré que cette plante d'EMTG contient: des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, des stérols, et des alcaloïdes. Ce qui confirme les travaux de Berri (115) qui a été révélé la présence des flavonoïdes et des Tanins chez

T. garganica. La richesse en composés de l'extrait chimique actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle comme : diurétique, émétique, antalgique et purgative (4).

III. Dosages des flavonoïdes

L'étude quantitative moyenne d'EMTG des dosages spectrophotométriques, au selon la méthode de aluminium trichlorure avaient pour objectif l'détermination de la teneur totale des flavonoïdes. Une (Figure 11) courbe a été tracée pour l'étalonnage cet objectif, établie avec la quercétine à différentes concentrations. Des mesures de densité pour chaque fraction réalisée à 430 nm. Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent milligramme de (Figure quercétine 11) et déterminés par l'équation type: $y = ax + b$

Chaque point de la courbe représente la moyenne (n = 3)

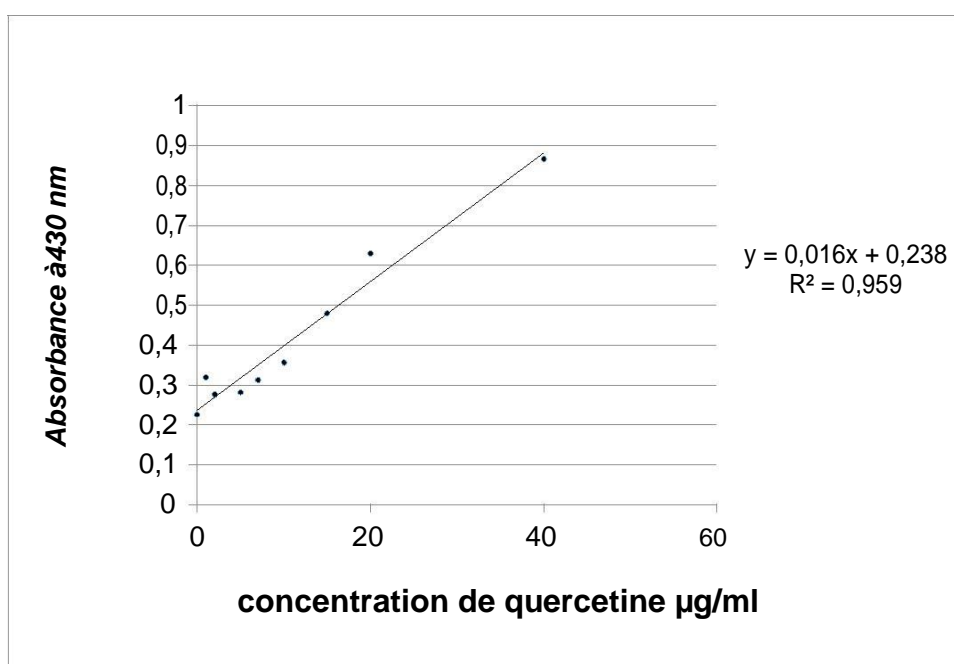


Figure 11. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 5. Teneur en flavonoïdes de l'EMTG.

Extrait Dosage des flavonoïdes (mg eq quercetin /g extrait)	
EMTG	38.08±1.90

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium r que l'extrait Tbrut.garganicaméthanoliquecontient(38.de08±1.90mg

IV. Résultats de la Chromatographie sur Couche Mince

Le développement de la méthode pour la Chromatographie sur Couche Mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais aussi le choix de la phase stationnaire, la technique de développement choisie, dimension de la chambre de développement et de l'espace vapeur. La CCM nous a permis d'avoir les empreintes de l'extrait de la plante *T. de.garganica*, de l'identification des composés était basée sur la lampe UV des taches apparues sur CCM.

Les tableaux 6 et 7 comportent les Rf des différents spots apparus et les types de flavonoïdes, ainsi que la couleur révélée sous une lampe UV.

IV.1. Composés identifiés dans EMTG par le système solvant (Acide acétique/ Eau distillée) (15 / 85)

Six spots ont été ségrégués des dépôts de EMTG par le système de solvant utilisé (**Acide acétique/ Eau distillée) (15 / 85)** appartenant aux différentes classes flavoniques.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau 6 et la Figure 12**.

Tableau 6. Résultat de la CCM de EMTG : système solvant Acide acétique/ Eau distillée (15 / 85) : Adsorbant : gel de silice.

N ° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)
1	Jaune	0.207
2	Vert	0.487
3	Bleu blanc Fluorescence	0.646
4	Jaune	0.78
5	Rouge	0.914
6	Violet	0.976

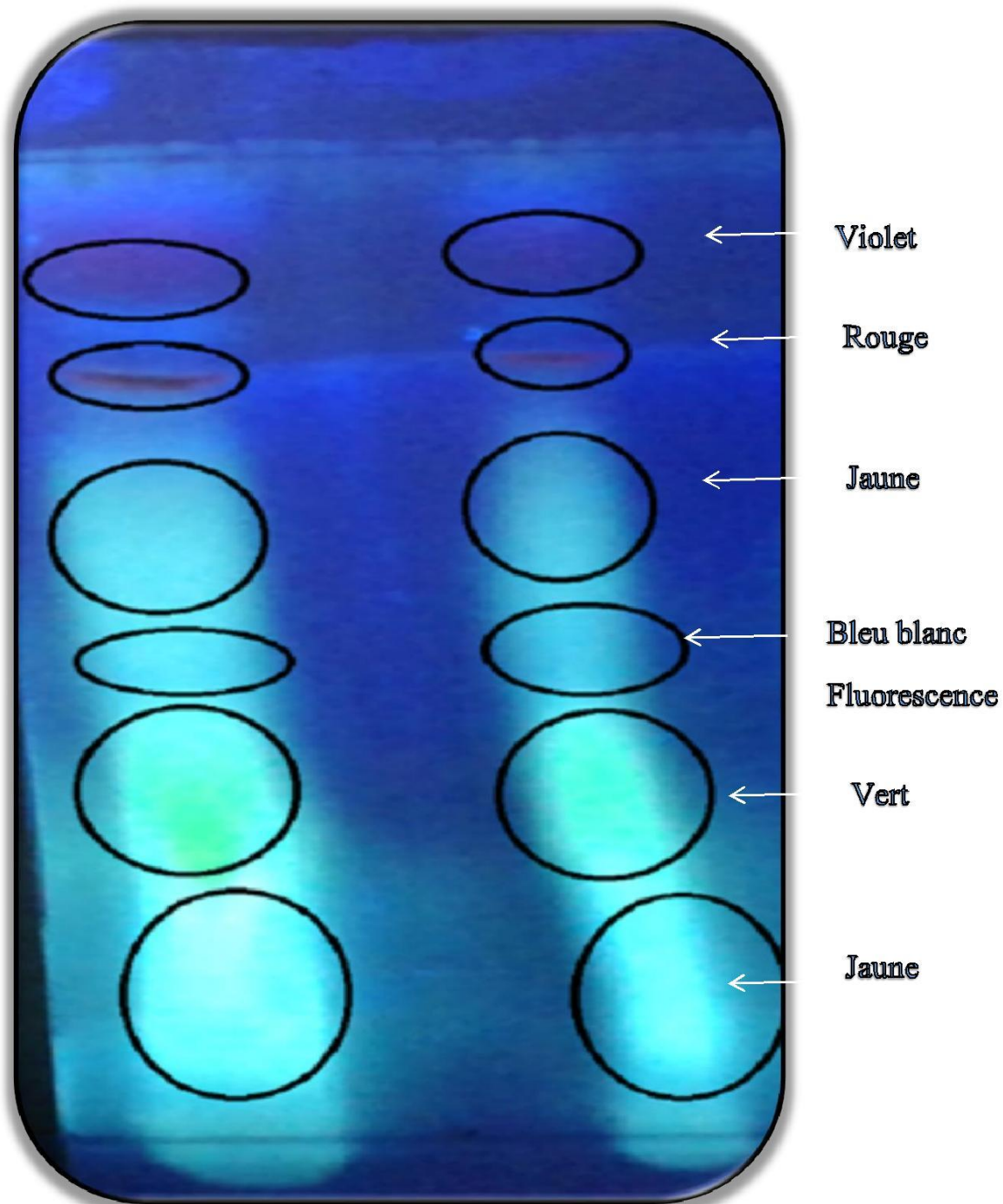


Figure 12. Photo de chromatogramme résultant de l'analyse EM
 Chromatographie sur gel de silice par le système solvant : Acide acétique/ Eau distillée
 (15 / 85) révélation. à l'UV, $\lambda =$

IV.2. Composés identifiés dans EMTG par le système solvant BAW (Butanol/Acide acétique/ Eau distillée) (40/10/50)

Sept spots ont été ségrégués des dépôts de EMTG par le système de solvant utilisé BAW (Butanol/Acide acétique/ Eau distillée) (40/10/50) appartenant aux différentes classes flavoniques. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 7** et la **Figure 13**.

**Tableau 7. Résultat de la.SystèmeCCMsolvantdeBAWI'EMTG(40/10/50):
Adsorbant : gel de silice.**

N ° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)
1	Jaune	0.12
2	Vert	0.35
3	Jaune	0.6
4	Bleu blanc Fluorescence	0.71
5	Rouge	0.77
6	Violet	0.82
7	Rose	0.91

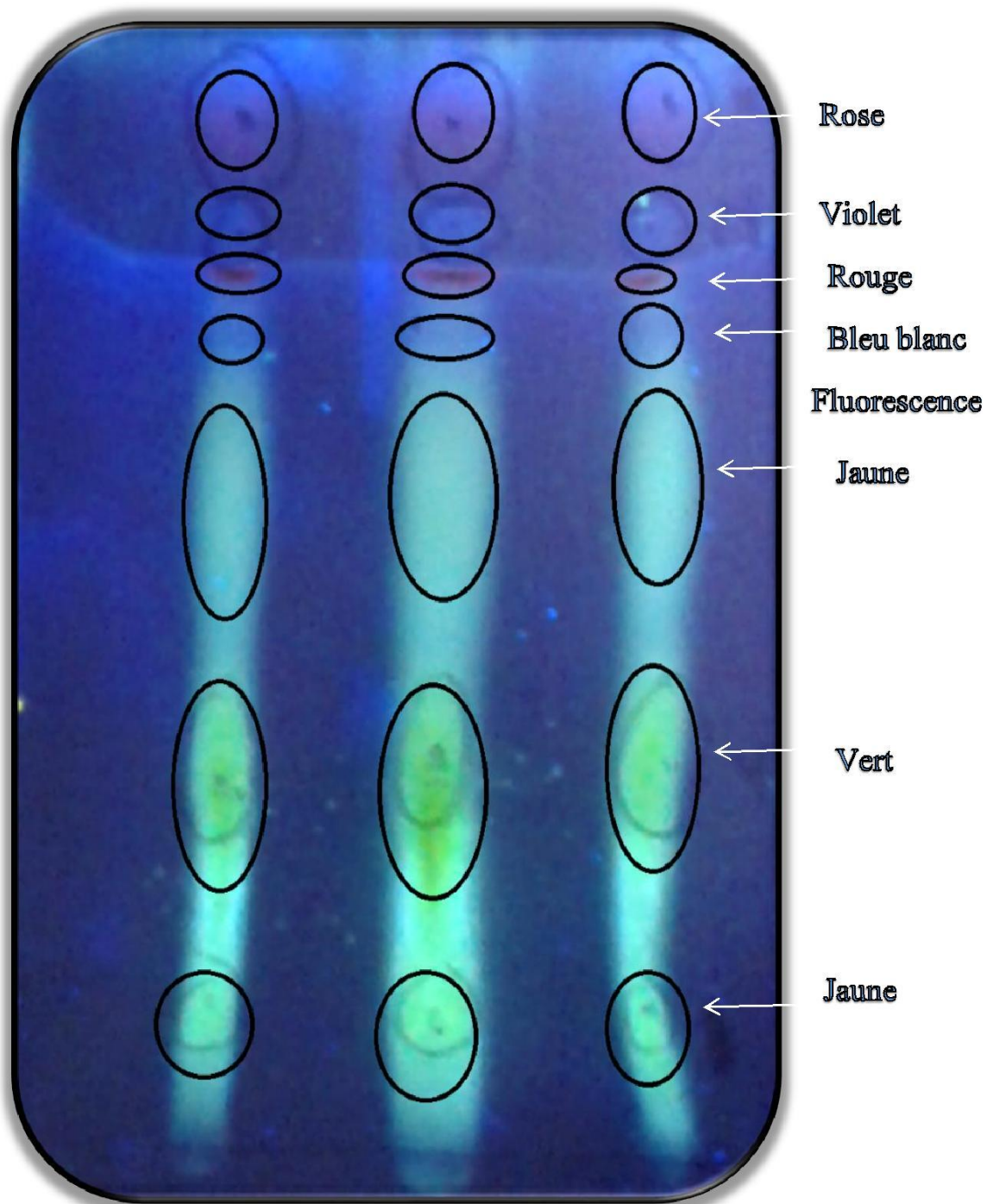


Figure 13. Photo de chromatogramme résultant
 Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Butanol1/Acide acétique/eau
 distillé (4/1/5) : révélation. à l'UV, $\lambda =$

Nous constatons que le système de solvants (BAW) sépare plus de composés dans EMTG que le système (A/W).

Selon Markham, la plupart des flavonoïdes ne sont pas visibles sur le gel de chromatographie (cellulose) après leur migration, à l'exception des anthocyanines qui apparaissent en spots orange et les chalcones, auronnes et 6-hydroxyflavonols qui apparaissent en jaune. Pour cette raison, les chromatogrammes doivent être visionnés sous lumière UV, et les flavonoïdes deviennent visibles (fluorescents) sous cette lumière (102, 117).

Tableau 8. Interprétation des couleurs des spots en différentes classes des flavonoïdes.

Couleur des spots sous lumière UV	Type de flavonoïdes selon Markham (1982)
Violet et violet foncé	Typique pour les flavones et flavonols glycosides (hétérosides)
Fluorescence bleue	Caractéristique des acides phénols
Fluorescence blanche	Isoflavones
Jaune orangé	Flavonols avec 3-OH libre (et dihydroflavonols)
Fluorescence jaune	-Flavonols -Auronnes et quelques 2-, 4-OH chalcones
Jaune verdâtre, bleu verdâtre ou vert	-Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou auronnes
Orange, rouge ou mauve	Anthocyanidin 3-glycosides
Rose	La plupart des 3-5 diglycosides

En se basant sur cette littérature et selon les couleurs des spots obtenues sur les chromatogrammes des deux systèmes (**Tableau 8**), On a pu suspecter la présence des flavonols (jaune), flavones (violet) et acide phénol (bleu), Anthocyanidin 3-glycosides (rouge), Flavonols avec 3-OH libre et Flavonones ou auronnes (vert), 3-5 diglycosides (rose).

V. Etude des activités biologiques *T.garganica* de

V.1. Détermination de l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique de *T.garganica* par la méthode de DPPH° (effet scavenger)

Dans le test de DPPH°, la cinétique de décoloration de ce radical a été suivie à 517 nm après addition de 15 ml de chacune des concentrations des extraits. Ce radical libre présente une coloration violette sombre, lorsqu'il piège des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire. Pour des fins comparatives la quercétine est utilisée comme un antioxydant standard. Il a montré une activité antiradicalaire très puissante

Tableau 9. Les pourcentages de réduction du radical DPPH°.

Les concentrations			
Concentrations initiales en (mg/ml)	Concentrations dans le mélange réactionnel en (mg/ml)	(%) de réduction de EMTG	(%) de réduction de Quercétine
40	0.4	89,86742424 ± 0.77	-
20	0.2	89,55176768 ± 0.85	-
10	0.1	89,04671717 ± 0.35	-
5	0.05	28,06186869 ± 2.16	95.89±0.19
3	0.03	21,62247475 ± 1.29	95.75±0.05
2	0.02	17,14015152 ± 1.06	95.94±0.19
1	0.01	8,36489899 ± 0.77	95.94±0.05
0.5	0.005	7,449494949 ± 0.52	95.96±0.22
0.250	0.00250	7,386363636 ± 0.41	95.01±0.43
0.125	0.00012	6,944444444 ± 0.10	46.43±2.43

L'histogramme représente les *T. garganica* concentrat qui piègent 50 % du radical DPPH° (IC50) (Figure 14). C'est un paramètre pour estimer l'activité antioxydant. Plus cette concentr

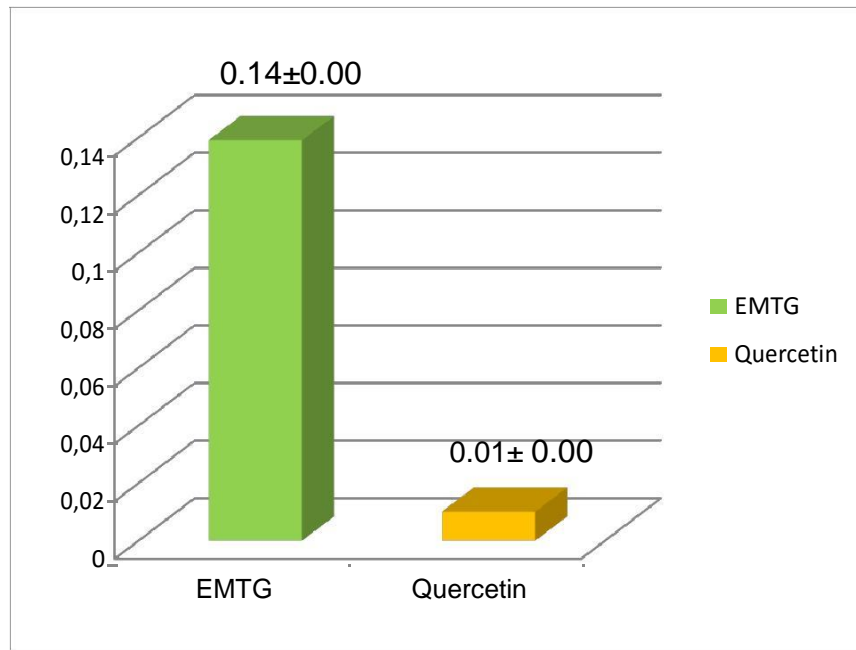


Figure 14. La concentration de l'extrait méthanolique de *T. garganica* qui inhibent 50 % du radical DPPH°.

EMTG représente une activité antioxydante avec une IC50 (0.14±0.00 mg/ml extrait), En comparaison avec l'antioxydant standard (q L'effet contre scavenger le radical DPPH° de l'EMTG est proche de Berri de (115), qui a trouvé un IC50 de 0.09 et 0.10 mg/ml pour les feuilles et les fleurs de *T. garganica*.

V.2. Etude de l'activité antioxydante - Méthode antibactérienne des disques - Tests d'efficacité-

La méthode des disques ou méthode de diffusion antibactérienne des substances naturelles *T. garganica*. Elle a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le Tableau 10 et les Figures 15, 16, 17 et 18.

Tableau 10. Diamètre des zones d'inhibiti

Les souches	Diamètre des zones d	
	EMTG	Gentamicine
<i>Staphylococcus aureus</i>	7±0	30±0
<i>Escherichia coli</i>	13±4.24	35±1.41
<i>Bacillus subtilis</i>	10 ±2.82	38±0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7±0	32.50±0.70

Diamètre $\leq D < 8$ mm, $8 \leq D < 15$ mm, $15 \leq D < 19$ mm, $D \geq 20$ mm considérée est respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++). PA : pas d'activité.

Staphylococcus aureus et *Pseudomonas aeruginosa* n'était pas sensible méthanolique de *T. gargarica* elles possèdent un potentiel de résistance élevé $D < 8$ mm, mais

elle a présenté une grande sensibilité avec le témoin positif (Gentamicine) (30±0 mm) et (32.50±0.70 mm) respectivement. Alors que les résultats obtenus avec *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* montrent que ces souches sont sensibles contre l'extrait (10 ±2.82 mm) et (13±4.24) respectivement.

Les résultats de l'effet antibactérien *Bacillus subtilis* (10±2.82 de E mm) et *Escherichia coli* (13±4.24 mm) selon les diamètres des zones d'inhi correspondant à chaque souche.



Figure 15. Photos montrant l'effetGentamicineantibactérienettémoin(-) contre *Staphylococcus aureus* (A, B, C).



Figure 16. Photos montrant l'effetGentamicinantibactérienettémoin(-) contre *Escherichia coli* (A, B, C).

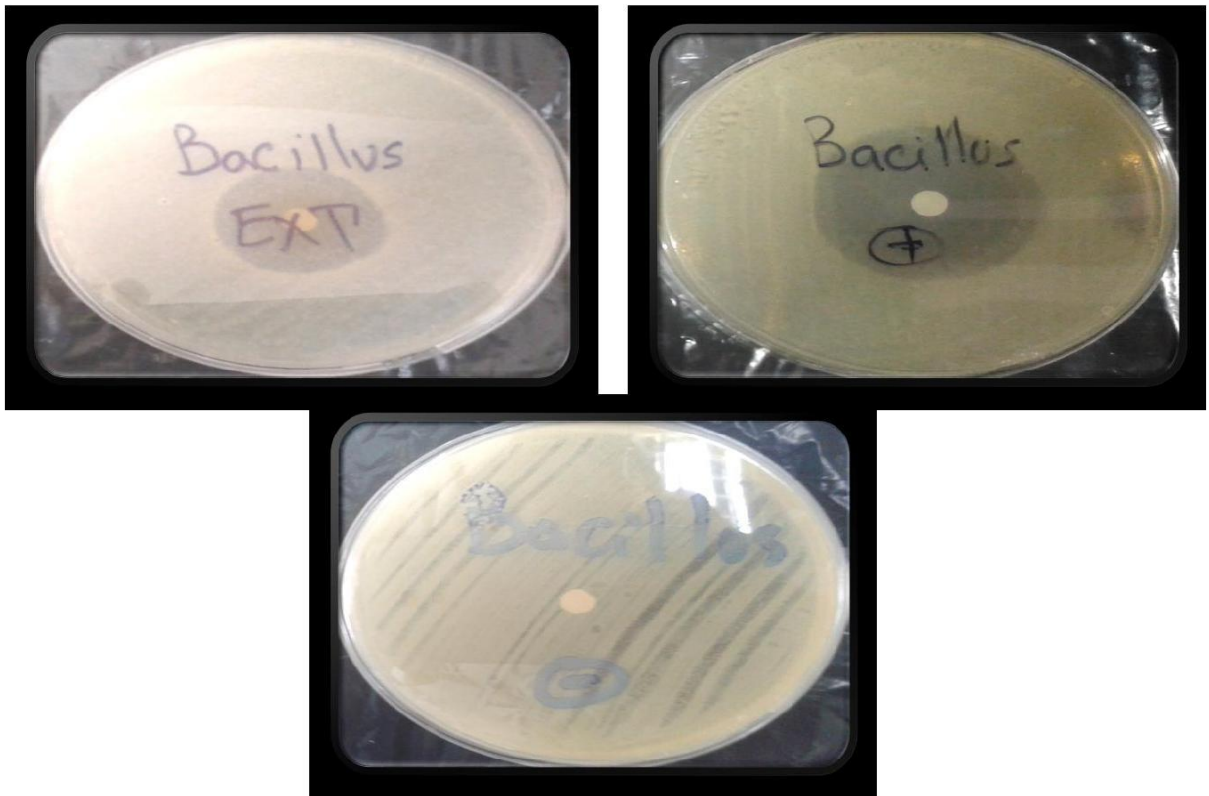


Figure 17. Photos montrant l'effet Gentamicine antibactérien témoin(-) contre *Bacillus subtilis* (A, B, C).



Figure 18. Photos montrant l'effet Gentamicine antibactérien témoin(-) contre *Pseudomonas aeruginosa* (A, B, C).

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique *Thapsia garganica* contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* peut être due à la présence, des flavonoïdes et des tanins **(118)** dont leur présence est mise en évidence. Les composés phénoliques et les quinones qui en dérivent par oxydation participent à la défense de plante contre les agressions comme antibactériens ou antifongiques en se liant aux protéines et en inactivant les activités enzymatiques des microorganismes. **(119)**.

Citons à titre d'exemple de l'action tanins qui peuvent inhiber la machinerie enzymatique des microorganismes, ont une action lytique par effet direct sur leur membrane ou complication de certains ions métalliques indispensables pour leur survie, en particulier le Fer **(120)**.

Le résultat négatif pour *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* peut signifier la résistance de ces dernières vis-vis de l'EMTG sachant que ces enzymes peuvent d'ailleurs dégrader les composés substrats carbonés et favorisent ainsi leur croissance.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'utilisation des phytothérapies à base de plantes médicinales a un grand intérêt dans la recherche biomédicale ; une telle thérapie lors de l'utilisation des médicaments de synthèse.

À l'issue de la présente étude, les tests phytochimiques et l'évaluation antioxydante et antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *T. garganica*.

Dans la première partie, nous avons confirmé la richesse de notre plante en métabolites secondaires.

Ainsi l'analyse quantitative par dosage et l'étude par couche mince nous a confirmé la présence des flavonoïdes.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons souligné les effets bénéfiques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *T. garganica* soit dans l'activité de test de DPPH soit dans l'activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

En effet, il ressort du présent travail que *T. garganica* est un produit fort intéressant et riche en possibilités thérapeutiques.

Ceci montre que la flore algérienne constituerait une réserve importante de végétales intéressantes, dont les principes actifs peuvent être employés dans plusieurs domaines tels que les industries pharmaceutiques et agroalimentaire.

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus dans la recherche des substances de sources naturelles biologiquement active et reste préliminaire et plus superficielle, il est donc recommandé de se concentrer sur les effets révélés. Dans ce contexte, et comme perspective on propose de :

- Isoler, purifier et identifier les principes actifs des extraits étudiés en utilisant des méthodes plus précises telles que High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et tester leurs activités biologiques.
- En ce qui concerne les activités antioxydante et antimicrobienne il serait intéressant de définir le mécanisme d'action de la plante.
- La réalisation d'une étude toxicologique pour cerner tout effet indésirable.

Résumés

Etude de l'activité bactérienne antioxydante de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Thapsia garganica*.

Résumé

Dans le cadre des études portant sur la recherche des produits thérapeutiques naturels, la présente étude a été effectuée sur la plante médicinale de la région de Khenchela *T. garganica* (Dryas) Cela dans le but de l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

L'extraction par macération de la partie aérienne dans le mélange hydroalcoolique a donné un résidu sec d'extrait brut méthanolique de

Le screening phytochimique sur l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica* (EMTG) a montré que cette plante contient : des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, des stéroles et des alcaloïdes sels.

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'EMTG contient 38.08 ± 1.90 mg EQ/g d'extrait

L'analyse qualitative des flavonoïdes de l' a révélé la présence des flavonols, -glycosides, flavonols avec 3-OH libre et Flavonones ou aurones et le 3-5 diglycosides.

Concernant l'activité EMTG représente antioxydante un pouvoir réducteur radical DPPH avec une IC₅₀ de (0.14 ± 0.00) mg/ml).

L'activité antibactérienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* n'était pas à l'EMTG possède un potentiel de résistance élevé ($D < 8$ mm), alors que Les résultats de l'effet de EMTG antibactérien étaient efficaces avec *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* selon les diamètres des zones de chaque souche d'inhibition (10 ± 2.82 mm) et (13 ± 4.24 mm) respectivement.

Au bout de cette étude, nous retiendrons *T. garganica* exerce un effet antioxydant et antibactérien. Donc, cette plante peut être une source prometteuse de nouvelles substances antioxydantes.

Mots clés : *Thapsia garganica*, Stress oxydant, Antioxydant, Activité antibactérienne, Flavonoïdes.

Study of the antioxidant and antibacterial effect of the methanolic extract of a medicinal plant *Thapsia garganica*

Abstract

In the framework of the studies relating to the research for natural therapeutic products the present study was undertaken on the medicinal plant *Thapsia garganica* (Dryas) in the area of Khenchela with the aim of evaluating the antioxidant and antibacterial activity.

The extraction by maceration of the aerial part in hydroalcoholic mixture is giving 79 g of dry crude methanolic extract residue with 35.11% yield in dry extract.

The phytochemical screening of the methanol extract of *T. garganica* (METG) showed that this plant contains: flavonoids, tannins, coumarins, reducing compounds, sterols and alkaloid.

The quantitative determination of the flavonoid by the aluminum trichloride method reveals that METG contains 38.08 ± 1.90 mg EQ / g of extract.

Qualitative analysis of flavonoids from the extract by thin layer chromatography has revealed the presence of flavonols, flavones, phenolsulfonic acid, anthocyanidin 3-glycoside, flavonols with free 3-OH and flavanones or aurones and 3-5 diglycosides.

About the antioxidant activity, METG represents a reducing power of the DPPH radical with an IC₅₀ of $(0.14 \pm 0.00$ mg / ml).

The antibacterial activity was determined in four bacterial strains, according to the disc diffusion method. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* was not sensitive to METG they have a high resistance potential ($D < 8$ mm), while the results of the antibacterial effect of METG were effective with *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* according to diameters inhibitions zones corresponding to each strain (10 ± 2.82 mm) and (13 ± 4.24 mm) respectively.

After this study, we conclude that the methanolic extract of *T. garganica* exert antioxidant and antibacterial effect. So this plant may be a promising new source of antioxidant and substances.

Keywords: *Thapsia garganica*, Oxidative stress, Antioxidant, Antibacterial, Flavonoids.

اداسة لمضاد لألكسدة للبكتيريا الميثانوليل المستخلص للنبنة

طبية ال . *Thapsia garganica*

الملخص

البحت عن المواد قمننا الع بالة طبيعية، جية قفيا الهذا در اسة العمل نبنة المتالدر ياسو ذلكاجدة) *garganica* بغية على *Thapsia* تقيم مستوى (نشاطها و لية خنشة، المضاد لألكسدة و المضاد بكتريا .

يتخالصفي الخليط عن طريق المائي الكحول بيقا ا جافة أعطن من 79 غمن المستخلص لميثانوليل حيث قمر دود بنسبة % 35.11

يبعد قمنالنبنة أنبالفحصالدر ياس و جدن الفال فونويدات، التنبينات أنها تتكون من: لكو مارين، المركبات و أمالحر جعة، الستير و قال تويدية.

لفونويدات عنلمستخطر يقا كالألومنيوم و موريدصثيا الميثانوليل كشف أن للنبح توية يعلى لكرستين/غ 9038.08 ± 1 من المستخلص.

قو غرافيا النوعية الطبقة مستخلص كشف ال ريفة لنا (CCM) عنلموجود فالنوفو لال فالفون الفينول Anthocyanidin 3-glycosides،

فالفون ثنائيو ناو aurones غليكو سيد، 3-5 .

ولي للنبنة الذي أظهر قوة إرجاعية للجزر تركيز DPPH ب

ثبط لقدر 50 % ب 14. مع/مل 0 ± 0.00.

لنشاط المضاد ميكروبال للسالا الذي ت تمبكتيرية على تبيينان *Staphylococcus*

ة aureus للمستخو *Pseudomonas aeruginosa* صتكنال ميثانوليل حساس لادي هال لنبنت قدر بحيث قع انلية على

لمقاومة تثبيط اقل من حينامم 8ل(، تأتاكل بكتريا فنتيم من مض السال للدمستخلصين فعال مع *Bacillus*

لتنشيط *subtilis* و الموافقة *E. Coli* لكل ساللة (82 على. 2 ± 10 مم) (24 التوالي. 4 ± 13). راسة

التجريبية الدر ياسا نالمستخلص نبالاستنتاجة الميثانوليلها تنبنة ديه فعال كبير توية أنمضادة لألكسدة تكون نرياو البكتن مصدر تمك نهيو ا عد

و جديستقلباتلما لألكسدة ضامكذا البكتوري ا.

المفتاحية الإجهاد: *garganica* النشاط *Thapsia* التاكسديا لنشاط المضاد، الألكسدة، مضاد للبكتيريا، الفونويد،

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- (1). **Bouchema H., Arabet M., 2015.** Evaluation de l'effet inflammatoire d'un extrait *linum usitatissimum*, aqueux mémoire de master en immunologie moléculaire et cellulaire. Université des Frères Mentouri Constantine, 8.
- (2). **Mansour S., 2015.** Evaluation de l'effet anti i médicinales : *Artemisia absinthium L*, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides* - Etude *in vivo*, Thèse de doctorat en biologie. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 1.
- (3). **Ferradji A., 2011.** Activités antioxydant et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, mémoire de magister en biochimie. Université Ferhat Abbas –Setif, 1
- (4). **Ladjet S., Zellagui A., Gherraf N., 2011.** Reinvestigation of essential oil content of *Thapsia garganica* grown in the east of Algeria, *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, Vol (3).
- (5). **Hamidi A., 2001.** Caractérisations physico-chimiques des huiles essentielles et des lipides de la plante *Limoniastrum guyonianum*, Thèse de Doctorat en chimie. Université Mohamed Lakhdar Ben Amara dit Hamma Lakhdar d'El Oued 2.
- (6). **Ati S., 2010.** Cartographie de l'aire de repartition de l'espece *genista numidica ssp numidica* et valeur biologique dans l'est algerien, mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar de Annaba 3.
- (7). **Mohammedi Z., 2013.** Etude Photochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de, Thèse l'Algérie de Doctorat en Biologie. Université Abou Baker Belkaid Tlemcen, 22.
- (8). **Paloma F., 2012.** Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs, Sciences pharmaceutiques, thèse de doctorat, Université joseph fourier, 20.
- (9). **Zeghad N., 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt *Thymus économique vulgaris*, *Rosmarinus (officinalis)* et évaluation de leur activité antibactérienne, Mémoire de magister (Ecole doctorale) de Biotechnologie végétale. Université Mentouri Constantine, 2-5.
- (10). **Belfadel A., 2013.** Etude phytochimique et évalu antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale « *Ruta montana* ». Mémoire de master en microbiologie. Université Abbès Laghrour Khenchela, 1-14.

- (11). **Chakou FZ., Medjoudja K., 2014.** Étude de bibliographie de la phytochimie de quelques plantes du genre *Nitraria* de la famille *Zygophyllaceae*. Mémoire de licence en biochimie fondamentale et appliquée. Université merbah ouargla, 4-20.
- (12). **Hani K., Abdessalam FZ., 2015.** Etude des activités biologiques des plantes *Onopordum acanthium* L et *Spartium junceum* Sur les rats Albinos *wistar*, Mémoire de master en biochimie appliquée. Université Abbès Laghrour Khenchela, 16.
- (13). **Kasmi N., Saàdaoui S., 2014.** Étude phytochimique et évaluation de antioxydante et anti inflammatoire d'ex médicinales *Rutamontana* et *Thymus algériensis* Boiss, Mémoire de master en biochimie appliquée. Université Abbès Laghrour Khenchela, 3-12.
- (14). **Cowan MM., 1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. (12) : 564-582
- (15). **Akroum S., 2011.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse de Doctorat en sciences en physio- toxicologie. Université Mentouri de Constantine, 6-23.
- (16). **Attou A., 2011.** Contribution à l'étude phytochimique des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région de la région mémoire de magister en biologie. Université de Abou Beker Belkaid Tlemcen, 11.
- (17). [https:// Fiche apiacees. pdf](https://www.researchgate.net/publication/312211111)
- (18). http://fr.hortipedia.com/wiki/Thapsia_garganica
- (19). **Berri Y., 2011.** Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*, mémoire de Magister en biologie. Université Abderrahmane Mira de Béjaia, 10-24.
- (20). **Malia T., Hihat Y., Saidani K., Touati N., Bedjou F., 2012.** Étude de l'activité antibactérienne des extraits ethanologiques et acetoniques de *Thapsia garganica* L, *Nutrition & Santé (SAN)*, vol.01 , 1-110.
- (21). **Battandier J., 1900.** Plantes médicinales, école de médecine et de pharmacie d'Alger.
- (22). **Macé F., 2013.** Approche efficace des thapsigargines (guaianolides) et synthèse d'azulènes rouges via un intermédiaire commun de type bicyclo [5.3.0] décane, *Agricultural sciences*. Université de Grenoble, 16-20.
- (23). **Jamal B., 2010.** Etude de effets des statines sur la fonction mitochondriales muscles cardiaque et squelettiques, Ecole doctorale sciences de la vie et de la santé. Université Strasbourg, 45-53.

- (24). **Hammiche V., 2013.** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, Springer-Verlag France, Paris
- (25). **Reboulleau., 1856.** Notice sur la résine de *thapsia garganica* et sur son emploi en médecine comme agent révulsif sous forme d'emplâtre, 5-13.
- (26). **Deysson G., 1979.** Organisation et classification des plantes vasculaires, édition SEDES-PARIS 5.
- (27). **Michel F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Draï J., Thérond P., 2008.** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques, *Ann Biol Clin*, Vol. 66(6) :605-620.
- (28). **Rached W., 2009.** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique, mémoire de magister en biologie. Université -d'Ora Sénia, 2.
- (29). **Makunga NP., Jager AK., van Staden J., 2003.** *Micropropagation of Thapsia garganica—a medicinal plant*, 21: 967-973.
- (30). **Bedjou F., Berry Y., Bougoffa K., 2011.** étude de la toxicité de *thapsia garganica* *in vivo*, Le 2^{ème} Séminaire International sur les Plantes Médicinales SIPM'2, 30.
- (31). **Bammi J., Douira A., 2002.** *Les Plantes Médicinales dans la Forêt De l'Achach (Plateau Central, Maroc)*, Vol. (27) : 131-145
- (32). **Boudjelal A., 2013.** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie, mémoire de doctorat en biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba, 5.
- (33). **Kechkar M., 2008.** Extraction de la *Silymarine* et étude de son activité antimicrobienne, mémoire de magister en microbiologie appliquée. Université Mentouri Constantine, 30-36.
- (34). **Upton A., 2006.** Les produits antimicrobiens à domicile, Le problème de l'antibiorésistance, *Énoncé de la SCP* 11(3):177-181.
- (35). **Allion A., 2004.** Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides, thèse de doctorat en sciences alimentaires. Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, 22-28.
- (36). **Michel F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Draï J., Thérond P., 2008.** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques, *Ann Biol Clin*, Vol. 66(6) :605-620.

- (37). **Alain M., 2011.** Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement judo, Thèse de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives-39.. Université d'o
- (38). **Hamadi N., 2010.** Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine, Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri Constantine, 10-20.
- (39). **Robert B., 2006.** Stress oxydant et vieillissement, médecine sciences, vol.22. (3).266-272.
- (40). **Jamal B., 2010.** Etude de effets des statines sur la fonction mitochondriales muscles cardiaque et squelettiques, Ecole doctorale sciences de la vie et de la santé. Université Strasbourg, 45-53.
- (41). **Méd Dany M-U., 2010.** Le Stress Oxydatif, Unilabs, 03-53.
- (42). **Zirar N., 2014.** Contribution à l'étude de l'acti médicinales antidiabétiques, mémoire de master en biologie, Université Abou Beker Belkaid -Tlémcen, 5-12.
- (43). **Blandine G., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin, Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire. Université Joseph fourier- grenoble1.Sciences-Technologie-Sante, 08-26.
- (44). **Lavoie ME., 2012.** Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports alimentaires et de la dépense énergétique, Thèse présentée à la Faculté de Médecine. Université de Montréal, 21-32.
- (45). **Carine Daum-B., 2006.** Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et Université de l'inflammation Joseph Fourier-Grenoble, 13-53.
- (46). **Ahmad S., 1995.** Oxidative stress and antioxidant defenses in biology, 1st Ed. Chapman & Hall. New York. 457.
- (47). **Sebastien F., 2006.** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire, Thèse de l'obtention Université Nice- Sophia Antipolis, doctorat 14-37. .
- (48). **Magali M., 2013.** Origine et conséquences de stress oxydant, Thèse pour le Doctorat vétérinaire. Ecole nationale-43. vétérinaire

- (49). **Nadji B., 2010.** Dérives phénoliques à activités antiathérogènes, Thèse en vue de l'obtention université du doctorat toulouse, 07-13.. U
- (50). **Caroline J., 2003.** Stress oxydant au niveau de plaquettes sanguines humaines dans le contexte de diabète, Etude du glutathion et de glutat nationale des Science Appliquées de Lyon, 41-50.
- (51). **Humblet M., Godeau J-M., 2005.** L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine, Ann. Méd. Vét., 2005, 149, 20-33.
- (52). **Guillaume J., 2008.** Les especes reactives de l'implications dans la physiopathologie canine, Thèse de médecine pharmacie. Université claud-bernard-Lyon1, 21-99.
- (53). **Alain F., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, mécanisme biochimique. 108-115.
- (54). **Boveris A., Oshino N., Chance B., 1972.** The cellular production of hydrogen peroxide. Biochem. J. 128, 617-630.
- (55). **Moure A., Cruz JM., Franco D., Domínguez JM., Sineiro J., Domínguez H Núñez MJ Parajó JC., 2001.** Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry 72, 145-171.
- (56). **Belviranli M., Gökbek H., 2006.** Acute exercise induced oxidative stress and antioxidant changes. Eur. J. Gen. Med. 3, 126-131.
- (57). **Babior BM., 1999.** NADPH oxidase: an update. Blood. 93, 1464-1476.
- (58). **Servais S., 2004.** Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaires en réponse : à effets l'ozonede l'âge et d'une-3, L'université-Lyon, 19Claude-30. Bernard
- (59). **Harrison R., 2002.** Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radical Biology and Medicine. 33, 774-797.
- (60). **Turrens JF., Freeman BA., Crapo JD., 1982.** Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. Arch. Biochem. Biophys. 217, 411-421.
- (61). **Freeman BA., Young SL., Crapo JD., 1983.** Liposome-mediated augmentation of superoxide dismutase in endothelial cells prevents oxygen injury. J. Biol. Chem. 258, 12534-12542.
- (62). **Morel Y., Mermoud N., Barouki R., 1999.** An autoregulatory loop controlling CYP1A1 gene expression: role of H₂O₂ and NFI. Mol. Cell. Biol. 19, 6825-6832.

- (63). **Athamena S., 2009.** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation, magister en biochimie appliquées. Université Hadj Lakhder- Batna, 17-39.
- (64). **Hadi M., 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, Thèse de doctorat en Sciences de Pharmacochimie. Université Louis Pasteur strasbourg1, 13-36.
- (65). **Josiane C., 2011.** Physiopathologie du Stress Oxydant, Faculté de Pharmacie. Université de Rennes, 01-59.
- (66). **Favier A., 2003.** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, L'actualité chimique, 108-115.
- (67). **Jessica T., 2011.** Optimisation et caractérisation antioxydants utilisable comme complément alimentaire et Etude de ses effets sur la vasorelaxation dépendante Université de l'endothélium de Liège, 05-37.
- (68). **Ronald SLM., 2011.** Implication des espèces réactives de contrôle centralisation, Thèse de doctorat l'osmorég. Université Paris VI Pierre et Marie Curie, 35-49.
- (69). **Hélène L., 2013.** Le médicament à base de plantes en Europe, Faculté de pharmacie. Université Strasbourg.
- (70). **Mitchinson MJ., Ball RY., 1987.** Macrophages and atherogenesis, Lancet 2, 146-148.
- (71). **Yokoda M., Kitta T., Kikawa Y., Ogorochi T., Narumiya S., Kawai C., 1988.** Stimulated arachidonate metabolism during foam cell transformation of mouse peritoneal macrophages with oxidized low density lipoprotein, *Journal of Clinical Investigation* 81, 720-729.
- (72). **Montagnier L., Olivier R., Pasquier C., 1998.** Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative diseases, Marcel Dekker, New-York.
- (73). **Akroum S., 2011.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse Doctorat en sciences physio-toxicologie. Université Mentouri de Constantine, 04-27.
- (74). **Halliwell B., Gutteridge JMC., 1999.** Free Radicals in Biology and Medicine. In "Free radicals in biology Oxford. University and Press. medicine pp:1-543.
- (75). **Atawodi SE., 2005.** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 4, 128-133.

- (76). Govindarajan R., Vijayakumar M., Rao CV., Kumar V., Rawat AKS., Pushpangadan P., 2004. Action of *Asparagus racemosus* against streptozotocin-induced oxidative stress. *Natural Product Sciences* 10, 177-181.
- (77). Pham-Huy LA., He H., Pham-Huy C., 2008. Free radicals, antioxidants, in disease and health, *Int J Biomed Sci.* 4(2) :89-96.
- (78). Nathalie C., 2014. Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Université de Reims Champagne-Ardenne Ecole Doctorale Sciences Technologie Santé et Université Libanaise ; 18.
- (79). Lindau-Sehpar B., Shaffer J., 1993. Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage, *Free Rad Biol Med*, 15: 581 - 8.
- (80). Mates JM., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin, Biochem*, 32, 595-603.
- (81). Ferradji A., 2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, mémoire de magister en biochimie. Université Ferhat Abbas –Setif, 1-
- (82). Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot ; 2005. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques, Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 1 –405.
- (83). Fiedor J., Burda K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease, *Nutrients.* 27; 6 (2):466-88.
- (84). Aieriebi IV., 2008. Les propriétés antiangiogénique des flavonoïdes., Mémoires de la maîtrise en chimie. Université du Québec Montréal, 01-03.
- (85). Benkiki N., 2006. Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*, thèse de doctora en chimie. Université El-Hadj Lakhdar Batna, 12-75.
- (86). Mohamed K., 2009. Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental par l'Epirubicine, Thèse de Doctorat B 15-25.
- (87). Ababsa ZA., 2012. Etude d'activités biologiques *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus*, Mémoire de Magister En Biochimie appliquée. Université Hadj Lakhder- Batna, 01-45.

- (88). **Milane H., 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques, thèse de doctorat en Pharmacochimie. Université de Louis Pasteur Strasbourg, 22.
- (89). **Besle JM., Lamaison JL., Pradel P., Fraisse D., Viala D., Martin B., 2004.** Les flavonoïdes des fourrages au lait, *Renc. Rech. Ruminants*, 1(1) : 67-70.
- (90). **Adjadj M., 2009.** Propriétés anti oxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Ajuga iva* (L.) Schreber, mémoire de magister en biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri Constantine, 2009 : 28.
- (91). **Pei-Show J., 2002.** Concise dictionary of biomedicine and molecular biology, 2nd ed. CRC Press, New York, 457.
- (92). **Renaud S., Lorgeril M., 1992.** Le French Paradox, *Lancet*, 339 (8808) : 1523-6.
- (93). **Grotewold E., 2006.** The Science of Flavonoids, Springer, United States of America, 1.
- (94). **Ferhoum F., 2010.** Analyse physico-chimique de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les *Apis* (*Apis mellifica intermissaraceset Apis d'abe mellifica sahariensis*), mémoire de magister en technologie alimentaire. Université de M'hamedra Boumerdès, Bouga 23-25.
- (95). **Ayadi S., Mignon P., Abderrabba M., Chermette H., 2010.** Etude Théorique des réactions d'hydrogénation des-1,2-diazène molécule et (e)-1,2-diazène. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 20(2), 143-151.
- (96). **Bennaghmouch L., Hajjaji N., Gmira N., 2002.** Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée). *Actes Éditions, Rabat* (Maroc), Vol. 22 (1) : 26-30.
- (97). **Valérie B., 2008.** Les propriétés antiangiogéniques des flavonoïdes, mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie. Université du Québec à Montréal, 37-44.
- (98). **Seghiri R.,** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre *Centaurea* : *C. africana*, *C. nicaensis*, thèse de Doctorat Organique - Option Phytochimie. Université Mentouri –Constantine, 8-81.
- (99). **Sylvie M., 2011.** Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae), Thèse de doctorat de Chimie des Biomolécules : Synthèse, Structure et Réactivité. Université d'Angers, 39-42.

- (100). **Marfak A., 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides, thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges, 23.
- (101). **2013 - 2014. Chapitre 7.,** Les flavonoïdes, Faculté de pharmacie de monastir-DCEP1.
- (102). **Markham KR., 1982.**Techniques of flavonoids identification. *Academic press, London*, Chap, 1 and 2: 1-113
- (103). **Edeaga HO., Okwu DE., Mbaebie BO., 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology.* 4 (7) :685-688
- (104). **Benmahdi A., 2001.** Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie* 6 : 11-27
- (105). **Mélina Z., 2010.** Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie., Faculté de Pharmacie. Université Niversité Henripoincaré-Nancy,07-29
- (106). **Trease GE., Evans WC., 1989.** pharmacognosy 2end end_braillettridel and macimillan publishers.
- (107). **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie –Plantes médicinales –3ème Ed Techniques et documentations, Paris, pp : 227-310-312-313-314.494.
- (108). **Ribérreau_gayon P., 1986.** Les composes phénolique des végétaux. Ed Dumond, paris., 21_22 : 163-201
- (109). **Rizk AM., 1982.** Constitution of plant growing in Qatar. *Fititerrapia.*52 (2) : 35-42
- (110). **Boharun T., Gressier B., Trotin F., Bruner C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luyckx M., Gazin M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim Forsh / Drug Res.* 1-6
- (111). **Vanhaelen M., Vanhaelen-Fasté R., 1980.** High performance liquid gas and thin layer chromatography of naturally occurring flavonoids, phenolic and related compounds. *Journal of chromatography,* 187 : 255-260
- (112). **Koleva Il.,Van Beek TA., Linssen JPH., de Groot A., Evstatieva LN., 2002.** Screening of plant Extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis,* 13: 8-17.
- (113). **Bauer AW., Kirby WM., Sherris TC., Truck M., 1966.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, *American Journal of clinical pathology.* 45, 493-496

- (114). **Yrjonen T., 2004.** Extraction and planar chromatographic separation techniques in the analysis of natural products. Conference room 513 at Vikki info center. Faculty of pharmacy of the university Helsinki, 64.
- (115). **Berri Y., 2011.** Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*, mémoire de Magister en biologie. Université Abderrahmane Mira de Béjaia., 21.
- (116). **Markham KR., 1982.** Techniques of Flavonoid Identification. Biological techniques series.
- (117). **Hamlat LN., 2006.** Flavonoïdes et acides phenoliques de *Pistacia lentiscus*, Thèse de Magister. Ecole normale supérieure Kouba, Alger, **p** 153.
- (118). **Brantner A., Males Z., pepeljak S., Antolic A., 1996.** Antibacterial activity of paliurus spina-christi Mill. *Journal of Ethnopharmacology*.52: 119-122
- (119). **Harborne B., Williams C., 2000.** Advances in flavonoides research since 1992. photochemistry, vol.(55):481-504
- (120). **Milal D., Scalbert A., Expert D., 1996.** Ironwth-holding by plant polyphénols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*.42: 1551-1555
- (121). **Delille L., 2007.** les plantes médicinales Edition BERTI. Alger, d'Algéri 122.
- (122). **Ciulei I., 1982.** Pratical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants, Methodology for analysis of vegetable drugs Ed, ministry of chemical industry, Bucharest., 67.

Présentées par : NESSAH Racha

Date de soutenance : 05-06-2016

BAARA Hanan

**Thème : Etude de l'activité antioxyd
méthanolique de la plante médicinale *Thapsia garganica*.**

Résumé

Dans le cadre des études portant sur la recherche des produits thérapeutiques naturels, la présente étude a été effectuée sur la plante médicinale de la région de Khenchela *T. garganica* (Dryas) Cela dans le but de l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

L'extraction par macération de la partie aérienne dans le mélange hydroalcoolique a donné un résidu sec d'extrait brute méthanolique de 79

Le screening phytochimique sur l'extrait méthanolique *Thapsiagarganica* (EMTG) a montré que cette plante contient : des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, des stéroles et des alcaloïdes sels.

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'EMTG contient 38.08 ± 1.90 mg EQ/g d'ext

L'analyse qualitative par chromatographie flavonoïde sur couche mince nous a révélé la présence des flavonols, -glycosides, flavoFlavonols avec 3-OH libre et Flavonones ou aurones et le 3-5 diglycosides.

Concernant l'activité EMTG représente antioxydante un pouvoir réducteur radical DPPH avec une IC₅₀ de (0.14 ± 0.00) mg/ml).

L'activité antibactérienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* n'est sensible à possède l'EMTG une potentielle résistance élevée ($D < 8$ mm), alors que Les résultats de l'effet antibactérien *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* selon les diamètres des zones chaque souche d'inhib (10 ± 2.82 mm) et (13 ± 4.24 mm) respectivement.

Au bout de cette étude, nous retenons *T. garganica* exercent un effet antioxydant et antibactérien. Donc, cette plante peut être une source prometteuse de nouvelles substances antioxydantes.

Mots clés : *Thapsia garganica*, Stress oxydant, Antioxydant, Activité antibactérienne, Flavonoïdes.

**Le travail a été réalisé au laboratoir
- Khenchela -**

