

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N°Ref :.....



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie Végétale
Thème :

**Dosage biochimique et étude de l'activité
anticoagulante des extraits hydro-alcoolique
d'une plante médicinale**

Présenté par:
ALIOUCHE Ghada
AOUADJ Sabra

Devant le jury composé de :

Présidente : Mm .HARRIECH Ouahiba M.A.A au C.U.Mila
Examinatrice : Dr. HIMOUR Sarra M.C.B au C.U.Mila
Promoteur : Dr. BOUCHEKRIT Moufida M.C.B au C.U.Mila

Année Universitaire: 2018/2019

REMERCIEMENT

*Nous tenons à remercier notre promotrice **Dr. BOUCHEKRIT Moufida**,
Maitre de Conférence classe B au Centre Universitaire Boussouf Abd-
Elhafid de Mila, pour ses conseils précieux, ses encouragements et ses
orientations durant toute notre formation ainsi que pour son sérieux au
cours de l'élaboration de ce travail.*

*Nous exprimons aussi nos profonds remerciements aux membres de jury
qui vont juger ce travail:*

***Mm la présidente HARRIECH Ouahiba**, Maitre-Assistant Classe A au
Centre Universitaire BOUSSOUF Abd-Elhafid de Mila*

***Dr l'examinatrice HIMOUR Sarra** Maitre de Conférence classe B au
Centre Universitaire BOUSSOUF Abd-Elhafid de Mila.*

*Nous remercions également tous le membre des laboratoires de SNV du
Centre Universitaire de Mila. Merci pour le soutien et pour vos efforts
avec nous.*

*Nous remercions également tous nos enseignants, et les administrateurs du
Département des Sciences de la Nature et de la Vie.*

*En fin, nos vifs remerciements sont adressés à tous ceux qui ont contribué
de près ou de loin, directement ou indirectement, à l'élaboration du fruit de
nos années d'études.*

UN GRAND MERCI POUR VOUS TOUS

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail:

*A la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie, ma mère « **Nassira** »*

Qui m'a soutenu son appui durant toutes mes années d'étude, pour ses sacrifices et soutien qui m'ont donné la confiance, le courage et la sécurité.

*A l'exemple de ma vie, mon très chère père « **Zine Elddine** »*

Qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.

*A mes chères sœurs: **Amira** et **Nourhane** pour leurs encouragements dans les moments difficiles, Merci pour votre amour.*

*A mes chers frères: **AbdElghafour** et **Imran** je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur Je vous aime.*

*A mes fidèles amies: **Noussaiba** et **Amina**.*

A tous mes enseignants.

Merci pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble.

GHADA

DEDICACE

Je dédie ce travail:

*A mes chers parents, pour leur affection et leurs efforts déployés durant toute ma vie
J'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.*

*A mon très chère père, **Boukhalfa***

*A ma chère mère, **Fatna***

*A la personne la plus chère au monde, la lumière de mes yeux, rien au monde ne vaut les
efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être*

*A mon très cher mari **Naaman** Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis
de réussir mes études.*

*Ce travail sera un témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle à
mon petit fils **FADI***

Je t'aime énormément.

*A mes chères sœurs, **Hassna, Hind et Belkiss.***

A mon frère Mohamed Amin.

A ma grand-mère

*Mes meilleures amies: **Djahida, Ahlam, Ghada, Ibtissem et Doria***

A toutes mes amies

SABRA

الملخص

أجريت هذه الدراسة في إطار تثمين النباتات الطبية والعطرية في الجزائر. في هذا السياق ، قررنا اختيار نبتة من شمال الجزائر ، تنتمي إلى البحر الأبيض المتوسط تابعة إلى عائلة الخيمية *Elaeoselinum asclepium*. تم الاستخلاص باستخدام طريقة التنقيع. أجريت اختبارات الفحص لتحديد كمية الفينولات والفلافونويد في المستخلصات و أيضا تم تقييم فعالية مضادات التخثر مقابل المسار الخارجي في المختبر عن طريق حساب وقت التخثر (TQ). لذلك ، سمح لنا التحليل بالحصول على ستة مستخلصات: هيكزان- الكلوروفورم- اثيل اسيتات-البيتانول-الميثانول و المستخلص المائي وقد تم تسجيل أعلى مردود من مستخلص الميثانول بقيمة 32.5% . أظهر اختبار الفينول الكلي أن جميع المستخلصات تحتويه وعلى وجه الخصوص مستخلص الميثانول و المائي ($108,72 \pm 0,031 \mu\text{g EAG/mg}$ Ext ; $161,45 \pm 0,078 \mu\text{g EAG/mg}$ Ext على التوالي). في حين أن اختبار الفلافونويد أعطت قيم منخفضة تتراوح Ext $17,80 \pm 0,000 \mu\text{g EQ/2mg}$ إلى Ext $11,93 \pm 0,343 \text{ EQ/2mg}$ ازمنة التخثر التي تم الحصول عليها على البلازما الطبيعية في وجود المستخلصات المدروسة و قد أظهرت أن عيناتنا تمارس نشاطاً مضاداً للتخثر ضعيفاً على المسار الخارجي.

الكلمات المفتاحية: *Elaeoselinum asclepium* L. ، البوليڤينول ، الفلافونويد ، نشاط مضاد التخثر.

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatique d'origine algérienne. Dans ce contexte, on a choisi une plante du Nord algérien, endémique du bassin méditerranéen et qui appartient à la famille des Apiacées, *Elaeoselinum asclepium* L. L'extraction des molécules bioactives a été effectuée en utilisant la méthode de la macération à froid. Les tests de dosage ont été réalisés pour quantifier le taux des phénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits. Le pouvoir anticoagulant vis-à-vis de la voie exogène a été évalué in vitro en calculant le temps de la coagulation (TQ). Au fait, la macération nous a permis d'obtenir six extraits: Hexane; chloroforme; E.acétate, n-Butanol, MeOH, aqueux, dont le rendement le plus élevé a été enregistré par l'extrait MeOH (32.5%). Le test du dosage des phénols totaux a montré que tous les extraits en contiennent et notamment l'extrait MeOH et H₂O ($161,45 \pm 0,078 \mu\text{g EAG/mg Ext.}$ et $108,72 \pm 0,031 \mu\text{g EAG/mg Ext.}$ respectivement), cependant le dosage des flavonoïdes a donné des valeurs faibles variées de $18,03 \pm 0,076 \mu\text{g EQ/2mg Ext.}$ à $11,93 \pm 0,343 \mu\text{g EQ/2mg Ext.}$ Les temps de la coagulation obtenus sur un plasma normal en présence des extraits testés ont indiqué que nos échantillons exercent une faible activité anticoagulante sur la voie exogène.

Mots clés: *Elaeoselinum asclepium*, Polyphénols, Flavonoïdes, Activité anticoagulante

Abstract

This present study was conducted within the framework of the valorization of medicinal and aromatic plants of Algeria. In this context, we decided to select a plant from northern Algeria, endemic to the Mediterranean which belongs to the Apiaceae family, *Elaeoselinum asclepium* L. The extraction of bioactive molecules was done using the cold maceration method. Assay tests were performed to quantify the level of total phenols and flavonoids in the extracts. Anticoagulant potency vis-à-vis the exogenous pathway was rated in vitro by calculating the coagulation time (TQ). Therefore, the maceration allowed us to obtain six extracts: Hexane; chloroform; E.acétate,n-Butanol, MeOH,and aqueous extract. The highest yield was recorded by the MeOH extract (32.5%). The total phenol assay showed that all the extracts contained it and in particular the MeOH and H2O extract ($161.45 \pm 0.078 \mu\text{g EAG} / \text{mg Ext}$ and $108.72 \pm 0.031 \mu\text{g EAG} / \text{mg Ext}$ respectively).Whereas, the flavonoid assay gave varied low values of $18.03 \pm 0.076\mu\text{g EQ} / 2\text{mg Ext.}$ at $11.93 \pm 0.343\mu\text{g EQ} / 2\text{mg Ext.}$ Clotting times obtained on normal plasma in the presence of tested extracts showed that our samples exert a weak anticoagulant activity on the exogenous pathway.

Key words: *Elaeoselinum asclepium*, Polyphenols, Flavonoids, Anticoagulant activity.

Table des matières

Résumé.....I
Liste des abréviationsIV
Liste des figures V
Liste des tableaux VI
Introduction 1

CHAPITRE I : LA FAMILLE DES APIACEES

1. Généralités sur la famille des Apiacées 3
2. Classification des Apiacées 3
3. Distribution de la famille des Apiacées à travers le monde 3
4. Botanique et propriétés des Apiacées 5
 4.1. Appareil végétatif..... 5
 4.2. Appareil reproducteur 5
5.Importance économique des Apiacées 8
6.Le genre *Elaeoselinum* Koch ex DC. 9
 6.1.Généralités..... 9
 6.2. Caractéristiques botaniques..... 10
 6.2.1.Appareil végétatif 10
 6.2.2. Appareil florale..... 10
7. Espèce *Elaeoselinum asclepium* 10
 7.1.Description de l'espèce *Elaeoselinum asclepium* 10
 7.2. Systématique et nomenclature..... 11
 7.3.Habitat et Répartition géographique 11

CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES

1.Définition..... 12
2. Classification des métabolites secondaires..... 12
 2.1.Les terpénoïdes..... 12
 2.2. Les Alcaloïdes 13
 2.3. Les Polyphénols 15
 2.3.1.Les acides phénoliques..... 16

2.3.3.Les coumarines.....	18
2.3.4.Les tanins	18

Chapitre III : Activité Anticoagulante

1.Notion de l'hémostase	20
2. Plaquettes sanguines	20
3.Coagulation du sang	21
3.1. Définition	21
3.2.Facteurs de coagulation.....	21
3.3.Voies de coagulation	23
3.3.1.Voie endogène ou intrinsèque	23
3.3.2.Voie exogène ou extrinsèque	23
4. Anticoagulants	24
4.1.Les héparines	24
4.2. Les anti vitamines	25
4.3. Les nouveaux anticoagulants	25

Chapitre IV : Matériel et méthodes

I. Matériel	27
I.1. Matériel végétal.....	27
I.2. Matériel de laboratoire	27
II. Méthodes.....	28
II.1. Préparation de matériel végétal.....	28
II.2. Préparation des extraits	29
II.2.1. Principe.....	29
II.2.2. Objectif.....	29
II.2.3.Protocole de la macération Méthanolique	29
II.2.4.Préparation des fractions	30
II.2.5. Calcule du rendement	32
II.3. Dosage des phénols totaux.....	32
II.3.1. Principe du dosage.....	32
II.3.2. Protocole du dosage.....	32

II.4. Dosage des flavonoïdes.....	33
II.4.1. Principe du dosage.....	33
II.4.2. Protocole du dosage.....	33
II.5. Evaluation de l'activité anticoagulante des extraits.....	34
II.5.1 Préparation du plasma	34
II.5.2 Principe.....	35
II.5.3 Mode opératoire.....	35

Chapitre V : Résultats et Discussion

I. RENDEMENTS	37
1. Résultats	37
2. Discussion.....	38
II. DOSAGE DES POLYPHENOLS ET FLAVONOÏDES	39
1. Dosage des poly phénols	39
1.1. Résultats	39
2. Dosage des flavonoïdes	42
2.1. Résultats	42
2.2. Discussion	44
III. ACTIVITE A NTICOAGULANTE VIS-A-VIS DE LA VOIE EXOGENE	46
1. Résultats	46
2. Discussion.....	47
Conclusion	49
Références bibliographiques	52
Annexes	

LISTE D'ABREVIATION

GP : Glycoprotéine

ATP : Acide Adénosine Tri-phosphate

ADP : Acide Adénosine Di-phosphate

PS : Plaquette Sanguin

HNF : Héparine non fractionnée

HBMP : Héparine de Bas Poids Moléculaire

FII a : Facteur xa et la thrombine

F IX : Facteur antihemophilique

DX 9065a : Dérivé synthétique de l'acide propanoïque qui inhibe directement le facteur Xa

F I : Thrombine formé par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène

F X I I I a : Facteur stabilisateur de Fibrine

Rpm : Rotation Par Minute

TQ : Temps de Quick

TP : Taux de Prothrombine

PPP : Plasma Pauvre en Plaquettes

PL : phospholipides

Eq Ag/ Ext : Equivalents d'Acide Gallique par Extrait

EqQ/Ext: Equivalents de la Quercétine par Extrait.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Répartition géographique mondiale des Apiacées	2
Figure 02 : Inflorescence des Apiacées	4
Figure 03 : Fruit des Apiacées	6
Figure 04 : Structure de la molécule d'Isoprène	12
Figure 05 : Structure de quelques Alcaloïdes	14
Figure 06 : Structure de quelques Acides phénoliques.....	15
Figure 07 : Structure de base des Flavonoïdes	16
Figure 08 : Structure d'une molécule Coumarine	17
Figure 09 : Structure des deux types de Tanins.....	18
Figure 10 : Cibles principale de la cascade de coagulation.....	24
Figure 11 : Ombelle de l'espèce <i>E.asclepium</i> L.....	27
Figure 12 : Broyage des graines des ombelles d' <i>E.asclepium</i> (L.)	28
Figure 13 : Etapes de la macération méthanolique.....	30
Figure 14 : Protocole de la préparation des extraits	31
Figure 15 : Protocole de dosage des polyphenoles.....	33
Figure 16 : Schéma explique le protocole de dosage des Flavonoïdes	33
Figure 17 : Etapes de la voie exogène	36
Figure 18 : Rendement de l'extraction des graines des ombelles d' <i>E.asclepium</i> (L.)	37
Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'Acide gallique	38
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la Quarcétine	41
Figure 21 : Capacité anticoagulante des extraits vis-à-vis de la vois exogène	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Répartition mondiale des genres des Apiacées.....	2
Tableau 02 : Facteurs de la coagulation plasmatique	22
Tableau 03 : Produits et matériel utilisés.....	28
Tableau 04 : Teneur en polyphénols dans les extraits étudiés.....	38
Tableau 05 : Teneur en flavonoïde dans les extraits étudiés	42

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (**Athamena, 2009**). En effet, plusieurs produits pharmaceutiques ont été dérivés des plantes, ces dernières passent dans l'esprit de la population pour leur efficacité et tolérance et donc la naissance d'une médecine qui s'appelle la médecine douce (**Hami et al., 2011**).

Chez tous les êtres vivants, il existe un seule métabolisme qui est le métabolisme primaire qui fournit les molécules de base, sauf les plantes qui produisent un autre type de métabolisme qui s'appelle le métabolisme secondaire. Les molécules produites de ce dernier est nommée métabolites secondaires et ce sont les responsables des vertus thérapeutiques des plantes médicinales et aromatique (**Mohammedi, 2013**).

Ainsi, l'utilisation très vaste des plantes médicinales depuis l'antiquité pour traiter les différentes pathologies courantes ont poussé les chercheurs à étudier leurs activités pharmacologiques. Ces études ont pour but de confirmer leurs propriétés thérapeutiques, plus que l'isolement et l'identification des molécules qui en responsables et donc un bon usage (**Lamaoui, 2011**).

Les poly phénols présentent le groupe des métabolites secondaires le plus important à cause de leurs structures chimiques diversifiées. Les composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes, possèdent des propriétés thérapeutiques différentes entre autre: antioxydantes, anticoagulantes, antimicrobiennes, hépato-protectrices, gastro-protecteur (**Bruneton, 1999**).

La coagulation du sang est un processus par lequel le sang perd sa liquidité et forme des caillots ce qui empêche perte du sang (hémorragie) lors d'une blessure. De ce fait, l'utilisation d'un anticoagulant permet de ralentir une coagulation excessive. Il s'agit d'un médicament utilisé sous contrôle médical étroit permettant de fluidifier le sang et d'empêcher sa coagulation (la formation des caillots). Pour diminuer l'usage des produits chimiques comme anticoagulants, on a retourné vers la nature grâce à L'utilisation des plantes qui peuvent interagir de plusieurs manières avec l'hémostase ou modifier l'action des antithrombotiques, ou possède des propriétés fibrinolytiques inhibitrices de la thrombine (**Neu, 2011**).

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales d'origine algériennes et donc élargir leur utilisation, on a choisi dans cette étude une plante médicinale et aromatique d'origine algérienne, endémique du bassin méditerranéen, appartenant à la famille des Apiacées, c'est l'*Elaeoselinum asclepium* L.

Notre travail sera divisé en deux parties, une partie bibliographique et une autre expérimentale. La partie bibliographique regroupe trois chapitres, dont le premier chapitre parle de la famille des Apiacées, le genre *Elaeoselinum* ainsi que l'espèce étudiée, le deuxième chapitre traite des métabolites secondaires, alors que dans le troisième chapitre, on va parler des activités biologiques et précisément celle anticoagulante.

De plus, la partie expérimentale contient deux chapitres. Dans le premier chapitre, on va présenter tout le matériel et les méthodes utilisées pour réaliser ce travail, alors que le deuxième chapitre présente les différents résultats obtenus ainsi que leur discussion.

CHAPITRE I :
FAMILLE DES APIACEES

1. Généralités sur la famille des Apiacées

Les Apiacées anciennement appelées Ombellifères (reconnaisables par leur inflorescence en ombelle), sont déjà bien diversifiées, très nombreuses renferment environ 3000 - 3750 espèces et 300 - 455 genres (Tabanca *et al.*, 2006). Essentiellement, elle sont des plantes herbacées, annuelles, bisannuelles, ou le plus souvent vivaces. Se répartissent dans les régions tempérées surtout dans l'hémisphère Nord

C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (Deysson, 1979)

2. Classification des Apiacées

La position systématique de la famille selon la classification de Cronquist est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

3. Distribution de la famille des Apiacées à travers le monde

La famille des Apiacées est répartie sur la majeure partie du globe (Tab. 01; Fig. 01), et essentiellement dans les régions montagneuses tempérées et relativement rare en zone tropicale (Heywood *et al.*, 1996). Aussi, elle occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 55 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Quézel et Santa, 1963).

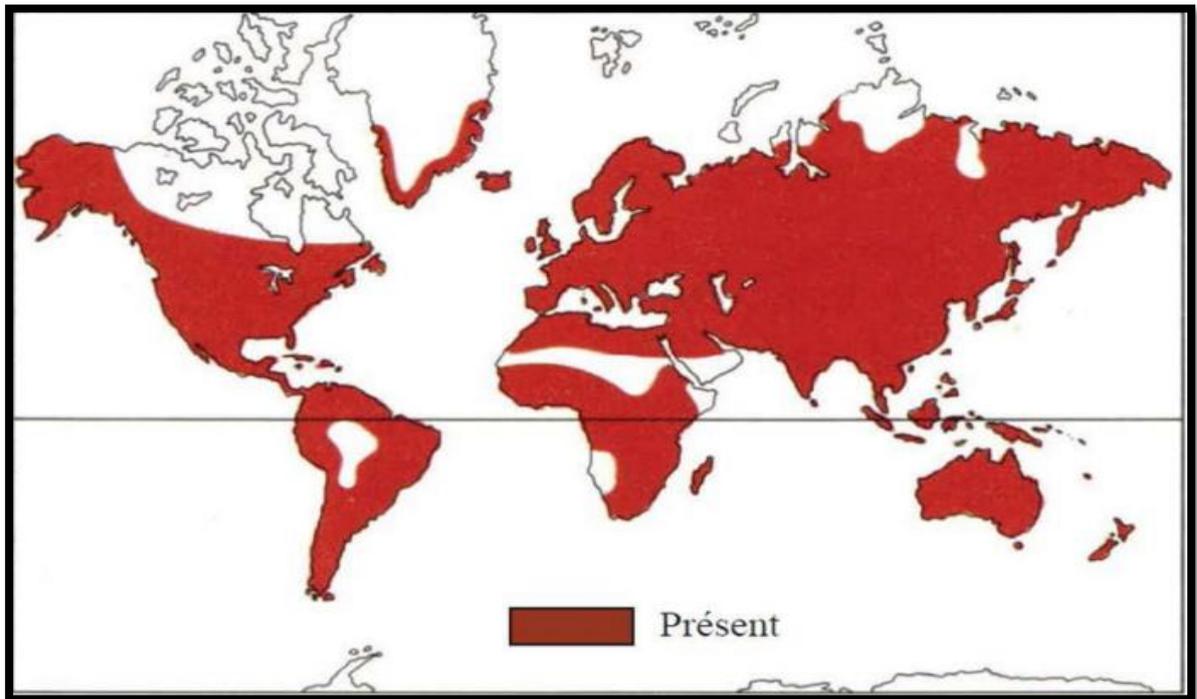


Figure 01: Répartition géographique mondiale des Apiacées
(Pimenov et Leonov, 1993).

Les genres se répartissent entre les divers continents, avec une prédominance pour le continent asiatique.

Tableau 01: Répartition mondiale des genres d'Apiacées (Pimenov et Leonov, 1993; Heywood *et al.*, 1996)

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

4. Botanique et propriétés des Apiacés

4.1. Appareil végétatif

Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces.

4.1.1. Appareil souterrain

Ce sont souvent des racines pivotantes, dures pouvant même se tubérisées (carotte) et ayant au collet une structure de tiges. Celle-ci, se prolonge en un pivot radiculaire portant des radicelles ou de petites racines secondaires (**Bach et al., 1979**).

4.1.2. Tige

Est ordinairement cannelée et creuse par résorption précoce de la moelle au cours de la croissance, elle est dite fistuleuse. Les tiges portent à l'extérieur des sillons dans le sens de la longueur (tiges cannelées) (**Bach et al., 1979**).

4.1.3. Feuilles

Les feuilles sont alternes sans stipules, pennées ou palmées et le plus souvent composées à folioles profondément découpées ou lobées, mais certaines espèces ont des feuilles entières (buplèvre par exemple), à nervation pennée à palmée. Les pétioles sont souvent élargis à leur base, engainant la tige (**Bach et al., 1979**).

4.2. Appareil reproducteur

4.2.1. Inflorescence

L'ombelle représente l'inflorescence typique des Apiacées, anciennement appelées pour cette raison Ombellifères. Les ombelles peuvent être simples, munies à leur base d'un verticille de bractées formant un involucre. Les ombelles peuvent également être composées d'ombellules, pourvues à leur base de bractéoles disposées en involucelle (**Bach et al., 1979**).

4.2.2. Ombelle

Est constituée par des pédicelles ou rayons insérés sur un même point de la tige. Les fleurs s'épanouissent toutes à un même niveau au bout de chaque pédicelle. Chaque rayon est en principe axiles par une bractée mais bien souvent seules les plus externes persistent

et forment l'involucre. Lorsque les pédicelles sont très courts, les fleurs deviennent sessiles. On obtient un capitule et on s'approche alors de la famille des Astéracées. L'ombelle composée est formée d'un groupement d'ombelles appelées alors ombellules. Chaque ombellule possède à sa base un involucelle.

L'ombelle peut être pourvue d'une fleur terminale au centre de l'inflorescence. Cette fleur diffère des autres par son pédoncule plus court, son organisation florale et sa couleur. Ainsi, la carotte (*Daucus carota* L.) possède une fleur centrale rouge-noir stérile.

L'ombelle est souvent polygame, les fleurs centrales sont bisexuées et les fleurs périphériques sont mâles. Par ailleurs, celles-ci sont mûres les premières et possèdent souvent une corolle plus développée et dissymétrique par suite d'un accroissement plus grand des pétales extérieurs. Les fleurs périphériques stériles servent d'organe d'attraction pour les insectes pollinisateurs tandis que les fleurs centrales sont réservées à la reproduction. L'ombelle entière tend à simuler une fleur unique (fig.02) (Bach *et al.*, 1979).

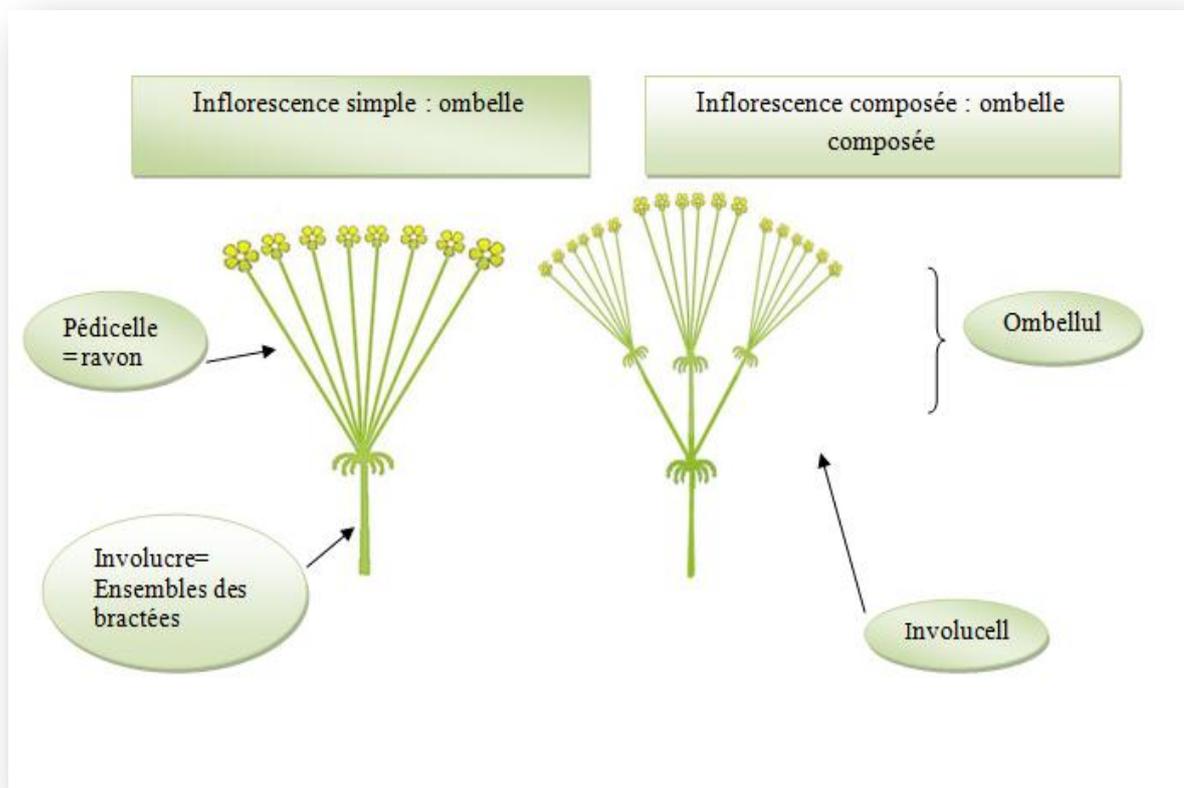


Figure 02: Inflorescence des Apiacées (Deysson, 1979).

4.2.3.Fleurs

Les fleurs sont généralement blanches et plus rarement jaunâtres, verdâtres ou rosées. Leur simplicité et leur régularité caractérisent les Apiacées. Aussi, elle a toujours la même formule florale: le calice est constitué de cinq sépales (5S), la corolle est constituée de cinq pétales libres (5P) de type actinomorphe. Androcée est composé de cinq étamines, gynécée ou pistil est composé de deux carpelles (2C) antéropostérieurs soudés à la coupe florale et formant un ovaire infère. Après la fécondation, l'ovaire infère devient un diakène ou double méricarpe (**Deysson, 1979**).

4.2.4. Ovaire

Ovaire infère à placentation généralement axile, styles plus ou moins renflés à la base, formant un organe nectarifère (le stylopode) au sommet de l'ovaire, stigmates généralement de 2 à 5, réduits, capités à tronqués ou allongés (**Bach et al., 1979**).

4.2.5.Ovule

Un ovule par loge, unité gumentés et ténuinucellés ou plus rarement crassinucellés (**Bach et al., 1979**).

4.2.6.Fruits

Après la fécondation, l'ovaire infère devient un diakène (double méricarpe indéhiscent) où la paroi du fruit est constituée par la base des verticilles floraux externes et par la paroi des carpelles. Les deux méricarpes, habituellement soudés et surmontés des restes du style se séparent bientôt de bas en haut d'une columelle centrale qui les maintient unis. Chaque méricarpe présente une face commissurale plane et une face dorsale, plus ou moins arrondie, qui porte cinq côtes longitudinales saillantes: une dorsale, deux latérales et deux marginales (ce sont les côtes primaires). Sur la face commissurale, chaque méricarpe possède deux nervures et deux faisceaux. Entre deux côtes primaires existe une dépression (vallécule) où l'on trouve une ou plusieurs poches sécrétrices allongées ou bandelettes qui sont propres à la paroi du fruit (fig.03) (**Bach et al., 1979**).

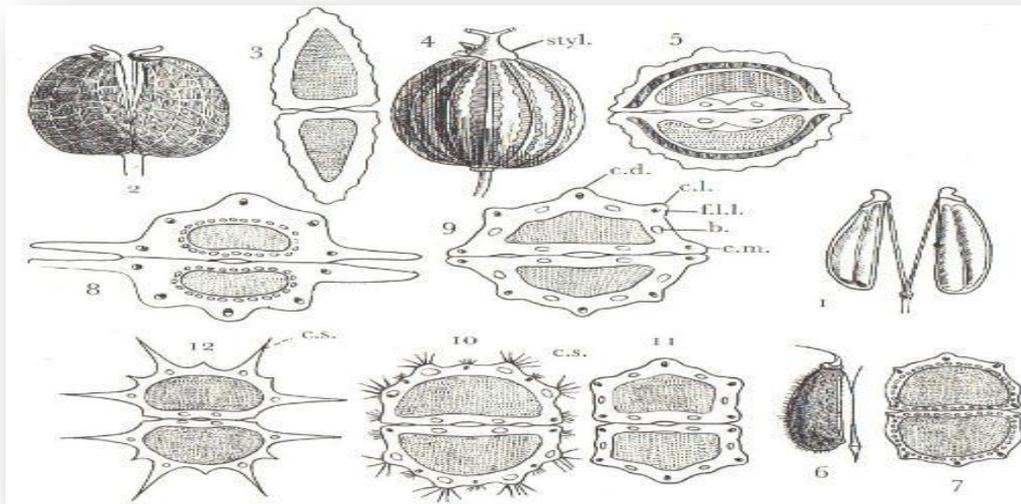


Figure 03 : Fruit d'Apiacées (Deysson, 1979).

1. Fruit montrant la séparation à maturité des deux méricarpes ; 2-3. *Hydrocotyle vulgaris*: fruit comprimé latéralement ; 4-5. *Coriandrum sativum*: fruit cylindrique avec arc scléreux dans le mésocarpe, sans canaux sécréteurs à maturité ; 6-7. *Pimpinella anisum*: fruit arrondi, à nombreuses bandelettes ; 8. *Angelica sylvestris*: fruit comprimé sur le dos, côtes marginales ailées, nombreuses bandelettes ; 9. *Foeniculum dulce*; 10. *Cuminum cyminum*: côtes secondaires garnies de poils ; 11. *Carum carvi* ; 12. *Daucus carota*: côtes secondaires très saillantes ; *styl.* Stylopode ; *c.d.*, côte dorsale ; *c.l.*, côte latérale ; *c.m.*, côte marginale ; *f.l.l.*, faisceau cribrovasculaire ; *b.*, bandelette ; *c.s.*, côte secondaire.

5. Importance économique des Apiacées

Les Apiacées sont plus souvent des plantes aromatiques. Elles sécrètent des huiles essentielles qui leurs confèrent des odeurs et des saveurs caractéristique, ce qui explique leur emploi à la fois comme aliments et condiments, et comme traitement en médecine traditionnelle. Cette famille renferme de nombreuses plantes alimentaires et aromatiques: *Anethum graveolens* L. (l'aneth), *Apium graveolens* L. (le céleri), *Carum carvi* L. (le carvi), *Coriandrum sativum* (le coriandre), *Cuminum cyminum* (le cumin), *Daucus carota* (la carotte), *Foeniculum vulgare* (le fenouil), *Pastinaca sativa* L. (le panais), *Petroselinum crispum* (le persil) et *Pimpinella anisum* L. (l'anis) (Spichiger, 2004)

D'autres Apiacées sont utilisées comme additifs naturels dans l'industrie alimentaire, certaines espèces sont comestibles, telles que: *Daucus carota* (carotte), *Pastinaca sativa* (panais), *Foeniculum vulgare*, etc (Bender, 2010)

Certaines espèces sont utilisées comme condiments ou épices, comme *Carum carvi* (cumin), *Anetum graveolens* (aneth), *Pimpinella anisum* (anis) *Petroselinum sativum* (persil), *Foeniculum vulgare* (fenouil) et *Coriandrum sativum* (coriandre). D'autres sont utilisées comme arômes pour les boissons, tel que d'*Angelica archangelica* (angélique), *Laserpitium gallicum* et plusieurs espèces d'*Heracleum*. Certains genres sont cependant très toxiques, comme *Conium* (la grande ciguë, dont on dit qu'elle a été utilisée pour le suicide de Socrate), et *Cicuta* (la ciguë vireuse) (Doneanu, 2010).

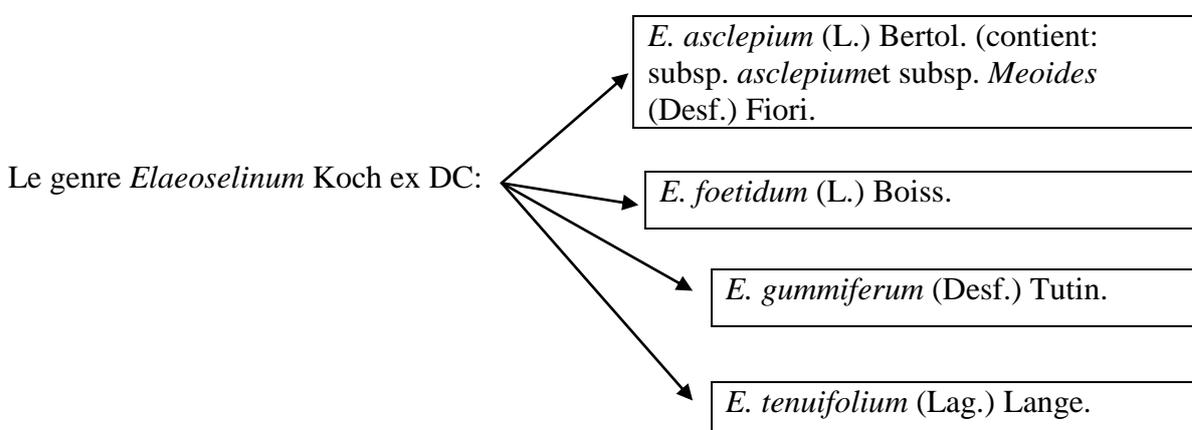
D'autres Apiacées ont fait l'objet d'étude pour leurs diverses activités biologique notamment l'évaluation de l'activités antioxydant, antimicrobienne, anticoagulante des extrait végétaux (Tirapelli et al., 2007).

6. Genre *Elaeoselinum* Koch ex DC

6.1. Généralités

Le genre *Elaeoselinum* (en grec: persil à huile) appartient à la famille des Apiacées, dont les principales caractéristiques sont le mode d'inflorescence en ombelles et la présence d'un appareil sécréteur interne. Cette tribu est considérée comme typique de l'ancien monde et comprend les genres *Laserpitium*, *Siler*, *Melanoselinum*, *Guillonea*, *Rouya*, *Polylophium*, *Thapsia* et *Elaeoselinum* (Heywood, 1971; Pimenov et Leonov, 1993; Bader et al., 2010).

Selon Tutin et al ,(1968), le genre *Elaeoselinum* Koch ex DC. Est représenté dans la flore européenne par quatre espèces:



6.2. Caractéristiques botaniques

6.2.1. Appareil végétatif

Les espèces du genre *Elaeoselinum* sont des plantes vivaces. Les parties aériennes annuelles sont constituées des tiges de 30-100cm, rameuses, dressées, cylindriques et ramifiées.

Les feuilles sont radicales, devenant caulinaires à la floraison, axillant les ramifications. Les feuilles radicales et caulinaires sont semblables, pennatipartites à pennatiséquées, à limbe très finement découpé (Djarri, 2011)

6.2.2. Appareil florale

La hampe florale porte des ramifications alternes, rarement opposées, qui forment un corymbe d'ombelles composées à involucre rares et variables.

Les fleurs sont jaune, les sépales sont légèrement marqués, subulées et persistante en fructification. Les pétales sont entiers avec un lobe fléchi. Leur disposition est en ombelles de l'ordre de deux avec un long pédoncule, légèrement rainurée, section glabre et circulaire. Le centre contient une ombelle bisexuelle, tandis que les côtés ont indistinctement des fleurs bisexuelles ou masculines. Les ombelles latérales sont généralement plus petits que la centrale, apparaissant au nombre de 1 à 3 (García et Silvestre, 1985).

7. Espèce *Elaeoselinum asclepium*

7.1. Description de l'espèce *Elaeoselinum asclepium*

Nommée aussi *Thapsia asclepium*(L.) et *Laserpitium asclepium* L. (Garcia Martin et Silvestre, 1985). C'est une plante herbacée, vivace dont les bourgeons à la période de repos sont enfouis dans le sol et la souche fistuleuse. La tige est mince mais solide, rameuse dressée, ramifiée dans sa moitié supérieur, cylindrique et peut atteindre 100cm. Leurs feuilles ont des pétioles hispides, avec des divisions filiformes frisées qui s'écartent en tous sens (Quézel et Santa, 1963).

Les ombellules ont des pédicelles plus courts que les fruits, le méricarpe à ailes larges tronquées au sommet ne dépassant pas le stylopede et les pétales de couleur jaune (Quézel et Santa, 1963).

7.2. Systématique et nomenclature

Elaeoselinum asclepium appartient au:

Règne : Végétal

Division: Spermatophyte

Sous-division: Magnoliophyte (Angiosperme)

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Apiales

Famille: Apiaceae

Genre: *Elaeoselinum*

Espèce: *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol.

7.3. Habitat et Répartition géographique

E. asclepium pousse dans le maquis fortement dégradé sur les régosols et pitons calcaires jusqu'à une altitude de 800m, est très commun dans les montages du Tell algérien et rare à l'intérieur (**Quézel et Santa,1963**).

Dans le monde, les espèces du genre *Elaeoselinum* sont, presque, toutes méditerranéennes, avec une extension et une diversité plus poussée en méditerranée occidentale (Péninsule ibérique, Ibiza, Sardaigne, Sicile, le sud de l'Italie, la Grèce et les îles adjacentes, le Maroc, l'Algérie et la Tunisie) (**Garcia et Silvestre, 1985**).

CHAPITRE II :
METABOLITES SECONDAIRES

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de divers principes actifs. Ce processus métabolique est lié mêmes aux conditions de vie de la plante, où elle doit faire face aux multiples agressions environnementales dans lesquelles elle vit: prédateurs, microorganismes pathogènes,... etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier qui lui permet de synthétiser des diverses substances pour se défendre. Ces dernières prennent la nomenclature de métabolites secondaires (**Kansole, 2009**)

1. Définition

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme des composés chimiques dans les plantes, qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimique de la croissance et de la reproduction des plantes. D'ailleurs, ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, la concurrence entre les plantes et le stress abiotique comme la dessiccation et les radiations UV. Les métabolites secondaires végétaux dépassent actuellement 100 000 substances identifiées et appartiennent à trois classes chimiques principales: les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques (**Laraba et al., 2016**)

2. Classification des métabolites secondaires

2.1. Terpénoïdes

Sont des constituants habituels des cellules végétales (**Adouane, 2016**), forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes et en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine (**Kahlouche, 2014**).

Chez les végétaux, les terpénoïdes sont produits par tous les tissus végétatifs dont les racines et par les diverses pièces florales (**Dudareva et al., 2004**). Ce sont des substances du métabolisme secondaire qui dérivent des isoprénoïdes, dont certains interviennent dans la photosynthèse, ainsi que plusieurs hormones végétales qui ont une structure terpénique. La synthèse des terpènes est généralement associée à la présence de structures

histologiques spécialisées, localisées en certains points d'autres tissus, et le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (Hopkins, 2003).

Les composés terpéniques possèdent des propriétés pharmacodynamiques très variées, en relation avec les différentes fonctions liées au squelette terpénique (Zakkad, 2017). Sa formule générale (C_5H_8) (fig.04) (Seenivasan, 2006).

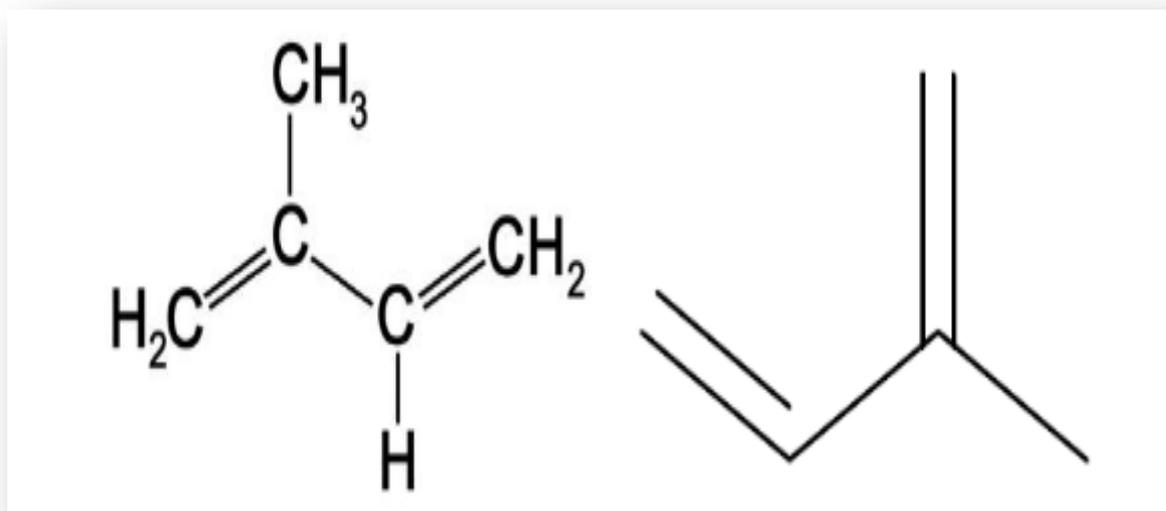


Figure 04: Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia *et al.*, 2007)

2.2. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturel (plus souvent végétale), azoté plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué avec une faible dose. L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Merghem, 2009).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance: jeunes feuilles et jeunes racines. Ensuite, ils gagnent des lieux différents et lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, et se trouvent concentrées dans les vacuoles (Krief, 2003).

Les alcaloïdes constituent une classe de produits naturels présentant une grande diversité structurale. Leurs propriétés biologiques, aussi variées que leurs structures, continuent à être bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des

dysfonctionnements de l'organisme humain. Les pyrrolizidines et les tropanes sont les plus importants. Les pyrrolizidines, très répandues dans la nature, sont présents dans les plantes qui font partie des familles botaniques Asteracea, Boraginaceae, Fabaceae et Orchidaceae (**Mohammedi, 2013**)

La plupart des alcaloïdes sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'aspartate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées aux autres squelettes carbonés (fig.05) (**Cyril, 2001**).

Les alcaloïdes sont utilisées dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline, norepinephrine , acideγaminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (**Badiaga, 2011**)

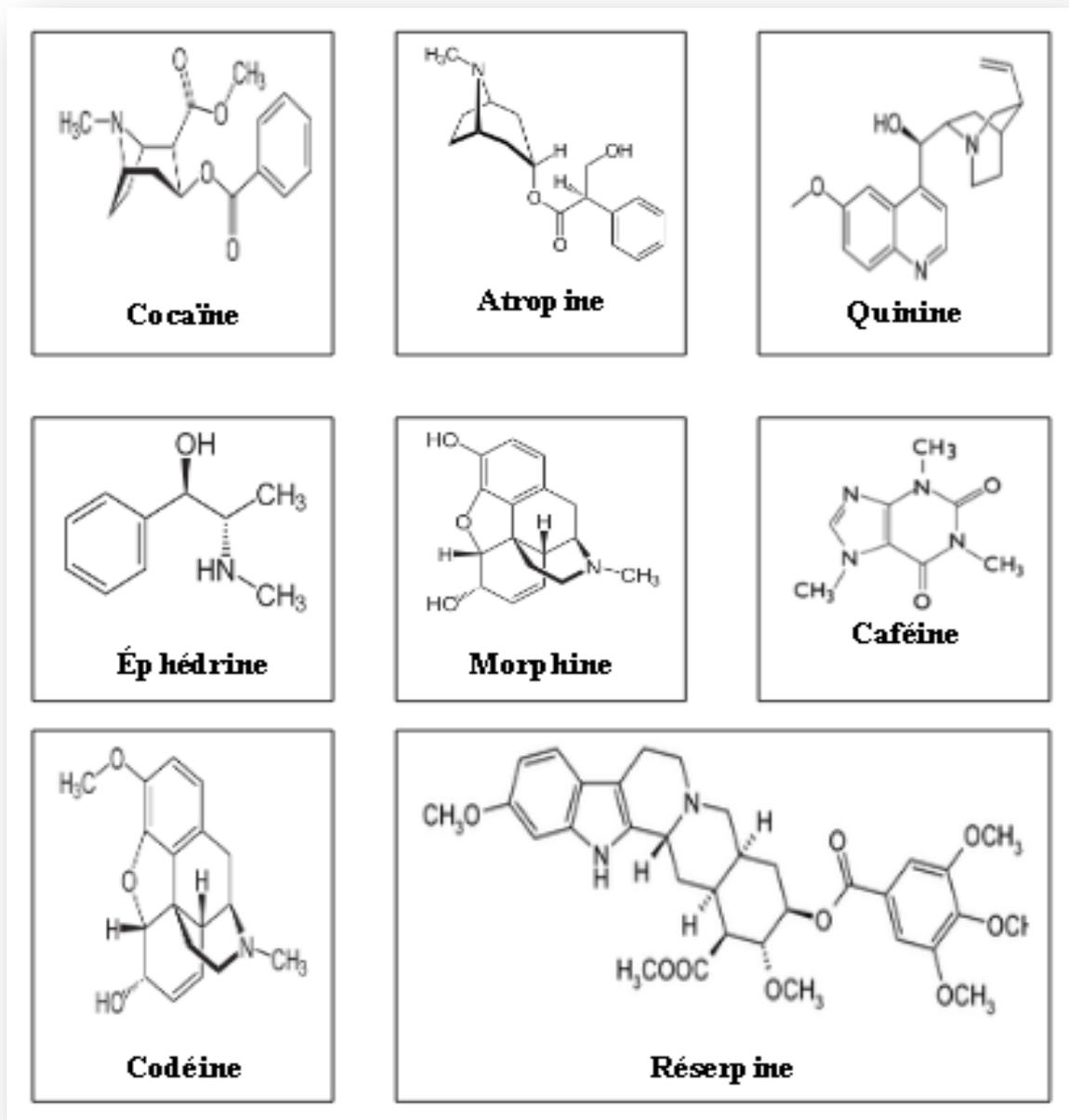


Figure 05: Structure de quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011)

2.3. Polyphénols

Les polyphénols sont un groupe important de composés produits par de nombreuses plantes (Bakhouche et al., 2013). Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les rayons UV, les agents pathogènes et les herbivores (Alvarez-Jubete et al., 2010).

La qualité et la quantité des polyphénols dans les plantes peuvent varier considérablement en fonction de différents facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le

génotype des plantes, la composition du sol, le degré de maturité et l'état des cultures (Faller et Fialho, 2010).

Aussi, ils comprennent une grande variété de molécules avec plusieurs groupements hydroxyles sur leurs cycles aromatiques. Ils comportent également des molécules avec un seul cycle phénolique, tels que les acides phénoliques et les alcools phénoliques. Ils sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et les fonctions chimiques liées à ces cycles à savoir: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (Luthria et al., 2006).

2.3.1. Acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, en phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Belyagoubi, 2011). Les composés phénoliques sont dérivés de deux sous-groupes distingués: les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique, ainsi que les acides hydroxybenzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique, qui se trouvent dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, et présents chez toutes les céréales (fig.06) (Barboni, 2006).

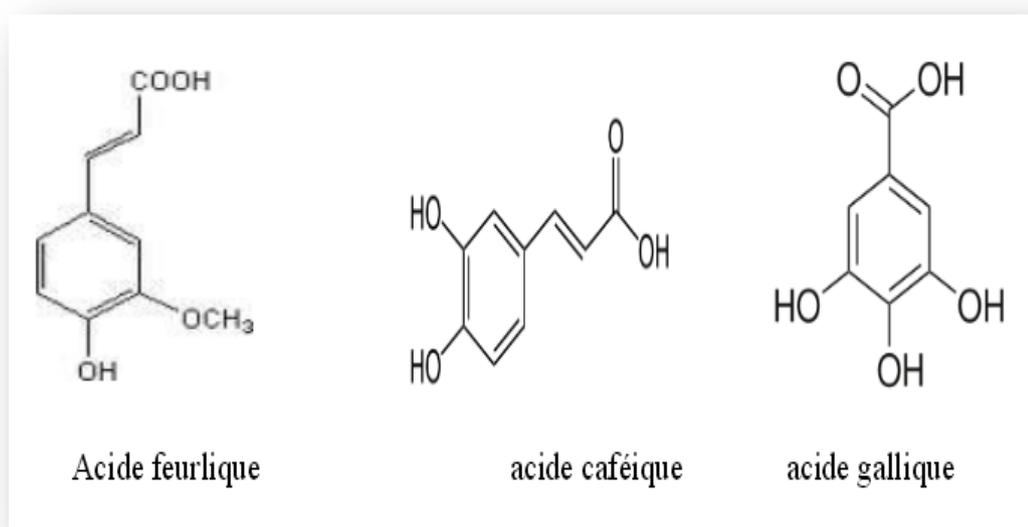


Figure06: Quelques acides phénoliques (Ribereau, 1968).

2.3.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes signifie jaune en latin (**Ribereau, 1968**). Les composés flavonoïques sont des pigments végétaux responsables de la coloration des fleurs et fruits et parfois des feuilles. Aussi, ils se localisent dans divers organes des plantes (**Bruneton, 1999**), et jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes. Ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer (**Ebadi, 2001 ; Ghedira, 2005**).

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C₆, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C₆-C₃-C₆). Ce dernier est situé entre les cycles A et B et est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (**Bruneton, 1999**).

les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones, isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols, flavanones, isoflavanones et aurones (**Medicet al., 2004**)

La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C) (**Dacosta, 2003**).

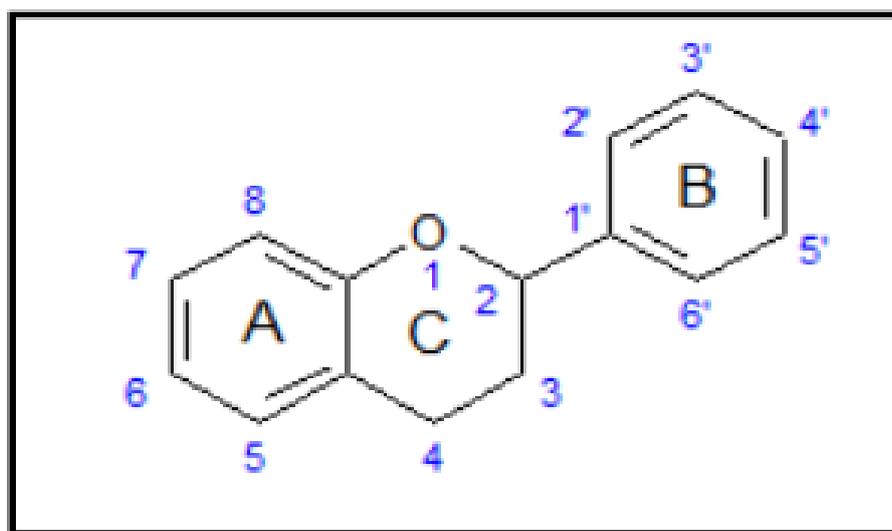


Figure 07: Structure de base des flavonoïdes (**Dacosta, 2003**).

2.3.3. Coumarines

Les coumarines sont des molécules hétérocycles, oxygénées et largement répandues dans le monde végétal (Casley *et al.*, 1993). Généralement, elles constituent une classe importante des produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. À l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien, les familles végétales les plus riches en coumarines sont les : Légumineuses, Rutacées, Apiacées et Thymelacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment les fruits et les huiles essentielles des graines (Deina *et al.*, 2003; Booth *et al.*, 2004). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (fig.08) (Ford *et al.*, 2001).

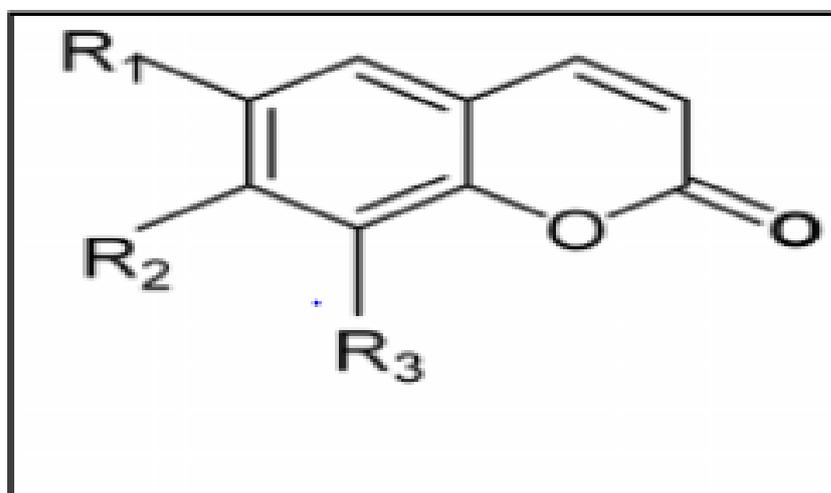


Figure08: Structure d'une molécule coumarine (Ford *et al.*, 2001).

2.3.4. Tanins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir (Hopkins, 2003). En effet, ce sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreuses parties des végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). De même, ils sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes (Pousset, 1989), solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence (Peronny, 2005). Leur structure est complexe, formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation (Ghestem, 2001).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins, basés sur des différences structurales: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables ou tanins condensés (Fig. 09) (Ghestem, 2001).

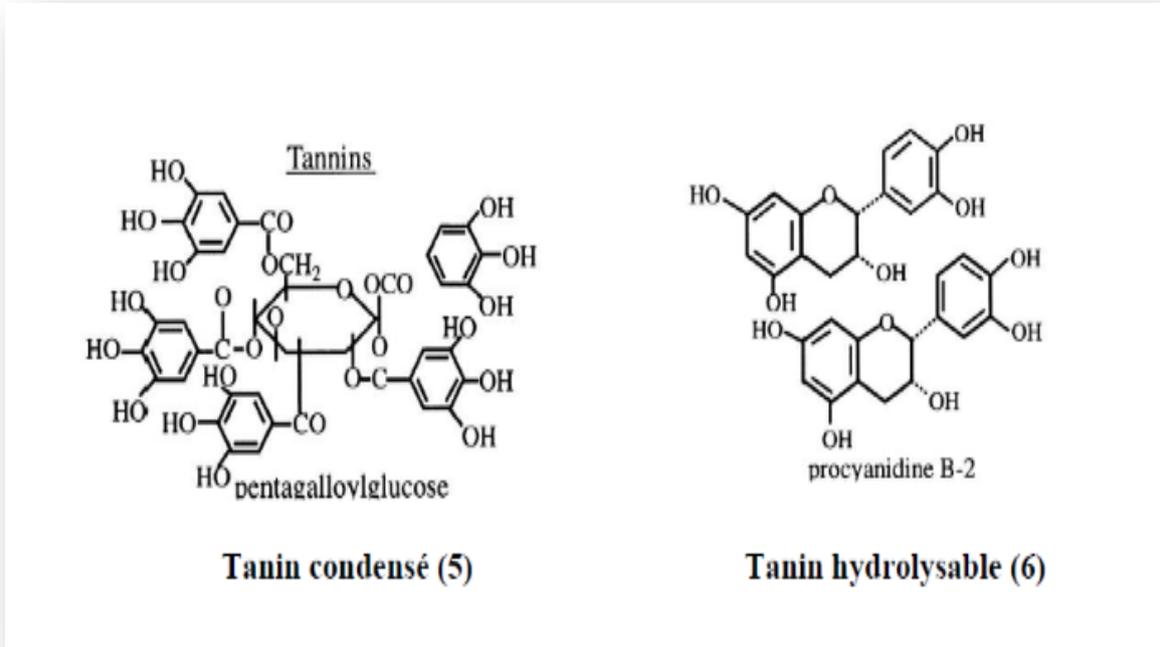


Figure09: Structure des deux types de tanins (Ghestem, 2001).

CHAPITRE III :
ACTIVITE ANTICOAGULANTE

1. Notion de l'hémostase

L'hémostase concerne l'ensemble des phénomènes qui contribuent à l'arrêt du saignement (lutte contre l'hémorragie) et ceux qui maintiennent le sang à l'état fluide dans les vaisseaux (lutte contre la thrombose). Elle résulte de trois processus complémentaires : L'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse (**Harif, 2007**).

- L'hémostase primaire : ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" (clou plaquettaire);
- La coagulation : qui consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge) ;
- La fibrinolyse : permet la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension. Ces trois étapes sont initiées simultanément dès que le processus d'hémostase est enclenché (**Schved, 2007**).

2. Plaquettes sanguines

Les plaquettes sanguines sont de petites cellules sans noyau, formées dans la moelle osseuse, circulent dans le sang avec les globules rouges et blancs, et elles ont un rôle essentiel dans la coagulation du sang. Leur membrane plasmique est composée d'une double couche de phospholipides (PL) répartis de façon asymétrique. La membrane plaquettaire est riche en acide arachidonique et comprend des glycoprotéines (GP) dont les principales sont la GPIIbIIIa et la GP Ib ainsi que des récepteurs divers, dont le plus important est le récepteur à la thrombine (**Schved, 2007**).

Le cytoplasme des plaquettes comporte deux réseaux de canaux:

- ✓ le système canaliculaire ouvert qui fait de profondes invaginations de la membrane plaquettaire, permettant ainsi une communication rapide entre des éléments extracellulaires et l'intérieur des plaquettes ;
- ✓ le système tubulaire dense qui représente le lieu de stockage du calcium

De même, on y trouve des granulations de trois types: granules denses comme l'ATP, l'ADP, la sérotonine et le calcium, granules alpha (α) tel que le facteur 4 plaquettaire, le β -thromboglobuline, le facteur Willebrand et de très nombreuses autres substances, ainsi que les grains lysosomiaux comme les hydrolases et les phosphatases. Ces produits stockés

pourront être libérés rapidement en grande concentration là où se déroule le processus d'hémostase (Moerloose et Boehlen, 2005).

3. Coagulation du sang

3.1. Définition

La coagulation est une réaction normale de l'organisme dont le but est la formation d'un caillot qui sert à stopper une hémorragie à la suite d'une brèche dans un vaisseau sanguin. Pour cette raison, il est considéré comme un phénomène essentiel dans la protection du système vasculaire car il est lié à la transformation de fibrinogène en fibrine. Cette transformation a lieu après une série de réactions enzymatiques faisant intervenir de nombreux facteurs tant plasmatiques que plaquettaires (Ekoumou, 2003).

3.2. Facteurs de coagulation

Les facteurs de la coagulation, synthétisés pour la plupart par le foie, sont divisés :

- En précurseurs (pro-enzymes ou zymogènes) de sérine-protéases représentés par prothrombine (F II), proconvertine (FVII), anti-hémoph B (F IX), Stuart (FX), Rosenthal (F XI), Hageman (FXII).
- En cofacteurs représentés par proaccéléline (FV), anti-hémoph A (FVIII) et en fibrinogène qui est le substrat (FI). La vitamine K intervient au stade terminal de la synthèse de 4 facteurs de la coagulation (F II, VII, IX, X appelés facteurs vitamine K dépendants) en leur faisant acquérir la capacité de se complexer avec le calcium et les phospholipides. En l'absence de vitamine K, le foie libère des facteurs de la coagulation anormaux non fonctionnels appelés PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence) (Moerloose et Boehlen, 2005).

Pour que l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation se déroule normalement, la présence de phospholipides et de calcium est nécessaire. Les phospholipides proviennent de deux sources principales, les plaquettes et les tissus (thromboplastine tissulaire). Le calcium est nécessaire à la plupart des étapes d'activation enzymatique de la coagulation (Schved, 2007).

A côté de ces facteurs, ils existent des systèmes inhibiteurs : système des anti-thrombines, système protéine C- protéine S, inhibiteur de la voie extrinsèque (TFPI

pour Tissue Factor Pathway inhibitor). Ils sont prédominants dans le plasma et régulent en permanence le processus d'hémostase (Schved, 2007). Le Facteur von Willebrand (VWF) joue également un rôle dans la coagulation, il circule lié au facteur antihémophilique A qu'il protège contre la protéolyse. Ainsi, une diminution importante du facteur Willebrand entraînera une diminution du FVIII (Schved, 2007)

Tableau 02: Facteurs de la coagulation plasmatique (Boisseau, 1996).

N° de facteurs	Nom de facteurs	Rôle	Lieu de synthèse
I	Fibrinogène	Substrat	Foie
II	Prothrombine	Zymogène	Foie
III	Facteur tissulaire	Cofacteur	Sous-Endothélium Cellules sanguines
V	Proéaccéléline	Cofacteur	Foie
VII	Proconvertine	Zymogène	Foie
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	Foie
IX	Facteur antihémophilique B	Zymogène	Foie
X	Facteur Stuart	Zymogène	Foie
XI	Facteur de Rosenthal	Zymogène	Foie
XII	Facteur de Hageman	Zymogène	Foie

3.3. Voies de coagulation

3.3.1. Voie endogène ou intrinsèque

Dans cette voie de coagulation, tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur.

D'abord, elle est déclenchée par l'activation du facteur XII par son contact aux structures électronégatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycanes) (Vogler *et al.*, 2009). Cette activation conduit par la suite à l'activation de pré-kallikréine en kallikréine qui à son tour peut activer le facteur XII. Après, ce dernier activé catalyse la transformation de la forme zymogène du facteur XI à la forme protéolytique activée qui active par la suite le facteur IX (Vogler *et al.*, 2009). Puis, ce facteur se lie à la surface de phospholipides anioniques des plaquettes (PS) par l'intermédiaire des ions calcium et forme, en présence de son co-facteur, le facteur VIII, le complexe tenase qui est responsable de l'activation du facteur X (le facteur Stuart). Ce dernier forme avec son cofacteur, le facteur V (proaccélérine), les phospholipides plaquettaires et par l'intermédiaire aussi des ions de calcium le complexe prothrombinase qui catalyse la transformation de prothrombine (facteur II) en thrombine (Ajjan et Grant, 2006).

3.3.2. Voie exogène ou extrinsèque

La voie exogène est la voie la plus simple et la plus rapide que la voie endogène, car elle fait intervenir un nombre limité de facteurs (Caen *et al.*, 1975). Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sous-endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (pro-convertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquent de prothrombine en thrombine (Colvin, 2004).

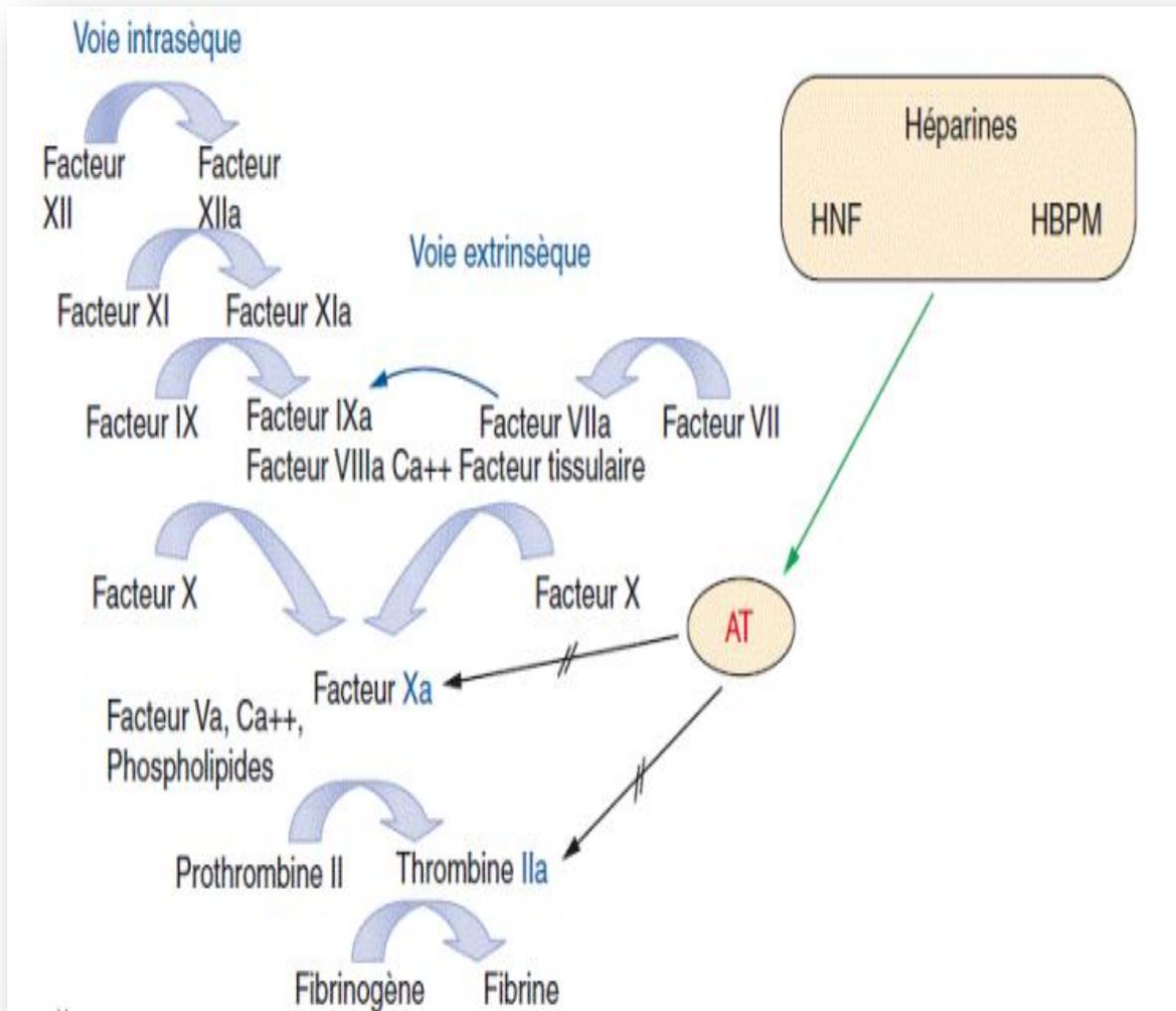


Figure 10: Cibles principale de la cascade de coagulation (Elalamy, 2012).

4. Anticoagulants

Les anticoagulants représentent le traitement principal de la maladie veineuse thrombo-embolique. En effet, de nombreux anticoagulants agissant à différents niveaux de la cascade de la coagulation sont utilisés et ils sont regroupés en trois classes, deux classes sont des anticoagulants classiques (les héparines et les anti vitamines K) et la classe des nouveaux anticoagulants (Batty et Smith, 2010).

4.1. Les héparines

Il existe deux types des héparines utilisables et administrées par voie intraveineuse ou sous cutanée, l'héparine non fractionnée (HNF) et les héparines de bas poids moléculaire (HBMP) (Battyet Smith, 2010). L'héparine non fractionnée est composée d'un mélange

hétérogène de chaînes polysaccharidiques sulfatées de taille et de structures différentes extraites de la muqueuse intestinale de porc. Le poids moléculaire varie de 5000 à 35000 daltons alors que les héparines de bas poids moléculaire sont issues de la dépolymérisation des chaînes polysaccharidiques de l'HNF par des procédés chimiques ou enzymatiques dont leurs poids moléculaire varient de 3000 à 5000 daltons. L'HNF et les HBPM forment un complexe avec l'anticoagulant physiologique l'antithrombine III potentialisant son effet sur l'inactivation de divers facteurs de coagulation. Le complexe HNF-antithrombine III inactive le plus notamment les facteurs Xa et la thrombine (facteur IIa), mais à un moindre degré les facteurs IXa, XIa et XIIa, alors que le complexe HBPM-antithrombine III inhibe particulièrement le facteur Xa et à moindre degré la thrombine (**Batty et Smith, 2010**).

4.2. Les anti vitamines K

La vitamine K est un élément nécessaire dans la synthèse au niveau du foie de quatre facteurs de la coagulation, la prothrombine II, la proconvertine VII, le facteur stuart X, et le facteur antihémophilique B (le facteur IX). Elle intervient dans la carboxylation des molécules d'acide glutamique de l'extrémité -N- terminale de la chaîne glycoprotéinique de chacun de ces facteurs. Cette carboxylation est nécessaire pour l'activité biologique et la fixation de ces facteurs sur les surfaces phospholipidiques plaquettaires. (**Vidal, 2009**).

4.3. Les nouveaux anticoagulants

Des nouveaux anticoagulants sont actuellement utilisés à côté des anticoagulants classiques. Ils sont subdivisés selon leur mode d'action en deux catégories: les inhibiteurs indirects et les inhibiteurs directs. (**Girardel et Samama, 2006**).

Les inhibiteurs indirects agissent en potentialisant l'activité de l'antithrombine III, et parmi lesquelles la fondaparinux et l'idraparinux qui sont des inhibiteurs synthétiques indirects et sélectifs du facteur Xa et ils sont constitués de 5 unités saccharides capables de modifier la conformation en augmentant l'activité inhibitrice naturelle de l'antithrombine III sur le facteur Xa (**Girardel et Samama, 2006**).

Les inhibiteurs directs agissent directement sur le facteur Xa ou la thrombine, et parmi lesquelles le DX-9065a, l'hirudin, l'argatroban,...etc. Le DX-9065a est un dérivé synthétique de l'acide propanoïque qui inhibe directement le facteur Xa libre et le facteur Xa lié dans le complexe prothrombinase (**Girardel et Samama, 2006**) alors que l'hirudin

est un peptide de 65 acides aminés, extrait de la glande salivaire d'une espèce de ver (*Hirudomedicinalis*) et il inhibe directement et de façon irréversible la thrombine. L'argatrobane est un dérivé synthétique d'acide carboxylique qui inhibe directement la thrombine (**Samama *et al.*, 2002**).

La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène (FI) en monomères de fibrine qui s'associent les unes aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIIIa (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine (**Ajjan et Grant, 2006**).

CHAPITRE IV :

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

1. Matériel végétal

L'expérimentation a été réalisée au niveau des laboratoires du Centre Universitaire de Mila. Le matériel végétal utilisé (les graines des ombelles de l'espèce *Elaeoselinum asclepium* L.) à été récolté le mois de Juin durant la période de maturation dans la région de Felfla Wilaya de Skikda.



Figure11: Ombelle de l'espèce *E.asclepium*(L.)

2. Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé dans cette étude ainsi que les réactifs et les produits sont regroupés dans le tableau ci-dessus (Tab.03).

Tableau03: Le matériel et produit utilisé

Produits et réactifs chimique	Appareillages, verreries
Eau distillée – Butanol- Hexane – Méthanol – Chloroforme – Ethanol – Acide gallique Folin-Ciocalteu–Carbonate de sodium (Na_2CO_3) –Quercetine–Trichlorure d'aluminium AlCl_3 - plasma	Etuve – Spectromètre – Plaque agitatrice Vortex – Balance de précision – Micropipette – Mortier – Entonnoir – Portoir – Boite de Petrie – Flacons en verre – Eppendorf – Papier Wathman – Eprouvette.

II. Méthodes

1. Préparation de matériel végétal

Les graines de l'espèce ont été nettoyées et broyées à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre dont la taille est un peu grosse (concassé), le poids des graines broyées est égal à 40g.

**Figure12:** Broyage des graines des ombelles d' *E.asclepium*(L.)

2. Préparation des extraits

La macération est la méthode utilisée pour l'extraction des molécules bioactives. Cette méthode consiste à laisser le matériel végétal en contact direct avec un solvant pendant 24 heures à une température ambiante (température de laboratoire).

2.1. Principe

Les métabolites secondaires contiennent une large gamme des molécules végétales, dont leur nature chimique est extrêmement variable d'une espèce à une autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour leur caractérisation.

2.2. Objectif

La méthode a pour but d'extraire le maximum des molécules chimiques contenant dans les graines de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

2.3. Protocole de la macération Méthanolique

Dans un bécher, 15g des graines broyées sont macérées avec le méthanol 70% sous agitation manuel. Ensuite, le mélange est mis dans une armoire pendant 24 heures, puis il est filtré à l'aide d'un papier filtre. Cette méthode est répétée 3 fois et le filtrat obtenu, à chaque fois, est conservé dans un flacon en verre sombre et stocké à l'abri de la lumière.

Après que la macération soit terminée (3 fois), le filtrat récupéré est réparti dans des boîtes de Pétri pour le séchage qui a pris une semaine. L'extrait obtenu est rassemblé avec une spatule, puis pesé et mis dans un petit flacon fermé en verre et stocké dans un réfrigérateur pour une future utilisation.

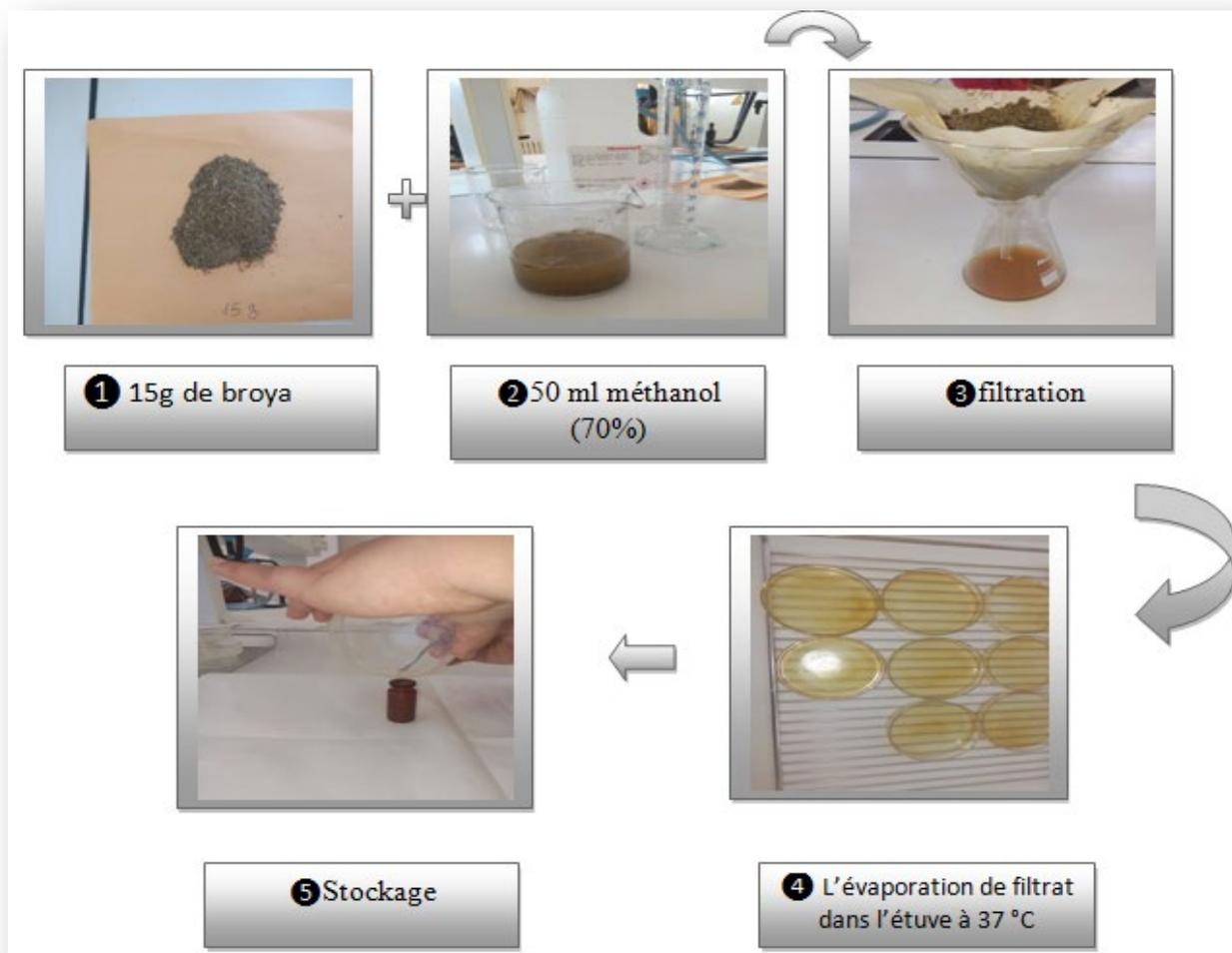


Figure 13 : Les étapes de la macération méthanolique.

2.4. Préparation des fractions Hexane, Chloroforme, Ethyle acétate, n-Butanol et aqueuse

La méthode utilisée pour l'extraction est la même utilisée pour obtenir l'extrait méthanolique avec quelque modification. Les solvants sont classés selon leur polarité, du moins polaire (Hexane) jusqu'à le plus polaire (Aqueux)

D'abord, 25g de broya ont été macérés dans 100ml de l'hexane brute (100%) sous agitation manuel, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre après 24 heures de macération (3 répétitions). L'extrait sec obtenu est séché à l'étuve (37°C) et conservé dans des petits flacons fermés et stocké à une température basse pour une futur utilisation.

Après la filtration, le résidu obtenu est macéré une deuxième fois avec un volume de 100ml de chloroforme (3 répétitions). Le résidu obtenu après filtration est macéré une

troisième fois avec 100ml d'éthyle acétate (3 répétitions). Aussi, le résidu obtenu après filtration est mélangé avec 100ml de n-butanol dont l'opération est répétée trois fois. L'extraction aqueuse a été la dernière étape où le résidu de l'extraction précédente est ajouté à 100ml de l'eau distillée (3 répétitions). Tous les extraits sont séchés à l'étuve et conservés à une basse température pour utilisation ultérieure.

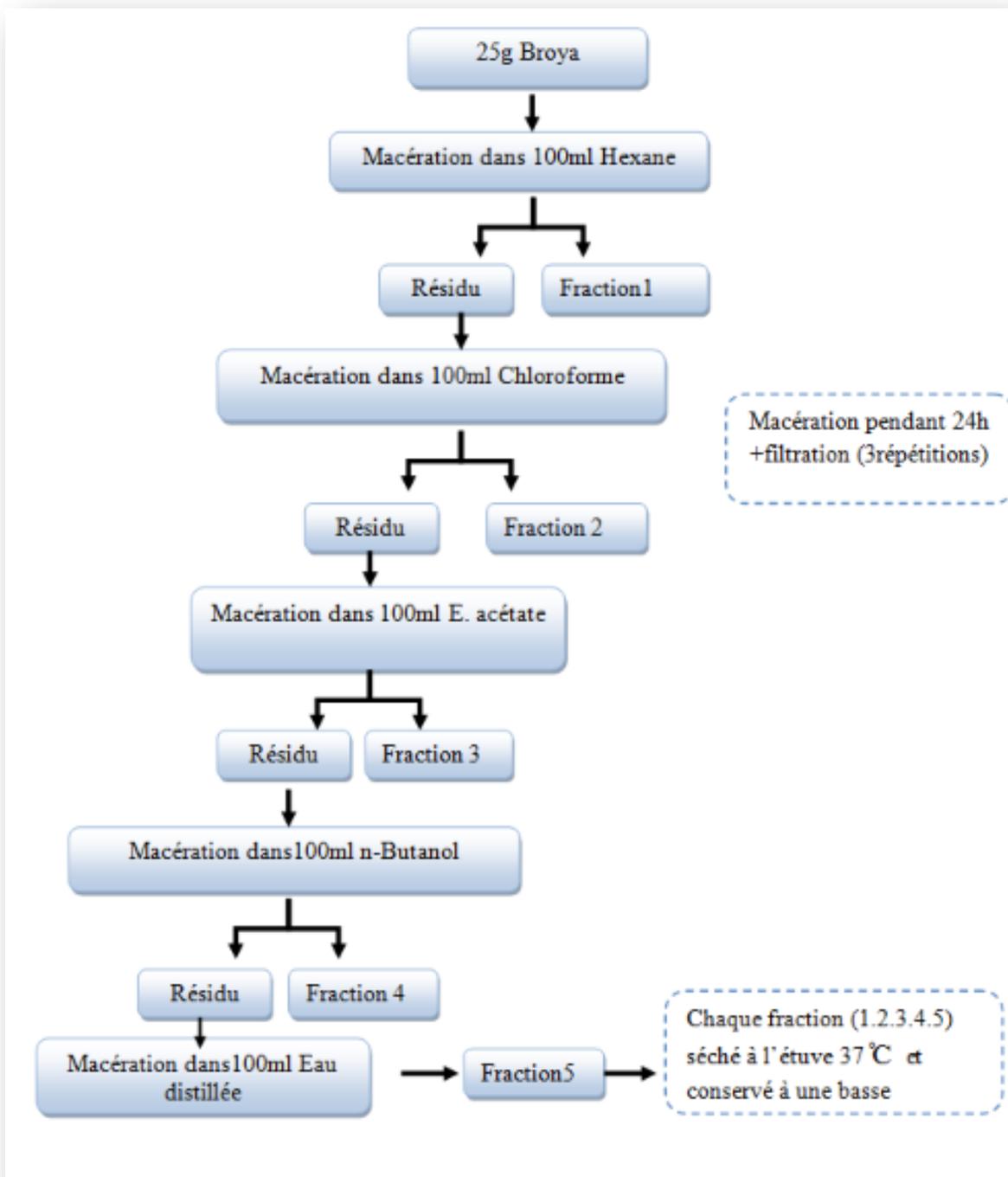


Figure 14: Protocol de la préparation des extraits (Gordana *et al.*, 2007)

2.5. Calcul du rendement

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante:

$$R \% = (Me/Mv) \times 100$$

R %: Rendement en %.

M: Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

M: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

3. Dosage des phénols totaux

3.1. Principe du dosage

Le test est adapté par Singleton et Ross (en 1965) qui ont utilisé le réactif de Folin-Ciocalteu pour réaliser le dosage (Giner, 1996). Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité des poly phénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau, 1968).

3.2. Protocole du dosage

Le dosage des phénols totaux a été effectué en utilisant la méthode de Li *et al.*, (2007). 500 µl de l'extrait végétale à différentes concentrations (20, 30, 40, 50, 60 et 70 µg/ml) est mélangé avec 2,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu à 10%. Après 10 minutes d'incubation, 2 ml de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% est ajouté au mélange. L'absorbance est mesurée à 760 nm après 2 heures d'incubation à l'obscurité. Le test est répété trois fois, et l'acide gallique a été utilisé comme standard.

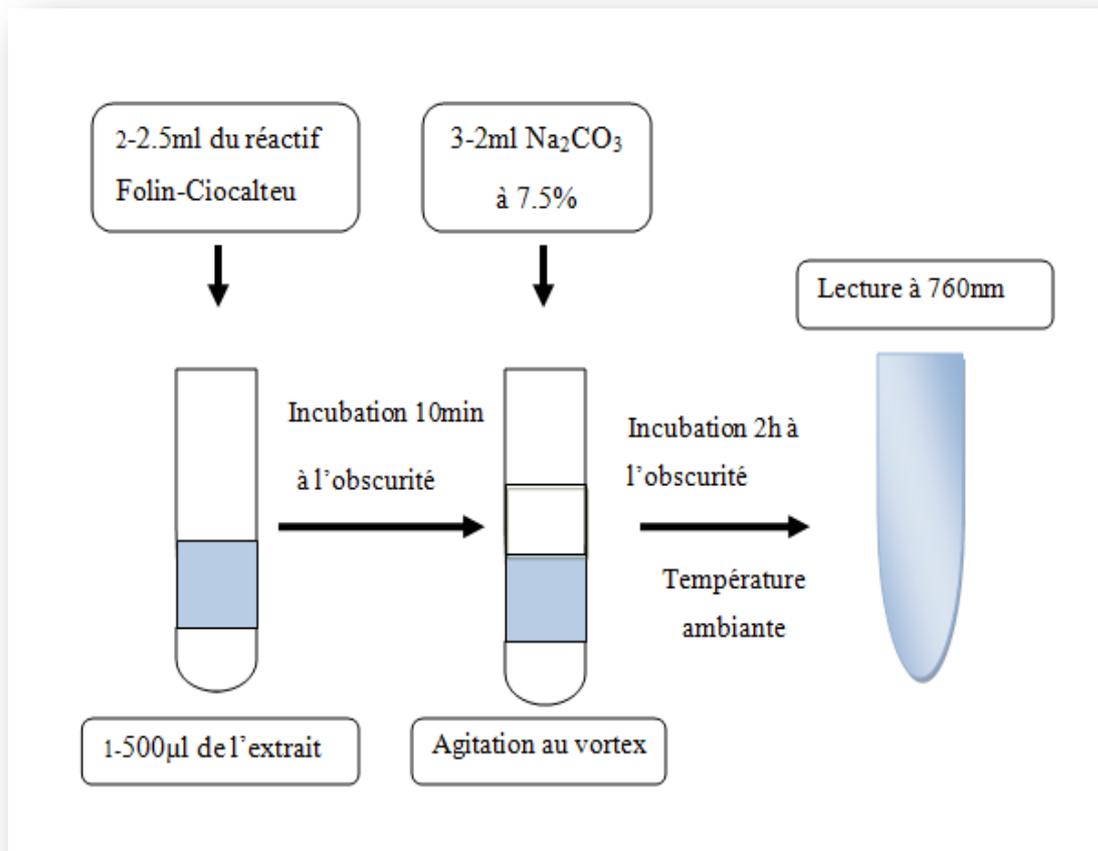


Figure 15: Protocole de dosage des poly phénols totaux

4. Dosage des flavonoïdes

4.1. Principe du dosage

Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde égale à 415nm (Chia-chi *et al.*, 2002).

4.2. Protocole du dosage

La détermination de la teneur en flavonoïde des extrait a été effectuée en suivant la méthode de Trichlorure d'aluminium AlCl_3 (Djeridane *et al.*, 2006). En effet, dans des tubes à hémolyse, 1ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2% est ajouté à 1ml de l'extrait à différentes concentrations (10,20,30,40,50,60,70 et 80ug/ml). Le mélange est incubé pendant 10 minutes, et l'absorbance est ensuite lue à 430nm. Le standard utilisé dans ce test est la

quercétine et les résultats obtenus sont exprimés en μg Equivalent de quercétine par 2mg de l'extrait. Le test est réalisé en trois fois.

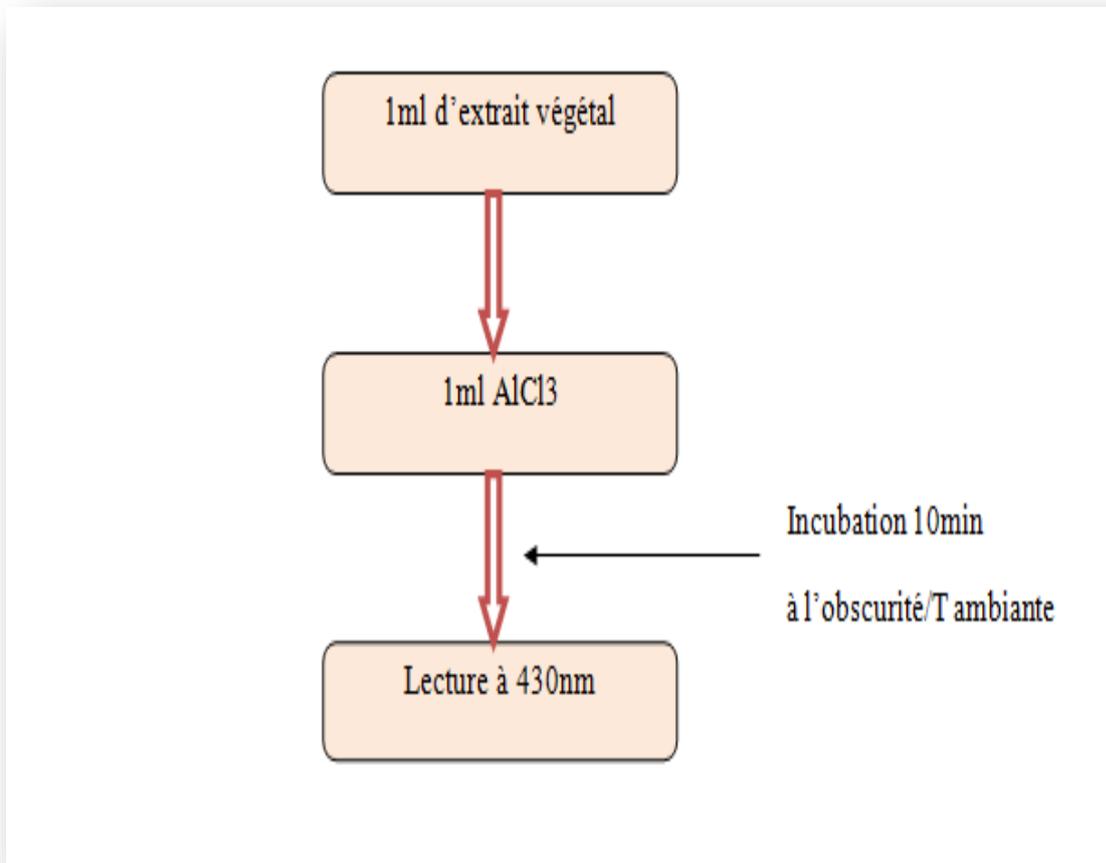


Figure16: Protocole du dosage des flavonoïdes

5. Evaluation de l'activité anticoagulante des extraits

L'activité anticoagulante des extraits préparés a été évaluée *in vitro* vis-à-vis la voie exogène de la coagulation. Et ceci sur un plasma pauvre en plaquette à l'aide d'un test nommé le Taux de Prothrombine (TP) ou le Temps de Quick (TQ).

5.1. Préparation du plasma

Le sang du volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de Citrate de Sodium à 3,2% et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 5minutes à 2500 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.

5.2. Principe

L'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation a été évaluée en utilisant un test de coagulation appelé le Temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP) qui permet d'une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (La proconvertine VII, la prothrombine II, la pro accéléline V, le facteur Stuart X et aussi le fibrinogène) (Caquet, 2004).

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium. Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré (Athukorala *et al.*, 2007).

Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation (Athukorala *et al.*, 2007).

5.3. Mode opératoire

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Athukorala et ses collaborateurs (2007).

10µl de l'extrait préparé à différentes concentrations (10.20.40. 60 et 100mg/ml) est additionné à 90µl du plasma standard, puis le mélange est incubé à 37°C durant 15 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200µl de thromboplastine pré incubé à 37°C pendant 15 minutes (déclenchement du chronomètre), et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux est calculé (arrêt du chronomètre).

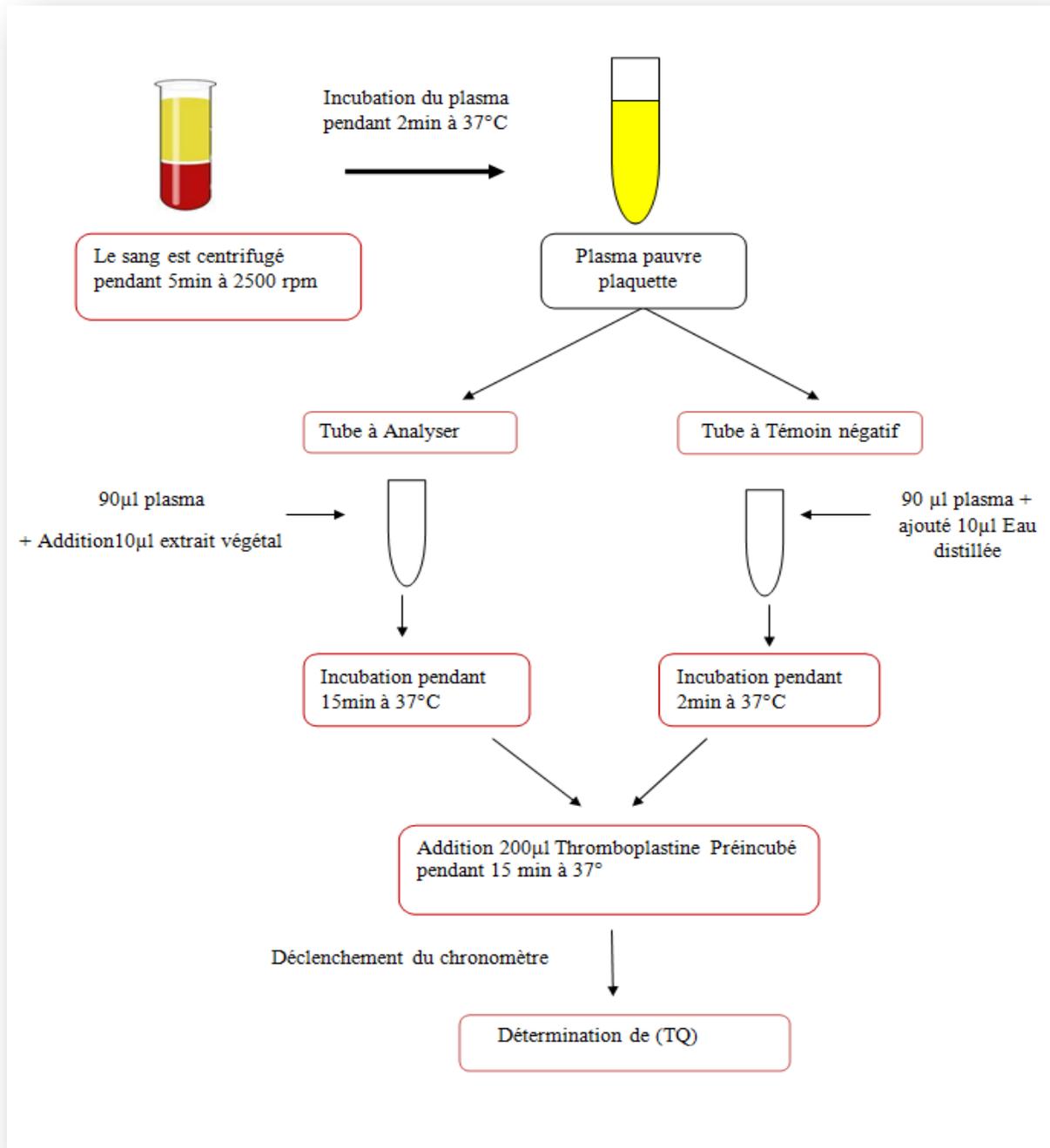


Figure16 : Les étapes de la voie exogène.

2.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des différents dosages et des tests d'évaluation de l'activité biologique est effectuée par logiciel statistique Excel 2007. Toutes les représentations graphiques sont dessinées par l'Excel

CHAPITRE V :
RESULTATS ET DISCUSSION

I. RENDEMENTS

1. Résultats

La méthode d'extraction utilisée doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique. Dans cette étude nous avons adopté la macération à froid pendant 24 h dans des solvants de différentes polarités du moins polaire ou apolaire, Hexane, jusqu'à le plus polaire, eau, pour extraire une large gamme des métabolites secondaire.

Les rendements d'extraction ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec, et les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante (Fig. 18).

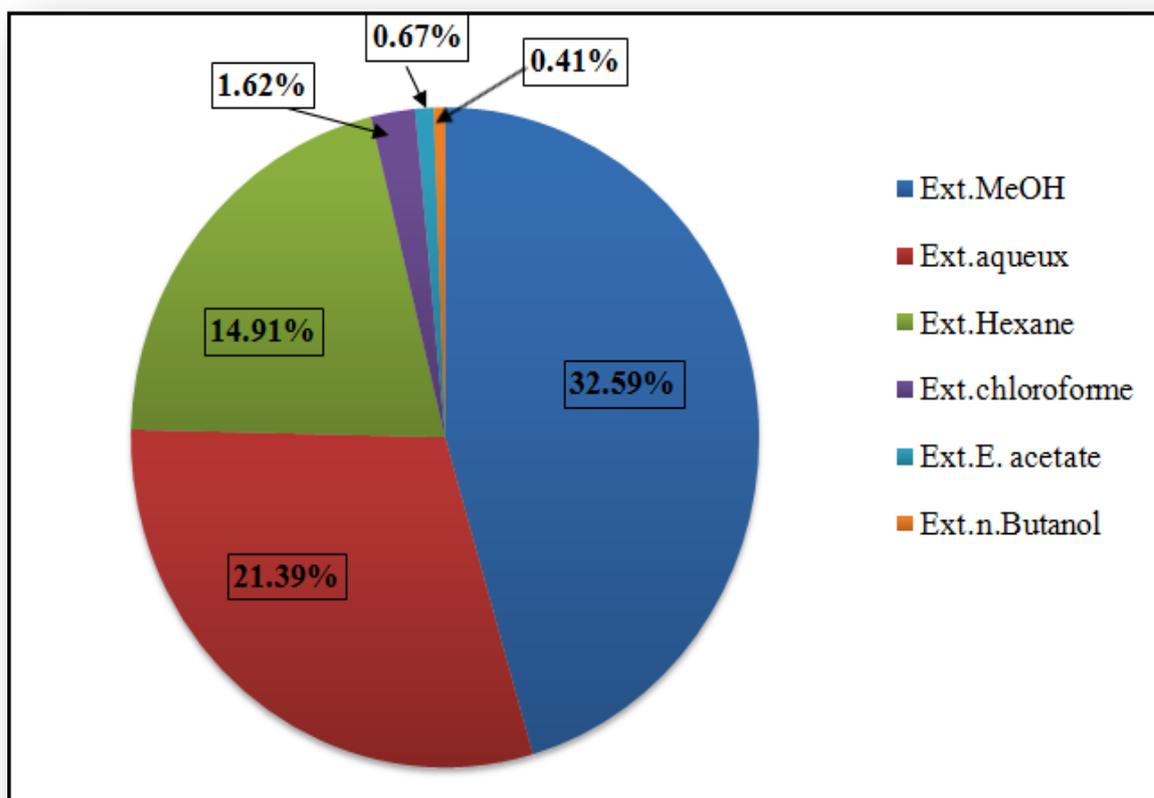


Figure 18: Rendement de l'extraction

D'après la figure ci-dessous, le rendement d'extraction le plus élevé a été enregistré par le méthanol avec un pourcentage égal à 32,594%, suivi par la fraction aqueuse et hexane avec des rendements un peu important, 21,3972% et 14,9164%, respectivement. En revanche, les rendements les plus faibles ont été enregistrés par la fraction chloroformique,

la fraction d'éthyle acétate et la fraction de n-Butanol, dont les taux d'extraction ont été égal à 1,6216%, 0,6788% et 0,4144%, respectivement.

2. Discussion

D'après la recherche bibliographique, il existe plusieurs travaux sur l'extraction des molécules bioactives et le calcul de leurs rendements. Au fait, la macération des grains de *Cachrys libanotis* dans le méthanol a donné un rendement égal à 11,57% (**Bouderara, 2013**), qui est très proche de celui obtenu par les grains de *Pimpinella anisum*, 11,76% (**Lamjallad, 2015**). Aussi, la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* a été étudiée et a donné un rendement de 8,45%, qui est inférieur du rendement enregistré par les fruits de l'espèce *Ferula vesceritensis* et la partie aérienne de l'espèce *Pituranthos chloranthus*(**bouchouka, 2016**), 15,15% et 12,66%, respectivement. Toutes les valeurs mentionnées ci-dessus sont inférieures de celle obtenue par notre extrait méthanolique et qui a été 32,594%.

Les parties aériennes de l'espèce *Pituranthos chloranthus* ont été étudiées par **Boussaid(2014)** et **Bercisse(2015)**, dont leur extraction aqueuse a donné des rendements très proches, 10,07% et 10,27%, respectivement. Dans les mêmes années, d'autres travaux ont été réalisés sur les grains de *Foeniculum vulgare*(**Ennadir et al., 2014**)et les grains de *Pimpinella anisum*(**Lamjallad, 2015**),mais les rendement de l'extraction aqueuse ont été faibles de l'ordre de 5,1% et 4.17%, respectivement. Aussi, la macération aqueuse des fruits d'*Ammi visnaga*(**Benbakhti, 2017**) a enregistré un rendement égal à 2.94%. Toutes les études précédentes et quelle que soit l'espèce utilisée et la partie choisit ont enregistré des rendements inférieurs de celui obtenu par notre espèce, 21,3972%. Toutefois, l'utilisation de toutes les parties de l'espèce *Eryngium maritimum* (feuille, tige et racine)a donné un rendement un peu important par rapport à le nôtre, 25.16% (**Rjeibi et al. 2017**).

Le rendement d'extrait hexane de la partie aérienne de l'espèce *Bunium alpinum* étudiée par **Lefahel(2014)** a été très faible, 0,26%, en comparant avec celui enregistré par notre espèce, 14,9164%. Quant à l'extrait chloroforme, son rendement d'*E. asclepium* a été inférieur de celui obtenu par les feuilles et les tiges de *Foeniculum vulgare*, 6,2%(**Kissoum, 2015**).

Dans d'autres études effectuées sur la partie aérienne de l'espèce *Eryngiummaritimum*(**Kholkhalet al., 2012**) et celle de l'espèce *Buniumalpinum*(**Lefahel,**

2014), les rendements de la fraction n-Butanol ont été égale à 3% et 2%, respectivement. Ces valeurs sont loin d'être comparées avec celle obtenue par notre extrait n-Butanol, 0.4144%, qui est très proche du rendement des fruits d'*Ammi visnaga*, 0.6%(Benbakhti, 2017).

En ce qui concerne la fraction d'éthyle acétate, le rendement de notre espèce a été égal à 0.6788%. Ce pourcentage est un peu plus élevé de celui obtenu par la partie aérienne de l'espèce *Eryngium maritimum*, 0.3% (Kholkhalet *al.*, 2012), très proche de celui enregistré par les grains de *Pimpinella anisum*, 0.64% (Lamjallad, 2015), mais il est très faible en comparant avec celui obtenu par la partie aérienne de l'espèce *Ferula communis*, 66%(Chalabi, 2017).

II. DOSAGE DES POLYPHENOLS ET FLAVONOÏDES

1. Dosage des polyphénols

1.1. Résultats

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques. La détermination de la teneur en polyphénols de différents extraits a été réalisée en suivant la méthode de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2007). L'acide gallique a été utilisé comme standard.

Au cours du dosage des polyphénols et après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des composés phénoliques dans les extraits végétaux, les extraits d'*E.asclepium*.

La concentration des polyphénols présente dans chaque extrait a été rapportée en microgramme Equivalent d'Acide Gallique par milligramme d'extrait (Fig. 19).

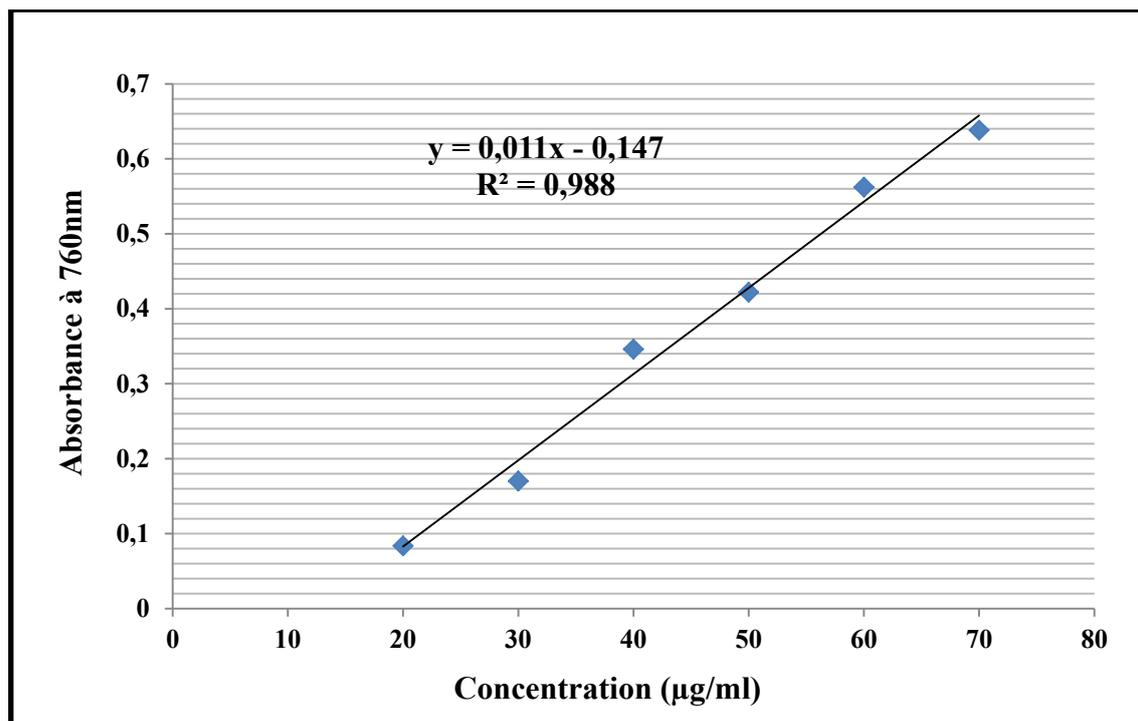


Figure19: Courbe d'étalonnage d'Acide Gallique

La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant plusieurs concentrations successives (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80µg/ml), et les absorbances ont été mesurées à 760nm. Les points avec lesquels la droite est tracée sont très corrélés, $R^2 = 0.988$.

Le tableau ci-dessous présente les teneurs en poly phénols trouvés dans les différents extraits de notre plante.

Tableau04: Teneur en polyphénols dans les extraits étudiés

Les extraits	Teneur en Polyphénols ^a
Aqueux	108,72±0,031
MeOH	161,45±0,078
n-Butanol	44±0,00
E-Acétate	73,27±0,012
Chloroforme	35,36±0,021
Hexane	21,09±0,003

(^a):µg Equivalents d'Acide Gallique par milligramme d'Extrait.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±écart type.

Selon le tableau 04, les résultats du dosage montrent que l'extrait méthanolique est le plus riche en polyphénols avec une concentration de $161,45 \pm 0,078 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ suivi par l'extrait aqueux avec une valeur de $108,72 \pm 0,031 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a donné une valeur moyenne $73,27 \pm 0,012 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ Les taux des polyphénols les plus faibles ont été enregistrés avec l'extrait n-Butanol, l'extrait de chloroforme et l'extrait d'hexane, $44 \pm 0,00 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$, $35,36 \pm 0,021 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ et $21,09 \pm 0,003 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$, respectivement.

1.2. Discussion

D'après la bibliographie effectuée sur le dosage des composés phénolique dans l'extrait MeOH des espèces appartenant à la famille des Apiacées, on a constaté que leur teneur diffère d'une espèce à une autre. Au fait, la macération des grains de *Cuminum cyminum* a donné un rendement de $28,99 \pm 1,67 \text{mg EAg/g Ext.}$ (Chalghem, 2010). Cette valeur est inférieure à celle obtenue par les parties aériennes de *Seselipallasii* et *Seselilibanotis* qui ont donné des rendements égale à $84,65 \pm 0,004 \text{mg EAg/g Ext.}$ et $85,03 \pm 0,004 \text{mg EAg/g Ext.}$, respectivement (Jelenaet al., 2012), et très proche de celui obtenu par la partie aérienne d'*Eryngium palmatum*, $29,0 \pm 2,0 \text{mg EAg/g Ext.}$ (Mirjana et al., 2013).

Une autre étude réalisée par Madan et al. (2013) sur sept espèces de la famille des Apiacées, et les résultats sont les suivants: *Anethum graveolens* $14,637 \pm 1,52 \text{mg EAg/g Ext.}$, *Apium graveolens* $19,437 \pm 0,47 \text{mg EAg/g Ext.}$, *Carum carvi* $35,445 \pm 1,84 \text{mg EAg/g Ext.}$, *Coriandrum sativum* $38,828 \pm 2,62 \text{mg EAg/g Ext.}$, *Cuminum cyminum* $25,291 \pm 2,64 \text{mg EAg/g Ext.}$, *Foeniculum vulgare* $21,712 \pm 3,60 \text{mg EAg/g Ext.}$, *Trachyspermum ammi* $31,028 \pm 1,90 \text{mg EAg/g Ext.}$ Aussi, Gasmî (2014) a macéré les grains d'*Eryngium ilicifolium* et a trouvé un rendement de $5,40 \pm 0,04 \text{mg EAg/g Ext.}$

En basant sur les résultats suscités, notre extrait méthanolique a un rendement très élevé, $161,45 \pm 0,078 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ mais proche de celui obtenu par la partie aérienne de l'espèce *Psammogeton canescens*, $128,50 \pm 1,51 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ (Bagher, 2009)

L'extraction aqueuse de la partie aérienne de *Foeniculum vulgare* a donné une teneur de $21,25 \pm 0,001 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ (Ilhamiet al., 2002), alors que celle de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius*, la teneur a été égale à $2,64 \pm 0,01 \mu\text{g EAg/mg Ext.}$ (Adida, 2015). Ces valeurs sont très loin d'être comparées avec celle obtenue par notre extrait aqueux,

108,72±0,031µg EAg/mg Ext. Cependant, la concentration en polyphénols dans l'extrait aqueux obtenu des grains d'*E. asclepium* est proche de celle d'*Ammi visnaga*, 83,28±0,001µg EAg/mg Ext. (les ombelles) (Bercisse, 2015) et 92,7±0,003µg EAg/mg Ext.(les grains) (Benbakhti, 2017).

Selon le tableau 04, le rendement en polyphénols dans l'extrait Ethyle acétate et l'extrait n-Butanol est égale à 73,27±0,012µg EAg/mg Ext., 44±0,00µg EAg/mg Ext., respectivement. Ces résultats sont supérieurs de ceux obtenus par les grains d'*Eryngium ilicifolium*, où les rendements ont été égale à 4.21±0.009mg EAg/g Ext. et 2.33±0.002mg EAg/g Ext. pour les deux extraits Ethyle acétate et n-Butanol, respectivement (Gasmi, 2014), en revanche, ils sont inférieurs de ceux enregistrés par macération de la partie aérienne de *Daucus muricatu*, 169,66±11,50µgEAg/mg Ext. et 164,42±10,20µg EAg/mg Ext. respectivement (Noui, 2018).

Egalement, le taux des polyphénols enregistré dans la fraction n-Butanol est faible en comparant avec celui obtenu par les grains du *Cuminum cyminum*, 595.45±4.54mg EAg/g Ext.(Chalghem, 2010)et le la partie aérienne d'*Ammi visnaga*, 122,9±0,004µg EAg/mg Ext.(Benbakhti, 2017).

Aussi, selon Chalghem(2010) et Noui(2018), la teneur en composés phénolique dans l'extrait Ethyle acétate et l'extrait chloroformique est faible par rapport à celles obtenu par nos extrait (Tab. 04), 19.39±1.89mg EAg/gExt. et 16,52±1,01µg EAg/mg Ext., respectivement.

(Bagdassarian *et al.*, 2013) préparent des études de l'extrait méthanolique sur 5 espèces de la famille Apiacées, qui sont respectivement *Foeniculum vulgare*115.96 (mg EAg /100g Ext) ;*Anethum graveolens* 69.87 (mg EAg /100g Ext) ; *Pimpinellaanisum*46.17 (mg EAg /100g Ext) ;*Carumcarvi*25.96(mg EAg /100g Ext) ; *Coriandrumsativu* 17,04 (mg EAg /100g Ext) toutes les résultats sont supérieurs que nous avons obtenus

La différence en concentration des phénols totaux peut être provoquée par la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupements hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (Vuorela, 2005; Gomez *et al.*, 2006).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques tels que: les conditions climatiques température élevée exposition solaire, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage sécheresse, salinité.(Podsdek, 2007;Fallehet *al.*, 2008).

2. Dosage des flavonoïdes

2.1. Résultats

Les flavonoïdes sont des molécules très importantes en phytothérapie, proviennent du métabolisme végétal et se trouvent dans les différentes parties de la plante. En effet, le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Trichlorure d'Aluminium($AlCl_3$)(Djeridane *et al.*,2006), dont la Quercétine a été employée comme standard.

Les teneurs en flavonoïdes de différentes fractions d'extraction ont été calculées en utilisant l'équation montrée par la droite d'étalonnage de la Quercétine(Fig. 20;Tab.05), et elles sont exprimées en μg Equivalent de la Quercétine par 2mg d'Extrait, $\mu gEQ/2mg$ Ext.

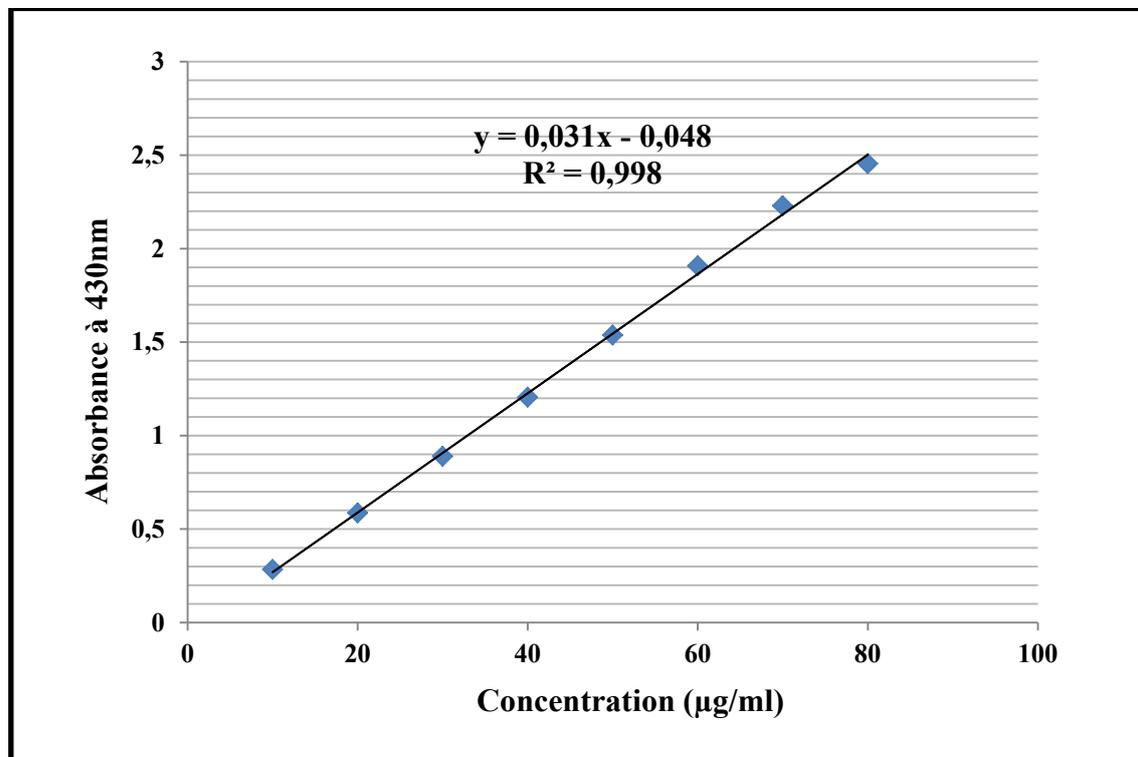


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la Quercétine

La droite d'étalonnage de la Quercétine est tracée en utilisant plusieurs concentrations successives (20, 40, 60, 80, 100µg/ml), et les absorbances ont été mesurées à 430nm. Les points avec lesquels la droite est tracée sont très corrélés, $R^2 = 0.998$.

Tableau 05: Teneur en flavonoïde dans les extraits étudiés

Les extraits	Teneur en Flavonoïdes ^b
Aqueux	15,06 ±0,000
MeOH	15,61±0,080
n-Butanol	18,03±0,076
E-Acétate	11,93±0,343
Chloroforme	14,22±0,003
Hexane	17,80±0,000

(^b):µg Equivalents de la Quercétine par 2 milligramme d'extrait.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± écart type.

Les résultats suscités montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement en fonction de différents extraits. L'extrait n-Butanolet hexane se sont apparus les plus riches en flavonoïdes en comparant avec les autres extraits, 18,03±0,076µgEQ/2mgExt.et 17,80±0,0005µgEQ/2mgExt., respectivement. L'extrait aqueux avait un taux de flavonoïdeégal à celui de l'extrait méthanolique, 15,61±0,080µgEQ/2mgExt. Finalement, on trouve l'extrait chloroformique et l'extrait d'éthyle acétate qui ont une concentration un peu plus faible, 14,22±0,003µgEQ/2mgExt. et11,93±0,343µgEQ/2mg Ext., respectivement.

2.2.Discussion

A la lumière de la recherche bibliographique effectuée, il n'y a des travaux réalisés sur l'extraction alcoolique et hydro-alcoolique de l'espèce *E. asclepium*. Pour cette raison, les résultats seront comparés avec ceux obtenus par les autres espèces de la même famille, la famille des Apiacées.

D'après le tableau 05, le taux des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est égale à 15,61±0,080µg EQ/2mg Ext. qui est supérieur de ceux enregistrés par plusieurs espèces: *Foeniculum vulgare* 68.10mg EQ/100g Ext., *Anethum graveolens* 49.10mg EQ /100g Ext.,*Pimpinella anisum*17.43mg EQ/100g Ext., *Carum carvi* 11.77mg EQ/100g Ext.,*Coriandrum sativu*11.10mg EQ/100g Ext. (**Bagdassarian et al., 2014**). Cependant, il

est inférieur de celui obtenu par la partie aérienne de *Cuminum cyminum*(**Athamnaetal., 2010**)et de *Daucus muricatu* (**Noui, 2018**), 17.39 ± 2.71 mg EQ/g Ext. et 65.87 ± 0.83 µg EQ/mg Ext., respectivement.

En ce qui concerne l'extrait aqueux, l'étude de **Mirjana et al.(2014)**sur l'espèce *Eryngium palmatum* a donné un taux égale à 9.5 ± 0.3 mg ER/g Ext. qui est proche de celui obtenu par notre espèce, $15,06 \pm 0,000$ µg EQ/2mg Ext. Cependant, les travaux de **Rached et al.(2010)**,**Bercisse(2015)** et **Benbekhti(2017)** sur les feuilles de *Thapsia garganica*, la partie aérienne d'*Ammi visnaga* et les ombelles d'*Ammi visnaga* sont donné des rendements de $18,13 \pm 0,47$ mg EQ/g Ext., $43,72$ µgEQ/mgExt.et $15,8 \pm 0,002$ µgEQ/mgExt., respectivement et qui sont supérieurs de celui enregistré par *E. asclepium* (Tab. 05).

Ainsi, la macération des feuilles *Eryngium foetidum* a montré que la présence des flavonoïdes est très accentuée dans les extraits aqueux et méthanolique(**Yala et al., 2016**).

La macération en utilisant l'Ethyle acétate a donné une teneur de $11,93 \pm 0,343$ µg EQ/2mg Ext. cette valeur est très supérieure de celle révélée par partie aérienne de l'espèce *Ferula communis*, $1,92 \pm 0,04$ mg EQ/g Ext.(**Chalabi, 2017**).La fraction n-Butanol avait une concentration en flavonoïdes égale à $18,03 \pm 0,076$ µg EQ/2mg Ext. qui est inférieure de celle montrée par les parties aériennes de l'espèce *Ammi visnagas*, $13,2 \pm 0,002$ µgEQ/mgExt. (**Benbekhti, 2017**).

Plus que les résultats cités avant, d'autres travaux ont enregistrés des teneurs élevées en flavonoïdes dans l'extrait Ethyle acétate et l'extrait n-Butanol par rapport à les nôtres. En effet, l'étude d'**Athamna et al.(2010)**sur la partie aérienne de *Cuminum cyminum* a enregistré des rendementsde 54.21 ± 2.82 mg EQ/g Ext. et 20.11 ± 5.80 mg EQ/g Ext., alors que celle de **Noui (2018)** qui a effectuée sur la partie aérienne de *Daucus muricatu*, elle a enregistrée des rendements égale à $89,34 \pm 6,18$ µg EQ/mg Ext. et $158,09 \pm 9,76$ µg EQ/mg Ext., respectivement.

D'après **Noui(2018)**, l'extraction des flavonoïdes de la partie aérienne de *Daucus muricatu* en utilisant le chloroforme a montré que cette espèce a une teneur très faible, 04.87 ± 2.16 µg EQ/mg Ext., en la comparant avec celle obtenue par notre plante, $14,22 \pm 0,003$ µg EQ/2mg Ext.

Une étude préparée par (**Madan et al., 2013**) sur les extraits MeOH des quelques espèces de la famille des Apiacées, les teneurs des flavonoïdes de ces espèces sont : *Anethum graveolens* $18,159 \pm 2.16$ mg ER/g Ext., *Apium graveolens* $13,242 \pm 2,62$ mg ER/g Ext) *Carum carvi* $12,812 \pm 1,49$ (mg ER/g Ext) ; *Coriandrum sativum* $45,262 \pm 2,11$ (mg ER/g Ext) ; *Cuminumcyminum* $38,364 \pm 1.02$ (mg ER/g Ext); *Foeniculum vulgare* $15,854 \pm 1,96$ (mg ER/g Ext); *Trachyspermum ammi* $27,446 \pm 0.87$ (mg ER/g Ext) toutes ces résultats sont plus élevés.

II. ACTIVITE ANTICOAGULANTE VIS-A-VIS DE LA VOIE EXOGENE

1. Résultats

Le temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui permet d'explorer globalement la voie exogène de la coagulation où le facteur tissulaire est son déclencheur (Tripodi, 2009). Le TQ du plasma du sang normal est compris entre 12 et 14 secondes selon les réactifs utilisés (Caquet, 2004), et donc n'importe quel allongement dans le temps de la coagulation par rapport au contrôle négatif montre que le matériel testé a un effet anticoagulant vis-à-vis la voie exogène de la coagulation. Nos résultats sont mentionnés dans la figure suivante (Fig.21).

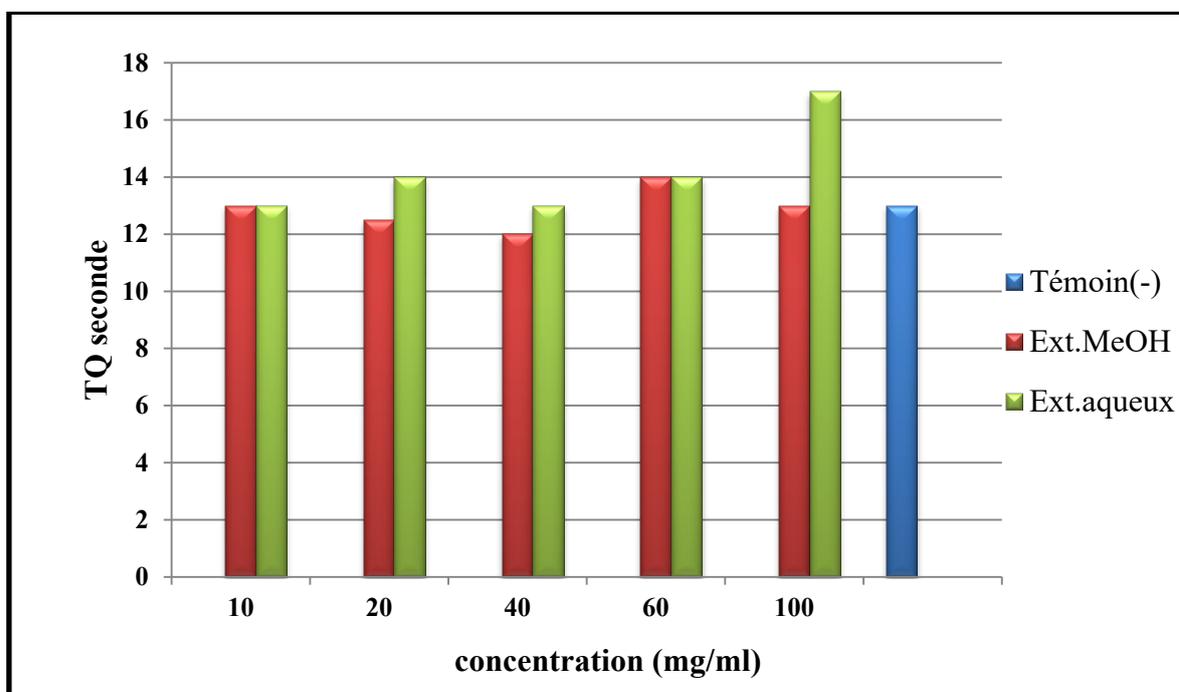


Figure 21: Capacité anticoagulante des extraits vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation.

L'étude *in vitro* de l'activité anticoagulante de la voie exogène des deux extraits aqueux et MeOH montrent que ces deux extraits ont un faible effet anticoagulant, notant que le contrôle négatif a donné un temps de coagulation estimée de 13s.

2. Discussion

Le TQ normal, c.à.d. sans facteur coagulant ou anticoagulant, est compris entre 12 et 14secondes selon le réactif utilisé. Dans le but de rechercher d'un allongement au niveau du temps de coagulation, on a essayé d'utiliser des extraits végétaux afin de produire des anticoagulants d'origine naturels. Le TQ du témoin négatif a été égale à 12s, alors que celui du témoin positif Héparine est égal à 35s qui a été très allongé, et on peut dire que le plasma du sang est incoagulable.

Globalement, l'effet anticoagulant de l'extrait méthanolique et aqueux des grains d'*E. asclepium*, a été faible en comparant avec l'héparine, où le plasma étudié a été incoagulable. Notons que et d'après les concentrations utilisées, l'extrait aqueux a donné un TQ égal à 17s à la concentration de 100mg/ml, alors que l'extrait MeOH n'a aucun effet (Fig. 21).

A la lumière de la bibliographie effectuée sur l'activité anticoagulante des extraits végétaux, il ai clair que ce test n'est pas vraiment connu et réalisé par les chercheurs pour utiliser les extraits des plantes médicinales comme anticoagulants ou coagulants. Pour cette raison, nos résultats seront discutés par les espèces d'autres familles que la famille des Apiacées.

Au fait, à une concentration de 100mg/ml, l'extrait MeOH de notre espèce a donné un TQ égal à celui du témoin négatif, 13s, et ça confirme que cet extrait à cette concentration n'a aucun effet anticoagulant. Selon **Rajput et al.(2012)**, l'extrait MeOH de la partie aérienne de l'espèce *Trachyspermum ammi*(10mg/ml) a un TQ élevé par rapport au contrôle négatif, 28s et 13,57s, respectivement. Aussi, l'étude de **Fereshteh(2013)** sur l'évaluation de l'activité anticoagulante *in vitro* de la partie aérienne de l'espèce *Ferula gocarduchorum* a montré que l'extrait MeOH a une faible capacité anticoagulante, 17s, en comparant avec le contrôle négatif, 15s (concentration faible = 0.06mg/ml). En revanche, l'extrait MeOH de la partie aérienne de l'espèce *Angélica shikokiana* a exercé une très bonne activité anticoagulante 39,3s, et à une faible concentration (10µg/ml) en comparaison avec le temps normal, 12s(**Mira et al., 2015**).

D'après **Gadi(2009)**, l'extrait aqueux(2ug/ml)de la partie aérienne de l'espèce *Petroselinum crispum* a présenté une activité anticoagulante égale à 10,5s, et qui est importante par rapport à celle du test négatif, 5,9s. Cette étude valide son utilisation dans

les maladies cardiovasculaires comme agent anticoagulant. *Petroselinum crispum* devrait être évité chez les patients sous traitement anticoagulant, car il peut améliorer le potentiel anticoagulant des agents anticoagulants. Aussi, une autre étude a été réalisée sur la capacité anticoagulante des extraits aqueux (6,7mg/ml) de la partie aérienne de trois espèces du genre *Panax*, *Panax ginseng*, *Panax notoginseng* et *Panax quinquefolius*, et a montré que toutes les espèces exercent une faible activité anticoagulante qui varie entre 13.44s et 14.22s, en comparant avec le contrôle négatif, 13,28s (Lau, 2009).

D'après Yang *et al.* (2016), l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Angélica sinensis* qui à une concentration de 2mg/ml possède un TQ égal à 56s, qui est très élevé par rapport à celui exercé par l'extrait aqueux de notre espèce étudiée, 17s à 100mg/ml.

CONCLUSION ET PRESPECTIVES

CONCLUSION

Ce travail a pour but de valoriser les connaissances de la flore algérienne par l'étude phytochimique, et la mise en évidence des propriétés pharmacologiques d'une plante issue de cette flore appelée *E.asclepium*. Les ombelles en fructification et spécialement les grains des ombelles ont été l'objet de ce travail grâce à leur richesse en métabolites secondaires.

Plusieurs tests ont été réalisés en commençant par l'extraction des molécules bioactives (alcoolique et hydro-alcoolique), ensuite les tests de dosage, le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes, et enfin le test de l'activité anticoagulante *in vitro*.

Au fait, la macération en utilisant plusieurs solvants a donné des différents rendements. Cette différence a une relation directe avec la polarité du solvant utilisé. La prédominance du rendement en termes d'extrait brut est enregistrée dans l'extrait MeOH, 32,59%, suivi par l'extrait Aqueux et hexane, 21,39% et 14,9164%, respectivement. Toutefois, l'extrait Chloroformique, Ethyle acétate et n-Butanol ont donné des rendements égale à 1,6216%, 0,6788% et 0,4144%, respectivement.

En ce qui concerne les tests de quantification des phénols totaux et flavonoïdes, les teneurs ont été aussi dépendantes du solvant utilisé. Les résultats du dosage ont montré que l'extrait MeOH est le plus riche en polyphénols, $161,45 \pm 0,078 \mu\text{g EAG/mg Ext.}$, suivi par l'extrait Aqueux et l'extrait Ethyle acétate, $108,72 \pm 0,031 \mu\text{g EAG/mg Ext.}$ et $73,27 \pm 0,012 \mu\text{g EAG/mg Ext.}$ Alors que les autres extraits n-Butanol, Chloroforme et Hexane, ils ont donné des valeurs inférieures.

Le test du dosage des flavonoïdes a montré que l'extrait n-Butanol et l'extrait Hexane contiennent le taux le élevé des flavonoïdes par rapport aux autres extraits étudiés, $18,03 \pm 0,076 \mu\text{gEQ/2mgExt.}$ et $17,80 \pm 0,0005 \mu\text{gEQ/2mgExt.}$, respectivement. L'extrait Aqueux avait une concentration en flavonoïde égal à celle de l'extrait MeOH, $15,61 \pm 0,080 \mu\text{gEQ/2mgExt.}$ Finalement, l'extrait Chloroformique et l'extrait Ethyle acétate ont présenté les concentrations les plus faibles $14,22 \pm 0,003 \mu\text{gEQ/2mgExt.}$ Et $11,93 \pm 0,343 \mu\text{gEQ/2mg Ext.}$, respectivement.

Pour les tests biologiques des extraits étudiés, l'étude *in vitro* de l'activité anticoagulante de la voix exogène a montré que ces deux extraits ont une faible activité anticoagulante, dont le TQ le plus élevé a été enregistré par l'extrait aqueux, 17s à la concentration la plus élevée,

100mg/ml. Cette valeur est supérieure de celle obtenue par le control négatif qui a donné un TQ égale à 13s.

PERSPECTIVES

A la lumière des résultats obtenus, il est souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par:

- Utiliser d'autres méthodes d'extraction pour découvrir leur influence sur le rendement et la composition chimique.
- Faire l'analyse phytochimique des extraits utilisés afin d'identifier les molécules qui y trouvent et les séparer.
- Réaliser l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène (TCK), et les tester par la suite *in vivo* (TQ et TCK).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Adida H., Benariba N., Bechiri A., Chekroun E. and Djaziri R. (2015).** Phytochimique et évaluation du pouvoir anti-radicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*. 268(05):1-6
- Adouane S.(2016).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de Magistère. Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie. p. 5-10
- Ajjan R., Grant P.(2006).**Coagulation and a the roth rombotic disease. *Food chemistry*. 186(50): 240-259.
- Alvarez L., Wijngaard H., Arendt K. and Gallagher E. (2010).**Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking.*Food Chemistry*. 11(9): 770-778.
- AthamenS.(2009).**Etudequantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminmcyminum*et les feuilles de *Rosmarinusofficinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de Magistèr. Université El-HadjLakhdar, Batna, Algérie. P .47-126
- Athukorala Y., Lee K., Kim S. And Jeon Y. (2007).**Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Chime Pharmaceutique*. 98(9):1711-1716.

B

- Bagdassarian V. And Atanassova M. (2013).**Phenolic profile antioxidant and antimicrobial activities from the Apiaceae family (Dry seeds).*Journal of Pharmaceutival*. 2(4): 4-7
- Bakhouché A., Lozano-Sánchez J., Beltrán-Debón R., JovenJ., Segura-CarreteroA. And Fernández A. (2013).** Phenolic characterization and geographical classification

of commercial *Arbequina* extra-virgin olive oils produced in Southern Catalonia. *Food Chemistry*.50(1): 401-408.

Benbakhti O.(2017). Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits d'*Ammi visnaga*. Mémoire de Magistère. Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie. p.43-66

Bercisse H. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'*Ammi visnaga*. Mémoire de Magistère. Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie. p. 46-62

Boisseau M. (1996). Données actuelles sur l'Hémostase. *Phlébologie*. 42(2): 175-186.

Bouchouka E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. p. 78-126

Bouderdara N. (2013). Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine, Algérie. p. 150-216

Boussaid M. (2014). Etude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) de l'extrait de tannins de *Pituranthos chloranthus* (Ghezzeh). Thèse de Doctorat. Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie. P .30-64

Bruneton J. (1999).Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales technique et documentaires. 4^{ème} Edition, *Lavoisier*, Paris. p. 136.

C

Caen J., Lrrieu M. et SamamaM. (1975).L'Hémostase: Méthodes d'exploration et diagnostic pratique. 1^{ère}Edition *Toray*. Expansion Scientifique Française (Paris). p. 15-20.

Cambus J. (2002). Physiologie de l'Hémostase. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier1. Faculté de Médecine. Institut Universitaire de Recherche Clinique (IURC), France. p. 2-3

- Caquet R. (2004).** Examens de laboratoire: prescription et interprétation. 9^{ème} Edition *Mosson*, Paris. p. 388-389.
- Caratini R. (1971).** La vie des plantes. 10^{ème} Edition *Bordas*, Belgique. p. 2-25
- Chia-chi C. (2002).** Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food Chemistry*. 10(03): 178-182.
- Colvin T. (2004).** Physiology of Haemostasis Vox Sanguinis. *Journal of Food Chemistry*. 87(1): 43-46.
- Cronquis A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants, 2^{ème} Edition Peress. New York. p. 424

D

- Deysson G. (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires. Cours de Botanique générale 4^{ème} série, Tome II, Paris. p. 529.
- Dudareva N., Pichersky E. Et Gershenzon J. (2004).** Biochemistry of plant volatiles. *Society of Plant Biologists*. 135(2): 1899
- Dupont F. et Guignar D. (2007).** Systématique moléculaire, Abrégé de botanique, 14^{ème} Edition *Masson*, France. p. 383

E

- Ekoumou C. (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de Doctorat. Université de Bamako, Mali. p. 36.
- Ennadir J., Hassikoul R., Bouazza F., Arahou M., Al-Askari G. et Khedid K. (2014).** Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare*. *Pharmaceutical Biology*. 12(02): 302-308.

F

Faller A. Et Fialho E. (2010). Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional Plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23(06): 561-568.

Fereshteh G., Mohammadi A., et Ardakani M. (2013). Anticoagulant activity of isolated coumarins (Suberosin and Suberenol) and toxicity evaluation of *Ferula gocarduchorum* in rats. *Pharmaceutical Biology*. 44(17): 5-6.

G

Gacemi S. (2014). Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits de *Eryngium ilicifolium* Lam. (Apiaceae) de la Wilaya de M'sila (Algérie). Mémoire de Magistère. Université Ziane Achour, Djelfa, Algérie. P. 71-130.

Gadi D., Bnouham M., Aziz M., Ziyat A. et Legrand C. (2009). Parsley extract inhibits *in vitro* and *in vivo* platelet aggregation and prolongs bleeding time in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 170(6): 3-5.

Garcia M. Et Silvestre S. (1985). Revision of the Genus *Elaeoselinum* Koch ex DC. *Margotia* Boiss. And *Distichoselinum* Garcia Martin & Silvestre (Umbelliferae). *Lagascalia*. 12(1): 99-107.

Gentry A. (2004). Comparative aspects of blood coagulation. *The Veterinary Journal*. 168(3): 238-251.

Girardel J., et Samama M. (2006). Les nouveaux antithrombotiques une thérapeutique en mutation des perspectives d'avenir. *The Veterinary Journal*. 15: 117-123.

H

Harif M. (2007). Hémostasie de la physiologie à la pathologie. 1^{ère} Edition Casablanca, Maroc. p. 229.

Heywood V. (1996). Les Plantes à Fleurs: 306 Familles de la Flore Mondiale. 1^{ère} Edition. Nathan (Fernand), Paris, France. p. 335.

Hopkins G. (2003). Physiologie végétale. 2^{ème} édition. Boeck. Université Lille, France. p. 268-280.

I

Ilhami G., Oktaya M. And Kufreviog I. (2002). Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Journal of Biology*.36(2): 4-9.

J

Jelena S., Mateji C. and Ana M.(2012). Total phenolic content flavonoid concentration antioxidant and antimicrobial activity of methanol extracts from three Seseli L. Taxa. *Journal of Biology*.7(6): 4-7.

K

Kahlouche R. (2014). Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine1, Algérie. p. 3-11.

Kholkhal W., Ilias F., Bekhechi C. and Bekkara F.(2012). *Eryngium maritimum*: A rich medicinal plant of polyphenols and flavonoids compounds with antioxidant, antibacterial and antifungal activities. *Current Research Journal of Biological Sciences*.4(4): 437-443.

Kissoum A.et Khalfaoui K. (2015).Evaluation phytochimique et étude des activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne (*Foeniculum vulgare*).thèse Magister. Université Mentouri Constantine 1.P51

L

Laouer H. (2004).Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles

essentielles d'*Ammoide spusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. p. 50.

Lefahal M.(2014). Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine1, Algérie. p. 86-164

Li T. and Wang B. (2013). A comparative study on anticoagulant activities of three Chinese herbal medicines from the genus *Panax* and anticoagulant activities of ginsenosides Rg1 and Rg2. *Pharmaceutical Biology*.58(8):3-4

Li L., Cheng K., Wong C., Chen F. And Tian Y.(2007).Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*.102 (3): 771-776.

Luthria L., Mukhopadhyay S. And Krizek D.(2006).Content of total phenolics and phenolic acids in Tomato (*lycopersi conesculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis*.19(8): 771-777.

Lemjallad L.(2015). Etude phytochimique et évaluation de différentes activités des extraits de *Pimpinella anisum*.Mémoire de Magister. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.P. 75.

M

Madan M. And Pandey M.(2013). Phenolic content and antioxidant properties of selected Indian Spices of Apiaceae. *Pharmacognosy and Ethnopharmacology Division*.18(3): 6-12.

Mira A., Alkhiary W. And Kuniyoshi S.(2015). Antiplatelet and anticoagulant activities of *Angelica shikokiana* extract and its isolated compounds.*Clinical and Applied Thrombosis Hemostasis*.12(3): 6-9.

Moreau F. (1960). Botanique: Procaryotes (Cyanophites et Bactéries). Eucaryotes (Algues, Champignons et Végétaux supérieurs). La plante dans ses rapports avec le milieu.3^{ème} Editionla coquille,Paris, France. p. 811.

N

Noui A.(2018). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de la plante *Daucus muricatus* (Apiaceae). Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine 1,Algérie. p. 48-85.

O

Olle M., Bender I. and Agron R.(2010).The content of oils in umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research*.8(03): 687-696.

P

Pimenov M. and Leonov M. (1993). The Genera of the Umbelliferae: a Nomenclator.*Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom.* p. 156.

Q

Quezel P. et Santa S.(1962).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.Tome 1, Edition CNRS, Paris. p. 653.

R

Rajput M., Khan R., Qazi N. And Zeeshan F.(2012). Effect of Methanol Extract of Ajwain *Trachyspermum ammi* on Blood Coagulation in Rats.*Journal of Biology*.11(02): 2-4.

Reynaud J. (2002). La flore du Pharmacien. 3^{ème}Edition. *TEC et DOC*, Paris. p. 320.

Ribéreau P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux.2^{ème}Edition. *Dunod*, Paris, p. 254.

Rjeibi I., Anouar B., Ncib S. and Soud S.(2017). Phenolic composition and antioxidant properties of *Eryngium maritimum* (seaholly). *Journal of Coastal Life Medicine*.5(5): 212-215

S

Schved M.(2007). Physiologie de l'hémostase MB7Hématologie.*Journal of Natural Products*.63(12):1035-1042.

Seenivasan P.(2006).*In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils.*Journal of Complementary and Alternative Médecine*. 600(34): 6-39.

Spichiger R. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs. 1^{ère} Edition. *Presses Polytechniques et Universitaires*. Romandes, Suisse. p. 80

Spichiger R., Savolainen V., Figeat M. et Jeanmond D.(2004).Botanique systématique des plantes à fleurs, 3^{ème}Edition*Presses Polytechnique et Universitaires*, Lausanne, Suisse. p. 508.

T

Tabanca N., Demirci B., Ozek T., Kirimer N., Baser K., Bedir E. and Wedge D.(2006).Gas chromatographic mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey. *Journal of Chromatography*.1117 (02):194-205.

V

Vogler A. and Siedlecki A.(2009). Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*.30 (1):1857-1869.

W

Wood J., Robertson R., Shaw A. and Velmure S.(1974). A Student's Atlas of Flowering Plants Some Dicotyledons of Eastern North America. 3^{ème} Edition *HarperRow*. New York.p. 120.

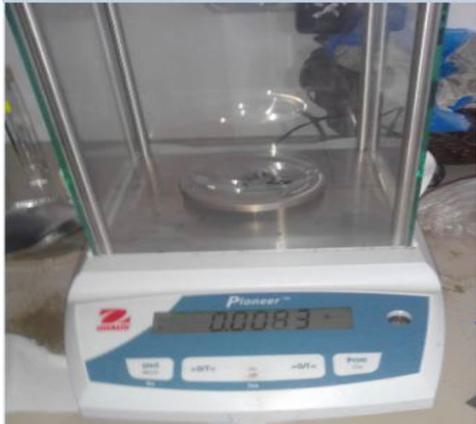
Y

Yang N., Zhou G. and Tang Y. (2011).Two new α -pinene derivatives from *Angelica sinensis* and their anticoagulative activities.*Fitotérapia*.80 (04): 5-5.

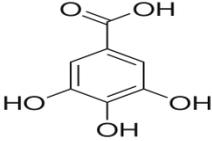
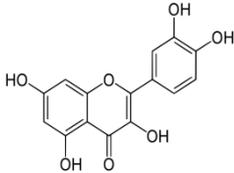
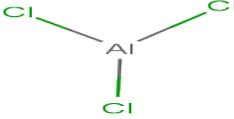
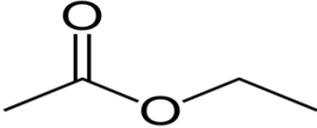
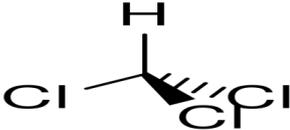
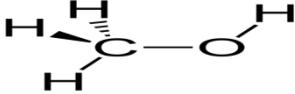
ANNEXES

Annexe 01:Appareillage de laboratoire

Nom	Marque	Photo
Etuve	Memmert	
Plaque chauffante agitatrice	Stuart US152	
Bain-marie	Memmert	
Vortex	Fisher scientifique	

Balance de pression	KERN	
Spectrophotomètre	JENWAY 7305 Spectrophotomètre	
Autoclave	Pb international	
Centrifugeuse	Sigma	

Annexe 02: Produits chimiques utilisés

Produits chimiques	Structure et la formule
Acide gallique	 $C_7H_6O_5$
Quercétine	 $C_{15}H_{10}O_7$
n-Butanol	 $C_4H_{10}O$
Trichlorure d'aluminium	 $AlCl_3$
Ethyle acétate	 $C_4H_8O_2$
Chloroforme	 $CHCl_3$
Hexane	 C_6H_{14}
MeOH	 CH_3OH

Annexe 03: Préparation des solutions et des réactifs

- **Acide gallique:** peser 1mg d'acide gallique dans un tube à hémolyse et y ajouté 2000 μ l MeOH.
- **Folin-Ciocalteu:** prélever 10ml Folin-Ciocalteu et ajouté 90ml eau distillée (dilution 1/10).
- **Préparation de Na₂CO₃:** peser 3,75g Na₂CO₃ et la préparer dans 50ml eau distillée (7.5%).
- **Quercétine:** peser 0,004g Quercétine et ajouté 2ml MeOH, Concentration (2mg /ml)
- **Préparation de AlCl₃:** peser 0,6g AlCl₃ et ajouté 30ml MeOH

اجريت هذه الدراسات من اجل تثمين النباتات الطبية والعطرية المتواجدة في الجزائر لاجل ذلك اخترنا نبتة من شمال الجزائر تحديدا شريط البحر الابيض المتوسط من عائلة الخيميات والمسمات *Elaeoselinum asclepium* ولقد تم استخلاصها باستخدام طريقة التنقيع البارد. اجرينا اختبارات الفحص لتحديد كمية الفينولات والفلافونويدات في المستخلصات كما تم تقييم النشاطية المضادة للتخثر في المختبر بطريقة المسار الخارجي وذلك بحساب زمن التخثر TQ. سمح لنا التنقيع بالحصول على ستة مستخلصات: هيكزان، كلوروفورم، اثيل اسيتات، البيتانول، الميثانول والمستخلص المائي وقد تم تسجيل اعلى مردود لمستخلص الميثانول بقيمة 32.5%. أظهر اختبار الفينول الكلي أن جميع المستخلصات تحتويه وعلى وجه الخصوص مستخلص الميثانول و المائي (161,45±0,078µg EAG/mg Ext) (108,72±0,031µg EAG/mg Ext) على التوالي. في حين أن اختبار الفلافونويد أعطت قيم منخفضة تتراوح (17,80±0,000µg EQ/2mg Ext) إلى (11,93±0,343µg EQ/2mg Ext) في حين اظهرت ازمنة التخثر التي تم الحصول عليها على البلازما الطبيعية في وجود المستخلصات المدروسة أن عيناتنا تمارس نشاطاً مضاداً للتخثر ضعيفاً على المسار الخارجي.

الكلمات المفتاحية: *Elaeoselinum asclepium* ، البوليفينول ، الفلافونويد ، نشاط مضاد التخثر.

RESUME

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatique d'origine algérienne. Dans ce contexte, on a choisi une plante du Nord algérien, endémique du bassin méditerranéen et qui appartient à la famille des Apiacées, *Elaeoselinum asclepium* L. L'extraction des molécules bioactives a été effectuée en utilisant la méthode de la macération à froid. Les tests de dosage ont été réalisés pour quantifier le taux des phénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits. Le pouvoir anticoagulant vis-à-vis de la voie exogène a été évalué *in vitro* en calculant le temps de la coagulation (TQ). Au fait, la macération nous a permis d'obtenir six extraits: Hexane; chloroforme; E.acétate, n-Butanol, MeOH, aqueux, dont le rendement le plus élevé a été enregistré par l'extrait MeOH (32.5%). Le test du dosage des phénols totaux a montré que tous les extraits en contiennent et notamment l'extrait MeOH et H₂O (161,45±0,078µg EAG/mg Ext. et 108,72±0,031µg EAG/mg Ext. respectivement), cependant le dosage des flavonoïdes a donné des valeurs faibles variées de 18,03±0,076µg EQ/2mg Ext. à 11,93±0,343µg EQ/2mg Ext. Les temps de la coagulation obtenus sur un plasma normal en présence des extraits testés ont indiqué que nos échantillons exercent une faible activité anticoagulante sur la voie exogène.

Mots clés: *Elaeoselinum asclepium*, Polyphénols, Flavonoïdes, Activité anticoagulante.

ABSTRACT

This present study was conducted within the framework of the valorization of medicinal and aromatic plants of Algeria. In this context, we decided to select a plant from northern Algeria, endemic to the Mediterranean which belongs to the Apiaceae family, *Elaeoselinum asclepium* L. The extraction of bioactive molecules was done using the cold maceration method. Assay tests were performed to quantify the level of total phenols and flavonoids in the extracts. Anticoagulant potency vis-à-vis the exogenous pathway was rated *in vitro* by calculating the coagulation time (TQ). Therefore, the maceration allowed us to obtain six extracts: Hexane; chloroform; E.acétate, n-Butanol, MeOH, and aqueous extract. The highest yield was recorded by the MeOH extract (32.5%). The total phenol assay showed that all the extracts contained it and in particular the MeOH and H₂O extract (161.45 ± 0.078 µg EAG / mg Ext and 108.72 ± 0.031 µg EAG / mg Ext respectively). Whereas, the flavonoid assay gave varied low values of 18.03 ± 0.076µg EQ / 2mg Ext. at 11.93 ± 0.343µg EQ / 2mg Ext. Clotting times obtained on normal plasma in the presence of tested extracts showed that our samples exert a weak anticoagulant activity on the exogenous pathway.

Key words: *Elaeoselinum asclepium*, Polyphenols, Flavonoids, Anticoagulant activity