

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :  
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biochimie appliquée

**Par :** Kaci ou salah Zineb

**Hammou Abdelah Djamila**

**Thème**

**Evaluation des activités biologiques d'extrait hydrométhanolique  
d'une plante adventice (*Chenopodium murale*) de la région de  
Ghardaïa**

**Soutenu publiquement le : .../.../2018**

**Devant le jury :**

**Année universitaire 2017/2018**

<b>Mr. KRAIMAT</b> Mohammed	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>Mlle. TELLI</b> Alia	Maître de conférences B	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>Mr. BOUAL</b> Zakaria	Maître de conférences A	Univ. Ouargla	<b>Co- Encadreur</b>
<b>Mlle. BELABBASSI</b> Ouarda	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examineur</b>

# Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à REMERCIER DIEU le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.*

*Nous remercions tout particulièrement notre directrice de mémoire M<sup>lle</sup> TELLI Alia, Maître de Conférences B, au Département de la Biologie à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa, pour ses précieux conseils scientifiques, son aide, son talent, sa motivation et sa foi dans l'action de nous avoir apporté les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche, et surtout je salue l'intensité de ses conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion, et ceci malgré les lourds déplacements entre Ouargla et Ghardaïa.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à notre co-directeur de mémoire, Mr. BOUAL Zakaria, Maître de conférences A, au département des Sciences Biologiques à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah-Ouargla, qui a l'amabilité de répondre à nos questions et pour ses conseils et suivie durant la réalisation d'une partie importante de ce travail.*

*Nous adressons nos chaleureux remerciements à Mr. KRAIMAT Mohamed, Maître assistant A et responsable des laboratoires pédagogiques, au département de la Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Ghardaïa, d'avoir bien voulu accepter à présider ce membre du jury et à participer à l'évaluation de ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier vivement M<sup>lle</sup> BELABBASSI Ouarda, Maître assistant A, au département de la Biologie département de la Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Ghardaïa, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'être examinatrice de cette thèse.*

*Notre profonde reconnaissance va à M<sup>lle</sup> DAREM Sabine, Doctorante à l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour son aide et ses remarques, pour le temps consacré à la lecture de cette thèse et pour les suggestions et les remarques judicieuses qu'elle nous a indiquées.*

*Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à Dr. AMMI SAÏD Mustapha et les personnels du laboratoire d'analyse médicale « IBN ROCHD » de nous avoir accueilli au sein du laboratoire.*

*Enfin nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères au corps professoral et administratif de L'UNIVERSITE de GHARDAIA pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient des efforts considérables pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée*

# Dédicaces

*Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions, je dédie cette réussite à mon très cher père et à ma mère pour leur amour et leur soutien constant qu'il m'ont accordé, et la liberté d'action et la patience nécessaire pour réaliser ce travail. Il est très difficile de choisir les termes pour l'expression de mon amour et de mon respect que DIEU vous garde en bonne santé pour nous*

*A mon adorable grand-mère, mes frères, mes sœurs et mes tantes, de profondeur de mon amour et de ma reconnaissance je vous dédie ce succès que DIEU vous protège et vous offre une vie pleine de joie de bonne heure de succès et de prospérités*

*Enfin je dédie ce travail à toutes les personnes que j'aime et en témoignage des liens qui nous unissent je vous souhaite beaucoup de succès de courage et de bonheur tant professionnel que familiale.*

# Evaluation des activités biologiques d'extraits hydrométhanolique d'une plante adventice (*Chenopodium murale*) de la région de Ghardaïa

## Résumé

Actuellement les recherches récentes orientées vers le remplacement des principes actifs de synthèses par ceux d'origine végétale. Dans ce territoire notre étude s'est intéressée à la valorisation et à l'évaluation des activités biologiques (anti-oxydantes et anticoagulantes) des composés phénoliques extraits de la partie aérienne de *Chenopodium murale* à l'état frais et sec de la région de Ghardaïa (Oued M'Zab) en utilisant un système de solvant méthanol/eau.

L'analyse qualitative de certains métabolites secondaires par le criblage phytochimique a montré la présence des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des quinones, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des saponosides dans les deux extraits de la plante étudié à l'état frais et sec

L'analyse quantitative de certaines classes des composés phénoliques a été effectuée par des méthodes colorimétriques. Les résultats obtenus ont montré que les taux de tous les composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, acides phénols et tanins condensés) sont élevés dans l'extrait de la plante à l'état frais ( $39,31 \pm 0,76$  mg EAG/g,  $35,07 \pm 2,45$  mg ER/g,  $6753,13 \pm 434,05$   $\mu$ g EAC/g et  $5489,64 \pm 1001,23$   $\mu$ g EC/g respectivement), en comparaison avec ceux de l'extrait de la plante à l'état sec.

Le pouvoir antioxydant de ces extraits a été évalué *in vitro* par les tests ABTS, pouvoir réducteur de fer (FRAP) et blanchissement du  $\beta$ -carotène. Les résultats les plus importants pour les trois tests sont obtenus avec l'extrait hydrométhanolique de la plante à l'état frais où les  $CI_{50}$  sont égales à 0,13 mg/ml, 1,98 mg/ml et 0,008 mg/ml pour les tests ABTS, FRAP et blanchissement du  $\beta$ -carotène respectivement.

L'activité anticoagulante des extraits hydrométhanoliques de *C. murale* à l'état frais et sec ont été également évaluée *in vitro* en utilisant les tests du temps de Quick (TQ) et du temps de céphaline activé (TCA). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydrométhanolique de *C. murale* présente une anticoagulante avec des temps de coagulation de l'ordre 49,53s (état frais) et 47,83s (état sec) en comparaison avec le contrôle normal (30.9 s).

**Mots clés :** *Chenopodium murale*, état de la plante, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anticoagulante.

# تقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلص هيدروميثانولي لنبته ضارة (*Chenopodium murale*) من منطقة غرداية

## المخلص

في الوقت الحالي، يتم توجيه الأبحاث الحديثة نحو استبدال المركبات النشطة المصنعة كيميائيا الى مستخلصة طبيعية من النباتات. في هذا المجال، ركزت دراستنا على تثمين وتقييم الأنشطة البيولوجية (مضادات الأكسدة ومضادات التخثر) من المركبات الفينولية المستخرجة من الجزء العلوي لنبته (*Chenopodium* الجداري) في الحالة الجافة والطازجة لمنطقة غرداية (واد مزاب) باستخدام مذيب الميثانول المائي (الميثانول+الماء).

أظهر التحليل النوعي لبعض المستقلبات الثانوية عن طريق الفحص الكيميائي النباتي وجود التانينات، الفلافونويد، الكومارين، الكينون، الفلويدات، التربينويد والسابونوسيدات في كلا المستخلصين من النبات المدروس في شكله الطازج والجاف.

كما تم إجراء التحليل الكمي لفئات معينة من المركبات الفينولية بواسطة الطرق اللونية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستويات جميع المركبات الفينولية (البوليفينول الكلي، الفلافونويد، الأحماض الفينولية والتانينات المكثفة) عالية في مستخلص النبات في الحالة الطازجة، (39,31±0,76 mg EAG/g) ، (35,07±2,45 mg ER/g) ، (6753,13± 434,05 µg) و EAC/g) (5489,64±1001,23µg EC/g) على التوالي بهذا الترتيب، مقارنة مع تلك من مستخلص النبات في الحالة الجافة.

تم أيضا تقييم قوة مضادات الأكسدة لهذه المستخلصات في المختبر من خلال اختبارات ABTS، وقوة ارجاع الحديد (FRAP) وتبييض بيتا كاروتين، فقد تم الحصول على النتائج الأكثر أهمية للاختبارات الثلاثة باستخدام المستخلص الهيدروميثانولي للنبات في الحالة الطازجة حيث يساوي الـ  $CI_{50} = 0.13$  مل/مع، 1.98 مل/مع و 0.008 مل/مع بالنسبة لاختبارات ABTS و FRAP وتبييض  $\beta$  كاروتين على التوالي.

كما تم تقييم النشاط المضاد لتخثر الدم لمستخلصات الهيدروميثانولية في حالتها الطازجة والجافة في المختبر باستخدام الاختبارات الوقئية (TQ) و TCA. حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص الهيدروميثانولي من *C. murale* لديه فعل مضاد للتخثر مع أوقات تجلط = 49,53 ثا بالنسبة للمستخلص في حلتها الطازجة و 47,83 ثا في حلتها الجافة وذلك مقارنة مع الوقت الطبيعي لتجلط الدم والذي يقدر ب 30.9 ثا.

**الكلمات الدالة:** *Chenopodium murale*، حالة النبات، المركبات الفينولية، نشاط مضادات الأكسدة، نشاط مضاد للتجلط.

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>1</b>	Résultats de criblage phytochimique d'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne du <i>C. murale</i> .	<b>24</b>
<b>2</b>	CI <sub>50</sub> des extraits hydrométhanoliques du <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais par le test ABTS	<b>31</b>
<b>3</b>	CI <sub>50</sub> des extraits hydrométhanoliques du <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais par le test FRAP	<b>33</b>
<b>4</b>	CI <sub>50</sub> des extraits hydrométhanolique <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais par le test du blanchiment de $\beta$ -Carotène	<b>34</b>
<b>5</b>	Résultats de test TP pour l'activité anticoagulante de l'extrait du <i>C. murale</i> à l'état frais et à l'état sec	<b>38</b>

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	partie arienne de <i>Chenopodium murale</i> .	10
2	Plan d'étude expérimentale	12
3	Mécanisme réactionnel intervenant entre ABTS et un antioxydant (Zaabat, 2010).	13
4	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (Djahra, 2014).	14
5	Rendement d'extraction du <i>C. murale</i> à l'état frais et à l'état et sec.	23
6	Teneur en polyphénols totaux de l'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne du <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais.	26
7	Teneur en flavonoïdes de l'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne du <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais	27
8	Teneur en acides phénols de l'extrait hydrométhanoliques du <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais.	28
9	Teneur en tanins de l'extrait hydrométhanoliques du <i>C. murale</i> à l'état sec et à l'état frais.	30
10	Temps (seconde) de céphaline activée (TCA) pour l'extrait hydrométhanolique du <i>C. murale</i> À l'état frais et sec	35
11	Résultats de l'activité anti coagulant de test TP (%) de l'extrait du <i>C. murale</i> à l'état sec et frais.	37

## Liste des abréviations

**BHT** : butylhydroxytoluène

**EAC** : équivalent d'acide caféique

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**EC** : équivalent de catéchine

**EOA** : espèces oxygénées activées

**ER** : Equivalent de rutine

**ET** : équivalent de Trolox

**INR** : International Normalised Ratio

**IPL** : inhibition de la peroxydation des lipides

**PP** : polyphénols

**Ps** : poids sec

**TCA** : le temps de céphaline activée

**TP** : temps de prothrombine

**TQ** : temps de Quick

# Table des matières

Remerciements	I
Dédicace	III
Résumé en français	IV
Résumé en arabe	V
Liste des tableaux	VI
Liste des figures	VII
Liste des abréviations	VIII
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I.- Matériel et méthodes</b>	
I.1- Matériel.....	9
I.1.1.- Matériel végétal.....	9
I.1.1.1.- Choix du matériel végétal ou de l'espèce étudiée.....	9
I.1.1.2.- Description botanique.....	9
I.1.1.3.-Répartition géographique.....	9
I.1.1.4. - Position systématique de <i>Chenopodium murale</i> .....	10
I.1.1.5.- Récolte et conservation.....	10
I.2 – Méthodes.....	11
I.2.1.- Extraction.....	11
I.2.2.- Détermination du rendement d'extraction.....	13
I.2.3.-Criblage phytochimique.....	13
I.2.3.1. Tanins.....	13

I.2.3.2. Flavonoïdes.....	14
I.2.3.3. Coumarines.....	14
I.2.3.4. Quinones libres.....	14
I.2.3.5. Saponosides.....	15
I.2.3.6. Stéroïdes.....	15
I.2.3.7. Alcaloïdes.....	15
I.2.3.8. Terpénoïdes.....	15
I.2.3.9. Composés réducteurs.....	15
I.2.4.- Quantification de certaines classes phénoliques.....	15
I.2.4.1.- Dosage des polyphénols totaux.....	16
I.2.4.2.- Dosage des flavonoïdes.....	16
I.2.4.3.- Dosage des acides-phénols.....	16
I.2.4.4.- Dosage des tanins condensés ou proantocyanidines.....	17
I.2.5.- Evaluation des activités biologiques.....	17
I.2.5.1.- Activité anti-oxydante.....	17
I.2.5.2.- Activité anticoagulante.....	19
I.2.5.2.1.- Temps de céphaline activé (TCA).....	19
I.2.5.2.2.- Temps de Quick (TQ).....	20
I.2.6.- Analyse statistique.....	20

## **Chapitrer II.- Résultats et discussions**

II.1.- Rendement d'extraction.....	23
------------------------------------	----

II.2.- Criblage phytochimique.....	24
II.3.- Quantification de certaines classes des composés phénoliques.....	26
II.3.1.- Teneur en polyphénols totaux.....	26
II.3.2.- Teneur en flavonoïdes.....	27
II.3.3.- Teneur en acides phénols.....	28
II.3.4.- Teneur en Tanins condensés.....	30
II.4.- Activités biologiques.....	30
II.4.1.- Activité anti-oxydante.....	31
II.4.1.1.- Inhibition du radical cation d'ABTS <sup>+</sup> .....	31
II.4.1.2.- Pouvoir réducteur de fer.....	32
II.4.1.3.- Inhibition de blanchiment du $\beta$ -Carotène.....	33
II.4.2.- Activités anticoagulante.....	34
II.4.2.1.- Temps de céphaline active (TCA).....	34
II.4.2.2.- Temps de Quick (TQ).....	35
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>43</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>53</b>

# *Introduction*

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Qu'est-ce qui les a guidés à employer une plante plutôt qu'une autre ? Le hasard ? La religion ? La superstition ? L'expérience, certainement. Plusieurs théoriciens ont entrepris d'expliquer l'action des plantes sur l'organisme (Iserin, 1997).

Jusqu'au XIX<sup>e</sup> siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la « pharmacie du bon Dieu » pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes. La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (Iserin, 1997).

Une plante, organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales (Bruneton, 1987).

La phytothérapie, une science à la fois ancestrale et moderne vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques, ces principes ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments (Iserin, 1997). Pas mal des activités thérapeutiques conséquence par l'utilisation des plantes médicinales telle que l'activité antioxydant, anticancéreux, hépatoprotectrice, hémostatique, antifongique, antalgique et anti-inflammatoire... etc (Kühnau, 1976).

N'ignore aujourd'hui la richesse et la diversité des plantes médicinales utilisées. 80 % des habitants de notre planète qui ne se soignent que par les médecines traditionnelles de leur pays car ils n'ont pas accès à la médecine moderne (Kühnau, 1976).

Pendant longtemps, les plantes médicinales et leur préparation constituent la seule source de médicaments. La nature diversifiée par ces habitats est considérée comme une grande usine de fabrication des plantes, celles-ci très diversifiées à leur tour par leur forme et leurs substances. Elle nous fournit l'outil végétal précieux pour la guérison de nos maladies (Boulaacheb *et al.*, 2006).

Une plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des malades. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières

efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation (Schauenberg *et al.*, 2006). Elle porte sur deux origines : les plantes spontanées dites "sauvages" et les plantes cultivées (Bezanger-beauquesne *et al.*, 1986).

La manière la plus courante d'employer les plantes sous forme des tisanes, par la macération, la macération - décoction, l'infusion, la décoction, l'extrait, la teinture, le sirop, le suc frais et la poudre. Il y a aussi d'autre utilisation des plantes médicinales comme des remèdes, par l'inhalation ... etc. (Schauenberg *et al.*, 2006).

Le métabolisme chez les plantes selon Hopkins (2003) c'est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme, il subdivise en deux types : le métabolisme primaire et secondaire. Le terme «métabolite secondaire» qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

En raison de leur valeur au plan économique ou médical, le point d'intention des chercheurs en chimie organique depuis des siècles. La classification de métabolisme secondaire est subdivise en trois classes :

- ❖ Les terpénoïdes (stéroïdes et stérols, les polyterpènes, les saponosides).
- ❖ Les composés phénoliques (les composés phénoliques simples, les coumarines, la lignine, les flavonoïdes et les tanins).
- ❖ Les alcaloïdes (Hopkins, 2003).

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Ils sont Caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton, 1999).

Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental, car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols

chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert, *et al.*, 2005).

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques, comme les activités anti-allergiques, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, anti-microbienne, antivirale, anti-bactérienne, anti-carcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (Middleton, *et al.*, 2000 ; Ksouri, *et al.*, 2007). Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong, Shui, 2006).

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. MEISNER au début du XIX<sup>ème</sup> siècle. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011).

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (Hess, 2002). Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau, ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque (Cowan, 1999).

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth, « *Pistacia Terebinthus* » (Ayad, 2008). En effet les plantes synthétisent plus de vingt-deux mille dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Connolly et Hill 1992). Le terme de terpénoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones de formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) appelé isoprène (Malecky, 2005). Ils sont synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaïssa, 2011). Extraites ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande) (Qureshi et Porter, 1981).

La respiration est un emprunt perpétuel qui dure toute la vie. Peut-on alors considérer l'oxygène comme le nutriment de base ? Mais parfois le métabolisme de l'oxygène lorsqu'il est dérégulé causé des complications telle que le cancer, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les

rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation et vieillissement (Bidie, *et al.*, 2011), peut entraîner de part ce que l'on appelle « le stress oxydant » (Christelle, 2006).

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydants de l'organisme (Haleng, *et al.*, 2007). Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études, les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances ayant des activités antioxydantes (Benammar, 2011).

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (Suhaj, 2006 ; Tadhani, *et al.*, 2007). Ce qui attire l'attention de nombreux laboratoires et chercheurs dans le cadre de la recherche d'antioxydants naturels utilisés dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques d'une part, et d'autre part pour valoriser l'effet préventif de ces métabolites contre les différentes pathologies liées au stress oxydatif (Tlili, 2015).

En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (Vârban, *et al.*, 2009).

L'hémostase est un ensemble de mécanismes que l'organisme met en jeu pour la prévention des saignements spontanés ou pour arrêter les hémorragies par rupture vasculaire. Ce processus comporte schématiquement 3 grandes étapes à savoir :

- l'hémostase primaire : pour la plaie de vaisseaux capillaires ou superficiels.
- la coagulation : concernant la plaie d'un vaisseau de plus gros calibre dont l'hémostase primaire sera renforcée par la coagulation plasmatique qui est nécessaire pour former un caillot de fibrine insoluble et solide.

- La fibrinolyse : à la fin si la cicatrisation du vaisseau sera terminée, les mécanismes de la fibrinolyse (la troisième étape) permettront la dissolution du caillot qui constitue un obstacle à la libre circulation vasculaire (Touitou, 1993).

La coagulation est l'aboutissement d'une cascade de réactions protéolytiques entraînant l'activation en chaîne de facteurs plasmatiques de la coagulation circulant sous forme de précurseurs inactifs (zymogènes) (Ajjan et Grant, 2006). Sous de deux voies d'activations :

- **Voie endogène** : Dans cette voie de coagulation tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur (Vogler, *et al.*, 2009).
- **Voie exogène** : La voie exogène est la voie la plus simple et la plus rapide que la voie endogène, 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 (Colvin, 2004).

L'utilisation des plantes médicinales quelque soit en niveau moderne et ancestral est très vaste dans but de guérir de nombreuses maladies et l'hygiène, néanmoins les plantes médicinales peuvent devenir à une origine adventice. En botanique, une plante adventice est une espèce végétale étrangère à la flore indigène d'un territoire dans lequel elle est accidentellement introduite et peut s'installer. En agronomie, ce terme désigne une plante herbacée ou ligneuse indésirable à l'endroit où elle se trouve, il est aussi utilisé comme synonyme mauvaise herbe (Benkhadoudja, 2011).

Les mauvaises herbes et les plantes spontanées sont des hôtes de différents agents pathogènes (virus, mycoplasmes, nématodes et champignons) et indirectement nuisibles à l'agriculture (Tanji, *et al.*, 1995).

La famille *Chenopodiaceae* qui contient 102 genres et 200 espèces, fait partie des nitrophiles adventices des cultures maraîchères les plus fréquemment rencontrées. Elle peut se révéler extrêmement envahissant et concurrencer la culture de façon très sévère, elle est classée parmi les adventices dicotylédones, leur présence et la nuisibilité dépend des facteurs pédologiques et climatiques. D'après l'étude épidémiologique de Tanji et leurs collaborateurs (1995) d'une région floristique au Maroc ont montré que parmi les espèces adventices obtenues, la présence de *Chenopodiaceae* joue le rôle d'hôtes alternatifs d'agents pathogènes et par conséquent l'espèce *Chenopodium album* d'après Schulter (1972) est un réservoir potentiel de Nématode à tiges d'une part et d'autre par le *Chenopodium murale* d'après DRA, (1976) un réservoir potentiel du virus de la mosaïque du tabac.

Le genre *Chenopodium* est inclus parmi les herbacé, fortement parfumé, plantes annuelles et s'est étendu largement mondialement principalement dans le zone modérée et subtropicale (El Sayed, *et al.*, 1989).

Beaucoup d'espèces de genre *Chenopodium* ont été signalés à posséder des vertus thérapeutiques utilisées en médecine populaire : comme anthelminthique, stomachique, antispasmodique, diaphrénique, emménagogue, pour la douleur de l'aménorrhée, et pour la survie de l'asthme, du catarrhe et de la migraine (Watt et Breyer, 1962 ; Vasishita, 1989). La recherche pharmaceutique moderne confirmée aussi la présence des activités très intéressant de *Chenopodium* comme l'anti-pruritique, anti-bactérienne, anti-fongique et l'activité anti-cancer. (Renata, *et al.*, 2016).

Récemment, l'attention spécial des chercheurs sur quatre espèces de genre *chenopodium* : *C. ambrosioides*, *C. album*, *C. rubrum* et *C. quinoa* à identifie et quantifié les principes actifs ainsi l'évaluation des effets thérapeutiques. Les plantes appartiennent à ce genre sont connu par leur richesse de flavonoïdes, acide phénol et les terpènes (Renata, *et al.*, 2016). Les feuilles de *Chenopodium* sont riches en caroténoïdes et leurs graines riches en protéines et les graisses (Bhargava *et al.*, 2009), une étude réalisée sur quelque espèce de *Chenopodium* a signalé une activité d'agglutination des érythrocytes pour l'espèce *C. ambrosioides* due à la présence hémagglutinine (Suseelan, et Mitra, 2001), et une activité hémolytique de *C. album* causée par la richesse de cette espèce en triterpénoïdes et les saponines (Woldemichael et Wink, 2001).

*Chenopodium murale* ou chénopode de mure, est une plante médicinal et adventice (Neerja, *et al.*, 2007) au même temps. Les observations sur le terrain révèlent que *Chenopodium murale* est en concurrence avec les cultures et entraîne dans la réduction des qualités et des rendements des cultures.

D'une part, l'étude de Najwa, *et al* (2012) sur l'allelopathie de certaine mauvaise herbe sur l'orge, montre que *Chenopodium murale* a un fort effet sur la croissance de l'orge. Les exsudats et les résidus de *Chenopodium murale* affectent la croissance en apportant des composés allélochimiques phénoliques dans la rhizosphère du sol qui inhibe la photosynthèse et par la conséquence empêche la croissance mesurée en poids frais de feuille, en poids sec de feuille et en surface foliaire.

D'autre part, les résultats déclarés par Neerja *et al* (2007) représentent le pouvoir cytotoxique (anti-tumorale) et hypotensive par l'effet de flavonol (Kaempferitrine) d'extrait éthanolique des feuilles de *Chenopodium murale*, ce résultat démontre que l'espèce chenopodium murale possèdent des vertus thérapeutiques.

*Chenopodium murale* est utilisée aussi par la population locale de la région de Ghardaïa pour l'hémostase et l'adhésion des plaies malgré est profonde.

Dans ce contexte, notre étude s'intéresse à évaluer quelque activités biologiques de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne de *Chenopodium murale* en comparant l'état frais et sec de la plante.

Ce travail est restrictif entre deux chapitres précédé par une introduction :

Le premier chapitre est consacré à la présentation du matériel végétal étudié, les différentes méthodes du travail expérimental adoptées ainsi que le matériel utilisé.

Le deuxième chapitre sera réservé à la présentation de tous les résultats obtenus dans notre étude suivi d'une discussion.

Enfin, à l'issu de ce manuscrit, une conclusion générale sera présentée portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives qui sont un ensemble de réflexions achèvent ce travail.

# *Chapitres I :*

# *Matériel et méthodes*

## I. Matériel et Méthodes

### I.1- Matériel

#### I.1.1.- Matériel végétal

##### I.1.1.1.- Choix du matériel végétal ou de l'espèce étudiée

L'espèce choisie dans cette étude est *Chenopodium murale*. Cette espèce est connue comme adventice ou mauvaise herbe pour la culture des céréales. L'utilisation médicinale de cette espèce n'est signalée que dernièrement par quelques familles dans la région de Ghardaïa, cette espèce est utilisée pour la suture des blessures (plaie profondes), cette utilisation traditionnelle nous a conduits à choisir cette espèce afin de valoriser et évaluer différentes activités biologiques de l'extrait hydrométhanolique de la plante à l'état frais et à l'état sec.

##### I.1.1.2.- Description botanique

*C. murale* est une plante annuelle dressée, atteignant 60cm de haut, il est légèrement farineux et ses feuilles sont larges de 2-8 x 1-6 cm, ovées, à bords anguleux, lobées, fortement dentées, en forme de coin de base et de tige longue ou crevassée. Les fleurs sont en épis minces formant des grappes axillaires. Les graines sont fortement carénées, pointillées et horizontales (Bamber, 1916 ; Davis, 1967).

*C. murale* est une plante annuelle croissante, elle fleurit de juillet à octobre et les graines mûrissent d'août à octobre. L'espèce est hermaphrodite (à des organes mâles et femelles) et est pollinisée par le vent, elle convient aux sols légers (sableux), moyens (limoneux) et lourds (argileux), peut pousser dans des sols pauvres en nutriments, PH approprié : sols acides, neutres et basiques (alcalins), elle ne peut pas pousser à l'ombre, préfère les sols humides et peut tolérer la sécheresse (Site web 1).

##### I.1.1.3.- Répartition géographique

*C.M* est une plante médicinale qui pousse dans des endroits inutilisables, sur les ordures, sur les bords des routes et aussi dans les cultures, aux Etats-Unis, au Mexique, au Brésil, en Argentine, en Barbade et en Inde (Robert et Henry, 1991). *C. murale* contient environ 1400 spécimens d'herbes et d'arbustes annuels et pérennes dispersés à travers le monde (Marie, 1965).



Figure 1 (Google image) : Partie arienne de *Chenopodium murale*.

**Nom latin :** *chenopodium murale*.      **Nom commune :** Nettleleaf Goosefoot.

#### I.1.1.4. - Position systématique de *Chenopodium murale*

<b>Règne :</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne :</b>	<b>Tracheobionta</b>
<b>Embranchement :</b>	<b>Spermatophyta</b>
<b>Sous- Embranchement :</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Classe :</b>	<b>Magnoliopsida</b>
<b>Sous-classe :</b>	<b>Caryophyllidae</b>
<b>Ordre :</b>	<b>Caryophyllales</b>
<b>Famille :</b>	<b>Chenopodiaceae</b>
<b>Genre :</b>	<b><i>Chenopodium</i></b>
<b>Espèce :</b>	<b><i>Chenopodium mural L.</i></b>

#### I.1.1.5.- Récolte et conservation

La récolte de la partie aérienne de *C. murale* est réalisée en 15 Janvier et en Février 2018 dans la région de Belghanem–Oued M’Zab (32° 30’ de latitude Nord et à 3° 45’ de longitude) de la wilaya de Ghardaïa (Algérie), puis le matériel végétal est transporté dans des sacs en papier. La quantité de matériel végétal récoltée est divisée en deux, un est utilisé à l’état frais et l’autre est

séché à l'air libre dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière pendant 3 semaines. Après le séchage, le matériel végétal est broyé afin d'obtenir une poudre fine conservée dans des flacons en verre bien fermés.

## **I.2 – Méthodes**

Notre travail a été réalisé au laboratoire de Biologie de l'Université de Ghardaïa, et au laboratoire d'Ibn Rochd d'analyses médicales, Ghardaïa.

### **I.2.1.- Extraction**

L'extraction des principes actifs est effectuée par macération. Cette méthode consiste à laisser tremper la poudre ou des fragments de la plante dans un liquide à la température ambiante pendant 24 heures. Dans cette étude, nous avons utilisé un système de solvants constitué de méthanol et d'eau avec un rapport de 80/20 : v/v. Le rapport solide/liquide utilisé est de 1/10 : p/v, le mélange est filtré. L'opération est répétée trois fois avec renouvellement de système solvant toutes les 24 heures, les trois fractions filtrées sont regroupées et concentrées par le rota-vapeur (Heidolph) à 50 °C. L'extrait concentré obtenu est conservé dans des flacons en verre fumé à +4 °C jusqu'à son utilisation. Les différentes étapes du Protocole d'étude expérimentale sont résumées dans la figure 2.

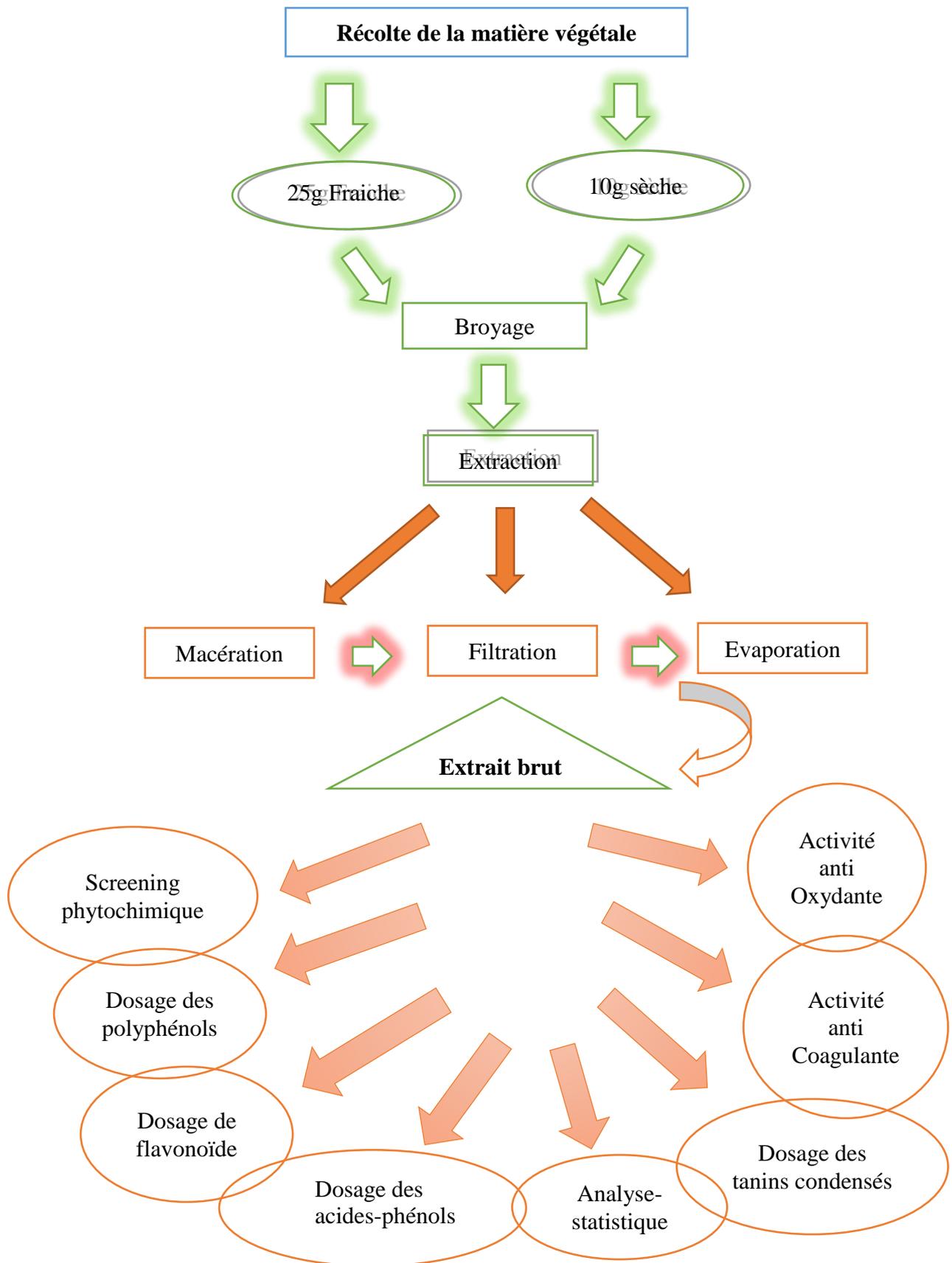


Figure 2 : Plan d'étude expérimental

### I.2.2.- Détermination du rendement d'extraction

Après l'évaporation de solvant par rota-vapeur (Heidolph), les résidus secs de l'extrait sont pesés. Le rendement d'extraction pour chaque extrait est déterminé selon la relation suivante :

$$R\% = \frac{PSe \times 100}{PSmv}$$

R% : Rendement d'extraction (%).

PSe : Poids sec d'extrait (g).

PSmv : Poids sec de matériel végétal (g).

### I.2.3.- Criblage phytochimique.

Le criblage phytochimiques consiste à mettre en évidence la présence des différentes familles des métabolites primaires et secondaires existants dans les parties aériennes de *Chenopodium murale*.

#### I.2.3.1. Tanins

La présence des tanins est mise en évidence par l'addition à 1 ml de l'extrait de la plante, 2 ml d'eau et de 2 à 3 gouttes d'une solution de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1%. L'apparition d'une coloration bleue-noire ou bleu-vert indique la présence des tanins (Trease et Evans, 1987). La différenciation des tanins (cathéchiques et galliques) est obtenue grâce au réactif de Stiasny (10 ml de formol (35%) + 5ml d'acide chlorhydrique R). Sur 30 ml d'extrait on ajoute 15 ml de réactif de Stiasny, ensuite la solution est chauffée au bain marie pendant 15 à 30 minutes. L'apparition d'un précipité de couleur rose clair montre la présence des tanins catéchiques. Après filtration, le filtrat est saturé avec 10 ml d'une solution d'acétate de sodium (1%), suivi par l'ajout de quelques gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (Mibindzou Mouellet, 2004).

### I.2.3.2. Flavonoïdes.

Les flavonoïdes, pigments quasiment universels des végétaux, constituent une grande famille de composés abondamment présents dans les plantes (Mamadou, 2012).

#### a) Les anthocyanes

À 5 ml d'extrait on ajoute 5 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH). Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne la présence d'anthocyanes (Mibindzou Mouellet, 2004).

#### b) Réaction à la Cyanidine.

À 5 ml d'extrait, on ajoute 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée et acide chlorhydrique en volumes égales de 5 ml) ensuite quelques copeaux de magnésium sont ajoutés ainsi qu'un volume de 1 ml d'alcool isoamylique. L'apparition d'une coloration sur la couche surnageant d'alcool isoamylique indique la présence des flavonoïdes libres (génine) :

- Une coloration rose-orangée indique la présence des flavones.
- Une coloration rose-violacée indique la présence des flavanones.
- Une coloration rouge indique la présence des flavonols et des flavanonols. On effectue la réaction de la cyanidine sans ajouter des copeaux de magnésium et on chauffe pendant 10 minutes au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée, les catéchols donnent une teinte brune-rouge (Mibindzou Mouellet, 2004).

### I.2.3.3. Coumarines.

À un volume de 2 ml de l'extrait sont ajoutés 3 ml de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence des coumarines (Diallo, 2000).

### I.2.3.4. Quinones libres.

L'ajout de quelques gouttes de NaOH (1%) à 5 ml d'extrait conduit au développement d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libre (Dohou, 2004).

### **I.2.3.5. Saponosides**

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait, la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes. La présence des saponosides est évaluée comme suit :

- Pas de mousse = test négatif.
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- Mousse de 1-2 cm = test positif.
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (Trease et Evans, 1987).

### **I.2.3.6. Stéroïdes**

Dans une capsule, on introduit 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de l'extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (Harborne, 1998).

### **I.2.3.7. Alcaloïdes**

Un volume de 1 ml d'extrait est mélangé avec 5 ml d'acides chlorhydrique (1%), puis le mélange est chauffé au bain marie. Ensuite, ce mélange est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer (1,36g HCl ; 5g KI ; eau distillée q.s.p 100 ml), l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner (2g KI ; 1,27g d'iode ; eau distillée q.s.p. 100 ml). La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

### **I.2.3.8. Terpénoïdes**

Un volume de 5 ml d'extrait est ajouté à 2 ml de Chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence de Terpénoïdes (Telli, 2017).

### **I.2.3.9. Composés réducteurs**

Pour mettre en évidence la présence des composés réducteurs, 1ml de l'extrait est mélangé avec 2 ml d'eau distillée et 2 ml de la liqueur de Fehling puis les tubes sont chauffés au

bain marie à 40° C. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Telli, 2017).

## **I.2.4.- Quantification de certaines classes phénoliques**

### **I.2.4.1.- Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été fait par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). Chaque extrait (40 µl) ou l'acide gallique (0-800 µg/ml) est mélangé avec 1,8 ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée). Après un repos de 5 min, 1,2 ml de la solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5 %) est ajouté au mélange. Après une homogénéisation vigoureuse puis un repos de 60 min à l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesuré à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Les résultats sont exprimés en mg en équivalent d'acide gallique EAG/g (Annexe 1) de poids sec (PS) de matériel végétal (Shui et Leong, 2006).

### **I.2.4.2.- Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Kim *et al.* (2003). Un volume de 1 ml de l'extrait est dilué avec 4 ml de l'eau distillée. Ensuite, 0,3 ml de solution de nitrite de sodium NaNO<sub>2</sub> (5%) est ajouté. Après 5 min, 0,3 ml de solution de chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> (10%) est ajouté. Le mélange est laissé au repos pendant 5 min, puis 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium NaOH (1 M) sont additionnés. Le volume de ce mélange est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. Après agitation, l'absorbance est mesurée immédiatement à 510 nm un spectrophotomètre UV-Visible. La gamme étalon est préparée avec la rutine (0,05-0,5 mg/ml) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine ER/g (Annexe 2) de poids sec de matériel végétal.

### **I.2.4.3.- Dosage des acides-phénols**

L'estimation des acides-phénols est effectuée selon la méthode d'Arnov (Szauffer-Hadjrych, 2004). Un volume de 1 ml d'échantillon est mélangé à 5 ml de l'eau distillée, puis 1 ml d'HCl (0,5 M), 1 ml de réactif d'Arnov (solution aqueuse de molybdate de sodium 10% (p/v) et nitrite de sodium 10% (p/v)), et 1 ml d'hydroxyde de sodium (1 M) a été additionné. Le volume du mélange réactionnel est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. L'acide caféique a été utilisé comme référence pour la préparation de la courbe d'étalonnage avec des concentrations allant de 0 à 200 µg/ml. Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide caféique EAC/g (Annexe 3) de poids sec de matériel végétal.

#### I.2.4.4.- Dosage des tanins condensés ou proantocyanidines

La méthode décrite par Sun *et al.* (1998), est celle de la vanilline-HCl. A 0,2 ml de l'extrait, 1 ml de la solution fraîchement préparée de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCl (98:2, v/v) est ajouté. Après incubation à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. L'étalonnage est réalisé avec de la catéchine (de 0 à 1 mg/ml) et le taux des tanins condensés est calculé en  $\mu\text{g}$  en équivalent de catéchine EC/g (Annexe 4) de poids sec de matériel végétal.

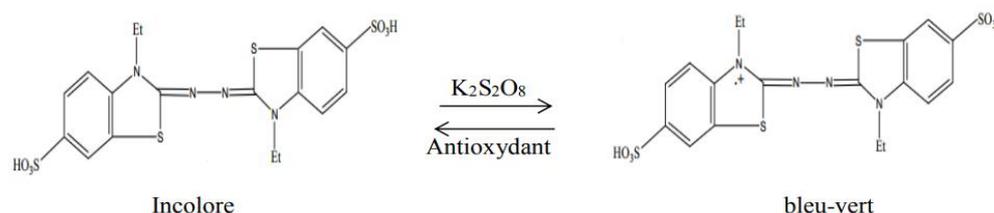
#### I.2.5.- Evaluation des activités biologiques

##### I.2.5.1.- Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits du *C. mural* est déterminée selon les méthodes suivantes :

##### A. Test d'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid))

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radicale cation  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  de coloration bleu-vert en le transformant en  $\text{ABTS}^+$  incolore (Zaabat, 2010) (Fig.4).



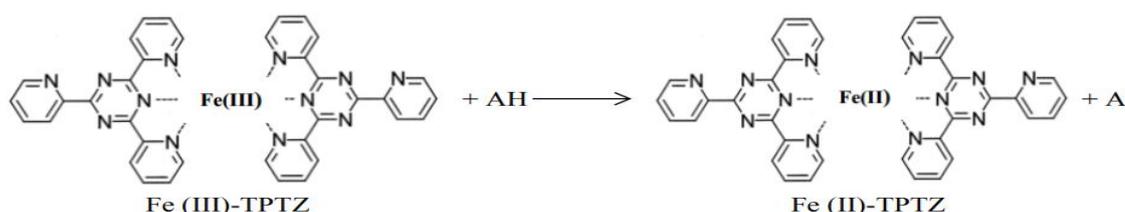
**Figure 3 :** Mécanisme réactionnel intervenant entre ABTS et un antioxydant (Zaabat, 2010).

La solution de radical d' $\text{ABTS}^{+\cdot}$  est préparée par la réaction entre une solution d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  (2,45 mM) incubées à 23 °C pendant 12 à 16 heures, à l'obscurité. La solution d' $\text{ABTS}^{+\cdot}$  est diluée avec l'éthanol (80%) jusqu'à l'obtention d'une absorbance égale à  $0,700 \pm 0,020$  à 734 nm (Cai *et al.*, 2004). Un volume de 3,9 ml de cette solution est mélangé avec 0,1 ml de l'échantillon testé, préparé à différentes concentrations (50, 100, 200, 400, 600, 800  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) pour l'extrait frais. Mais pour l'extrait sec on a changé les concentrations (05, 10, 15, 20, 25, 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Le mélange est agité vigoureusement. Après un repos de 6 min à 23 °C, l'absorbance est mesurée à 734 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue en utilisant une solution éthanolique de Trolox (acide carboxylique 6-hydroxy-2,5,7,8-

tetraméthylchroman) à différentes concentrations (0 à 500  $\mu\text{M}$ ). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{M}$  en équivalent de Trolox ET/g (Annexe 5) de poids sec de matériel végétal.

## B. Pouvoir réducteur du fer (FRAP, ferric reducing ability of plasma)

Cette méthode est basée sur la réduction de fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) par un agent antioxydant donneur d'électron. La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) à la couleur bleu-vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en utilisant le TPTZ. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 593 nm (Djahra, 2014).



**Figure 4** : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (Djahra, 2014).

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) est déterminé dans les différents extraits, selon la méthode de Benzie et Strain (1996) avec de légères modifications (Jaitak *et al.*, 2010). Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de 2, 4,6-Tris (2-pyridyl) -1, 3,5-triazine ferrique (TPTZ- $\text{Fe}^{3+}$ ) au ferreux (TPTZ- $\text{Fe}^{2+}$ ), une forme colorée obtenues en présence d'un agent antioxydant (Figure 3). Le réactif FRAP est préparé à partir de tampon acétate (0,3 M, pH 3,6), de TPTZ 10 mM en solution dans de l'HCl 40 mM et d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  (20 mM) en proportion de 10 :1 :1 (v/v) respectivement. 1 mg de chaque extrait est dissouts dans 5 ml d'éthanol aqueux (70%) puis dilué pour obtenir différentes concentrations (2.5, 05, 10, 15,20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) pour l'extrait frais. Mais pour l'extrait sec on a changé les concentrations (10, 15, 20, 25, 50,100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). 50  $\mu\text{l}$  de ces solutions sont ajoutés à 1,5 ml de réactif FRAP. L'absorbance du mélange réactionnel est ensuite mesurée à 593 nm après 4 min par rapport à l'éthanol aqueux à 70% (Jaitak *et al.*, 2010). Le Trolox a été utilisé comme standard (0 à 800  $\mu\text{M}$ ) et les résultats sont exprimés en  $\mu\text{M}$  équivalent de Trolox (Annexe 6).

## C. Test de blanchissement de bêta carotène

Le pouvoir des différents extraits à inhiber la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique est déterminé par la méthode décrite par Kelen et Bektas (2007). Une solution de  $\beta$ -carotène/acide linoléique est préparée. 0,5

mg de  $\beta$ -carotène a été dissous dans 1 ml de chloroforme, la solution obtenue est introduite dans un ballon contenant 25  $\mu$ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 20. Le chloroforme est évaporé au rotavapor. Ensuite 100 ml d'eau oxygénée sont ajoutés avec agitation vigoureuse. 350  $\mu$ l de l'extrait à différentes concentrations (50, 100, 200, 400, 600, 800  $\mu$ g/ml) et d'un antioxydant de référence (butylhydroxytoluène BHT solubilisé dans du méthanol (2 mg/ml)) sont additionnés à 2,5 ml de l'émulsion précédente. Le mélange est incubé à température ambiante, 48 heures et l'absorbance est mesurée à 490 nm après 20 min durant les deux premières heures puis après 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h et 48 h. Les capacités antioxydantes des différents échantillons ont été comparées avec celles des antioxydants de référence (butylhydroxytoluène BHT). L'inhibition de la peroxydation des lipides (IPL) est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{IPL}\% = \frac{\text{teneur en } \beta\text{-carotène après 2 heures de l'essai}}{\text{teneur initiale de } \beta\text{-carotène}} \times 100$$

### I.2.5.2.- Activité anticoagulante

L'effet de l'extrait du *C. murale* sur la coagulation du sang, est évalué par des tests de coagulation qui sont le temps de prothrombine (TP), le temps de céphaline activée (TCA) à l'aide d'un Coagulomètre. Le plasma utilisé est obtenu à partir du sang de sujets sains (25-45ans). Le prélèvement est fait par ponction veineuse. Le sang est mélangé au citrate tri-sodique (3,8%) et centrifugé (2400 t/mn, 20 mn) pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma citraté est recueilli et stocké à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à utilisation (Zhang *et al.*, 2010).

- Le temps de céphaline activée (TCA), est un test de la voie intrinsèque (indication des facteurs VIII, IX, XI et XII).
- Le temps de prothrombine (TP), est un test de la voie extrinsèque (indication des facteurs V, VII et X, II). Les résultats de se tests sont exprimés en temps de Quick (TQ) en secondes.
- Le TQ est convertie en taux de prothrombine (%) et en International Normalised Ratio (INR) correspondant à l'aide d'un tableau de conversion (Yoon *et al.*, 2002).

#### I.2.5.2.1.- Temps de céphaline activé (TCA)

TCA est le temps de coagulation d'un plasma citraté en présence d'un activateur et du calcium. il explore la voie intrinsèque de la coagulation (Lehot et Arvieux, 2011). Dans ce test, la voie de coagulation est activée par le contact entre le facteur XII et la surface de l'activateur qui est le kaolin (substitut du collagène et de tissu conjonctif *in vivo*). Cette interaction induit

l'activation du facteur XII et par conséquent l'activation séquentielle des facteurs XI, IX, X et le facteur II qui et la trombine (Manallah, 2012).

#### **I.2.5.2.2.-Temps de Quick (TQ)**

Un TQ normal est compris entre 12 et 14 secondes selon les réactifs utilisés (Caquet, 2004). Le temps de Quick (TQ) correspond au temps mis par un plasma citraté pour coaguler en présence de thromboplastine calcique, réactif jouant un rôle d'activateur tissulaire de la coagulation (Rachline, 2012). Le temps de coagulation est déterminé à 37°C. Le temps de Quick ainsi mesuré pourra être converti en taux de prothrombine (TP) ou en International Normalized Ratio (INR) (Biolabo, 2013).

#### **I.2.6.- Analyse statistique**

Les résultats sont présentés en moyen  $\pm$  écart type de trois répliques analytiques. Les données sont soumises à une analyse par le test de Student pour comparer les moyennes des deux échantillons, la valeur  $P < 0.05$  était considérée comme indicatif de déférence significative.

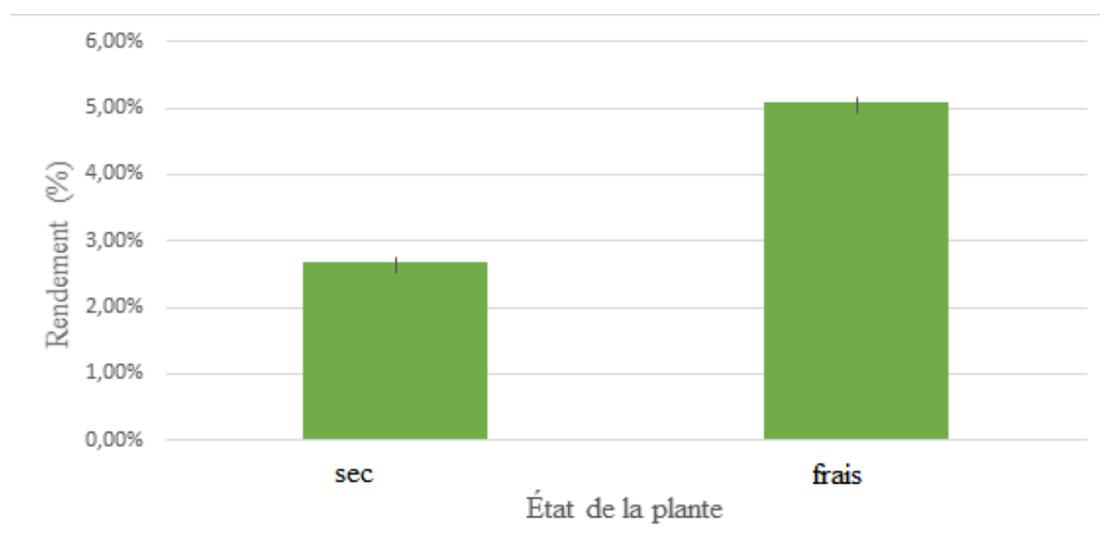
La régression linéaire a été utilisée comme model afin de déterminer  $CI_{50}$ . La corrélation entre les paramètres étudiés est effectuée par le test de Pearson. Toutes les analyses statistiques sont réalisées par le logiciel XLSTAT 2009.

# *Chapitre II :*

## *Résultats et discussion*

## II.1.- Rendement d'extraction

Les résultats du rendement d'extraction du *Chenopodium murale* à l'état frais et sec sont représentés dans la figure 5.



**Figure 5 :** Rendement d'extraction du *C. murale* à l'état frais à l'état et sec.

Il est à noter que l'extrait hydrométhanolique du *C. murale* à l'état frais a enregistré le rendement le plus élevé qui est de l'ordre de  $5,08 \pm 0,15$  % en comparaison avec celui à l'état sec  $2,68 \pm 0,08$  %.

La comparaison entre les deux échantillons (sec et frais) de la plante étudiée par le test de Student montre que il y a une différence hautement significative ( $P < 0.0001$ ).

D'une manière générale, le rendement d'extraction varie en fonction de la nature du solvant utilisé pour l'extraction, la période et le lieu de la récolte ainsi que la durée de séchage. La méthode d'extraction peut influencer elle-même sur le rendement d'extraction (Djahra, 2014 ; Ghedadba *et al.*, 2014).

Comme le solvant d'extraction utilisé dans cette étude est le méthanol, la variabilité des résultats obtenus semble être due à la solubilité de certaine molécule dans l'eau. Ce qui améliore ainsi le transfert de masse et augmente le rendement d'extraction. Il apparait aussi que l'état de la plante a un effet sur le rendement d'extraction.

Dans toute longue dure de séchage la plante peut être perte le principe actif par phénomène de biotransformation, la volatilisation de certaine compose volatile.

Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Mohammedi, 2006).

## II.2.- Criblage phytochimique

Le screening phytochimique d'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne du *C. murale* (à l'état frais et sec) nous a permis de mettre en évidence la présence des différents métabolites (primaire et secondaires). Les résultats obtenus sont présentés dans tableau 1

**Tableau 1** : Résultats de criblage phytochimique d'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne du *Chenopodium murale*.

		extrait de la plante sèche	extrait de la plante fraîche
Tanins	cathéchiques	-	-
	galliques	+	+
Flavonoïdes	a) Les anthocyanes		
	b) Réaction à la cyanidine		
	➤ Flavones	-	-
	➤ Flavanones	-	-
	➤ Flavonols	-	-
	➤ Flavanonols	-	-
	➤ Leucoanthocyanes	+	-
➤ Catéchols	-	+	
Coumarines		+	+
Quinones		+	+
Alcaloïdes		+	+
Terpénoïdes		+	+
Saponosides		+	+
Stéroïdes		-	-
Composé réducteurs		-	-

+ : présence ; - : absence.

Le criblage phytochimique de l'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne de *Chenopodium murale* à l'état frais et sec, montre que cette espèce riche en tanins galliques (hydrolysables), flavonoïdes, coumarines, quinones, alcaloïdes, terpénoïdes et saponines. Ces deux extraits sont caractérisés par l'absence des stéroïdes et des composés réducteurs. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, ou un changement de couleur (Kanoun, 2011).

La richesse de cette espèce en différentes classes des métabolites secondaires peut être expliquée par le fait que la plante produit ces métabolites afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposés par le climat et le milieu aride (Rira, 2006).

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (Ouedraogo, 2001), ce qui peut justifier l'utilisation de *Chenopodium murale* en médecine traditionnelle.

En effet, les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (Ribéreaugayon et Reynaud, 1968). Aussi, les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologiques. Protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation. Ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti-radriculaire (Makhloufi, 2010). D'après Vijay et Padmaa, (2011), la propriété hépatoprotectrice d'extrait hydrométhanolique de *C. murale* due probablement a la présence des flavonoïdes.

En parallèle, on note la présence de tanins, ce composé qui donne un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Eberhard *et al.*, 2005). Les plantes peuvent produire des substances phénoliques (tannoïdes) en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs : déficience en éléments nutritifs, sécheresse, températures élevées et l'intensité lumineuse (Rira, 2006).

Le screening phytochimique montre que le *C. murale*, contient des coumarines, ces derniers sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et pyroxyles importants dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires, ils ont une activité antiperoxydante. (Diallo, 2005).

Les résultats montrent la présence des composés terpéniques qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. Ils sont connus par leur activité insecticide (Bruneton, 1999). La présence

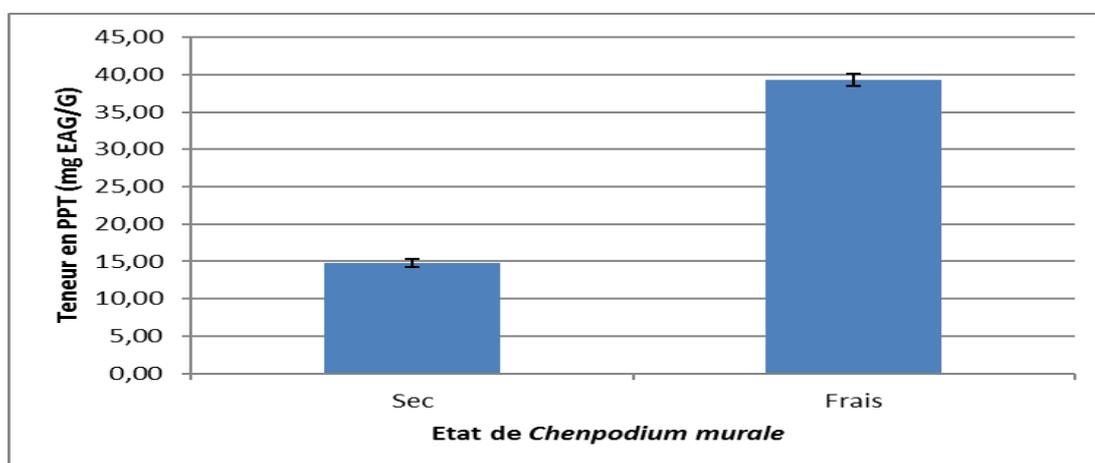
des saponines et les terpénoïdes dans l'extrait hydrométhanolique du *C.murale* (Abbas *et al.*, 2012), prouve le potentiel antioxydant d'essence de ce taxon (Ali *et al.*, 2001).

La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses (Milcent et Chau, 2003). Ils jouent, à faibles doses, le rôle d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'anti-parasitaires, d'anti-paludique, d'anti-tumoraux et d'amoebicides (Chenni, 2010).

### II.3.- Quantification de certaines classes des composés phénoliques

#### II.3.1.- Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du *C. murale* à l'état frais et sec sont représentées dans la figure suivante 6 :



**Figure 6** : Teneur en polyphénols totaux de l'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne du *C. murale* à l'état sec et à l'état frais.

D'après ces résultats, nous constatons que la teneur en polyphénols totaux la plus élevée est obtenue avec l'extrait du *C. mural* à l'état frais qui est de l'ordre de  $39,31 \pm 0,76$  mg EAG/g, alors que l'extrait de cette espèce à l'état sec présente un taux faible égal à  $14,80 \pm 0,59$  mg EAG/g.

Le test de Student effectué montre qu'il y a des différences très hautement significatives ( $P < 0,0001$ ) entre les extraits de deux états (frais et sec), en ce qui concerne la quantité des polyphénols totaux (annexe 7).

Ces résultats montre l'effet de l'état (sec ou frais) de l'espèce sur la quantité des composés phénoliques extraite. La quantité des polyphénols dans les plantes dépend de nombreux facteurs intrinsèque (génétique) et extrinsèque (environnemental, récolte, séchage et stockage) (Bammou

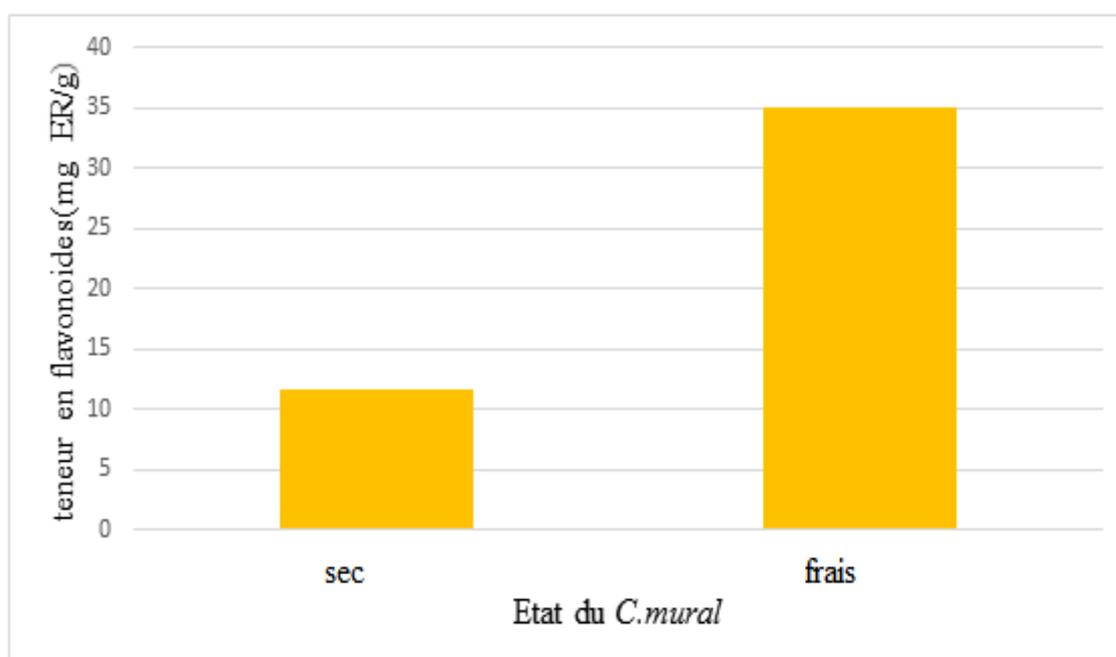
*et al.*, 2015), et selon Falleh *et al.*, (2008) la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement et la durée de séchage de la plante. On peut déduire d'après ces remarques que le séchage à une influence sur les teneurs en composés phénoliques.

Dans la littérature, il n'y a pas des travaux réalisés sur la teneur en composés phénoliques de *Chenopodium murale*, mais les études effectuées sur le genre *Chenopodium* ont montré que les espèces de ce genre sont riches en polyphénols. Cependant, nos résultats concernant la teneur en PPT, est très importante en comparaison avec les résultats obtenus par Renata, *et al.*, (2016) concernant leur étude comparative entre quatre espèces de genre *Chenopodium* montre la richesse en PPT avec des valeurs varie entre  $1.01 \pm 0.43$  et  $3.92 \pm 0.38$  GAE mg/g. ce qui a nous confirme le trop richesse de notre plante en PPT,

Aussi en terme de comparaison avec la teneur en PPT chez *C. Album* d'extrait des feuilles est de l'ordre de 44.2  $\mu$ g GAE/mg du PPT (Dasgupta et De, 2007).

### II.3.2.- Teneur en flavonoïdes.

La quantification des flavonoïdes des extraits de *Chenopodium murale* est effectuée et les résultats obtenus sont présentés dans la figure 7.



**Figure 7** : teneur en flavonoïdes de l'extrait hydrométhanoliques de la partie aérienne du *C. murale* à l'état sec et à l'état frais.

Selon la figure 7, il apparaît que l'extrait de la partie aérienne de *C. murale* à l'état frais a enregistré le taux le plus élevé en flavonoïdes ( $35,07 \pm 2,45$  mg ER/g) par rapport à celui de l'extrait de cette espèce à l'état sec ( $11,64 \pm 0,72$  mg ER/g).

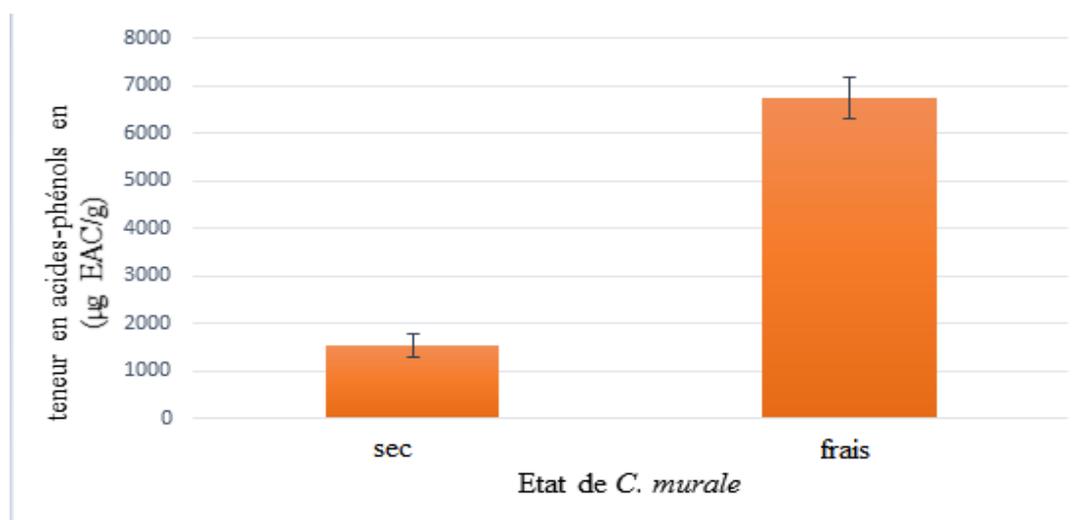
Le test de Student effectué montre que les états de l'extrait hydrométhanolique sec et frais de *C. murale* ont des effets significatifs sur le taux des flavonoïdes ( $P < 0,0001$ ) (Annexe 8).

La différence remarquée entre les extraits de l'espèce étudiée peut être due à la perte des quantités importantes des flavonoïdes durant le séchage. En effet, Catherine (2008) a signalé que dans la classe des flavonoïdes il y a des molécules volatiles au même titre que l'eau, et qui vont, en toute logique, s'évaporer en partie au cours du séchage.

Notre résultat représenté la richesse de *C. murale* en flavonoïdes en comparant avec la bibliographie. Ljubica Adji *et al*, (2015) ont identifié et quantifié les flavonoïdes de *Chenopodium botrys* de différentes régions de République de Macédoine, trouvent la teneur en flavonoïdes comprise de 7.35 à 16.33 mg QE/g.

### II.3.3.- Teneur en acides phénols

Les résultats obtenus par le dosage colorimétrique des acides phénols de la partie aérienne de *C. murale* sont représentés dans la figure 8.



**Figure 8 :** Teneur en acides phénols de l'extrait hydrométhanolique de *C. murale* à l'état sec et à l'état frais.

D'après les résultats présentés dans la figure 8, nous constatons que l'extrait frais du *C. murale* a la concentration la plus élevée en acides phénols ( $6753,13 \pm 434,05$   $\mu\text{g EAC/g}$ ), alors que l'extrait de l'espèce étudiée à l'état sec a une concentration faible ( $1532,97 \pm 236,25$   $\mu\text{g EAC/g}$ ).

Le test de Student effectué montre qu'il y a des différences significatives entre les états de la plante ( $P < 0,0001$ ) (Annexe 9).

La différence enregistrée entre les extraits de deux états de taxon choisi peut être expliquée par le fait que de séchage et leur durée qui peut influencer sur les teneurs en composés phénoliques par les réactions enzymatique durant le séchage, la biotransformation ainsi que la température (Falleh *et al.*, 2008).

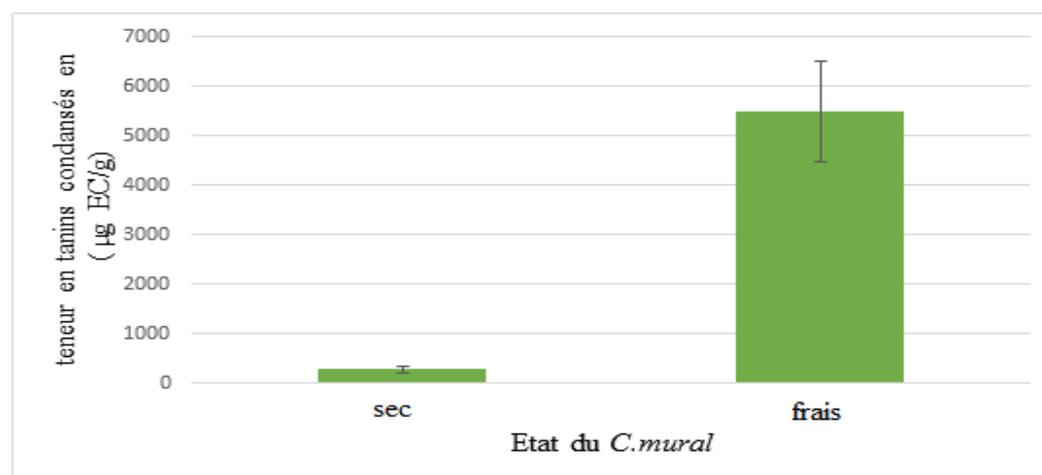
Il ressort de ces résultats que la concentration des acides phénols est élevée dans l'extrait hydrométhanolique du *C. murale*, ceci peut être due à la grande solubilité par la formation des liaisons ester entre fonction acide d'un acide phénol et un OH du méthanol comme les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique (acide 4-coumarique, acide caféïque, acide férulique et acide sinapique).

La solubilité des acides phénols dépend de la nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimique influençant sur l'extraction (Garcia-Salas *et al.*, 2010 ; Koffi *et al.*, 2010).

Dans la bibliographie, en terme de comparaison qui effectué entre nos résultats avec de celui d'Abdul Hafeez, *et al.*, (2011) sur le *C. album* montre la présence des acides phénols en niveau des feuilles et des fruits de la plante étudié. La récolte effectuée entre les mois décembre, janvier et février, les résultats obtenus sont 5.04 mg/100g, 7.88 mg/100g, 8.01 mg/100g respectivement pour l'extrait méthanolique des feuilles, et 8.36 mg/100g, 12.88 mg/100g, 14.27 mg/100g respectivement pour l'extrait méthanolique des fruits. Les valeurs sont augmentées au cours des périodes de la récolte.

### II.3.4.- Teneur en Tanins condensés

La figure 9 présente la variabilité des concentrations des tanins condensés pour les extraits hydrométhanolique du *C. murale* à l'état frais et sec.



**Figure 9 :** Teneur en tanins de l'extrait hydrométhanoliques du *C. murale* à l'état sec et frais.

Ces résultats montrent que la teneur en tanins condensés est très élevée dans l'extrait hydrométhanolique du *C. murale* à l'état frais ( $5489,64 \pm 1001,23 \mu\text{g EC/g}$ ) en comparaison avec celle de l'extrait de la plante à l'état sec ( $276,52 \pm 55,71 \mu\text{g EC/g}$ ) (Fig. 9). La différence enregistrée entre les deux extraits semble être due au séchage.

La comparaison entre les deux échantillons (sec et frais) est effectuée par le calcul de test de Student. Les résultats obtenus ont montré qu'il y a des différences très hautement significatives ( $P < 0,001$ ) entre les deux états de la plante (Annexe 10).

D'après ces résultats on peut dire que, l'état de la matière végétale (sec ou frais) influence sur la concentration des tanins condensés. L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique ; du solvant utilisé et des conditions de l'extraction (Chavan *et al.*, 2001).

Cette différence est principalement liée à la composition chimique de la plante qui est influencée par des facteurs écologiques (sol, climat, humidité, période de la récolte...) et par les conditions expérimentales au laboratoire, particulièrement les méthodes d'extraction (macération, décoction, infusion...) et les solvants organiques utilisés (eau, méthanol, acétones...) (Bercisse, 2015).

## II.4.- Activités biologiques

### II.4.1.- Activités antioxydantes

Les composés phénoliques sont connus par leurs activités biologiques diverses notamment antioxydantes.

L'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne du *C. murale* à l'état frais et sec a été évaluée par trois tests à savoir l'ABTS, FRAP et blanchissement du  $\beta$ -carotène.

#### II.4.1.1.- Inhibition du radical cation d'ABTS<sup>•+</sup>

Les résultats de l'inhibition du radical cation ABTS<sup>•+</sup>, exprimés en CI<sub>50</sub>, sont illustrés dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** CI<sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits hydrométhanoliques du *C. murale* à l'état frais et à l'état sec par le test d'ABTS

Extrait	CI <sub>50</sub> (mg/ml)
Etat frais	0.13
Etat sec	19.42
Trolox	0.39

Il ressort des résultats présentés dans le tableau 2 et comme la faible valeur de CI<sub>50</sub> par rapport à l'antioxydant de synthèse (standard) signifie la forte activité antioxydant, on observe que l'extrait de *C. murale* à l'état frais a un puissant pouvoir inhibiteur du radical cation ABTS<sup>•+</sup> avec une valeur de CI<sub>50</sub> égale à (0.13 mg/ml) plus que l'extrait de la plante à l'état sec (19.42 mg/ml) en comparant avec l'antioxydant standard utilisé dans cette étude : le Trolox (0.39 mg/ml).

Il apparaît que le séchage de la plante a une influence sur les composés caractérisés par leur puissante activité antioxydante.

D'après la matrice de corrélation entre le pouvoir antioxydant ABTS et les teneurs en composés phénoliques ainsi le coefficient de corrélation de Pearson (annexe 14-15), révèlent qu'aucune corrélation existe entre ces deux variables.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Amamri et Cheikh, 2016).

Une étude faite par Kang *et al.* (2003) a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire. L'analyse phytochimique de nos extraits montre la présence d'autre molécules peuvent ayant la capacité antioxydant ce qui démontré par Mohammedi, 2006, que la présence d'autres composées ayant la capacité de donner des électrons, tels que les terpénoïdes (monoterpène et sesquiterpène).

#### II.4.1.2.- Pouvoir réducteur de fer

Les résultats de l'activité antioxydant évaluée par le test FRAP des extraits hydrométhanoliques de *C. murale* à l'état frais et sec ainsi que le standard (Trolox), exprimée en  $CI_{50}$  (mg/ml) sont illustrés dans le tableau 3.

**Tableau 3 :**  $CI_{50}$  des extraits hydrométhanoliques de *C. murale* à l'état frais et à l'état sec par le test FRAP.

Extrait	$CI_{50}$ (mg/ml)
Etat sec	4,51
Etat frais	1,98
Trolox	1,22

Selon le tableau 3, nous constatons que l'extrait hydrométhanolique du *C. murale* à l'état frais a un pouvoir réducteur de fer plus important que celui d'extrait de cette espèce à l'état sec.

On observe que les extraits de *C. murale* a l'état frais et sec on des  $IC_{50}$  de (1,98mg/ml) et (4,51mg /ml) supérieure à celle de Trolox (1,22 mg/ml).

La comparaison entre les deux échantillons (sec, frais) par le calcul de t de Student Pour le pouvoir antioxydant FRAP, prouve une variation significative ( $P < 0.05$ ) (Annexe 12).

Selon la matrice de corrélation de nos extraits, l'extrait frais représente aucune corrélation entre le pouvoir antioxydant et les composés phénoliques d'après les calculs de coefficient de corrélation (annexe 14), par contre l'état d'extrait sec on remarque la présence d'une corrélation négative entre le pouvoir antiradicalaire et le composé PPT (annexe 15 A) avec un coefficient de corrélation ( $R=0,998$ ) (annexe 15 B).

D'une manière générale et d'après nos résultats, la présence d'autres molécules non phénoliques ont la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. Ce qui est confirmé par notre résultat phytochimique des extraits.

#### II.4.1. 3.- Inhibition du blanchiment de $\beta$ -Carotène

Dans ce test, l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique est mesurée en présence du  $\beta$ -carotène qui est employé comme marqueur. Les valeurs de  $CI_{50}$  ont été calculées et sont présentées dans le tableau 4.

**Tableau 4 :**  $CI_{50}$  des extraits hydrométhanolique *C. murale* à l'état sec et à l'état frais, par le test du blanchiment de  $\beta$ -Carotène

Extrait	$CI_{50}$ (mg/ml)
Etat frais	0,008
Etat sec	0,013
BHT	0,032

Les résultats de  $CI_{50}$  obtenus montrent que les deux extraits exercent un grand effet préventif contre l'oxydation de  $\beta$ -carotène par les radicaux peroxydes. L'ordre de 0.008 mg/ml pour l'extrait frais, et 0.013 mg/ml pour l'extrait sec. Ces valeurs sont inférieures à celle de standard BHT (0.032 mg/ml) qui signifie le fort pouvoir inhibiteur de blanchiment de  $\beta$ -Carotène de nos extraits.

Des études récentes ont mis en évidence que la polarité et l'hydrophobicité des agents antioxydants sont deux facteurs importants dans les systèmes de biomembranes (Terpinc, *et al.*, 2009). C'est la raison pour laquelle beaucoup de chercheurs de l'activité antioxydante choisissent le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplés à celle du  $\beta$ -carotène comme

modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreria, *et al.*, 2006).

Chez *C. murale*, le kaempferol et la quercétine sont les principaux composés dans l'espèce d'après les résultats d'étude d'Al-Jaber (2008). Ces deux constituants sont dotés d'avoir une forte activité antioxydante.

Les résultats de la matrice de corrélation et les coefficients, montre l'absence d'une intervention des différentes composés de nos extraits étudiés dans l'Inhibition du blanchiment de  $\beta$ -Carotène (14A, 15A). Ces résultats n'infirmant pas la richesse de nos extraits par des composants non phénoliques participé dans l'Inhibition du blanchiment de  $\beta$ -Carotène.

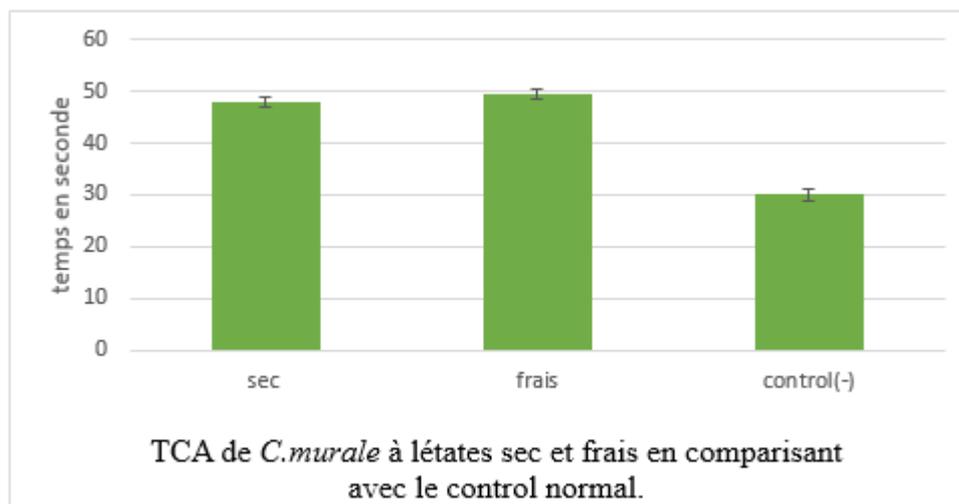
#### II.4.2.- Activités anticoagulante

L'évaluation de la capacité anticoagulante de l'extrait du *C. murale* à l'état sec et frais est réalisée *in vitro* à l'aide du test de temps de céphaline activée (TCA) et de taux de prothrombine (TP).

##### II.4.2.1.- Temps de céphaline active (TCA)

Ce test de routin indique seulement la présence ou non d'une activité anticoagulante, les résultats sont exprimés en secondes.

La figure 10 laisse apparaître les valeurs enregistrées du temps de céphaline activé de l'extrait hydrométhanolique du *C. mural* à l'état frais et sec.



**Figure 10 :** Temps (seconde) de céphaline activée (TCA) pour l'extrait hydrométhanolique du *C. murale* à l'état frais et à l'état sec

L'étude *in vitro* de l'activité anticoagulante de l'extrait du *C. murale* à l'état frais et sec montre que les deux extraits ont un effet sur la voie endogène de la coagulation dans le test TCA par rapport au contrôle normal 30.9 s pour l'extrait à l'état frais, nous constatons qu'il possède un temps de coagulation de  $(49,53 \pm 1,56 \text{ s})$  qui est légèrement supérieur à celui de l'extrait à l'état sec (égal à  $47,83 \pm 8,85 \text{ s}$ ).

L'extrait de la plante fraîche fait retarder la coagulation de 18,63s, alors que l'extrait de l'espèce étudiée à l'état sec fait retarder la coagulation de 16,93s en comparaison avec le contrôle normale

D'après ces résultats on peut considérer que la plante *C. murale* est un anticoagulant important, ceci peut nous encourager à isoler la molécule responsable de cette activité (anticoagulante) dans le but de produire des médicaments anticoagulants d'origine végétale au lieu d'utiliser les médicaments anticoagulants d'origine porcine.

Les maladies cardiovasculaires présentent l'une des premières causes de décès dans le monde, de nombreux malades prennent des médicaments thrombolytiques, des anticoagulants à vie (Souza *et al.*, 2015). Parmi ces médicaments le Sintrom c'est une coumarine, et l'héparine est un polysaccharide sulfaté généralement extraite à partir des intestins de porc (Roger, 2002). L'héparine d'origine porcine cause un grand problème pour nous en tant que musulmans, en recherchant plus des principes actifs d'origine végétales par conséquent la valorisation des plantes spontanées.

En termes de comparaison entre les états de l'extrait du *C. murale* on remarque que l'extrait à l'état frais à une capacité anticoagulant plus importante que celui de l'état sec avec une différence de 1,7s.

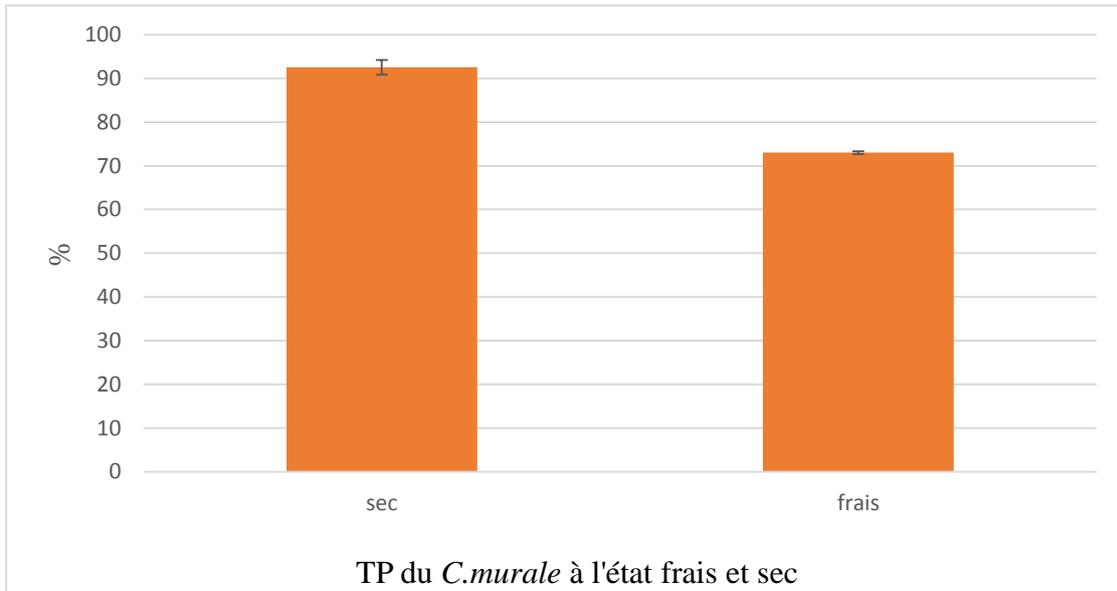
#### II.4.2.2.- Temps de Quick (TQ)

On a utilisé ce test classique communément connu sous le nom de taux de prothrombine (TP), qui explore la voie extrinsèque (VII) et la voie commune (X, V, II, fibrinogène) de la coagulation sanguine où le facteur tissulaire (thromboplastine) est le déclencheur de cette voie (Tripodi, 2009). Le réactif contient le polybrène (inhibiteur de l'héparine), ce qui explique que le TQ n'est pas allongé par un traitement par héparine, de ce fait elle n'a pas été utilisée comme anticoagulant standard. Dans le but de rechercher d'un allongement au niveau du temps de coagulation qui se définit par une activité anticoagulante de l'extrait hydrométhanolique du *C.murale* l'état sec et frais.

Le temps de Quick (TQ) enregistré pour le test TP est de 14s pour le contrôle normal. Les valeurs de TQ sont converties en pourcentage TP% et en International Normalised Ratio (INR).

**- taux de prothrombine (TP)**

La figure 11 représente les résultats de l'activité anti coagulant de test TP (%) de l'extrait du *C. murale* à l'état sec et frais.



**Figur 11 :** Résultats de l'activité anticoagulante de test TP (%) de l'extrait du *C. murale* à l'état sec et à l'état frais.

Les résultats de test TP (taux de prothrombine, qui évalue la capacité du sang à coaguler) pour l'activité anticoagulante de l'extrait du *C. murale* à l'état sec et frais sont successivement de 92,53±1,66% et 73±0,34%. Ces valeurs montre que les deux extraient n'ont aucun effet sur la voie exogène de la coagulation (TP) par rapport au contrôle normal qui situé généralement entre 70 et 100%.

Statistiquement, les résultats de test de Student de deux extraits (sec et frais) montre que la différence est significative ( $p < 0.05$ ) (annexe 17).

**Calcul de INR** = (Temps de Quick échantillon/de Quick moyen normal) ISI pour un TP de control normal, INR=1

-Les valeurs de TP, TQ, INR sont résumée dans le tableau suivant :

**Tableau 5 :** Résultats de test TP pour l'activité anticoagulante de l'extrait du *C. murale* à l'état frais et à l'état sec.

L'état de l'extrait	TP (%)	TQ(s)	INR
Sec	73	14,56	1,13
Frais	92,53	15,8	1,24
Control normal (-)	(70 - 100)	14	1

On remarque que l'activité anticoagulante *in vitro* de l'extrait du *C. murale* à l'état sec et frais prolonge significativement le temps de céphaline activé TCA, et faiblement sur le temps de prothrombine TP en comparaison avec le temps (TQ) normal de 14 s.

Donc l'extrait du *C. murale* à l'état sec et frais inhibe la voie intrinsèque de la coagulation mais n'a aucun effet sur la voie extrinsèque ou sur la conversion de fibrinogène en fibrine.

La comparaison entre les deux états (état du plante sec et frais) pour l'activité anticoagulante (TCA) par le test de Student, montre que la différence n'est pas significatif ( $p > 0.05$ ). (Annexe 16).

La corrélation (test de Pearson) établie entre l'activité anticoagulante du l'extrait de *C. murale* à l'état frais et sec qui a été évaluée par le test TCA et les quantités des différents composés phénolique étudié ne présente aucun corrélation (Annexe 18A-B). Donc peut être d'autre composés phénoliques qu'on n'a pas étudié possèdent l'effet anticoagulante.

L'étude faite par Akhtar *et al.* (2017) sur l'effet de l'extrait de *C. album* sur l'activité antiplaquettaire, anti-thrombotique et fibrinolytique testée sur les rats et le sang humain par différentes voies d'administration, a montré que l'extrait de *C. album* a une activité fibrinolytique, prolongé légèrement le TP.



# *Conclusion et perspective*

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Dans ce travail, on s'est intéressé à l'analyse phytochimique et à l'étude des activités biologiques (antioxydante et anticoagulant) de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne du *C. murale* à l'état frais et sec. C'est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle, récoltée dans la région de Belghanem –oued M'Zab- Ghardaïa.

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des différentes classes chimiques des métabolites secondaire tels que les phénols, les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones, les alcaloïdes, les Terpénoïdes et les saponosides dans les extraits hydrométhanolique de la partie arienne du *C. murale* à l'état frais et sec.

Dans une deuxième étape, l'analyse quantitative de l'extrait à l'état frais et sec par un dosage colorimétrique des certains composés phénoliques a montré des teneurs considérables en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tanins condensés, en particulier pour l'extrait de l'espèce choisie l'état frais.

L'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée *in vitro* par les tests d'ABTS, FRAP et blanchissement du  $\beta$ -Carotène. Les résultats exprimés en  $CI_{50}$  montre que d'ABTS on observe que l'extrait obtenu à l'état frais (0,13mg/ml) montre une puissante activité inhibitrice du radical cation  $ABTS^+$  en comparaison avec l'antioxydant de référence Trolox (0,39mg/ml), ce qui concerne le test de blanchissement du  $\beta$  - carotène, les deux extraits de l'espèce étudiée à l'état frais et à l'état sec présentent des pouvoirs inhibiteurs très remarquables avec des  $CI_{50}$  égales à 0,013mg/ml, 0,008mg/ml respectivement et qui sont inférieures à celle de standard utilisé le BHT ( $CI_{50}=0,032$  mg/ml).

L'activité anticoagulante de l'extrait hydrométhanolique du *C. murale* à l'état frais et sec a été également évaluée *in vitro* en utilisant les tests du Temps de céphaline activé (TCA), temps de Quick (TQ) et le taux de prothrombine (TP). Les temps de coagulation obtenus sur un plasma normal indiquent que l'extrait du *C. murale* pour les deux états exerce une activité anticoagulante sur la voie endogène de la coagulation. L'état frais il retard la coagulation de 18,63s et pour l'état sec la coagulation est retarder de 16,93s en comparaisent avec le control normal. Les résultats de test TP montre que les deux états de l'extrait n'ont aucun effet sur la voie exogène de la coagulation.

## Perspectives

A l'issu des résultats obtenus, il serait souhaitable de compléter cette étude par des recherches plus approfondies afin d'étudier séparément les différent partie du *C. murale* récolté dans des sites d'étude différentes de notre région, suivie par une extraction avec des solvants à différentes polarités pour aboutir à un meilleur rendement et à isoler sélectivement la molécule responsable de l'activité anticoagulant dans le but de créer des médicaments d'origine végétale peuvent remplacer ceux d'origine porcine.

# *Références bibliographiques*

**Abbas, M. Rana, S. Shahid, M. Rana, N. Mahmood-ul-Hassan, M. Hussain, M. (2012).** Chemical evaluation of weed seeds mixed with wheat grains at harvest. *J Animal Plant Sci*; 22: 283-88.

**Abdul Hafeez, L. Shahabuddin, M. Aisha, N. Khalid Mohammed, K. Arfa, Y. (2011).** Determination of free phenolic acids and antioxidant activity of methanolic extracts obtained from fruits and leaves of *chenopodium album*. Contents lists available at Science Direct, food chemistry 126. 1850-1855.

**Ajjan, R. Grant, P. J., (2006).** Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186: 240–259.

**Akhtar, M.S. Kausar, T. Irshad, N. Bashir, S. Hussain, A. Malik, M. (2017).** Antiplatelet, antithrombotic and fibrinolytic activities of *chenopodium album*. *International journal of Biology, pharmacy and Allied Science (IJBPAS)*. IJBPAS, February, 6(2): 193-209 ISSN: 2277–4998.

**Ali, M. Qadir, M.I. Saleem, M. Janbaz K.H. Gul, H. Hussain, L. Ahmad, B. (2013).** Hepatoprotective potential of *Convolvulus arvensis* against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Bangladesh J Pharmacol*; 8: 300-04.

**Al-Jaber, Nabila A., (2008).** Biological activity of *Chenopodium mural* L. (Forssk) and its flavonoidal contents. *Phytopharmacol. Ther.* Val. 2, 69–77.

**Amamri, K. Cheikh, M., (2016).** Etudes phytochimiques et biologiques du Fenouil sauvage, diplôme de master. P 57.

**Ayad, R., (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35, 39,40, 47.

**Badiaga, M., (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat. p 10.

**Bamber, C.J., (1916).** Plants of the Punjab, Superintendent Government Printing, Punjab, Pakistan. PP 387.

**Bammou, M. Sellam, K. El rhaffari, L. Bouhlali, E.D.T. Daoudi A. Ibjbjen, J. Nssiri, L., (2015).** Bioactivity of *Anvillea radiata* Coss & Dur. Collected from the southeast of morocco. European Scientific journal, Vol. 11, N° 21.

**Benaissa, O., (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*, Thèse Doctorat. p 63.

**Benammar, C. E., (2011).** Effets antioxydants et immuno-modulateurs d'une plante médicinale nord-africaine, *zizyphus lotus* L. (sedra) : etude des différents extraits, Thèse De Doctorat. Université ABOU BEKR BELKAID-Tlemcen. pp 120.

**Benkhadoudja, A., (2011).** Les adventices des cultures fauchées : cas de La luzerne pérenne (Hassi Ben Abdallah Ouargla). Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention Du Diplôme D'ingénieur D'Etat en Agronomie. UNIVERSITE KASDI MERDAH-OUARGLA.- 66.

**Benzahi, K., (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon Dactylon* (Chiendent). Mémoire de Magister. Université d'Ouargla, Ouargla (Algérie).

**Bézanger-beauquesne, L., Pinkas, M., et Torck, M. (1986).** Les plantes dans la thérapeutique moderne. Editeur Maloine.469p.

**Bidie A. dit Philippe., Banga B., Adou F., Jean D., Allico J., (2011).** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Biomaterials, Biophys.* 38(3): 186-192.

**Boulaacheb, N. Clement, B. Djellouli, Y. Gharzouli, R., (2006).** Laouer H4 Revue des Régions Arides - Numéro spécial - Actes du séminaire international « les Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales » SIPAM. Les plantes médicinales du Djebel Megriss (Algérie, Nord Afrique) - Famille des lamiaceae –

**Boulos, L., (1983).** Medicinal plants of North Africa, Reference Publication, Algonac, MI 48001.

**Bruneton, J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation Lavoisier, 3ème ed. Paris. France. 1120p.

**Burda, S. Oleszek, W. (2001).** Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of agricultural and food chemistry.* 49 :2774-2779.

- Caen, J. Lrrieu, M.J. Samama, M., (1975).** L'hémostase : méthodes d'exploration et diagnostic pratique (2ème éd), Expansion Scientifique Francaise (Paris); pp :15-20.
- Caquet, R.,(2004).** 250 examens de laboratoire : prescription et interpretation (9ème éd), Masson (Paris), pp : 388-389.
- Catherine, B., (2008).** Séchage des produits alimentaires –Appareils et applications P2.
- Chaouch, N., (2001).** Étude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla, Ouargla (Algérie).
- Chavan, U.D. Shahidi, F. Naczk, M. (2001).** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75: 509-512.
- Chenni, M., (2010).** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale *Bryonia dioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie. pp 138.
- Colvin, B.T., (2004).** Physiology of haemostasis. *Vox Sanguinis*, 87(1): 43-46.
- Connolly, J.D. hill, R.A., (1992).** Dictionary of terpenoids. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. 2156p.
- Cowan, N. M., (1999).** Plant products as anti-microbial agents. *Clinicalmicrobiology Reviews*. Vol. 12(4) : 564-582.
- Dasgupta, N., De, B., (2007).** Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chem.* 101, 471-474.
- Diallo, A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* WILLD (*Myrtaceae*), thèse de doctorat, Mali, 42 p.
- Diallo, D., (2000).** Ethno-pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them *Glinus oppositifolius* (Azocae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae). Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse. Diallo A., 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* WILLD (*Myrtaceae*), thèse de doctorat, Mali. pp 42.

**Djahra, A. B. (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du *Marrube blanc* ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat, Université Badji mokhtar, Annaba.

**Dohou, N., (2004).** Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *thymeleae lythroïdes*, thèse de doctorat, Maroc. pp 59.

**DRA :** Direction de la recherche agronomique. (1976). Maladies et ravageurs des plantes cultivées au Maroc. DRA, Rabat, 207p.

**Eberhard, T. Robert, A. Annelise, L., (2005).** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 521p.

**El Abdali, Y., (2015).** Effet des modes de séchage sur la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante de *Matricaria chamomilla*. Projet de Fin d'Etudes. UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES, -27.

**El-Sayed, A.M., Al-Yahya, M.A., Hassan, M.M., (1989).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Chenopodium botrys* growing in Saudi Arabia. Int. J. Crude Drug Res. 27, 185–188.

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

**Ferreria, A. Proenca, C. Serralheiro, L.M.L. Aranjó, M.E.M., (2006).**The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. Journal of Ethnopharmacology, 108 : 31-37.

**Fleuriet, A., (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier.

**Garcia-slas, P. Morales-Soto, A. Sequira-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, A., (2010).** Phenolic compound extraction système for fruit and vegetable samples. Molecules, 15(12) : 8813-8826.

**Haleng, J. Pincemail, J. Defraigne, J.O. Charlier, C. Chapelle, J.P., (2007).** Le stress oxydant, Service de Biologie clinique, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique.

- Harborne, J.B., (1998).** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN : 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). pp203-214.
- Hess, M., (2002).** Alkaloids, Nature's Curse or Blessing 1ère édition. Ed. Wiley-VCH, New York. USA. 297p.
- Hopkins, W. G., (2003).** Physiologie végétale, 2ème éd boeck. Bruxelles. pp 514.
- Iserin, P., (1996).** La rousse encyclopédie des plantes médicinales identification, préparations, soins, 2eme édition, Dorling Kindersley Limited, Londres, paris. Pp 335/ p 335.
- Kanoun K., 2011-** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis*. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister en Biologie. Université aboubekr belkaid, Tlemcen. Algérie.110 p.
- Koechlin-Ramonatxo, C., (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way of nutrition in respiratory diseases. Nutr. Clin. ET Métab. 20. 165-177.
- Koffi, E. Sea, T. Dodehe, y. Soro, S. (2010).** Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. Journal of Animal and Plant Science, 5(3):550-558.
- Kühnau, J., (1976).** *Wld. Rev.Nutr. Diet.*24: 117-191.
- Lehot, J. J. Arvieux, C. (2011).** Réanimation et urgence. Ed. Springer, France: 230p.
- Li, J. E. Nie, S. P. Xie, M. Y. Huang, D. F. Wang, Y. T. Li, C., (2013).** Chemical composition and antioxidant activities in immunosuressed mice of polysaccharides isolated from *Moslachinensis Maxim cv. Jiangxiangru*. International Immunopharmacology, vol.17: 267-274.
- Ljubica Adji, A. Marija, M. Blagica, J. Gjose, S. Ivana Cvetkovikj, K. Tatjana Kadifkova, P. Svetlana, K. (2015).** Antioxidative potential of *Chenopodium botrys* L. (Amaranthaceae). Macedonian pharmaceutical bulletin, Original scientific paper, 61 (2) 3 - 10 (2015). ISSN 1409 – 8695.
- Makhloufi., (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* et *Rosmarinus officinalis*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie. 136 p.

**Malecky, M., (2005).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.

**Mamadou B., (2012).** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia smith* une plante médicinale africane récoltée au Mali. Thèse de doctorat, Mali. Pp 92.

**Manallah, A., (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Thèse de magister de l'Université Ferhat Abbas, Sétif Algérie : 82p.

**Marie, C.N., (1965).** In Gardens of Hawaii. Bishop Museum Press. pp 331.

**Mibindzou Mouellet, A., (2004).** Screening phytochimique de deux espèces de plantes *Crotalia retusa*. (Papilionaceae) et *Hallea ciliata Aubrev & Pellegr.* (Rubiaceae) récoltées au Gabon, thèse de doctorat, Mali. Pp 58.

**Middleton et al., (2000) ; Ksouri et al., (2007).** (Activite-antioxydante composés-phenoliques pdf). Christelle, K.R., (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Science directe Nutrition Clinique et métabolisme 20. 165–177

**Milcent, R. Chau F., (2003).** Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francois chau EDP. Paris. France. 846p.

**Mohammed, Z., (2006).** Étude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse De Magistère. Université ABOU BAKRBELKAID. Tlemcen. pp 155.

**Mohammed, Z., (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.

**Najwa, S. A. Ameera, A. A. Tahar, B., (2012).** Allelopathic impact of two weeds, *chenopodium murale* and *Malva parviflora* on growth and photosynthesis of barley (*hordeum vulgare*). Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Taibah, Al-Madinah Al-Munawarah, Saudi Arabia. Pak. J. Bot. 44(6) : 1865-1872.

**Neerja, Y. Neeru, V. Sumitra, S. Surendra, K.S., (2007).** Medicinal properties of genus *chenopodium* Linn. Natur product radiance. 6(2).131-134.

**Ouedraogo, Y. nacoulma, O. Guissou, I.P. guede guina, F., (2001).** Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux d'écorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* (wilid).o. ktz (rubiaceae). Pharm. Méd. Trad. Vol. (11). 13-29.

**Peudon, O., (2013).** Gestion en médecine générale des nouveaux anticoagulants oraux lors de chirurgie ambulatoire ou gestes technique. Thèse de doctorat de L'université de Joseph Fourier-Grenoble, France : 23p.

**Qureshi, N. Porter, J. W., (1981).** In Biosynthesis of isoprenoid Compounds, Wiley, New York. Vol 1. pp 47-94.

**Renata, N. katarzyna, S. Urszula, G.D. Jolanta, R. Lukasz, K. (2016).** Antioxidative and cytotoxic potential of some *chenopodium* L. species growing in Poland. Saudi Journal of Biological Sciences, King Saud University. 23, 15-23.

**Renata, N. Katarzyna, S. Urszula, G.D. Jolanta, R. L-ukasz, K., (2016).** Antioxidative and cytotoxic potential of some *Chenopodium* L. species growing in Poland. Saudi Journal of Biological Sciences. 23, 15–23

**Ribereau-gayon, J. peynaud, E., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. France. 254 p.

**Rira, M., (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.

**Robert, B. Henry, T., (1991).** Medicinal Plants, Periodical Experts Book Agency-Delhi, India. pp 216.

**Roger, O., (2002).** Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens : obtention, caractérisation et relation structure/fonction. Thèse de Doctorat, université de Paris 13. 195p

**Scalbert, A. Manach, C. Morand, C. Rémésy, C., (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. p45, 287-306.

**Schauenberg, P. Paris, F., (2010).** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. CHARTE Delachaux et Niestlé. Paris. pp 396.

**Schluter, K.A., (1972).** Premières observations sur la pourriture latérale du collet de la betterave sucrière au Maroc. *Al Awamia* 43 :95-101 .

**Shui, G. Leong, L. P., (2006).** Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*. Vol 97. Pp 277–284.

**Sllami, B. Marzouk, B. Ksouri, R., (2016).** Effet de la prévenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénolique et les potentialités antioxydantes des grains de fenouil (*Foeniculum vulgare Mill*), *Journal of New Sciences*. 27(4).pp1478-1487.

**Souza, R. O. S. Assereuy A. M. S. Madeira J. C. Chagas, F. D. S. Parreiras, L. A. Santos, G. R. C. Mourao, P. A. S. Pereira, M. G., (2015).** Purified polysaccharides of *Geoffroea spinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. *Carbohydrate Polymers*, vol.124: 208–215.

**Suhaj, M., (2006).** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Compos. And Analys.* 19. 531–537.

**Sun, B, Ricardo-da-Silva, J. M. Spranger, I., (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46 (10). pp 4267-4274.

**Suseelan, K.N. Mitra, R., (2001).** Purification and characterization of a hemagglutinin isolated from the leaves of *Chenopodium* (*Chenopodium amaranticolor*). *Indian J Biochem. Biophys.* 38(3): 186-192 (2001).

**Tadhani, M.B. Patel, V.H. Subhash, R., (2007).** In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J. Food Compos. And Analys.* 20. 323-329.

**Tanji, A. Toufiq, M. Bencharki, B. Ghoulam, C., (1995).** Mauvaises herbes hôtes de quelques maladies importantes au Maroc, Institut national de la recherche agronomique, Centre aridoculture, BP 589, Settât, Maroc. *AI Awnmia* 90.

**Telli, A., (2017).** Protocol de TP, biochimie appliqué Université de Ghardaïa (Algérie)

**Terpinc, P. Bezjak, M. Abramovic, H.; (2009).** A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*, 115: 740-744.

**Tlili, M.L., (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional) (En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie Option biochimie et analyse de bioproduits). UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA, OUARGLA, -120.

**Touitou, Y., (1993).** Pharmacologie Diplôme d'Etat d'Infirmier (e), 7eme édition Paris. 407 p.

**Trease, E. Evans, W.C., (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13th ed.

**Tripodi A., (2009).** Tests of Coagulation in Liver Disease. Clinics in Liver Disease, 13: 55– 61.

**Vârban, D.I. Duda, M. Vârban R. Muntean, S., (2009).** Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. Bulletin UASVM Agriculture. 66(2). 225- 229.

**Vasishita, P.C., (1989).** In: Taxonomy of Angiosperms, Ram Chnd, India. PP 648.

**Vijay, N. Padmaa, M. (2011).** Hepatoprotective activity of *Chenopodium album* Linn. Against paracetamol induced liver damage. Pharmacologyonline, 3: 312-28.

**Vogler, A.E. Siedlecki, A.C., (2009).** Contact activation of blood-plasma coagulation. Nature Vol. 8 N°1: 1 - 11.

**Watt, J.M. Breyer-Brandwijk, M.G., (1962).** The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 2nd Ed, Livingstone, Edinburgh. Pp 184-192

**Woldemichael, G.M. Wink, M. (2001).** Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. J Agric Food Chem. 49 (5): 2327-2332.

**Yezza, S. Bouchama, S., (2014).** Index des métabolites secondaires végétaux. Projet de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de Licence. UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA. p73

**Yoon, S.J. Pereira, M. S. Pava, M. S. G. Hwang, J. K. Pyun, Y. R. Moura, P. A. S., (2002).** The medicinal plant *Poranavolubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II. Thrombosis Research, vol. 106: 51– 58.

**Yusuf, Y., (2006).** Trends Food Sci. Tech. p17. pp 64-71.

**Zaabat, N. (2010).**Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille des lamiacées : *Marrubium deserti* de Noé et *Phlomis bovei* de Noé. Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine.

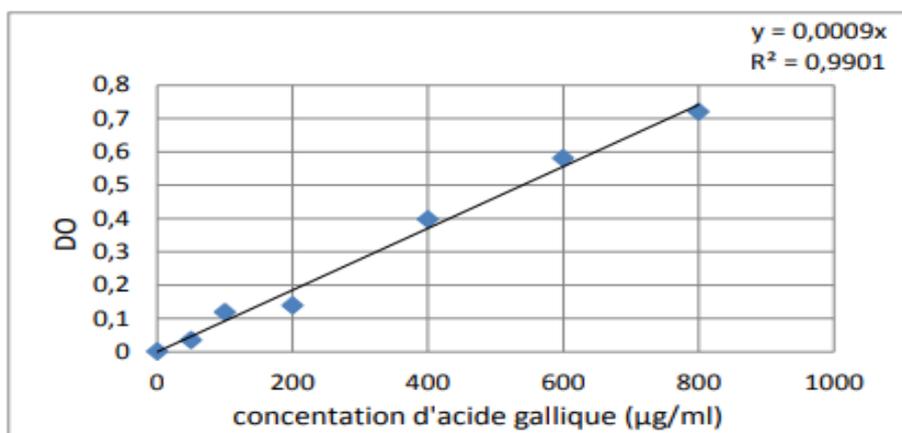
**Zhang, Y. Zhang, J. Mo, X. Lu, X. Zhang, Y. Qin, L., (2010).** Modification, characterization and structure–anticoagulant activity relationships of persimmon polysaccharides. Carbohydrate Polymers, vol. 82: 515–520.

## **Webographie**

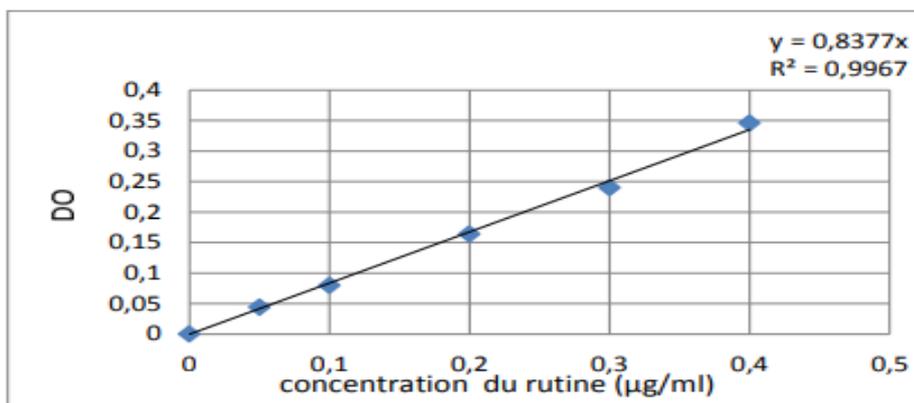
**Site web :** <https://pfa.org/user/Plant.aspx?LatinName=Chenopodium%20murale>

# *Annexes*

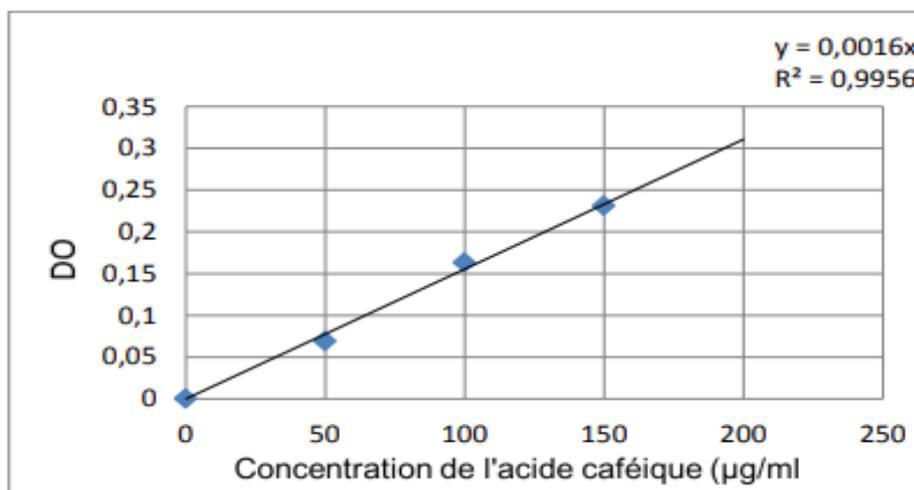
**Annexe 01 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.**



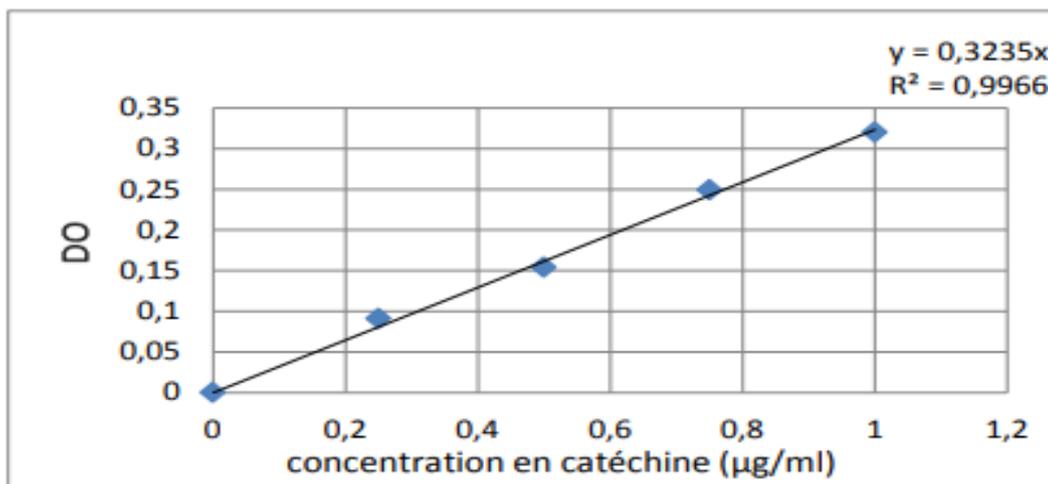
**Annexe 02 : Courbe d'étalonnage de la rutine.**



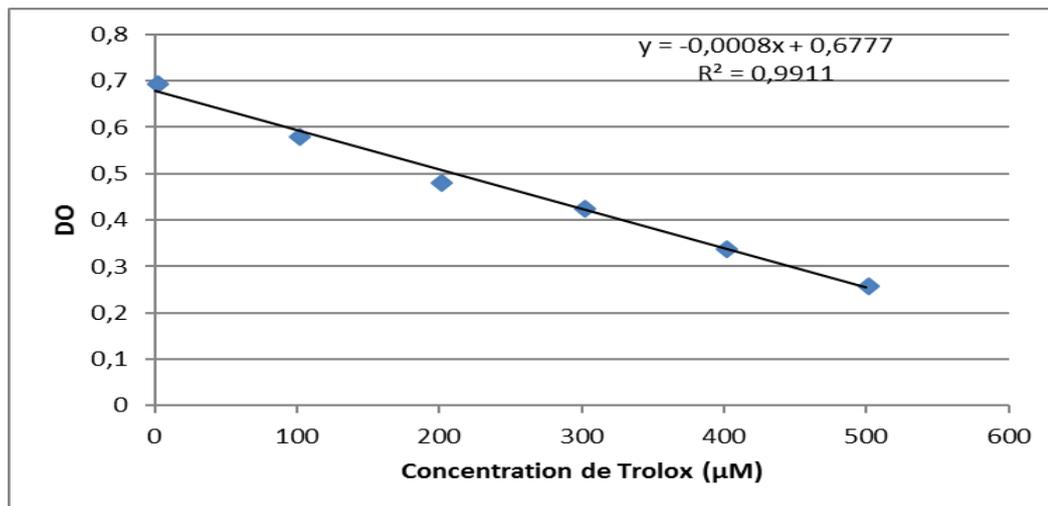
**Annexe 03 : Courbe d'étalonnage de l'acide caféique.**



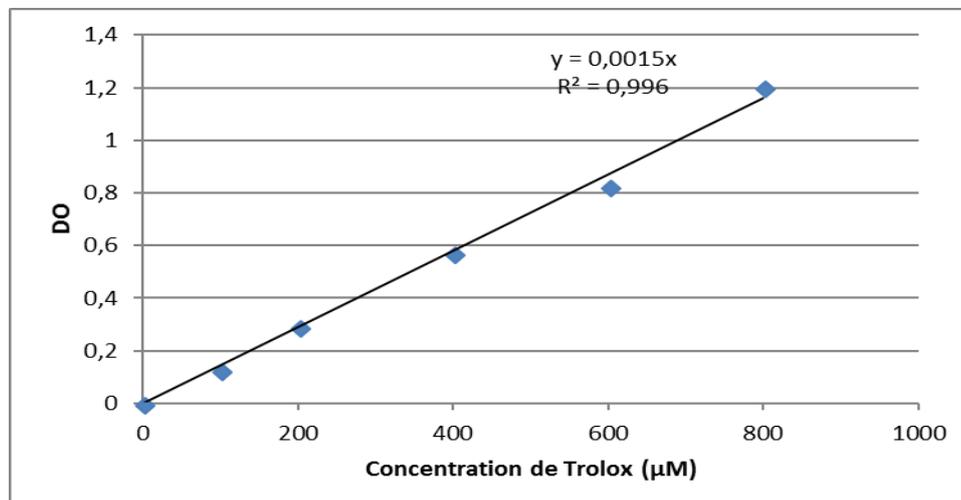
**Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.**



**Annexe5 : Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test ABTS.**



**Annexe 6 : Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test FRAP.**



**Annexe 7 : Résultats de test de Student des teneurs en polyphénols.**

Différence	-24,507
t (Valeur observée)	-44,078
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	< 0,0001
alpha	0,05

**Annexe 8 : Résultats de test de Student des teneurs en Flavonoïdes**

Différence	-23,432
t (Valeur observée)	-15,881
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	< 0,0001
alpha	0,05

**Annexe 9 : Résultats de test de Student des teneurs en Acides phénols.**

Différence	-5220,163
t (Valeur observée)	-18,296
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	< 0,0001
alpha	0,05

**Annexe 10 : Résultats de test de Student des teneurs en Tanins condensés.**

Différence	-5213,120
t (Valeur observée)	-9,004
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	0,001
Alpha	0,05

**Annexe 11 : Résultats de test de Student de potentiel antioxydant ABTS ( $\mu\text{M}$ ).**

Différence	19,207
t (Valeur observée)	12,088
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	0,000
alpha	0,05

**Annexe 12 : Résultats de test de Student de potentiel antioxydant FRAP ( $\mu\text{M}$ ).**

Différence	2,539
t (Valeur observée)	10,435
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	0,000
Alpha	0,05

**Annexe 13 : Résultats de test de Student de potentiel antioxydant *B*-carotène ( $\mu\text{M}$ )**

Différence	7,021
t (Valeur observée)	4,011
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	0,016
Alpha	0,05

**Annexe 14 : Matrice de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes pour l'état frais**

A-

Matrice de corrélation (Pearson) :

Variabes	PPT	FLV	AC PH	TC	ABTS	FRAP	BETA
PPT	<b>1</b>	-0,100	-0,278	0,866	-0,840	0,257	-0,967
FLV	-0,100	<b>1</b>	0,984	0,411	0,625	0,936	0,351
AC PH	-0,278	0,984	<b>1</b>	0,240	0,755	0,857	0,514
TC	0,866	0,411	0,240	<b>1</b>	-0,456	0,706	-0,710
ABTS	-0,840	0,625	0,755	-0,456	<b>1</b>	0,309	0,951
FRAP	0,257	0,936	0,857	0,706	0,309	<b>1</b>	-0,002
BETA	-0,967	0,351	0,514	-0,710	0,951	-0,002	<b>1</b>

*Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha=0,05$* 

B-

Coefficients de détermination ( $R^2$ ) :

Variabes	PPT	FLV	AC PH	TC	ABTS	FRAP	BETA
PPT	<b>1</b>	0,010	0,077	0,750	0,705	0,066	0,935
FLV	0,010	<b>1</b>	0,967	0,169	0,390	0,875	0,123
AC PH	0,077	0,967	<b>1</b>	0,057	0,570	0,734	0,264
TC	0,750	0,169	0,057	<b>1</b>	0,208	0,498	0,504
ABTS	0,705	0,390	0,570	0,208	<b>1</b>	0,095	0,904
FRAP	0,066	0,875	0,734	0,498	0,095	<b>1</b>	0,000
BETA	0,935	0,123	0,264	0,504	0,904	0,000	<b>1</b>

### Annexe 15 : Matrice de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes pour l'état sec

A-

Matrice de corrélation (Pearson) :

Variables	PPT	FLV	AC PH	TC	ABTS	FRAP	BETA
PPT	<b>1</b>	0,678	0,934	-0,735	0,894	<b>-0,999</b>	0,671
FLV	0,678	<b>1</b>	0,370	0,000	0,277	-0,710	-0,089
AC PH	0,934	0,370	<b>1</b>	-0,929	0,995	-0,917	0,892
TC	-0,735	0,000	-0,929	<b>1</b>	-0,961	0,704	-0,996
ABTS	0,894	0,277	0,995	-0,961	<b>1</b>	-0,873	0,932
FRAP	<b>-0,999</b>	-0,710	-0,917	0,704	-0,873	<b>1</b>	-0,638
BETA	0,671	-0,089	0,892	-0,996	0,932	-0,638	<b>1</b>

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha=0,05$

B-

Coefficients de détermination ( $R^2$ ) :

Variables	PPT	FLV	AC PH	TC	ABTS	FRAP	BETA
PPT	<b>1</b>	0,460	0,872	0,540	0,800	<b>0,998</b>	0,451
FLV	0,460	<b>1</b>	0,137	0,000	0,077	0,504	0,008
AC PH	0,872	0,137	<b>1</b>	0,863	0,990	0,841	0,796
TC	0,540	0,000	0,863	<b>1</b>	0,923	0,496	0,992
ABTS	0,800	0,077	0,990	0,923	<b>1</b>	0,763	0,869
FRAP	<b>0,998</b>	0,504	0,841	0,496	0,763	<b>1</b>	0,407
BETA	0,451	0,008	0,796	0,992	0,869	0,407	<b>1</b>

### Annexe 16 : Résultats de test de Student de l'activité anticoagulante (TCK)

Différence t (Valeur observée)	-1,700
t (Valeur critique)	-0,212
DDL	2,776
p-value (bilatérale)	4
alpha	0,843
	0,05

## Annexe 17 : Résultats de test de Student de l'activité anticoagulante (TP)

Différence	19,533
t (Valeur observée)	19,890
t (Valeur critique)	2,776
DDL	4
p-value (bilatérale)	< 0,0001
Alpha	0,05

## Annexe 18 : Matrice de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités anticoagulantes

A-

Matrice de corrélation (Pearson) :								
Variables	PPT	FLV	AC PH	TC	TP	TQ	INR	TCK
PPT	<b>1</b>	-0,100	-0,278	0,866	0,965	-0,965	-0,965	0,386
FLV	-0,100	<b>1</b>	0,984	0,411	-0,359	0,359	0,359	0,879
AC PH	-0,278	0,984	<b>1</b>	0,240	-0,522	0,522	0,522	0,779
TC	0,866	0,411	0,240	<b>1</b>	0,703	-0,703	-0,703	0,796
TP	0,965	-0,359	-0,522	0,703	<b>1</b>	<b>-1,000</b>	<b>-1,000</b>	0,129
TQ	-0,965	0,359	0,522	-0,703	<b>-1,000</b>	<b>1</b>	<b>1,000</b>	-0,129
INR	-0,965	0,359	0,522	-0,703	<b>-1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1</b>	-0,129
TCK	0,386	0,879	0,779	0,796	0,129	-0,129	-0,129	<b>1</b>
<i>Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0,05</i>								

B-

Matrice de corrélation (Pearson) :

Variables	PPT	FLV	AC PH	TC	TP	TQ	INR	TCK
PPT	<b>1</b>	0,678	0,934	-0,735	0,334	0,220	-0,864	-0,811
FLV	0,678	<b>1</b>	0,370	0,000	-0,466	0,866	-0,215	-0,119
AC PH	0,934	0,370	<b>1</b>	-0,929	0,649	-0,144	-0,987	-0,966
TC	-0,735	0,000	-0,929	<b>1</b>	-0,885	0,500	0,977	0,993
TP	0,334	-0,466	0,649	-0,885	<b>1</b>	-0,846	-0,763	-0,823
TQ	0,220	0,866	-0,144	0,500	-0,846	<b>1</b>	0,302	0,393
INR	-0,864	-0,215	-0,987	0,977	-0,763	0,302	<b>1</b>	0,995
TCK	-0,811	-0,119	-0,966	0,993	-0,823	0,393	0,995	<b>1</b>
<i>Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0,05</i>								

**Annexe 19 : Photo de Rota vapeur (Heidolph)**



**Annexe 20 : Photo de Spectrophotomètre (SpectroScan 40)**

