



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de Recherche Scientifique



Université des frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie Végétal

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا و بيئة النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : science de la nature et la vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Biologie et physiologie de la reproduction

Intitulé:

**Etude de l'activité antioxydante et l'effet toxique chez l'espèce
*Thapsia garganica***

Présenté et soutenu par:

Le : 05/09/2020

NAHOUI Ismahane

BOUKHIET Souheyr

Jury d'évaluation:

Président : Mme. LABANI

Prof .Université Constantine 1

Encadrant : Mme. BOUCHAREB

Prof .Université Constantine 1

Examineurs : Mr. DJEROUNI

Prof .Université Constantine 1

Année universitaire : 2019_2020

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : *Thapsia garganica*

I.1. Généralités sur les Apiacées.....	05
I.2. Caractéristiques des Apiacées.....	05
I.3. Le genre <i>Thapsia</i>	06
I.4. L'espèce <i>Thapsia garganica</i>	07
I.4.1. Classification botanique.....	07
I.4.2. Description botanique.....	07
I.4.3. Distribution.....	09
I.4.4. Usages.....	10
II. Les antioxydants.....	11
II. 1. Définition.....	11
II. 2. Classification des antioxydants.....	11
II. 2. 1. Les antioxydants endogènes.....	12
II.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques.....	12
II.2.1.2. Les protéines antioxydant.....	12
II.2.2. Les antioxydants exogènes.....	12
II.2.2.1. Les oligo-éléments.....	12
II.2.2.2. Les vitamines.....	13
II.2.2.3. Les composés phénoliques.....	13
II.3. Caractéristiques des antioxydants.....	14
II.4. Principe des antioxydants.....	14
II.5. Les radicaux libres.....	15
II.5.1. Les radicaux libres en biologie.....	16

II.6. Les antioxydants dans la plante.....	16
II.7. Méthodes de détermination de l'activité antioxydant.....	17
II.7.1. Méthode du CUPRAC.....	17
II.7.2. Méthode Chélation des ions métalliques.....	18
III. Toxicité.....	19
III.1. Principe toxique.....	19

Partie Expérimentale

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1. Récolte du matériel végétale.....	21
II.2. Séchage et broyage.....	21
II.3. Préparation de l'extraits méthanolique.....	23
II.4. Activités antioxydants.....	24
II.4.1. La chélation du fer.....	24
II.4.2. Réduction Cuprique (CUPRAC).....	26
II.5. Evaluation de la toxicité <i>in vivo</i>	27

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats et discussion de l'activité antioxydant.....	30
III.1.1. Activité CUPRAC.....	30
III.1.2. L'activité chélatrice du fer.....	31
III.2. Toxicité.....	31
Conclusion et perspectives.....	34
Références bibliographiques.....	36

Annexes

Résumé

Remerciements et dédicaces

Remerciements

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

*Profonde remerciements va à notre encadreur **Mme BOUHAREB** pour avoir dirigé et accepté de nous encadrer, pour nous avoir guidée, soutenue et encouragée tout au long de ce travail.*

Nous remercie aussi tous les membres du jury qui m'ont fait grand honneur d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

***Mr Mehdi** l'ingénieur de laboratoire de synthèse chimique du CRBT pour ses conseils et son accompagnement durant le stage.*

*Un immense merci aux **Mr Bahri Laid** Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance ainsi que ma gratitude pour sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon sujet de recherche. Ce fut un honneur de travailler avec vous. Mon grand respect.*

Nous remercions également tous les enseignants de Département des Sciences de la nature et de la vie. ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Toutes nos salutations à tous nos amis et collègues de la promotion de master2.

Et finalement un grand merci à tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près pour accomplir ce travail.

DEDICACE

Louanges à ALLAH le tout puissant qui m'a aidé durant toute ma vie

Pour la santé, la volonté et la patience qu'il m'a donnée durant toutes ces années d'études.

Je dédie ce travail à :

Mes parents: *de me soutenir et de m'épauler pour je puisse atteindre mes objectifs.*

A ma chère sœur et mon frère: *Merci pour tout ...*

A mon binôme: *Souheyr je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce travail.*

A mes amis et mes collègues: *Sabi, Soumeya, Rokia, Nousa, Sara, Zaki, Hadjer, omaima.*

A tous ceux qui me sont chers.

Ismahane

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

*La mémoire de **Mes parents** Ismail et Houria que Dieu l'accueille
dans son vaste paradis.*

Mes chers frères et sœurs

A mon cher fiancé

A toute ma famille

Ma copine et ma binôme: Ismahane

Mes amis et mes collègues Un grand merci

A tous ceux qui me sont chers.

Souheyr

Liste des abréviations

- IC50:** Concentration inhibitrice à 50%
- DPPH:** 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- CUPRAC:** Cupric Réducing Antioxydant Capacity.
- EDTA:** acide éthylène-Diamine-tétra-Acétique
- MeOH:** Méthanol.
- Fe+2:** Fer ferreux
- Fe:** Fer
- °C:** Degré Celsius
- %:** Pourcentage
- Ac:** l'absorbance du contrôle (blanc, sans extrait)
- Ae:** l'absorbance du blanc de l'extrait (extrait + eau distillée)
- At:** l'absorbance du test
- ACNH4:** Acétate d'ammonium
- IP:** intra péritonéale
- BHT:** L'hydroxytoluènebutylé
- A0.5:** absorbance
- ERO:** espèces réactives de l'oxygène
- ERN:** les espèces réactives du nitrogène
- NO:** monoxyde d'azote
- H2O2:** peroxyde d'hydrogène
- OH:** Hydroxyde
- ONOO- :** Le peroxyde d'azote
- O2- :** L'ion superoxyde
- NC:** Néocuproïne
- Fe:** Fer
- Ca++ :** calcium
- ATPase:** Adénosinetriphosphatase
- µg :** Microgramme
- µl :** microlitre
- S1:** solution primaire
- OMS:** Organisation mondiale de la santé

Liste Des Figures

Figure 01: Répartition géographique mondiale des Apiaceae.....	05
Figure 02: Photo de <i>Thapsia garganica</i>	07
Figure 03: Photo des racines de <i>Thapsia garganica</i>	08
Figure 04: Photo de la tige de <i>Thapsia garganica</i>	08
Figure 05: Les feuilles de <i>Thapsia garganica</i>	08
Figure 06: Photo des fleurs de <i>Thapsia garganica</i>	09
Figure 07: Photo des fruits de <i>Thapsia garganica</i> ;.....	09
Figure 08: Équation de la réaction antioxydant.....	11
Figure 09: Site d'action des nutriments antioxydants et des enzymes antioxydants.....	12
Figure 10: Effet de synergie entre les vitamines et les Oligo- éléments.....	13
Figure 11: Les structures chimiques des différents acides phénoliques.....	14
Figure 12: Principe des antioxydants.....	15
Figure 13: Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydant.....	18
Figure 14: Structure chimique du Ferrozine.....	18
Figure 15: Structure de la thapsigargine isolée à partir de <i>Thapsia garganica</i>	19
Figure 16: Photographies des différentes parties aériennes et racinaires de <i>Thapsia garganica</i>	21
Figure 17: Photographies des feuilles et des racines séchées <i>Thapsia</i> <i>garganica</i>	22
Figure 18: La poudre de <i>Thapsia garganica</i> . Obtenue suite au broyage.....	22
Figure 19: Représentation du protocole d'extraction de l'extrait méthanolique.....	23
Figure 20: Etapes de l'opération de la macération (<i>Thapsia.g</i>).....	24
Figure 21: Photo du rotavapor utilisé pour obtenir l'extrait brut de <i>Thapsia garganica</i>	24
Figure 22: Photo d'administration des solutions par l'injection intra péritonéale chez le rat.....	28
Figure 23: Pourcentages de l'activité CUPRAC des extraits des feuilles et des racines de <i>Thapsia garganica</i>	30
Figure 24: Pourcentages de l'activité Chélatrice du fer des extraits des feuilles et des racines de <i>Thapsia garganica</i>	30

Liste des tableaux

Tableau 1: Répartition mondiale des genres de la famille des Apiacées.....	06
Tableau 02: Résultats de l'étude de la toxicité.....	32

Introduction

Depuis la préhistoire, de nombreuses plantes médicinales ont été utilisées en médecine traditionnelle (**Rout *et al.*, 2000**). (**Verpoortet *al.*, 2002**) (**Yesil-Celiktas *et al.*, 2007**) (**Guo *et al.*, 2007**) (**Shinde *et al.*, 2010**).

Ils ont été utilisés partout dans le monde pendant des milliers d'années comme médicaments naturels possédant des propriétés thérapeutiques et autre effet pharmacologique. Aujourd'hui, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), autant 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour ses besoins de soins de santé primaires.

Les résultats préliminaires d'une étude menée au nom de l'OMS ont montré que le nombre de personnes utilisant les plantes médicinales sont importantes et en augmentation, même chez les jeunes (**WHO *et al.*, 1993**).

Les plantes médicinales ou parties de ces plantes (feuilles, rhizomes, racines, graines, fleurs) peuvent être utilisées sous différentes formes telles que forme brute et préparations sous forme de thés, décoctions, matières végétales en poudre ou formes extraites de agents médicinaux (jus, extraits d'eau ou d'alcool, teintures, huiles essentielles, résines, baumes).Les plantes médicinales sont généralement connues et populaires pour un certain nombre d'avantages pour la santé tels que le sang diminution de la pression, prévention des maladies cardiovasculaires ou réduction du risque de cancer également en raison de leur activité antioxydante(**Burt, 2004**) (**Suhaj, 2006**) (**Brewer, 2011**) (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**) (**Mothana, 2011**) (**Prochazkovaet *al.*, 2011**).

L'effet conservateur de nombreuses épices et herbes végétales suggère la présence de constituants antioxydants et antimicrobiens dans leurs tissus (**Hirasa et Takemasa, 1998**).

Récemment, l'intérêt a considérablement augmenté pour trouver des antioxydants naturels à utiliser dans les aliments ou substances médicinales pour remplacer les antioxydants synthétiques, qui sont restreints en raison de leur cancérogénicité (**Velioglu et al., 1998**).

Apiacées est une grande famille de plantes, regroupant jusqu'à 3000 espèces. Cette famille contient de nombreuses plantes aux propriétés médicinales et utilisées en médecine (**Pae et al., 2002**). La caractéristique de cette famille est la présence, dans tous les organes, de métabolites secondaires bioactifs tels que huiles essentielles, polyphénols: flavonoïdes, acides phénoliques; les coumarines (furan- et pyranocoumarines), saponines, alcaloïdes et poly acétylènes(**Hegnauer, 1997**) (**Christensen et Brandt, 2006**) (**Mediniet al., 2014**).

T. garganica L. (Apiaceae) est une plante ombellifère poussant dans la région méditerranéenne. Connue pour sa toxicité, L'avantage des effets irritants de la peau de la plante a été pris en médecine traditionnelle arabe depuis des millénaires, et la résine de la racine a été incluse pour la dernière fois dans l'édition de 1937 de la Pharmacopée française. Aussi les effets toxiques de certaines parties de la plante dans le fourrage sont connus depuis des siècles (**Perrot, 1943**).

En dépit de la connaissance ancienne des effets de la plante, la chimie et la pharmacologie n'ont été comprises qu'au début des années 80. De plus, un certain nombre de nouveaux composés bio synthétiquement ou pharmacologiques très intéressants ont été isolés plantes appartenant au genre (**Liu et al., 2006**).

Un remède ancien, Resinathapsiae, utilisé contre maladies pulmonaires, catarrhes et douleurs rhumatismales, a été obtenu à partir des racines de la Méditerranée plante *T. garganica* L (**French, 1971**).

La résine, qui est située dans les canaux sécrétoires schizogènes de la racine écorce, provoque une dermatite de contact vigoureuse exprimée par un érythème, des démangeaisons et de petites vésicules. Comme au XIXe siècle, la résine était utilisée en médecine, en particulier par les Arabes du nord d'Afrique, qui a nommé la résine Bou néfa (père de la santé), et la plante, Dérias (**Smitt et Christensen, 1991**). La résine de *T. garganica* et un pansement médical ont été inclus dans l'édition de 1937 de la pharmacopée française.

Cependant, il existe une étude rare sur l'effet des solvants de différentes polarités sur l'extraction de l'actif composés de *T. garganica* liés à leurs activités antioxydants. Parce que la détermination du meilleur extrait de solvant pour *T. garganica* avec diverses mesures de la teneur phénolique totale et les dosages de l'activité antioxydant étaient un facteur important pour augmenter l'efficacité du processus d'extraction.

Le but de cette étude était d'examiner l'effet toxique de cette plante *in vivo* et l'étude l'activité antioxydant par deux méthodes l'activité réductrice du cuivre (CUPRAC) et la chélation du fer de la plante *Thapsia garganica*.

Chapitre I :
Thapsia garganica

I.1 Généralités sur les Apiacées

La famille des Apiacées (*Apiaceae*), appelées aussi Ombellifères (*Umbelliferae*), est une famille de plantes dicotylédones, qui compte près de 3000 espèces réparties en 420 genres, qui se répartissent essentiellement dans les régions tempérées du monde. En Algérie, selon Quezel et Santa (1962), elle est représentée par 55 genres, 130 espèces et 27 sous – espèces. Les espèces présentent une distribution bipolaire (dans toutes les régions tempérées), mais la majorité habitant l'hémisphère Nord tempéré (**Tabanca et al., 2006**) (Figure 1)

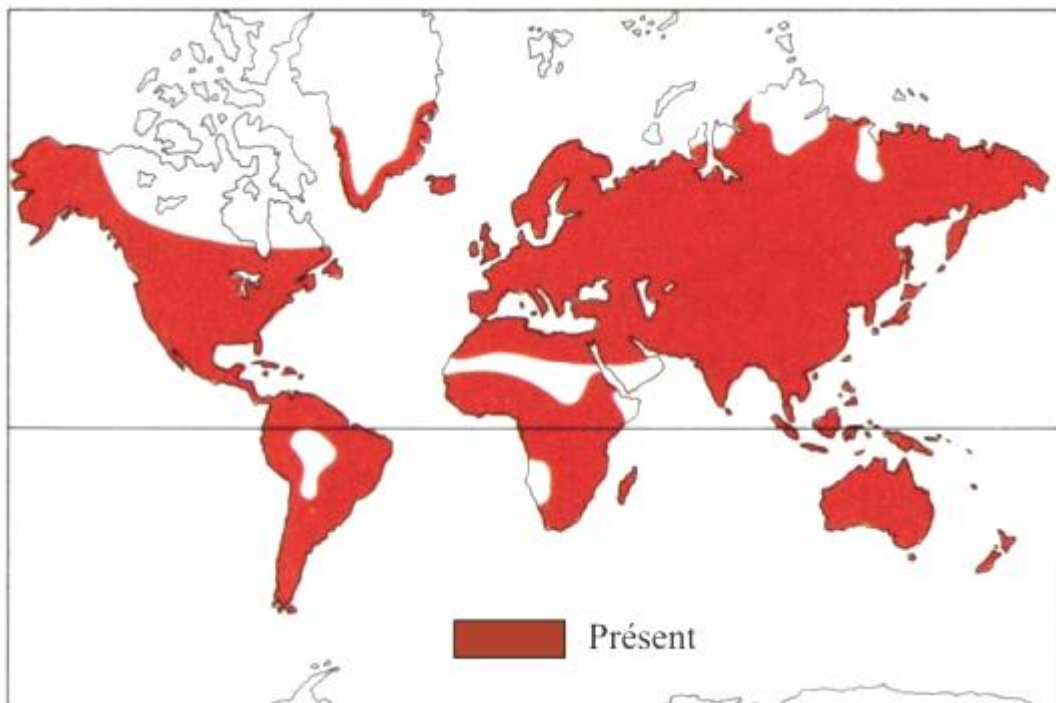


Figure 1 : Répartition géographique mondiale des Apiaceae (**lakhdar, 2011**).

I.2. Caractéristiques des Apiacées

- Ce sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces.
- Les feuilles sont alternes, composées, pennées, palmées ou simples. Elles peuvent être profondément découpées ou lobées, entières ou dentées-serrées à nervation parallèles ou pennées ; à pétioles plus au moins engainants ; stipulés ou ex stipulés.

- Les inflorescences sont organisées en ombelles composées (ou simples) parfois en cymes.
- Les fleurs sont blanches, jaunâtres, verdâtres ou rosées, généralement hermaphrodites, mais parfois unisexuées.
- Les racines, tiges et feuilles sont parcourues par des canaux sécréteurs qui contiennent un mélange d'essence et de résine.
- Les tiges sont à entre-nœuds souvent creux, à canaux sécréteurs contenant des huiles essentielles et des résines, des saponines tri terpéniques, des coumarines, des poly acétylènes falcarinone, des mono terpènes et des sesquiterpènes ; à umbelliférose (tri saccharide) comme élément de réserve (Gaussen *et al.*, 1982 ; Guignard, 1998 ; Judd *et al.*, 2002).

Tableau 1: Répartition mondiale des genres de la famille des *Apiacées* (Iakhdar, 2011).

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

I.3. Le genre *Thapsia*

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

I.4 L'espèce *Thapsia garganica*

I.4.1 Classification botanique

La systématique botanique permet de classer *Thapsia garganica* parmi les systèmes du règne végétal en se référant à la classification de **Gómez (2007)**.

Division : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Archychlamideae

Ordre: Umbeliflorales

Famille: Umbelliferae = Apiaceae

Genre : *Thapsia*

Espèce : *Thapsia garganica*

Nom Commun : Tapisia, بونافع, درياس.



Figure 02:*Thapsia garganica*. (karlostachys, 2010)

I.4.2 Description botanique

C'est une Plante vivace puissante, à tige florifère dressée, peu ramifiée, atteignant environ 1,50 m de haut (**Meftah et al., 2001**).

Les racines: sont en forme de rhizomes cylindrique volumineux épaisse, noirâtre extérieurement, blanche intérieurement (**Lauzer, 1868**).



Figure 03: photo des racines de *Thapsia garganica*

La tige : est forte, droite, légèrement striée, fistuleuse, ramifiée dans sa partie supérieure, atteignant de 0,90 à 1,40 m de hauteur, elle se divise en rameaux lâches, étalés garnis de feuilles (**Roques, 1835**).



Figure 04:photo de la tige de *Thapsia garganica*

Les feuilles : feuilles vertes, glabres. Les primordiales petites, elliptiques et entières, les suivantes palmatilobées. Feuilles de la base de la tige grandes, 2-3 pennatiséquées, les supérieures réduites à une gaine large (**Pottier-Alapetite, 1979**)



Figure 05:les feuilles de *Thapsia garganica*

Les fleurs : sont petites, jaunes disposées en grandes ombelles presque sphériques à calice glabre. Involucre et involucrelle nuls. Ombellules globuleuses, La floraison entre avril et juillet (**Meftah *et al.*, 2001**).



Figure 06:photo des fleurs de *Thapsia garganica*

Les fruits : sont ovales, atteignent plus de 2 cm de long, largement ailés. à échancrures plus ou moins larges au sommet et à la base. Ailes latérales très développées, brillantes, d'un jaune paille, finement striées (**Pottier-Alapetite, 1979**).



Figure 07:photo des fruits de *Thapsia garganica*

I.4.3 Distribution

Thapsia garganica L. est une espèce répandue dans le bassin méditerranéen, qui a pour habitat le bord des routes et les champs (**Gómez, 2007**).

Il pousse spontanément en Algérie, Tunis et Maroc, Espagne, dans les îles Baléares, en Italie, en Sicile, en Sardaigne, dans plusieurs îles Grecques, et dans plusieurs îles de l'Archipel, à Constantinople et dans l'Asie occidentale.

Elle s'adapte à la sécheresse Méditerranéenne et à l'aridité des steppes et des montagnes sahariennes (**Leleux, 1857**).

I.4.4 Usages

La racine du plante est largement utilisé; l'écorce des racines trouve encore quelques emplois en médecine traditionnelle maghrébine, pour traiter la stérilité féminine, les douleurs rhumatismales, les entorses et surtout, pour les maladies pulmonaires graves, et comme Usage externe la racine est décoctée et mise sur les articulations enflammées, morsures de serpents, plaies atones, Abscess (**Ladjel et al., 2011**).

II. Les antioxydants

II.1 Définition

Un antioxydant peut être défini comme: « toutes substances qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celle d'un substrat oxydable, ralentie ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat » (**Young et Woodside, 2001**).

Les systèmes antioxydants sont soit des molécules qui captent rapidement les ERO (antioxydants proprement dits), soit des systèmes enzymatiques qui catalysent la conversion des molécules pro-oxydantes (**Negres –Salvayre et Salvayre, 2005**).

Les antioxydants sont considérés comme un système défensif car ils empêchent la formation de radicaux libres ou réparent les dommages causés par eux, c'est-à-dire qu'ils sont des matériaux donateurs d'atomes, l'hydrogène se combine avec le radical et le transforme en un composé stable, comme le montre l'équation suivante:

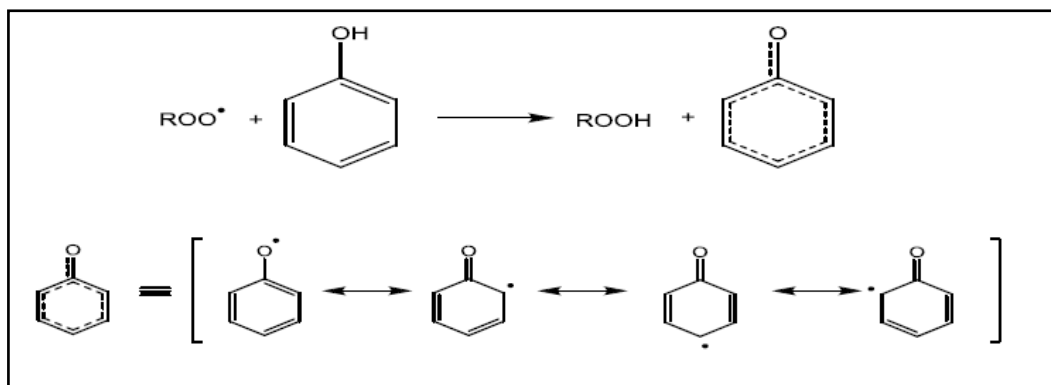


Figure 08:Équation de la réaction antioxydant

II.2 Classification des antioxydants

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défense antioxydant enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (**Berger, 2006**). Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Young et Woodside, 2001**).

Selon l'origine, la classification des antioxydants est la suivante:

II.2.1 Les antioxydants endogènes

II.2.1.1 Les antioxydants enzymatiques

L'organisme possède des enzymes qui peuvent métaboliser les ERO (Morena et al., 2002)

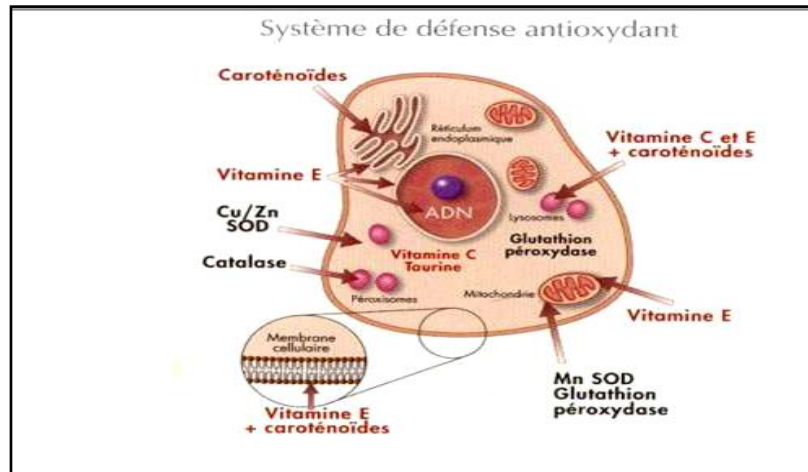


Figure 09: site d'action des nutriments antioxydants et des enzymes antioxydants (Pastre, 2005).

II.2.1.2 Les protéines antioxydants

La transferrine, la ferritine et la cérulé plasmine jouent un rôle antioxydant par chélation des ions (Curtay et Robin, 2000; Pincemail et al., 2002).

Ces chélateurs forment des complexes ou des composés de coordination avec les métaux. Ils inhibent ainsi le cycle redox du métal ou construisent des complexes métalliques insolubles (Cillard et Cillard., 2006).

II.2.2 Les antioxydants exogènes

II.2.2.1 Les oligo-éléments

Les oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse (Pastre, 2005).

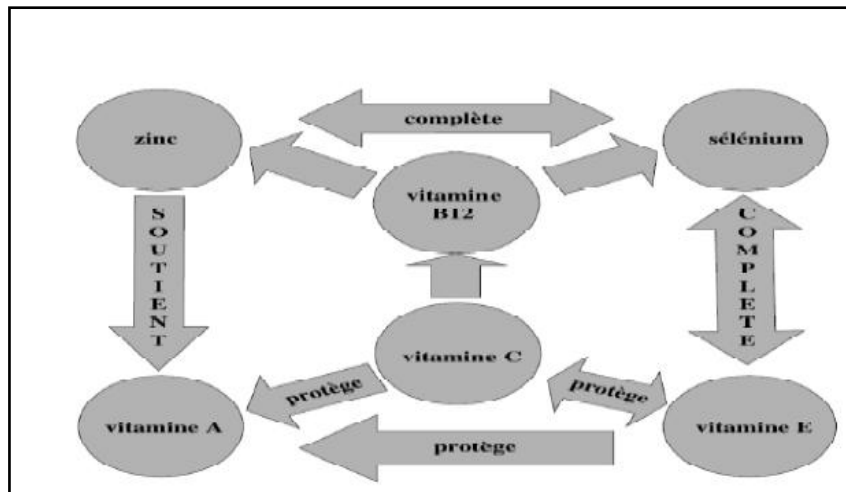


Figure 10: Effet de synergie entre les vitamines et les Oligo- éléments (Pincemail *et al.*, 2002).

II.2.2.2 Les vitamines

Les vitamines sont des molécules organiques requises en faible quantité indispensable pour le fonctionnement des voies métaboliques des êtres vivants. Elles réagissent sous forme de coenzyme (BaratiElbaz et Le Marechal, 2008). Parmi les défenses antioxydants, les vitamines jouent un rôle essentiel au cours du vieillissement. Elles interviennent dans l'immunité, les fonctions cognitives, la protection contre les maladies cardiovasculaires, les cancers et les cataractes (Roussel et Ferry, 2002).

II.2.2.3 Les composés phénoliques

II.2.2.3.1 Définition

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque au quel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneto, 2008).

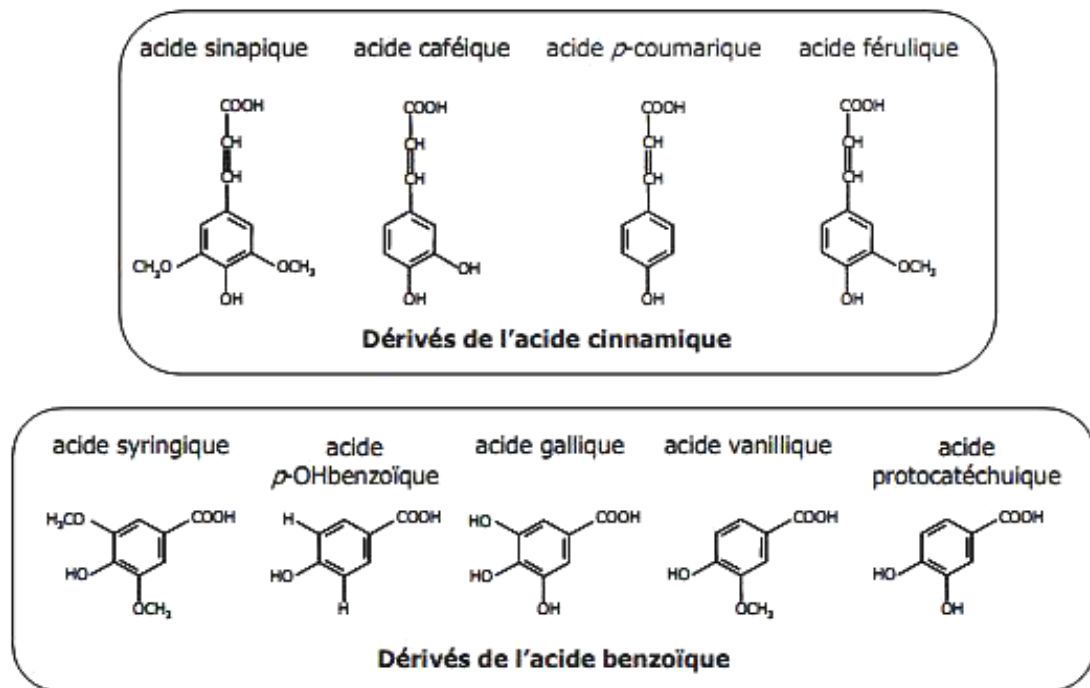


Figure 11: Les structures chimiques des différents acides phénoliques (Anne-Laure, 2007).

II.3 Caractéristiques des antioxydants:

Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes:

- Agi spécifiquement sur les radicaux libres.
- Chélate les métaux de transition.
- Agi en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer.
- Agi à des concentrations physiologiques relativement faibles.
- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

II.4 Principe des antioxydants:

La réaction d'oxydation est souvent une réaction en chaîne, les antioxydants bloquent cette chaîne et empêchent ainsi les radicaux libres d'attaquer les cellules du corps.

Les antioxydants vont se lier aux radicaux libres et réalisent une réaction d'oxydation avec eux, ce qui va les rendre inoffensifs et donc rendre impossible leurs oxydations par les protéines ou les acides gras (**Figure 12**)

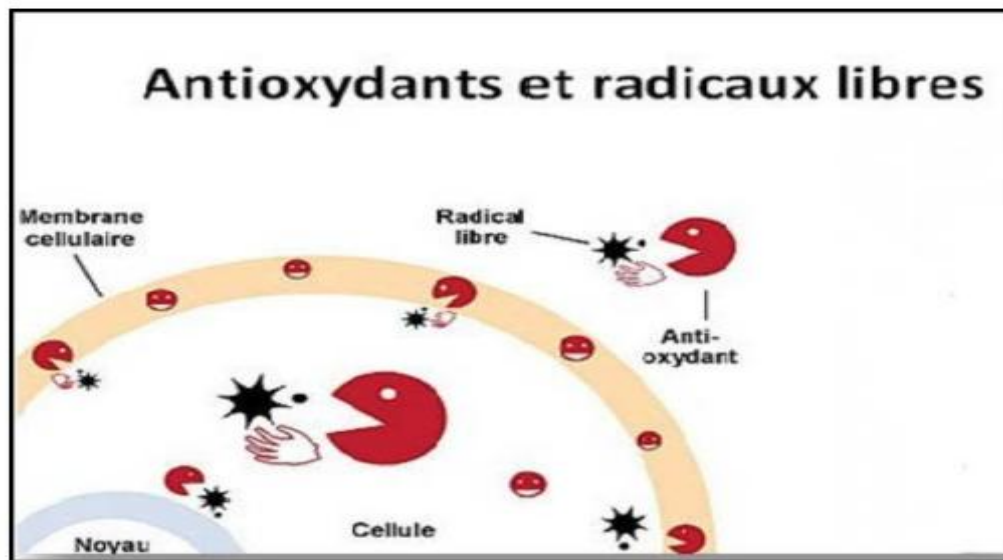


Figure 12: principe des antioxydants

II.5 Les radicaux libres

Un radical libre est un atome ou une molécule qui contient un ou plusieurs électrons non appariés, comme conséquence de la perte d'un ou plusieurs électrons de l'orbite externe, aboutissant à la formation d'une demi-liaison qu'il faut satisfaire par un pillage local d'électrons (**Berger, 2006**).

Les radicaux libres sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée qui leur confère une grande réactivité sur les constituants organiques et sur les structures cellulaires (**Aurousseau, 2002**).

Les radicaux libres ont une durée de vie très courte (millionième de seconde) mais pendant ce laps de temps ils réagissent avec les molécules environnantes ce qu'on appelle la chaîne oxydative (**Rabelais, 2005**).

Ils sont produits quand une liaison covalente est rompue de telle sorte que chaque partie a conservé la moitié des électrons en commun, comme ils peuvent se former quand un atome ou une molécule accepte un seul électron au cours d'une réaction oxydoréduction (**Karp, 2010**).

II.5.1 Les radicaux libres en biologie

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électrons à partir de l'oxygène (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Les espèces pro-oxydantes sont représentées par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives du nitrogène (ERN) (**Groussard, 2006**).

qui sont les produits du métabolisme cellulaire normal et à des concentrations faibles à, modérées elles sont connues de posséder des rôles physiologiques variés allant de la transduction du signal cellulaire à la défense contre les pathogènes (**Dastmatchi et al., 2007**).

Les radicaux libres les plus courants sont le radical super oxyde (O₂⁻), le radical hydroxyle (OH.) et le monoxyde d'azote (NO.). D'autres molécules, comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'ion peroxydite (ONOO⁻) dont leur toxicité est importante, ils ne sont pas des radicaux libres mais ils peuvent en générer par différentes réactions chimiques (**Tamion et al., 2003 ; Ré et al., 2005**).

II.6 Les antioxydant dans *Thapsia garganica*

Thapsia garganica a été considérée comme spécifique dans le traitement de la douleur, à un effet purgatif et les racines possèdent une activité diurétique et émétique.

L'étude réalisée par (Idir Nawel et Ouadir Kahina, 2012) sur les feuilles et les racines de *Thapsia garganica* nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

- Les teneurs en phénols totaux de la plante ont été élevées et ce sont les feuilles qui ont exhibé les teneurs les plus dominantes.
- *Thapsia garganica* contiendrait des quantités modérées en flavonoïdes, et ce sont les extraits aqueux qui ont présenté les concentrations les plus importantes. D'autre part, les feuilles ont été plus riches que les racines.

- Les extraits de *Thapsia garganica* ont dévoilé des taux appréciables en tanins condensés.
- Les extraits des feuilles et des racines ont exhibé une très forte activité scavenging du radical DPPH. De plus, les extraits aqueux ont exprimé des pourcentages d'inhibition plus élevés que les extraits organiques ; cela a été en bonne corrélation avec le contenu en tanins condensés.
- Les extraits de *Thapsia garganica* n'ont pas été de bons chélateurs du fer.
- *Thapsia garganica* posséderait un faible pouvoir réducteur, ces résultats sont en corrélation positive avec les teneurs en phénols totaux.
- En fin, vue les corrélations existantes entre les activités anti-oxydantes testées et les composés phénoliques, cela suggèrerait que les composés phénoliques seraient probablement responsables de ces activités.

II.7 Méthodes de détermination de l'activité antioxydant

II.7.1 Méthode du CUPRAC

La méthode CUPRAC (cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) (**Apak et al., 2004**) est utilisée pour la réduction du Cu (II) et par le traitement du Cu(I) avec un réactif chromogène Néocuproïne (NC) (2,9 -diméthyl- 1,10-phénanthroline) (**Gouda et Amin, 2010**).

Le principe de cette méthode est basé sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones par la réduction du complexe Cu⁺²-Nc, produisant un complexe chromogène de Cu⁺²-Nc qui absorbe à 450 nm (Figure 13).

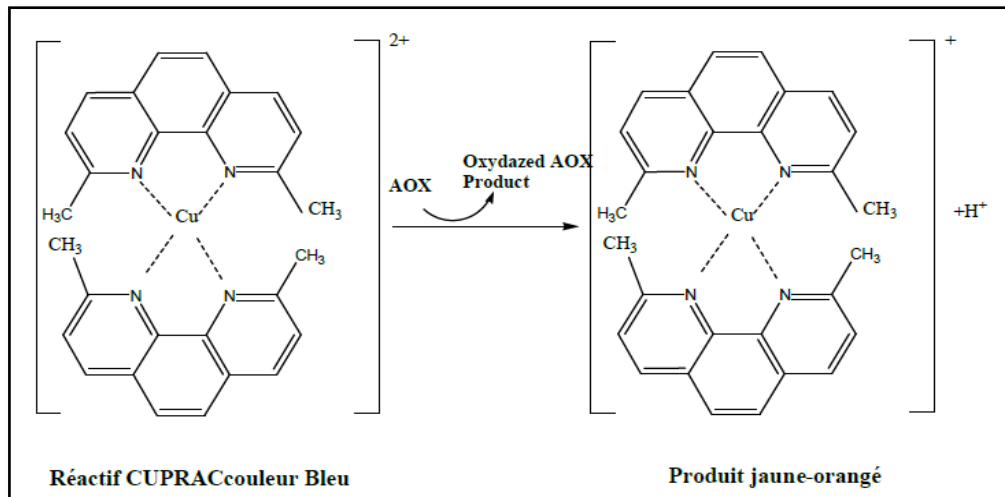


Figure 13: Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydant

II.7.2 Chélation des ions métalliques

L'efficacité des ions ferreux (Fe^{2+}) permis la protection contre les méfaits oxydatifs par l'élimination du fer, ce dernier participe autrement à la génération du $\text{HO}\cdot$ dans la réaction Fenton (réaction d'oxydation aboutissant à la formation du radical hydroxyle)



Cette méthode est basée sur la mesure d'absorbance de la formation du complexe $\text{Fe}(\text{II})$ - Ferrozine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{2+} , elle est déterminée selon la méthode de Decker et Welch. les ions libre Fe^{2+} et Ferrozine forment un complexe $[\text{Ferozine} - \text{Fe}^{2+}]$ qui donne un chromophore rouge qui absorbe à λ 562 nm (Gülçin *et al.*, 2009).

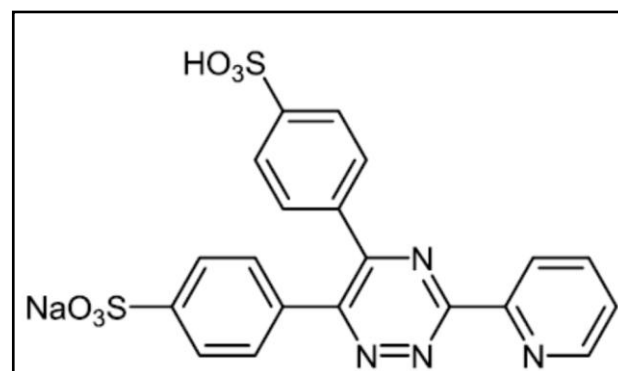


Figure 14: structure chimique du Ferrozine.

III. Toxicité

Toute la plante est toxique par sa résine, jaune ou légèrement rougeâtre, rubéfiante et vésicante, particulièrement abondante dans l'écorce de la racine.

III.1 Principes toxiques :

On y a caractérisé deux substances histamino-libératrices, des lactones sesquiterpéniques: thapsigargine et thapsigarginine, ainsi que des triesters de lactones sesquiterpéniques ayant des structures inhabituelles.

La thapsigargine, guaianolide hexa oxygène, mobilise le calcium intracellulaire selon des modalités très particulières, en inhibant la Ca^{++} ATPase du réticulum endoplasmique.

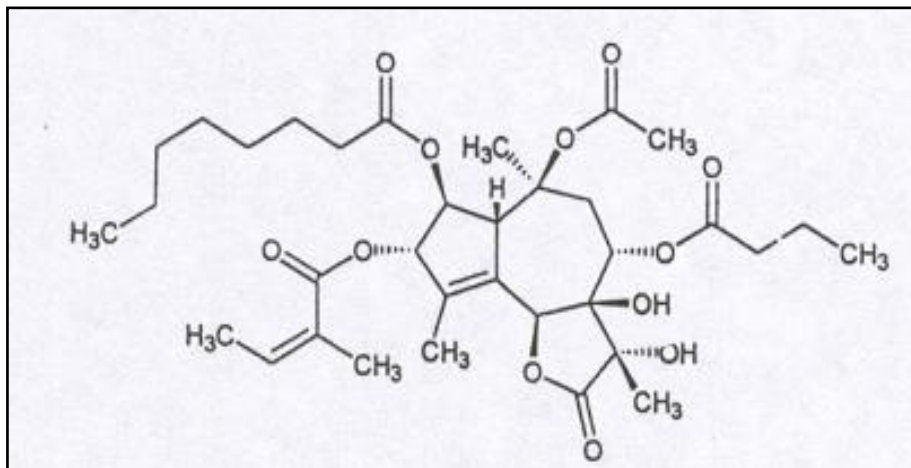


Figure 15: Structure de la thapsigargine isolée à partir de *Thapsia garganica* L.

(Levine, 2005).

Chapitre II:

Matériels et méthodes

Notre étude a porté sur une espèce des plantes de la famille des Apiacées qui est la *Thapsia garganica* L. Le choix de cette plante fut basé sur son utilisation en médecine traditionnelle algérienne.

II.1 Récolte du matériel végétal

La plante de *Thapsia garganica* (racines, feuilles) a été récoltée en moi de Novembre de l'année 2019, dans la région de Mila, loin de tout impact de pollution, qui est présentée dans la Figure 16



Figure 16: Photographies des différentes parties aériennes et racinaires de *Thapsia garganica*.

Après la récolte, les différentes parties ont été lavées pour les débarrasser de la terre, la plante a été identifiée au laboratoire de physiologie végétale et d'écologie de l'université de frères Mentouri Constantine.

II.2 Séchage et broyage

➤ **Séchage** : Après la récolte, les différentes parties ont été mises à sécher dans un endroit sec, à température ambiante et à l'abri de la lumière. ; à noter que la plante a été séchée juste après sa cueillette.

Les racines ont été d'abord coupées en petits morceaux dans le but d'accélérer le séchage, et un deuxième séchage est effectué dans l'étuve à 40 C°.

- **Broyage** : Puis les deux parties de la plante ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La matière sèche obtenue est réduite en poudre, Cette dernière a été conservée dans des bocaux en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.



Figure 17: Photographies des feuilles et des racines séchées *Thapsia garganica*.



Figure 18: La poudre de *Thapsia garganica*. Obtenue suite au broyage

➤ **Solvants utilisé et produit utilisé**

- Méthanol
- Eau distillé

➤ **Equipement**

- Evaporateur rotatif
- Etuve

➤ **Verreries et autre Matériel**

- Burette graduée de 50ml
- Verrerie courante de laboratoire
- Balance de précision (0,1 mg)

II.3 Préparation de l'extrait brut méthanolique (Salvat et al.,2004)

Cet extrait est obtenu par la macération de 100g de la poudre végétale dans **Me OH: eau (70:30)**, (700 ml de méthanol et 300 ml de l'eau distillé) sous agitation douce pendant une 24 h à température ambiante. L'extrait alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange sur coton (entonnoir), cette étape est répétée 3 fois, ensuite le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un évaporateur rotatif (Rotavapor Heidol ph Laborota 4002) à la température $T_0 = 65\text{ C}^\circ$ et à la vitesse de rotation = 3.

L'extrait des feuilles est caractérisé par une couleur jaune foncée, et L'extrait de la racine par une couleur vert foncé c'est l'extrait brut. Pesé, étiqueté et conservé à 4°C dans basse température au réfrigérateur jusqu'à utilisation (Figure 19).

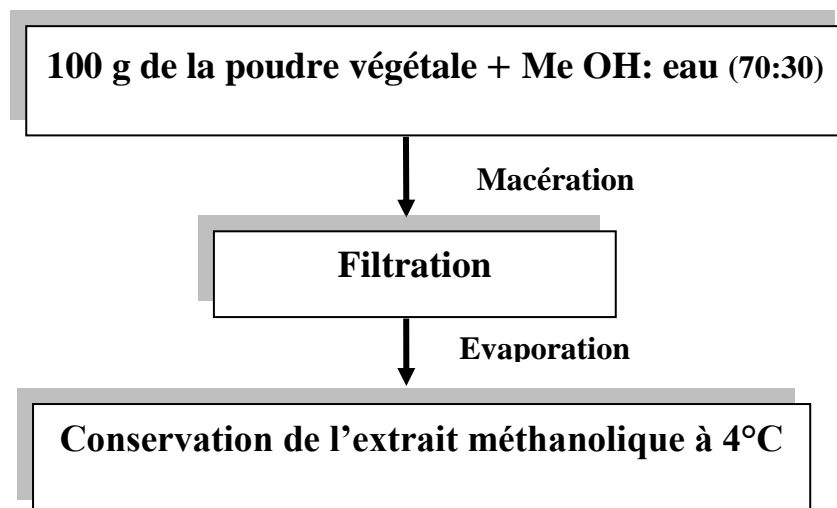


Figure 19: Représentation du protocole d'extraction de l'extrait méthanolique



Figure 20: Etapes de l'opération de la macération (*Thapsia.g*)



Figure 21: Photo du rotavapor utilisé pour obtenir l'extrait brut de *Thapsia garganica L*

II.4 Activités antioxydants des extraits (Chélation du fer, Cuprac)

Notre étude a porté sur le dépistage de l'activité antioxydants par 2 méthodes (Chélation du fer et Cuprac) de l'extrait méthanolique, deux tests ont été réalisés qui est les suivants :

II.4.1. Chélation du fer

L'activité métal chélate est déterminée selon la méthode de **Dinis et al 1999**.

➤ **instrument utilisés:**

Un spectromètre a cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque.

➤ **Réactifs utilisés:**

- FeCl₂
- Ferrozine
- EDTA

➤ **préparation:**

m= 4 mg (Fe⁺²) [0, 2 Mm FeCl₂, 2 H₂O] + 100 ml (H₂O) →S1

m= 0, 5 ml Ferrozinin + 9, 5 ml (H₂O) →S2

➤ **Procedure:**

40 µl MeOH + 40 µl Extrait + 40 µl Fe²⁺ (0, 2mM) (S1) + 80 µl Ferrozine (S2) + attendre 10 mn + Lecteur à 562nm. Le contrôle est le mélange de FeCl₂ et de ferrozine, l'EDTA est utilisée comme standard.

La ferrozine produit un complexe violet avec le Fe²⁺. En présence d'un agent chélatant, la formation du complexe est interrompue, et par conséquent, la couleur violette du complexe diminue (**Hazra et al., 2008**).

L'activité chélatrice du fer des extraits a été calculée par la relation suivante :

$$\% \text{ de chélation} = [(Ac - (At - Ae)) / Ac] \times 100$$

Où :

Ac: est l'absorbance du contrôle (blanc, sans extrait)

Ae: est l'absorbance du blanc de l'extrait (extrait + eau distillée)

At: est l'absorbance du test.

* **Etude statistique**

Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillon analysé et les résultats ont été exprimés sous la forme : moyenne ± écartype. Des comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel Anova. Les différentes ont été considérées d'être significatives à $\alpha = 0,05$. Les valeurs des IC₅₀ ont été calculées en utilisant le logiciel Origin8.

II.4.2 Réduction Cuprique (CUPRAC)

La réduction du cuivre a été mesurée par la méthode CUPRAC décrite par (Apak *et al.*, 2004)

Une solution de : 50 μ l Cu (II) (10 mM), 50 μ l neocuprine (7,5 mM) et 60 μ l des solutions tampon NH₄Ac (1 M, pH = 7,0) est préparée.

Différentes concentrations d'extrait ont été ajoutées au mélange initial jusqu'à un volume final de 200 μ l, les microplaques de 96 puits ont été mises à l'abri de la lumière, et après 1 h, l'absorbance est mesurée à 450 nm. L' α -tocophérol et le BHT ont été utilisés comme standards. Les résultats ont été calculés à titre de A0.5 (μ g / mL) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

➤ Instrument utilisés

- lecteur de microplaque

➤ Préparation des solutions

m=1,927g Acétate d'ammonium (ACNH₄) +25 ml (H₂O) → S1 transparent (PH=7, 0)

m= 0,042625 g (Cu Cl₂, 2H₂O) + 25 ml (H₂O) →S2 bleu

m= 0, 0480 g (Neocupronin) + 25 ml (MeOH) →S3

➤ Procedure

40 μ l Extrait +60 μ l (S1) +50 μ l (S3) +50 μ l (S2) +attendre 1 heure + lecture a 450nm

M (Cu Cl₂, 2H₂O) = 170, 50 g/mol

M (ACNH₄) = 77 g/mol

M (Neocupronin) = 208, 27 g/mol

II.5 Evaluation de la toxicité *in vivo*

➤ Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de feuilles et de racines du *Thapsia garganica L.* préalablement concentré à l'aide d'un rotavapor et mélangé à du méthanol pour en obtenir l'extrait hydro méthanolique.

➤ Matériel animal

Pour cette étude, le rat est choisi comme modèle pour induire la toxicité. Des rats adultes males de souches Wistar dont le poids est compris entre 260 et 200 g, Ces rats ont été élevés à l'animalerie de l'université des frères Mentouri. avec un libre accès à la nourriture et à l'eau, et vivait à une température ambiante de 20 à 24°C, Les rats ont été répartis au hasard en 4 lots homogènes de 4.

Pour étudier l'effet toxique de notre extrait méthanolique des racines et des feuilles de la plante *Thapsia garganica L.*, la toxicité est induite par l'injection intra péritonéale (IP), Ont formé 6 lots dont chaque lot contient 4 rats dont :

- **Lot 1:** traitement ou on va tester l'effet de notre extrait sur la toxicité 200 mg/kg (infusion feuille)
- **Lot 2:** 200 mg/kg (infusion Racine)
- **Lot 3:** 100 mg/kg (infusion Racine)
- **Lot 5:** 25 mg/kg (infusion Racine)
- **Lot 6:** 5 mg/kg (infusion Racine)
- **Lot 7:** 2.5 mg/kg (infusion Racine)

➤ Principe de la méthode

La méthode consiste en l'administration par l'injection intra péritonéale (IP) de doses différentes des extraits méthanolique des feuilles et racines de *Thapsia garganica*, a plusieurs lots d'animaux de laboratoire répartis de façon homogène et d'observer les effets toxiques.

Après l'obtention de la plante, la partie choisie est séchée, broyée, puis l'extraction est faite par macération en fonction du solvant et des molécules qu'on cherche dans l'extrait final., La solution obtenue est concentrée et séchée par Rotavapor.

L'extrait obtenu est conservé dans le réfrigérateur à 4C° jusqu'à utilisation.

Avant l'administration de l'extrait, il doit être préparé en solution aqueuse selon la concentration voulue. il faut confirmer que la totalité de l'extrait est dissoute dans la solution si l'extrait n'est pas hydrosoluble, il faut dissoudre d'abord dans un solvant organique puis le diluer dans l'eau en essayant d'utiliser la quantité la plus faible du solvant organique (pour réduire ses effets nocifs l'animale).

➤ Mode opératoire

Sept doses de chaque partie de la plante 200 mg/kg, 200 mg/kg, 100 mg/kg, 50 mg/kg, 25 mg/kg, 5 mg/kg, 2,5 mg/kg des extraits méthanolique des feuille set des racines de *Thapsia garganica* ont été administrées, par l'injection intra péritonéale (IP) à des lots (chaque lot est composé de 4 individus de rats), Les effets toxiques et la mortalité sont observés pendant 48 heures.



Figure 22: Photographie d'administration des solutions par l'injection intra péritonéale chez le rat.

Résultats et discussion

III.1 Résultats et discussion de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits. La complexité chimique des extraits, la polarité et le comportement chimique, pourraient conduire à des résultats positifs, en fonction du test utilisé. Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique a été déterminée par deux méthodes il est bien claire qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel antioxydant d'un échantillon. Une activité réductrice du cuivre (CUPRAC) et Chélation du fer.

III.1.1 Résultats de l'activité CUPRAC

Les résultats de l'activité Cuprac des extraits méthanolique des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* sont représentés dans la Figure ci-dessous :

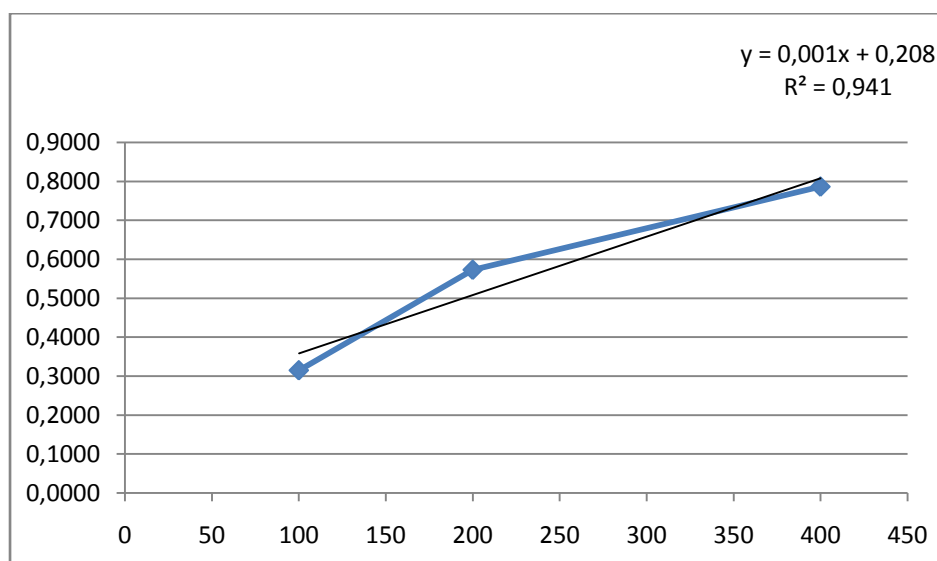


Figure 23: Pourcentages de l'activité CUPRAC des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica*

Discussion

L'analyse des résultats montre une complication entre la néocuproïne et les ions cuivreux avec une conciliation et une absorbance de 0,50 à des coefficients respectifs de 51,25 µg/ml-(SD = +- 0,61) (feuille 2)

5 > 800 µg/ml (Racine 2)

194, 49 µg/ml (SD= +- 1, 83) (Racine 1)

Ce qui explique une activité réductrice du cuivre positive (Cuprac >)

Résultats confirme avec l'étude de Riad, Samia, Université Bordj Bouarerdj, 2010

III.1.2 L'activité chélatrice du fer

Les pourcentages de l'activité chélatrice du fer des extraits méthanolique de *Thapsia garganica* sont représentés dans la Figure ci-dessous :

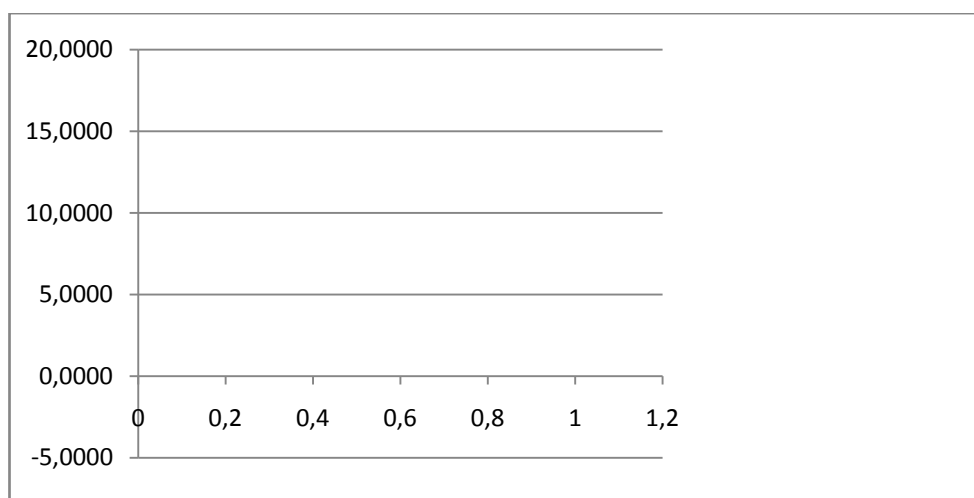


Figure 24: Pourcentages de l'activité Chélatrice du fer des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica*

Discussion

Une vue générale de la représentation graphique, nous permet de constater que les extraits de *Thapsia garganica* n'ont montré aucune activité Chélatrice du fer concordant avec les résultats de l'étude de (Idir Nawel et Ouadir Kahina, 2012, Université de Bejaïa).

III.2 Toxicité

La toxicité pour but la détermination de la dose létale qui correspond à la dose capable de tuer des animaux mis en expérience dans une même espèce animale. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 02

Tableau 02: résultats de l'étude de la toxicité

Solution préparé	Pourcentage de la mortalité	
	Injection racine	Injection feuilles
200 mg/kg	100 %	100 %
100 mg/kg	100 %	/
50 mg/kg	100 %	/
25 mg/kg	100 %	/
5 mg/kg	25 %	/
2,5 mg/kg	0 %	/

Après l'injection des extraits, les animaux ont été d'abord mis sous observation pendant 1 heure afin de noter les cas de mort immédiate

- après 15 minutes de l'injection de l'extrait des racines, les rats sont morts
- et après et 37 min de l'injection de l'extraits des feuilles, les rats sont morts.
- Aucune mortalité, ni signe clinique n'ont été observés suite à l'administration de la dose de 2,5 mg/kg de nos préparation racine.

Discussion

Des résultats d'une analyse de toxicologique de nos extraits administrés aux rats ont montré une mortalité aux dose de 200 mg/kg à 5 mg /Kg, mais arrivé à la dose de 2,5 mg/kg les rats ne meurent plus.

Donc le pouvoir toxique est proportionnel à la teneur des extraits administres qui sont très réactifs compétitivement a des substances authentiques connues comme toxiques (Fatiha. BEDJOU.Yasmine BERRY.Khalida BOUGOFFA. Labo de biologie. Université de Bejaia)

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Notre étude réalisée sur les feuilles et les racines de *Thapsia garganica* est portée sur l'évaluation de l'activité antioxydant par le biais de deux méthodes Cuprac et Chélatrice du fer et l'effet toxique de la plante par la méthode in vivo les résultats nous montre que:

- les extraits de *Thapsia garganica* ont exhibé une activité réductrice du cuivre (CUPRAC).
- L'activité Chélatrice du fer c'est avérée négative.
- Une toxicité proportionnelle aux doses administrées avec une dose létale de 200 mg/kg à 5 mg/kg et non létale à partir de la dose de 2,5 mg/kg.
- Les racines de *Thapsia garganica* est plus toxique que les feuilles.

Nos résultats concordent avec quelques résultats des chercheurs scientifiques déjà citées.

Enfin ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles et des racines de *Thapsia garganica*.

Ainsi, l'effet direct de la toxicité de la plante par la méthode in vivo.

Nous souhaitons aller au-delà des tests des extraits bruts, et de tenter d'isoler, de purifier et d'identifier les constituants biochimiques responsables de ces différentes activités. En outre, les tests antioxydants réalisés : l'activité réductrice du cuivre (CUPRAC) le pouvoir réducteur et la chélation du fer sont très importants pour la santé humaine, il serait très intéressant d'aller plus loin en essayant de réaliser ces tests *in vitro* afin de s'assurer de l'efficacité et de la non toxicité des extraits ou des constituants biochimiques isolés.

***Références
Bibliographiques***

Bibliographie

- Anne-Laure B., Vessela A-P., Jacques G., Barreau C. et Forget-Richard F.** (2007). Analyse de facteurs biochimiques interagissant dans le processus de biosynthèse des TCTB. *Colloque Fusari toxines des Céréales-Arcachon*.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. et Karademir, S.E.** (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.
- Aurousseau B.** (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Productions Animales*, 15 (1) : 67-82.
- BaratiElbaz C. et Le Marechal P.** (2008). Biochimie en 23 fichiers. *Dunod, Paris*: 62 et 135.
- Berger M. M.** (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20 : 48-53.
- Brewer M.S.** (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanism of action, and potential application, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 221–247
- Burt S.** (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Bruneto J.** (2008). Pharmacognosie : composés phénoliques, shikimates, acétates. 3^{ème} édition. *Editions TEC et DOC*: 233-447.
- Christensen P and Brandt K.** (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: occurrence, bioactivity and analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 683-93.
- Cillard J. and Cillard P.** (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 13 (1) : 24-29.
- Curtay J.-P. et Robin J.-M.** (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*.
- Dastmalchi K., Dorman H. J. D., Oinonen P. P., Darwis Y., Laakso I. and Hiltunen R.** (2007). Chemical composition and *in vitro* antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food Science and Technology*, 41 : 391-400.
- French D.H.** (1971). Ethnobotany of the Umbelliferae. In: Heywood VH, ed. *The biology and chemistry of the Umbelliferae*. London: Academic Press 385–412.
- Gausson H., Lerog J.-L. & Ozenda P.** (1982). Précis de botanique : Végétaux supérieurs. 2^{ème} Ed. Masson. 387-389.

- Ghasemzadeh A. and Ghasemzadeh N.** (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human, *Journal of Medicinal Plants Research*. 5, 6697–6703.
- Gómez F. L. M.** (2007). Síntesis de análogos de las thapsigarginas. Mémoire en vue d'obtention du grade de doctorat en chimie. Département de chimie organique. Faculté des sciences. Université de Cádiz. Puerto Real. Espagne.
- Gouda, A.A. et Amin, A.S.,** (2010). Copper (II)–neocuproine reagent for spectrophotometric determination of captopril in pure form and pharmaceutical formulations. *Arabian Journal of Chemistry*. 3, 159-165
- Guignard J.-L.** (1998). Abrégés botaniques. 11^{ème} Ed. Masson. 166-171. ISBN : 2-225-83519-5.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Taoubi, K. et Köksal, E.** (2009). Antioxidant secoiridoids from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *Wood Science and Technology*. 43, 195–212
- Guo B., Gao M and Liu C.Z.** (2007). In vitro propagation of an endangered medicinal plant *Saussurea involucre* Kar. Et Kir, *Plant Cell Reports*. 26, 261–265.
- Groussard C.** (2006). Stress oxydatif et exercice anaérobie. *Science & Sport*, 21 : 62-67.
- Hazra B., Biswas S. and Mandal N.** (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8 : 63.
- Hegnauer R** (1997). Chemotaxonomie der Pflanzen. Basel und Stuttgart: Birkhauser Verlag band VI, IX, X
- Hirasa K. and Takemasa M.** (1998). Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.
- Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A. & Stevens P.** (2002). Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 387-390. ISBN : 2-7445-0123-9.
- Karp G.** (2010). Biologie cellulaire et moléculaire. In : les bases chimiques de la vie. *Edition De Boeck*. Bruxelles : 35.
- Koehlin-Ramonatxo C.** (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20: 165-177.
- Ladjet S., Zellagui A. et Gherraf N.** (2011). Reinvestigation of essential oil content of *Thapsiagarganica* grown in the east of Algeria. *Revue des sciences fondamentales et appliquées*. 3(2): 30-34.
- Lakhdar djarri, 2011** : contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes algériennes de la famille des apiaceae. thèse de doctorat. Chimie Organique. Université Mentouri de Constantine.

- Lauzer M.** (1868). Revue de thérapeutique médicochirurgicale Pp : 39.
- Leleux A.** (1857). Revue archéologique ou recueil de documents et de mémoires. Relatifs à l'étude des monuments, à la numismatique et à la philologie. Pp: 234.
- Liu H., Jensen K.G., Tran L.N., Chen M., Zhai L., Olsen C.E., Søhoel H., Denmeade R.S. Isaacs J.T and Christensen S.B.** (2006). Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue from *Thapsigarginica*, *Phytochemistry*. 67, 2651–2658.
- Martin S. et Andriantsitohaina R.** (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, **51**: 304-315
- Medini F., Fella H and Ksouri R.** (2014). Chedly Abdelly Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*, *Journal of Taibah University for Science*. 8, 216–224.
- Meftah T., Sengui R., Djennas A. & Benabbes O.** (2001). Connaissance, valorisation et contrôle de l'utilisation de la flore sauvage en médecine traditionnelle (plantes médicinales). Programme U.I.C.N. pour l'Afrique du nord.
- Morena M., Martin-Mateo M., Cristol J.-P. et Canaud B.** (2002.). Stress oxydant, hémocompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, **23** (5) : 201-208.
- Mothana R.A.A.** (2011). Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of the endemic *Soqotraen Boswellia elongata* Balf. and *Jatropha uncostata* Balf. in different experimental models, *Food and Chemical Toxicology*. 49, 2594–2599.
- Negres –Salvayre A. et Salvayre R.** (2005). Effet protecteurs des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*, **12** : (5-6)
- Pae H.O., Oh H, Yun Y. G., Oh G.S., Jang S. I., Hwang K.M et al.** (2002). Imperatorin, a furanocoumarin from *Angelica dahurica* (Umbelliferae), induces cytochrome c-dependent apoptosis in human promyelocytic leukaemia, HL-60 cells, *Pharmacology and Toxicology*. 91, 40–48.
- Pastre J.** (2005). *Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques*. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. p.27
- Perrot** (1943) Matière Première usuelle du Règne Végétale. Paris: Masson et cie, p, 1630–2.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. et Defraigne J-O.** (2002). Nutrition et stress oxydant mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, **16**: 233-239.

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

Prochazkova D., Bousova I. and Wilhelmova N.(2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids, *Fitoterapia*. 82, 513–523.

Rabelais F. (2005). Le stress oxydant. *Micronutrition-Mise au point en Médecine Générale*.

Ré D. B., Nafia I., Nieoullon A., Le Goff L. K. and Had-Aissouni L. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation*, **24** : 502-509.

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

Roussel A.-M. et Ferry M. (2002). Stress oxydant et vieillissement. *Nutrition clinique et métabolisme*, **16**: 285-291.

Rout G.R., Samantaray.S .& Das.P (2000). In vitro manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotechnology Advances*. 18, 91–120.

Salvat A., Antonacci L., Fortunato R.H., Suarez E.Y. et Godoy H.M., 2004.

Antimicrobial activity in methanolic extracts of several plant species from northern Argentina. Elsevier, *Phytomedicine*, **11**, 230–234.

Shinde N., Malpathak N. and Fulzele D.P (2010). Determination of isoflavone and antioxidant activity in *Psoralea corylifolia* L. callus cultures, *Food Chemistry*. 118, 128–132.

Smitt U.W. and Christensen S.B. (1991). Nortrilobolid, a new potent guaianolide secretagogue from *Thapsiagarganica*, *Planta Medica*. 57, 196–197.

Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: A review, *Journal of Food Composition and Analysis*. 19, 531–537.

Tabanca N., Demirci B., Ozek T., Kirimer N., Baser K.H.C., Bedir E., Khan I.A. and Wedge D.E. (2006) - Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey. *Journal of Chromatography A*, 1117: 194–205.

Tamion F., Clabault K. et Bonmarchand G. (2003). Ischémie-perfusion mésentérique lors des états de choc: Principaux aspects physiopathologiques. **12** (6) : 441-448.

Velioglu Y.S., Mazza G, Gao L .and. Oomah B.D .(1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products, *Journal of Agricultural Food and Chemistry*.46, 4113– 4117.

Verpoorte R., Contin A and J. Memelink (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites, *Phytochemistry Reviews*. 1, 13–25.

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

Yesil-Celiktas O., Nartop P, Gurel A, Bedir E and Vardar-Sukan F (2007). Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* calli, *Journal of Plant Physiology*. 164, 1536–1542

Young I. S. and Woodside J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, **54**: 176-186.

Annexes

Annexe 01 : matériels et produits chimiques

- La verrerie :

Tubes à essai, béchers, pipette, Burette graduée de 50ml, Verrerie courante de laboratoire.

- L'appareillage

Balance de précision

Broyeur

Evaporateur rotatif

Etuve

Microscope optique

Lecteur de microplaque

- **Autres** : spatule, micropipettes (du 100 μ l et 1000 μ l), papier aluminium, papier absorbant, papier filtre, parafilm, boîtes de Petri.

- Les produits chimiques et solvants

Eau distillée

Methanol: CH₃OH, 79%, MM=32,04 g/mo

FeCl₂

Ferrozine

EDTA

Résumé

Abstract

Thapsia garganica plant of the family Apiaceae. This species is widely used by the Algerian population because of their many therapeutic characteristics. Our work focuses on the evaluation of the antioxidant activity of the methanolic extract of the roots and leaves of *Thapsia garganica* and the toxic effect by the in vivo method.

Two methods were used for the evaluation of the antioxidant activity: a copper reducing activity (CUPRAC) and the method of chelation by ferrous ions, the latter gave us negative results for the chelating activity of iron, and exhibited copper reducing activity (CUPRAC).

As for the test of the toxicity of the plant shows that mortality at the dose of 200 mg / kg has 5 mg / kg, but at the dose of 2.5 mg / kg the rats no longer die.

The toxic power is proportional to the content of the extracts administered.

الملخص

Thapsia garganica. نبات من عائلة *Apiaceae*. هذا النوع كثير الاستعمال في الجزائر لكثرة خصائصه العلاجية.

يرتكز عملنا على تقييم تأثير المستخلص الميثانولي للأوراق و الجذور لنبات *Thapsia garganica* على النشاط المضاد للأكسدة و تأثير السمية على الفئران, تم استخدام طريقتين لتقييم النشاط المضاد للأكسدة: نشاط اختزال النحاس (CUPRAC) وطريقة chélatrice du fer

النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة تشير إلى أن لهذا المستخلص فعل مضاد للأكسدة بالنسبة لاختبار CUPRAC و كانت سلبية بالنسبة لاختبار chélatrice du fer

أما بالنسبة لاختبار السمية فقد تبين أن الجرعة المميتة من 200 مغ/كغ إلى 5مغ/كغ, و جرعة 2.5 م غ/ كغ غير مميتة, يمكن القول أن السمية تتناسب مع تركيز المستخلصات المحقونة.

Résumé

Thapsia garganica plante de la famille des *Apiaceae*. Cette espèce est très utilisée par la population Algérienne en raison de leurs nombreuses caractéristiques thérapeutiques.

Notre travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique des racines et des feuilles de *Thapsia garganica* et l'effet toxique par la méthode in vivo.

Deux méthodes ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante: une activité réductrice du cuivre (CUPRAC) et la méthode de chélation par des ions ferreux, cette dernière nous a donné des résultats négatifs pour l'activité chélatrice du fer, et ont exhibé une activité réductrice du cuivre (CUPRAC).

Quant au test de la toxicité de la plante montre que une mortalité aux dose de 200 mg/kg a 5 mg /Kg, mais arrivé a la dose de 2,5 mg/kg les rats ne meurent plus.

Le pouvoir toxique est proportionnel à la teneur des extraits administré.

Mots clés : *Thapsia garganica* L., l'activité antioxydante, CUPRAC, chélatrice du fer,