

**UNIVERSITE KASDI MARBAH OUARGLA**

**Faculté des Sciences Appliquées**

**Département de Génie des Procédés**



**MEMOIRE**

**MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine : Sciences et Techniques**

**Filière : Génie des Procédés**

**Spécialité : Analyse et Contrôle de Qualité**

**Thème**

**EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE  
*RHAPONTICUM ACAULE L.***

Présenté par : KHALDI Sami

Soutenu publiquement le 05/ 06/ 2017

Devant le jury composé de :

M <sup>elle</sup> HACINI Zineb	<b>M.A.A</b>	Président	UKM Ouargla
M <sup>me</sup> GHIABA Zineb	<b>M.C.B</b>	Examinatrice	UKM Ouargla
M <sup>me</sup> BENABDESSELEM Soulef	<b>M.C.B</b>	Promotrice	UKM Ouargla

**Année universitaire : 2016/2017**

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras.*

*À la mémoire de mes grand-père qui m'a toujours aimé et comblé par ses bénédictions, que dieu le tout puissant les accueille en son vaste paradis.*

*Je dédie aussi cette modeste réalisation à :*

*Ma chère sœur et mon frère : Rym et Mohamed Walid.*

*Mes chers oncles, tantes, cousines et cousins.*

*À mes enseignants et professeurs de primaire à l'université.*

*À tous mes Amis (es) en particulier (Omar Ibn Al Khattab et Fatima Zahra ), et mes camarades de la promotion de Master Analyse et Contrôle de Qualité 2017.*

***KHALDI Sami***

## **Remerciements**

*Au terme de ce travail, Nous tenons à remercier le bon Dieu pour le courage et la patience qu'il nous a offert, afin de réaliser ce travail.*

*Mes premiers remerciements vont à ma promotrice M<sup>me</sup> Benabdessellem Soulef pour avoir accepté de m'encadrer et de me suivre tout au long de la réalisation de ce mémoire. Et son caractère de noblesse incomparable, pour sa générosité et la grande patience dont il a su se faire preuve malgré ses charges académiques et professionnelles.*

*J'adresse mes sincères remerciements à M<sup>elle</sup> HACINI Zineb d'avoir accepté de présider le jury et Je tiens également mes vifs remerciements à M<sup>me</sup> GHIABA Zineb pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Je remercie le Pr. LADJEL Segni directeur de laboratoire de recherche génie des procédés de l'Université Kasdi Merbah Ouargla de m'avoir accepté pour réaliser une partie de mon travail dans de bonnes conditions.*

*Je m'adresse également mes remerciements au Dr. Babziz Hadj Safah directeur du Centre de diagnostic médical «IBN SINA » à Ouargla en particulier le médecin biologiste Babahana Cheikh de m'avoir accueillie au sein du laboratoire d'analyse Microbiologique.*

*Mon remerciement s'adresse au monsieur Naguez Farid directeur et au Djekouane Kamilya Chef de Service du laboratoire d'analyse médicale de l'établissement hospitalier public Hocine Aït-Ahmed de Hassi Messaoud pour son assistance et ses encouragements permanents durant tout le stage.*

---

**Table des matières**

Dédicace

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE ..... 1

**PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUYE****CHAPITRE I : LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES**

I.1. Définition de la phytothérapie .....	3
I.2. Différents types de la Phytothérapie .....	3
I.3. Les avantages de la phytothérapie .....	4
I.4. Les utilisations des plantes aromatiques et médicinales .....	4
I.5. Cause de toxicité des plantes médicinales .....	5
I.6. Les principes actifs des plantes et les composants thérapeutiques .....	5
I.7. Extraction des principes actifs .....	7

**CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE *RHAPONTICUM ACAULE* L.**

II .1. Description botanique et géographique de <i>Rhaponticum acaule</i> L. ....	9
II .2. Classification botanique .....	9
II .3. Propriétés médicinales .....	10
II .4. Utilisation du <i>Rhaponticum acaule</i> L., en médecine traditionnelle .....	10
II .5. Les principes chimiques .....	10

**CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUES  
ETUDIEES**

III .1. L'activité antioxydante.....	12
III .1.1. Les radicaux libres .....	12
III .1.1.1. Définition .....	12
III .1.1.2. Sources des radicaux libres .....	12
III .1.1.2.1. Les radicaux libres de source exogène .....	12
III .1.1.2.2. Les radicaux libres de source endogène .....	13
III.2.1. Les antioxydants .....	13
III.2 .1.1. Définition .....	13
III.2 .1.2. Sources des antioxydants .....	13
III.2 .1.2.1. Antioxydants enzymatiques .....	13
III.2 .1.2.2. Antioxydants non enzymatiques .....	15

---

III.2 .1.2.3. Les antioxydants synthétiques.....	15
III.3 .1.Le stress oxydatif.....	15
III.3 .1.1.Définition .....	15
III.3 .1.2.Stress oxydatif et maladies associées.....	15
III.3. L'activité antibactérienne.....	16
III.3.1.Définition des bactéries .....	16
III.3.2.Structure bactérienne .....	16
III.3.3. Classification des bactéries.....	17
III.3.4. Sources antibactériennes.....	18
III.3.4.1.Les antibiotiques .....	18
III.3.4.2. Les antibactériens naturels (Les plantes médicinales) .....	18
III.3.4.3.Les désinfectants et les antiseptiques.....	18
III.3.4.4. La chaleur .....	19
III.3.5.Description des souches bactériennes étudiées .....	19
III. 4.L'activité anticoagulante .....	20
III. 4 .1.Définition de la coagulation .....	20
III. 4.2. Définition des thromboses .....	20
III. 4.3. Type des thromboses .....	20
III. 4.3. 1. thrombose veineuse.....	20
III. 4.3. 2. La thrombose artérielle .....	21
III. 4.4. Causes de la thrombose .....	21
III. 4.5. Traitement des thromboses.....	22
III. 4.5. 1. Antiagrégants .....	22
III. 4.5. 2. Anticoagulants .....	22
III. 4.5. 3. Traitement fibrinolytiques .....	22
III. 4.6. Anticoagulants naturels .....	22

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES**

IV .1.Le matériel végétal.....	24
IV .2.Description de la zone d'étude.....	24
IV .2.1.Localisation de la commune .....	24
IV .2.2.Coordonnés géographiques .....	25
IV .2.3.Climat .....	25
IV. 3. L'extraction par macération .....	26
IV.4. Détermination de rendement d'extraction.....	27
IV .5.Evaluation des activités biologiques .....	28
IV .5.1. Evaluation de l'activité antioxydante par test au DPPH .....	28
IV .5.1. 1. Principe .....	28
IV.5.1. 2. L'essai au DPPH.....	28
IV .5.1. 3. Expression des résultats .....	29
IV.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	29
IV.5.2.1.Principe .....	29

IV.5.2.2.Lecture des résultats .....	29
IV.5.2.3.Souches bactériennes testées .....	30
IV.5.2.4.protocole expérimentale.....	30
IV.5.2.4.1. Préparation des disques .....	30
IV.5.2.4.2. Préparation des précultures .....	30
IV.5.2.4.3. Préparation des suspensions bactériennes .....	31
IV.5.2.4.4. Ensemencement .....	31
IV.5.2.4.5. Préparation des dilutions de l'extrait de <i>Rhaponticum acaule</i> L. ....	31
IV.5.2.4.6. Incubation.....	32
IV.5. 3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène .....	32
IV.5. 3. 1. Prélèvements sanguins .....	32
IV.5. 3.2. Préparation du plasma déplaqueté .....	32
IV.5. 3.3. Préparation des dilutions de l'extrait de <i>Rhaponticum acaule</i> L. ....	33
IV.5. 3. 4. Test de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène .....	33
IV.5. 3. 4.1. Principe .....	33
IV.5. 3. 4.2. Mode opératoire .....	34
 <b>CHPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> 	
V. 1.Rendement d'extraction .....	35
V. 2.caractères organoleptiques de l'extrait .....	35
V.3. Evaluation de l'activité antioxydante .....	35
V .4.Evaluation de l'activité antibactérienne .....	38
V .5.Evaluation de l'activité anticoagulante .....	42
 <b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b> .....	 46
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	48
<b>ANNEXES</b> .....	53

**الملخص**

**RESUME**

---

### Liste des figures

Figure	Titre	Page
I.1	Schéma d'une hydro-distillation.	08
I.2	Hydrodiffusion et gravité par micro-ondes (MHG).	08
II.1	<i>Rhaponticum acaule</i> L., en pleine floraison.	09
III.1	Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.	14
III.2	La structure bactérienne.	16
III.3	<i>Staphylococcus aureus</i> .	19
III.4	<i>Enterococcus faecalis</i> .	19
III.5	<i>Escherichia coli</i> .	19
III.6	Formation d'une phlébite au niveau des veines de jambe.	20
III.7	Formation d'une athérombose au niveau des artères.	21
IV.1	Les fruits de <i>Rhaponticum acaule</i> L., fraîche et après le séchage.	24
IV.2	Partie de la carte Administrative de la Wilaya De Souk-Ahras.	24
IV.3	Les étapes d'obtention d'extrait méthanolique.	26
IV.4	Protocole d'obtention d'extrait méthanolique par macération.	27
IV.5	Neutralisation du radical DPPH• en présence d'un antioxydant.	28
IV.6	Etape de préparation des suspensions bactériennes.	31
IV.7	Etape de l'ensemencement.	31
IV.8	Etape de l'incubation.	32
IV.9	Préparation du plasma déplaqué.	33
IV.10	Appareil de mesure coagulométrique.	34

V.1	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.	36
V.2	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.	36
V.3	Les valeurs des concentrations d'inhibition IC <sub>50</sub> de l'extrait et de l'acide ascorbique.	37
V.4	Diamètres des zones d'inhibition pour les trois souches bactériennes	38
V.5	Diamètres des zones d'inhibition de la souche <i>Escherichia coli</i> pour chaque dilution.	39
V.6	Diamètres des zones d'inhibition pour chaque dilution de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> .	40
V.7	Diamètres des zones d'inhibition pour chaque dilution de la souche <i>Enterococcus faecalis</i> .	41
V.8	Diamètres des zones d'inhibition pour chaque dilution et souche bactérienne.	41
V.9	Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait des fruits de <i>Rhaponticum acaule</i> L	42
V.10	Les valeurs du Taux de prothrombine (TP) en fonction des dilutions.	43
V.11	Les valeurs d'International Normalized Ratio (INR) en fonction des dilutions.	44
V.12	Histogramme des résultats d'International Normalized Ratio (INR) et Taux de prothrombine (TP).	45



### Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I.1	les principes actifs dans les plantes et leurs propriétés thérapeutiques.	06
III.1	Classification bactériennes.	17
III.2	Description des souches bactériennes étudiées.	19
IV.1	Coordonnées géographiques du site de récolte.	25
IV.2	Table climatique de Sedrata.	25
V.1	Rendement de l'extraction des fruits de le <i>Rhaponticum acaule</i> L.	35
V.2	Caractères organoleptiques de l'extrait de <i>Rhaponticum acaule</i> L.	35
V.3	Les valeurs des concentrations d'inhibitions IC <sub>50</sub> .	37
V.4	Diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'extrait du <i>Rhaponticum acaule</i> L.	38
V.5	Diamètres des zones d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> pour différentes dilutions.	39
V.6	Diamètres des zones d'inhibition des dilutions pour <i>staphylococcus aureus</i> .	40
V.7	Diamètres des zones d'inhibition des dilutions pour <i>Enterococcus faecalis</i> .	40
V.8	Résultats de Taux de prothrombine (TP).	42
V.9	Résultats d'International Normalized Ratio (INR).	44

**Liste des abréviations**

**RLO** : Radical libre oxygéné.

**SOD** : superoxyde dismutase.

**CAT** : catalase.

**GPx** : glutathion peroxydase.

**GR** : glutathion réductase.

**BHA** : butylhydroxyanisole.

**BHT** : butylhydroxytoluène.

**PG** : gallate propylée.

**TBHQ** : tétrabutylhydroquinone.

**R (%)** : Le rendement en %.

**DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

**I (%)** : Pourcentage d'inhibition.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 %.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**DMSO** : diméthylsulfoxyde.

**TP** : Taux de prothrombine.

**INR** : International Normalized Ratio.

**PPP** : Plasma pauvre en plaquettes.

**mg/ml** : Milligramme par millilitre.

**mm** : Millimètre.

**µl** : Microlitre.

---

# *Introduction générale*

## Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'homme à utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [01].

Parmi les métabolites végétaux extensivement étudiés figurent les polyphénols, les huiles essentielles et les alcaloïdes qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques telle que la propriété antioxydante qui a attiré 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 [02].

D'un autre coté, l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans les élevages animaux conduit à la sélection de souches microbiennes résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments [03].

Par ailleurs, les maladies thrombotiques artérielles ou veineuses constituent actuellement un problème de santé majeur et l'une des causes principales de la mortalité dans le monde, c'est pour ça plusieurs études sont focalisées sur la recherche des anticoagulants naturelles pour traiter ces pathologies vasculaires [02].

Notre travail vise principalement à évaluer l'activité biologique de l'extrait d'une plante de la région de Sedrata, wilaya de Souk Ahras qui s'appelle « *Rhaponticum acaule* L. », cette dernière possède des vertus médicinales est considérée comme bénéfique pour les cellules hépatiques, apéritive, cholagogue, dépurative, stomatique, tonique, etc. [04]. En décoction, elle est recommandée dans les maladies du foie et des intestins, [05] et même pour traiter les pathologies génito-urinaires et de tube digestif. [06].

Ce travail est réparti en deux grandes parties:

- Une partie théorique qui est composée de trois chapitres, initié par quelques généralités sur la phytothérapie et les plantes médicinales dans le premier chapitre. Le deuxième expose une description botanique, thérapeutique et chimique de l'espèce étudiée et le troisième chapitre représente des généralités sur les activités biologiques étudiées.

- Une partie expérimentale qui est subdivisée en deux chapitres, le premier présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, à savoir:

- L'extraction des fruits séchés de la plante par macération ;
- L'évaluation *in vitro* de l'effet antioxydant de l'extrait par test de DPPH ;
- L'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ;
- L'évaluation *in vitro* de l'activité anticoagulante de même extrait vis-à-vis la voie exogène de la coagulation par deux tests généraux (Taux de prothrombine (TP), et International Normalized Ratio (INR)).

- Le cinquième chapitre est consacré aux résultats et discussions.

-Enfin nous avons terminé notre travail par une conclusion et perspectives du travail.

*Première partie*  
*Synthèse*  
*bibliographique*

*Chapitre I :*  
*La phytothérapie et les*  
*plantes médicinales*

## I. La phytothérapie et les plantes médicinales :

En ALGERIE, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui sont largement employées dans divers domaines de la santé [07].

### I.1. Définition de la phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations [08].

La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales [08].

### I.2. Différents types de la Phytothérapie:

Il existe plusieurs types de phytothérapie [09] :

- **L'aromathérapie :** elle utilise les essences des plantes aussi appelées huiles essentielles. Ces substances aromatiques sont extraites par distillation. Il faut cependant utiliser l'aromathérapie avec précaution et respecter les doses prescrites. L'utilisation la plus fréquente est l'application par voie cutanée.
- **La gemmothérapie :** elle consiste à utiliser les extraits alcooliques et glycéринés de jeunes pousses de végétaux ou de bourgeons. Ces extraits sont alors dilués au dixième pour pouvoir être utilisés en tant que plantes médicinales.
- **L'herboristerie :** ce type de phytothérapie est le plus classique et le plus ancien. Elle se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit en partie. Une préparation d'herboristerie repose sur des méthodes simples, le plus souvent avec de l'eau comme les infusions, les décoctions ou les macérations. Le principal avantage est que cela permet de préserver les principes actifs.
- **L'homéopathie :** elle a recours aux plantes mais pas uniquement. On peut aussi trouver, en plus petites quantités, des souches d'origines animale ou minérale. Les plantes fraîches sont utilisées après une macération alcoolique.



- **La phytothérapie chinoise** : elle inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Elle vise à modifier les quantités et les actions des différentes énergies de l'organisme.
- **La phytothérapie pharmaceutique** : elle utilise des produits d'origine végétale, obtenus après extraction et par dilution. Cette phytothérapie consiste à se servir de doses suffisamment importantes de végétaux pour avoir une action soutenue et rapide. Les concentrations sont alors élevées, parfois proches de la limite assurant que le médicament n'est pas toxique pour l'organisme.

### **I.3. Les avantages de la phytothérapie :**

Toute fois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'ils 'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria [10].

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme [10].

### **I.4. Les utilisations des plantes aromatiques et médicinales :**

Les grands types d'usages des plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être classés en [11]:

- **Plantes pour tisanes boissons hygiéniques et d'agrément ;**
- **Plantes à usages cosmétiques** : plantes à usages pigmentaires ;
- **Plantes à usages aromatiques et condimentaires ;**
- **Plantes à usages alimentaires** : plantes à protéines, glucides et vitamines ;
- **Plantes à parfum ;**
- **Plantes à usages industriels** : plantes à fibres textiles, insecticides ;
- **Plantes médicinales** : plantes à huiles essentielles, alcaloïdes, terpènes, flavonoïdes et tannins.

### **I.5. Cause de toxicité des plantes médicinales :**

La toxicité des plantes médicinales peut être expliquée par [12]:

➤ **La toxicité intrinsèque des constituants :**

Les plantes médicinales sont des mélanges complexes de molécules diverses. Leur composition, souvent mal définie, est formée de molécules pourvues d'une activité biologique notoire. Comme toutes les molécules bioactives, ces constituants peuvent, à un certain degré de concentration, présenter une toxicité intrinsèque.

➤ **L'identification imprécise des composants :**

Une préparation à base de plantes peut devenir toxique lorsqu'un de ses constituants, qui est susceptible d'avoir des effets toxiques graves, n'est pas identifié ou est mal identifié.

➤ **Les altérations :**

La toxicité peut être aussi liée à la présence de composants qui altèrent chimiquement les préparations à base de plantes, qu'il s'agisse de végétaux ou de substances chimiques médicamenteuses.

➤ **Les contaminations :**

Les produits à base des plantes médicinales peuvent contenir des contaminants toxiques, tels les pesticides et les métaux lourds, ainsi que des pollens, des champignons microscopiques et des moisissures susceptibles de causer des réactions allergiques et/ou toxiques.

### **I.6. Les principes actifs des plantes et les composants thérapeutiques :**

Surement les vitamines et les minéraux, mais il y a beaucoup d'autres principes actifs qui ont des propriétés thérapeutiques dans les plantes. Chacun de ces composants remplit une fonction particulière, et certaines plantes en contiennent plus que d'autres [13].

Tableau I.1. Les principes actifs dans les plantes et leurs propriétés thérapeutiques [13].

principes actifs	propriétés thérapeutiques
<b>Les phénols</b>	actions antiseptiques, antibactériennes et antihelminthiques.
<b>Les acides phénoliques</b>	action anti-oxydante.
<b>D'autres phénols</b>	analgésiques, anti-inflammatoires, hypocholestérolémiant, hypotensifs, anticoagulants, antiallergéniques, hypotensifs et hépatoprotecteurs.
<b>Les coumarines</b>	antimicrobienne, antifongique, anticoagulante et antispasmodique.
<b>Les tanins</b>	astringentes, antioxydantes et cardiovasculaires.
<b>Les flavonoïdes</b>	antioxydantes, anti-inflammatoires, hépatoprotecteurs, antitumoraux, antiviraux et hypotensifs.
<b>Les alcaloïdes</b>	antimicrobiens, anti-inflammatoires et antalgiques.
<b>Les Monoterpènes</b>	anti-inflammatoires, fébrifuge et sédatives.
<b>Les sesquiterpènes</b>	actions anti-inflammatoires et antimicrobiennes.
<b>Phytostérols</b>	antitumorales et hépatoprotectrices.
<b>Les saponines</b>	ralentissent la coagulation du sang, diminuent la glycémie et le mauvais cholestérol, hépatoprotecteurs et immunomodulateurs.
<b>Les saponines triterpénoïdes</b>	réguler l'activité hormonale stéroïdienne, neutralisent les effets du stress et ont souvent propriétés antifongiques.
<b>Les gommes</b>	antimicrobiens, antifongiques et anti-inflammatoires.
<b>Les mucilages</b>	couvre les muqueuses des appareils digestif, respiratoire et génito-urinaire, les protégeant de l'irritation et de l'inflammation, calment la diarrhée.
<b>Les huiles volatiles</b>	action antibactérienne, antifongique et antivirale, anti-inflammatoires et antispasmodiques.
<b>les amers (les terpènes, les flavonoïdes et quelques alcaloïdes)</b>	Ils favorisent la sécrétion des enzymes digestifs dans l'estomac et les intestins, la sécrétion des hormones et la circulation de la bile. Relaxantes ou sédatives, anti-inflammatoires, une action bénéfique sur le système immunitaire et sont des antibiotiques et des antinéoplasique naturels.

**I.7. Extraction des principes actifs:**

L'extraction est une méthode qui consiste à isoler une substance d'un solide à l'état pur, ou d'une solution par contact avec un solvant qui dissout sélectivement le produit désiré, l'extraction représente fréquemment la première étape permettant d'isoler un composé organique contenu dans les plantes, les feuilles séchées ou les écorces des bois [14].

- **La macération :** consiste à laisser pendant plusieurs heures voire plusieurs jours la matière végétale en contact avec l'eau ou tout autre solvant à température ambiante. On l'utilise en général pour des composants ne supportant pas la chaleur. La masse végétale imbibée de solvant, sera pressée et le liquide mélangé au reste de la solution, celle-ci sera ensuite évaporée pour former un extrait [15].
- **L'infusion :** un des procédés les plus répandus car il est simple et rapide. C'est le principe de la tisane qui consiste à mettre la plante ou les parties de plante dans l'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 8 à 10 min. Cette dernière est utilisée sur les parties fragiles, nobles de la plante telles que les fleurs et sommités fleuries [15].
- **La digestion :** est un procédé similaire à la macération, à la différence que le solvant est porté à une température comprise entre la température ambiante et la température d'ébullition de ce solvant. La digestion est utilisée sur les drogues végétales dont les constituants sont difficiles à extraire [15].
- **Hydrodistillation simple :** La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité [16].

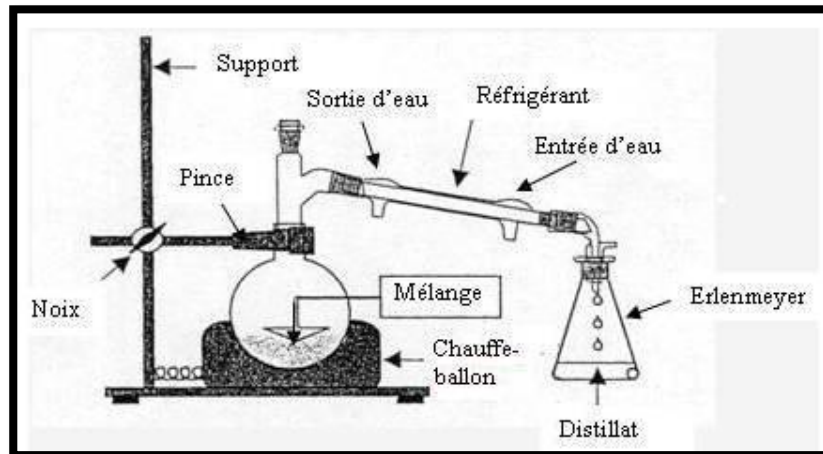


Figure I.1. Schéma d'une hydro-distillation [17].

- **Distillation à vapeur saturée :** Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi [16].
- **Hydro-diffusion :** L'hydro-diffusion consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale. La composition des produits obtenus est sensiblement différente au plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes [16].

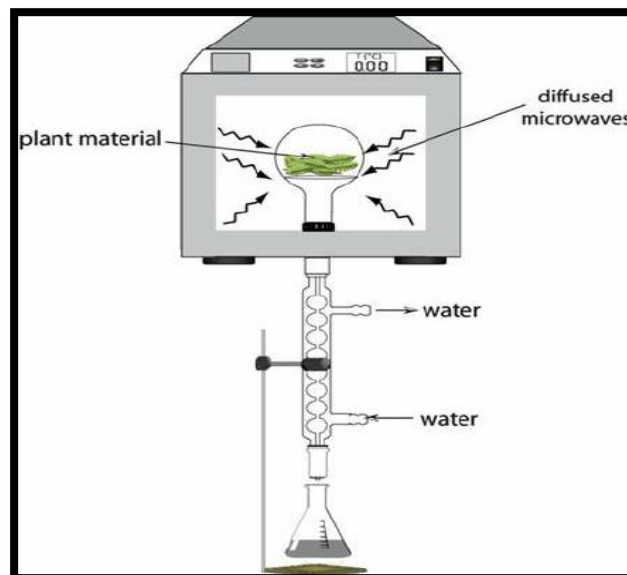


Figure I.2. Hydrodiffusion et gravité par micro-ondes (MHG) [18].

*Chapitre II:*  
*Généralités sur les*  
*Rhaponticum acaule L.*

## II. Généralités sur le *Rhaponticum acaule* L. :

La famille des astéracées (anciennement nommées « composées ») est une importante famille de plantes dicotylédones (principalement herbacées) qui comprend près de 13000 espèces réparties en 1500 genres [19]. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces. Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires et pharmaceutiques. Une des propriétés typiques de la famille des compositae est sa richesse en composés naturels divers. (Terpénoides, des flavonoïdes et des alcaloïdes, c'est une famille très riche en principes amers)[20].

### II .1. Description botanique et géographique de *Rhaponticum acaule* L. :

Plante vivace, acaule, à grandes feuilles de 10-15 cm, disposées en rosette sur le sol, vertes au-dessus et blanches tomenteuses au-dessous. Les feuilles externes sont parfois entières, les autres toutes pennatiséquées, non épineuses. Un très gros capitule solitaire de 5-6 cm de diamètre est disposé au centre de la rosette. Le réceptacle est charnu. Toutes les fleurs sont tubuleuses à corolle jaunâtre à odeur d'œillet [21].

C'est une plante nord-africaine, commune dans toute l'Algérie septentrionale, notamment dans les lieux sablonneux du littoral, les appellations locales sont : تافغيت , تافغا , تافرايت , ces termes sont indiqués par Ibn El-Baytar qui précise que la plante est acaule et qu'elle pousse en Afrique du nord [22].

### II .2. Classification botanique [22] :

- ❖ Règne : plantae.
- ❖ Embranchement : spermaphytes.
- ❖ Sous – embranchement : Angiospermes.
- ❖ Division : Magnoliophyta.
- ❖ Classe : Dicotyledoneae, Dicotylédones,  
Magnoliopsida.
- ❖ Sous – classe : Asteridae.
- ❖ Ordre : Astérales.
- ❖ Famille : Astéracées
- ❖ Genre : *Rhaponticum*..
- ❖ Espèce : *Rhaponticum acaule* L.
- ❖ Synonymes : *Cynara acaulis* L.



Figure II.1. *Rhaponticum acaule* L., en pleine floraison [23].

### II .3. Propriétés médicinales:

La plante possède des vertus médicinales .Elle est considérée comme bénéfique pour les cellules hépatiques .Elle est apéritive, cholagogue, dépurative, stomatique, tonique, etc. [04].

En décoction, elles sont recommandées dans les maladies du foie et des intestins [05], et même pour traitées les pathologies génito-urinaire, tube digestif [06].

### II .4. Utilisation du *Rhaponticum acaule* L., en médecine traditionnelle :

Après la récolte, les racines , les feuilles , les fruit et les fleurs sont débarrassées des débris, lavées puis séchées à l'air libre ensuite broyés finement en poudre .Cette dernière est utilisée dans :

- ❖ Les racines en poudre, associées à du jaune d'œuf, sont utilisées contre les affections pulmonaires [05] ;
- ❖ Les racines, pulvérisées, associées au miel, sont aphrodisiaques, eupeptiques et vulnéraires [05] ;
- ❖ La poudre des racines est mélangée avec le miel pur, pour remédier les douleurs de l'intestin [24] ;
- ❖ Le fruit est utilisé cru ou cuit par voie orale contre la gastrite (inflammation de la paroi ou muqueuse de l'estomac) [25] ;
- ❖ Les racines et feuilles du Tafgha ce sont parmi les principale espèces utilisées dans la pharmacopée traditionnelle contre estomac, tuberculose, rhumatisme [26].

### II .5. Les principes chimiques :

- ❖ La chromatographie en phase gazeuse- spectroscopie de masse de l'huile obtenue à partir de racines *Rhaponticum acaule* montre que les alcools aliphatiques constituent la grande classe (69,2%), suivie par les terpènes (5,5%), les alcènes (5,2%) et des alcynes (4,0%). Et même, il existe les aldéhydes, les cétones, les éthers, les alcanes et [27].
- ❖ L'huile obtenue à partir de fleurs *Rhaponticum acaule* montre que Cette huile essentielle est riche en terpènes (43,38%) et en composé aromatiques (14,10%), des hydrocarbures et leur dérivés (4,85%) , des acides gras et leurs ester correspondant (7,79%) , des époxydes et d'éthers (5,76%) d'aldéhydes ( 2,82%) et de cétone ( 1,90%) . Elles



montrent aussi que les constituants majoritaires sont : le méthyle eugénol (10,14%) , l'eugénol (5,26%) , l'oxyde de caryophyllène ( 3,45%) , le spathulénol ( 3,12%) , l'acétate de famesyle ( 3,07%) et le linanol ( 2,71%) [22].

- ❖ Le criblage phytochimique a permis de caractériser des familles de composés chimiques présentes dans les racines de *Rhaponticum acaule*, les résultats révèlent la présence des polyphénols (tanins) et des composés réducteurs en quantité appréciable .De plus, les tests qualitatifs des acides gras , des huiles essentielles , des saponosides , des stéroïdes et des stérols sont positifs et indiquent la présence de ces composés en faible quantité [04].
  
- ❖ Le criblage phytochimique de la partie aérienne de la rhapontique (fleurs et feuilles) nous a renseignés sur la présence en quantité importante, des acides gras, des tanins, des stérols, des stéroïdes et des huiles essentielles, des saponosides et des flavonoïdes [22].

*Généralités sur les  
activités biologiques  
étudiées*

### III. Généralités sur les activités biologiques étudiées :

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de résistance bactérienne, les différentes pathologies liées au stress oxydatif, les effets secondaires des médicaments, la coagulation sanguine qui provoque des maladies graves, dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien, antioxydant et anticoagulant ....etc. [02,28].

#### III .1. L'activité antioxydante :

##### III .1.1. Les radicaux libres :

###### III .1.1.1.Définition :

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives, agressives et à durée de vie très courte. Ces radicaux cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier en déclenchant alors une série de réactions en chaînes attaquant les structures voisines et aboutissant à des lésions cellulaires irréversibles [29].

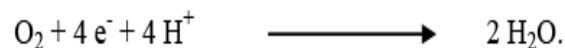
##### III .1.1.2. Sources des radicaux libres :

###### III .1.1.2.1.Les radicaux libres de source exogène [29] :

- ❖ **Les radiations ionisantes de la lumière:** les rayons X et  $\alpha$  ionisants sont capables de générer des radicaux libres oxygénés (RLO) en scindant la molécule d'eau. Lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets, ils forment des RLO en activant des molécules photosensibilisantes ;
- ❖ **Le stress:** les facteurs personnels et émotionnels, les traumatismes physiques...etc ;
- ❖ **Les substances chimiques:** les herbicides, insecticides...etc ;
- ❖ **L'alcool, le tabac:** ils s'oxydent au niveau du cytochrome P450. La fumée de la cigarette contient du fer et du cuivre qui stimule la production des radicaux  $\text{OH}\cdot$  ;
- ❖ **Les médicaments:** ceux contenant du fer administrés en grande quantité peuvent conduire à la formation de  $\text{OH}\cdot$  très toxique pour l'organisme ;
- ❖ **Les particules inhalées:** l'amiante, la silice... sont susceptibles d'exacerber la phagocytose.

**III .1.1.2.2. Les radicaux libres de source endogène :**

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques (la défense antibactérienne, la régulation des fonctions cellulaires létales telle que la mort cellulaire, la réaction inflammatoire, l'âge car les cellules sont moins actives et produisent ainsi beaucoup plus de RLO ...), la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation [29,30] :



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) mais surtout de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ). La dismutation de ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) va donner naissance au peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) puis indirectement au radical hydroxyl ( $\bullet\text{OH}$ ) [30].

**III.2.1. Les antioxydants:****III.2 .1.1. Définition :**

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [31].

**III.2 .1.2. Sources des antioxydants:**

Il existe deux sources des antioxydants : enzymatiques et non enzymatiques.

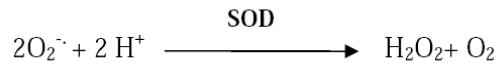
**III.2 .1.2.1. Antioxydants enzymatiques :**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement par les enzymes suivantes:

**❖ La Superoxyde dismutase (SOD) :**

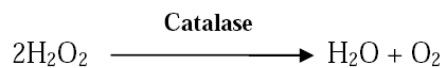
La superoxyde dismutase (SOD), est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène.

Cette enzyme existe sous deux formes : une cytoplasmique nécessite comme cofacteur les ions de cuivre et de zinc (CuZnSOD) et l'autre mitochondriale utilise le manganèse comme cofacteur (MnSOD) [32].



#### ❖ La Catalase (CAT) :

Le peroxyde d'hydrogène produit par la réaction de dismutation peut subir une réaction de Fenton. Il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase, elle transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables [32].



#### ❖ La Glutathion peroxydase (GPx) et la Glutathion réductase (GR) :

La glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau. En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites [32].

Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG) [33].

Le glutathion disulfure (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) utilisant le NADPH comme donneur d'électron [33], fourni par la voie des pentoses phosphates. Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxication active peut être résumé dans le schéma suivant [32]:

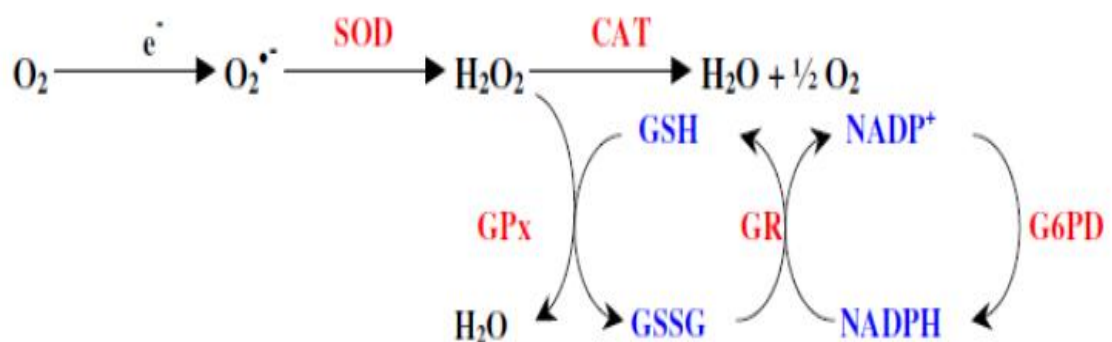


Figure III.1. Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques [32].

**III.2 .1.2.2. Antioxydants non enzymatiques :**

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines (vitamine E (α-tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique)) , nutriments, composés naturels (Les tanins (sont des donneurs de protons aux radicaux libres) , les flavonoïdes(régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène))...etc. sont considérés comme des antioxydants non enzymatiques. [33,34].

**III.2 .1.2.3. Les antioxydants synthétiques :**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels [30]. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra hépatiques. Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat [30].

**III.3 .1.Le stress oxydatif :****III.3 .1.1.Définition :**

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydants sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydants (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre production de radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif [35].

**III.3 .1.2.Stress oxydatif et maladies associées :**

Le stress oxydatif est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies; parmi ces maladies on cite les maladies cardiovasculaires, le diabète, la carcinogenèse, les maladies auto-immunes (sclérose en plaque), l'immunodépression (SIDA), les maladies du système nerveux et les maladies neuro-dégénératives (Alzheimer, Parkinson...), les problèmes de vision (cataracte), les troubles rénaux, les maladies respiratoires, les maladies inflammatoires... [29].

### III.3. L'activité antibactérienne :

#### III.3.1. Définition des bactéries :

Les bactéries sont des organismes cellulaires simples appelés procaryote qui ne contiennent pas de noyaux et qui se trouvent d'habitude en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement [36].

La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%) [37].

#### III.3.2. Structure bactérienne :

Les bactéries sont entourées d'une membrane cellulaire qui possède des flagelles leur permettant de se mouvoir, des fimbriae permettant l'attachement ainsi que des pili sexuels indispensables au phénomène de conjugaison. À l'intérieur du volume délimité par la membrane cellulaire, il y a du cytoplasme, du matériel génétique et éventuellement des organites [38]. La structure de la bactérie telle qu'elle est représentée dans la Figure (III.2).

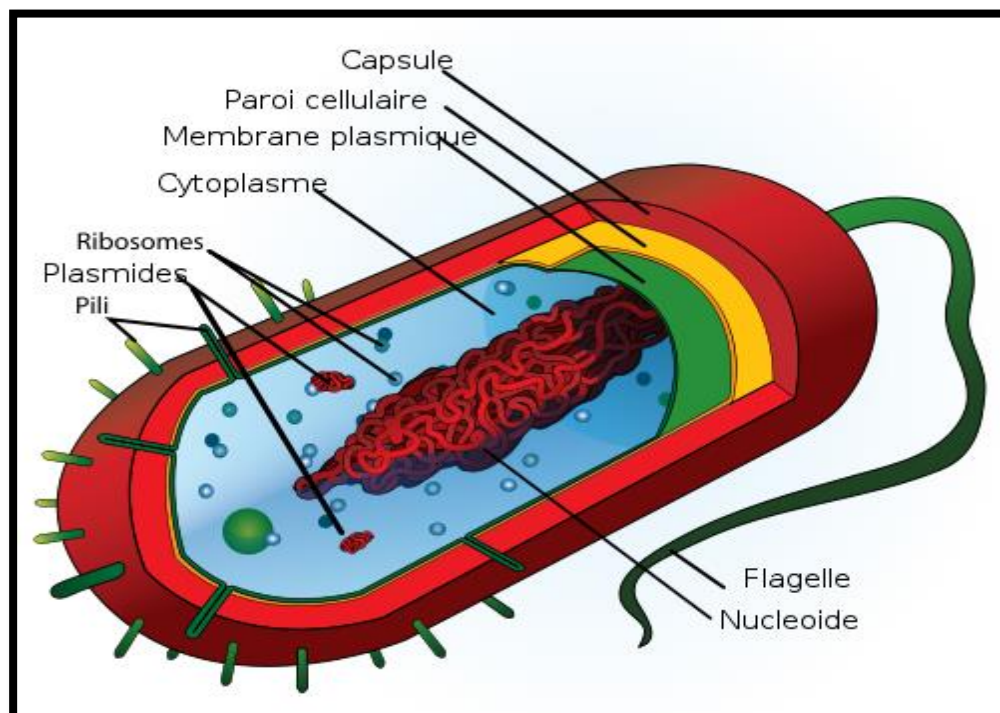


Figure III.2. La structure bactérienne [38].

### III.3.3. Classification des bactéries :

En fonction de leurs caractéristiques, les espèces de bactéries sont regroupées en genre, puis en famille, en ordre et enfin en classe. En pratique, ce sont les noms d'espèces et de genres qui sont utilisés pour les désigner [39]. On différencie aussi les bactéries selon les critères suivants :

Tableau III.1. classification bactériennes [40].

Classification	Description
Selon la forme	<p><b>Sphériques</b> : sont des <b>cocci</b> (coccus au singulier), qui peuvent former des chaînes, ou bien s'agglutiner en « grappes de raisin ».</p> <p><b>incurvées</b> : ce sont les <b>vibrions</b>.</p> <p><b>spiralées</b> : ce sont les <b>spirilles</b> ou <b>spirochètes</b>.</p>
Selon le métabolisme	<p><b>aérobies strictes</b> : besoin d'oxygène pour vivre.</p> <p><b>anaérobies strictes</b> : ne peuvent pas survivre en milieu oxygéné.</p> <p><b>aérobies-anaérobies facultatives</b> : Celles qui vivent en présence d'oxygène mais peuvent le cas échéant survivre sans oxygène.</p> <p><b>anaérobies-aérobies facultatives</b> : vivent en l'absence d'oxygène mais tolèrent sa présence.</p>
Selon la structure de la paroi	<p><b>Gram positif</b> : à une paroi cellulaire d'aspect uniforme, Libérée colorant et apparaissent en violet, sensibles à <b>la pénicilline</b>.</p> <p><b>Gram négatif</b> : est beaucoup plus mince et d'aspect laminé, Libérée colorant et apparaissent en rouge, sont davantage atteintes par les <b>antibiotiques</b> de type streptomycine.</p>
Selon la nutrition	<p><b>bactéries phototrophes</b> : captent l'énergie lumineuse.</p> <p><b>bactéries chimiotrophes</b> : sont contenues dans des substances minérales ou des molécules organiques issues d'êtres vivants.</p> <p>Certaines bactéries trouvent leur nourriture directement dans :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ le gaz carbonique de l'air.</li> <li>➤ l'azote gazeux atmosphérique.</li> <li>➤ exploitent les déchets azotés.</li> <li>➤ l'azote de l'ammoniaque ou des nitrates du sol.</li> </ul>
Selon la reproduction	<p><b>asexuée par scissiparité</b> : une cellule se divise en deux cellules filles.</p> <p><b>reproduction sexuée</b> : dans le sens qu'il permet un brassage des gènes. Une cellule dite « mâle » ou « donneuse » introduit son matériel génétique dans une cellule dite « femelle » ou « receveuse ».</p>



**III.3.4. Sources antibactériennes :****III.3.4.1. Les antibiotiques :**

Un antibiotique (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») est une molécule naturelle ou synthétique qui détruit ou bloque la croissance des bactéries. Un grand nombre d'antibiotiques sont des molécules naturelles, fabriquées par des micro-organismes : des champignons ou d'autres bactéries [41].

De manière simplifiée un antibiotique est, dans le domaine médical, « une substance chimique organique d'origine naturelle ou synthétique inhibant ou tuant les bactéries pathogènes à faible concentration et possédant une toxicité sélective ». Plus généralement, pour les microbiologistes et les chimistes, un antibiotique est une substance antibactérienne [41].

**III.3.4.2. Les antibactériens naturels (Les plantes médicinales) :**

La rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle, qui leur permet de lutter efficacement contre les pathogènes. Pour se protéger contre les bactéries, les champignons et les virus, les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, une multitude de molécules antimicrobiennes. Les plantes synthétisent plus de 100 000 petites molécules dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne. Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées de plantes que pour celles issues de bactéries et de champignons [42].

**III.3.4.3. Les désinfectants et les antiseptiques :**

Diverses substances permettent de tuer les bactéries ainsi que les autres micro-organismes ou d'inhiber leur croissance : on appelle antiseptiques ceux que l'on utilise sur des tissus vivants (la peau, les muqueuses, les plaies), désinfectants ceux que l'on emploie sur les surfaces, les objets, les instruments [40].

Parmi les molécules à visée antiseptique et désinfectante les plus courantes, citons le phénol (acide phénique), le chlore (l'eau potable est traitée par cette substance afin que soit éliminée la grande majorité des agents pathogènes) et les dérivés chlorés (eau de Javel...), les dérivés iodés (Bétadine), les peroxydes (eau oxygénée), ainsi que l'alcool (50°, 70°, 90°, solutions hydro-alcooliques) [40].

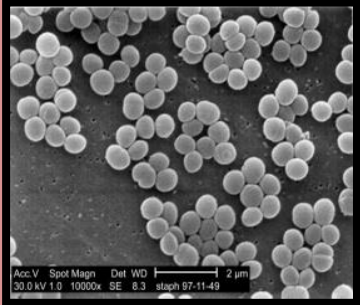
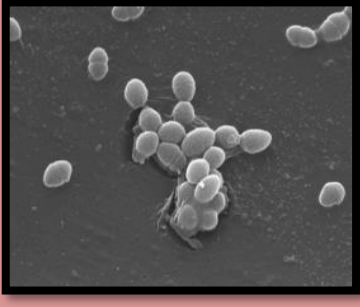
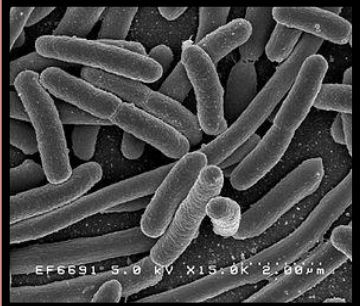
**III.3.4.4. La chaleur :**

La plupart des bactéries meurent à la chaleur : c'est le principe de la pasteurisation ; procédé mis au point par Pasteur pour décontaminer le vin, de la stérilisation et de la thermisation [40].

**III.3.5. Description des souches bactériennes étudiées :**

La description des souches bactériennes étudiées, est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau III.2. Description des souches bactériennes étudiées.**

Souches	Définition	Habitat	Pouvoir pathogène
 <p><b>Figure III.3. <i>Staphylococcus aureus</i> [45].</b></p>	<p>Les bactéries du genre <i>Staphylococcus</i> sont des coques (cocci) à Gram positif, groupées en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés [43].</p>	<p><i>S. aureus</i> est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement [43].</p>	<p><i>S. aureus</i> est responsable d'intoxications alimentaires, anthrax, impétigo bulleux, panaris, surinfection de plaies traumatiques ou postopératoires [44].</p>
 <p><b>Figure III.4. <i>Enterococcus faecalis</i> [45].</b></p>	<p>Le genre <i>Enterococcus</i> est constitué de cocci à Gram positif groupés par paires ou en courtes chaînettes. Les espèces les plus fréquemment isolées chez l'homme sont <i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i> [44].</p>	<p>Les entérocoques sont des commensaux du tube digestif, chez l'homme et chez l'animal [44].</p>	<p>Les entérocoques peuvent être impliqués dans des infections urinaires, nosocomiales et des endocardites [44].</p>
 <p><b>Figure III.5. <i>Escherichia coli</i> [45].</b></p>	<p>La bactérie <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) est un bâtonnet à Gram négatif a sporulé. Elle est aérobie ou anaérobie facultative [46].</p>	<p><i>E. coli</i> est un habitant normal de l'intestin des humains et des animaux à sang chaud. <i>E. coli</i> est un habitant normal de l'intestin des humains et des animaux à sang chaud [46].</p>	<p>Les pathologies généralement associées aux souches <i>E. Coli</i> ce sont des Infections urinaires, Infection intestinale (une diarrhée sanglante..), Infection néonatale (une méningite ou une septicémie) [44].</p>

### III. 4.L'activité anticoagulante :

#### III. 4 .1.Définition de la coagulation :

La coagulation correspond à une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la transformation par la thrombine du fibrinogène soluble en fibrine insoluble qui constitue l'armature du caillot. Ce phénomène est localisé et régulé par un ensemble d'inhibiteurs physiologiques. Les dérèglements de ce système exposent l'être humain à un risque de thrombose ou à un risque hémorragique [47].

#### III. 4.2. Définition des thromboses :

La thrombose est une affection dans laquelle on observe la formation d'un caillot sanguin (thrombus), ce dernier peut se former au niveau des veines ou des artères. La formation d'un caillot de sang se produit normalement lorsqu'on se coupe, comme étape dans le processus de coagulation sanguine. Cependant, certaines personnes sont prédisposées à la formation de thrombus sans aucune blessure ou coupure. Ces personnes souffrent de la maladie thrombo-embolique [48].

#### III. 4.3. Type des thromboses :

Selon le site de leurs formations on distingue deux types des thromboses :

##### III. 4.3. 1. thrombose veineuse :

La phlébite ou thrombose veineuse profonde est liée à la formation d'un caillot de sang ou thrombus qui bouche une veine. Elle survient le plus souvent dans une veine des jambes, mais elle peut survenir sur presque toutes les veines de l'organisme (bras, cerveau, tube digestif, reins, etc.). Les veines superficielles, sous la peau, peuvent aussi être touchées par une phlébite, on parle alors de phlébite superficielle [02].

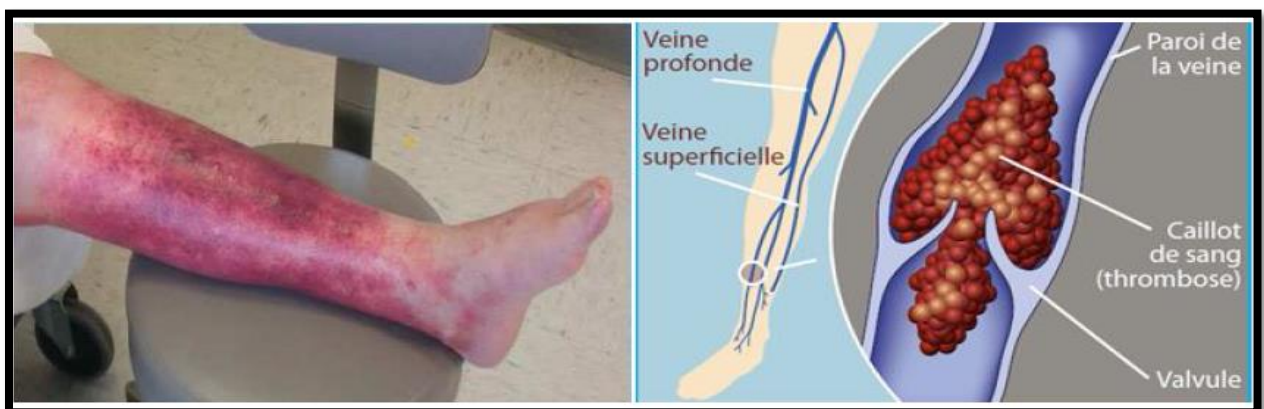


Figure III.6. Formation d'une phlébite au niveau des veines de jambe [02].

### III. 4.3. 2. La thrombose artérielle :

La thrombose artérielle est un caillot ou thrombus blanc constitué d'amas plaquettaire consolidé par un réseau fibrineux et elle se forme habituellement après l'érosion ou la rupture de la plaque athéromateuse liée à l'évolution de l'athérosclérose, cette thrombose est connue sous le nom d'athérothrombose [49].

L'athérothrombose est considérée actuellement comme la cause principale de la mortalité dans le monde, elle est responsable des complications cliniques très dangereuses regroupées en trois catégories : les syndromes coronariens aigus, l'accident vasculaire cérébral et l'ischémie aiguë des membres inférieurs [49].

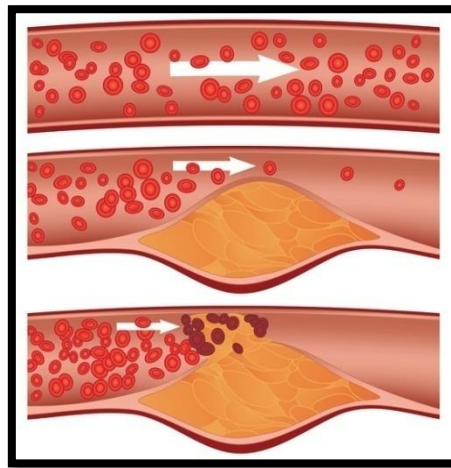


Figure III.7. Formation d'une athérothrombose au niveau des artères [50].

### III. 4.4. Causes de la thrombose:

La thrombose est causée, comme on la déjà vu, par la formation d'un caillot sanguin. Alors plusieurs facteurs peuvent déclencher la formation de ce caillot sanguin [48]:

- Un ralentissement de la circulation sanguine qui survient généralement chez les personnes souffrant de nombreuses varices ;
- Des lésions dans la paroi intérieure des vaisseaux sanguins ;
- Les personnes atteintes d'hypercoagulabilité (par exemple suite à un déficit en antithrombine).

D'autres facteurs importants et connus peuvent augmenter le risque de thrombose comme :

- la prise de la pilule ;
- l'hypertension ;

- l'obésité ;
- le tabac (en particulier les femmes qui fument après 35 ans) ;
- des cas de thrombose dans la famille (facteur génétique) ;
- la grossesse ;
- une injection (d'un médicament, ... etc.).

### **III. 4.5. Traitement des thromboses :**

Il existe trois classes d'agents pharmacologiques anti-thrombotiques utilisables, les antiagrégants, les anticoagulants, et les fibrinolytiques :

#### **III. 4.5. 1. Antiagrégants :**

Les antiagrégants (aspirine, ticagrelor, clopidogrel...) représentent à l'heure actuelle le traitement de référence des thromboses artérielles, mais les anticoagulants sont aussi recommandés en association avec les antiagrégants et les fibrinolytiques pour traiter les syndromes coronaires aigus et l'infarctus cérébral [49].

#### **III. 4.5. 2. Anticoagulants :**

Les anticoagulants représentent le traitement principal de la maladie veineuse thrombo-embolique. De nombreux anticoagulants agissant à différents niveaux de la cascade de la coagulation sont utilisés et ils sont regroupés en trois classes, deux classes des anticoagulants classiques (les héparines et les anti-vitamines K) et la classe des nouveaux anticoagulants [02].

#### **III. 4.5. 3. Traitement fibrinolytiques :**

Le but de traitement fibrinolytique (streptokinase, urokinase, activateur tissulaire de plasminogène...) est de lyser le thrombus artériel ou veineux, ce traitement associé le plus souvent à un traitement antiagrégant et anticoagulant [49].

### **III. 4.6. Anticoagulants naturels :**

Dans l'alimentation et dans certains compléments alimentaires, on trouve un certain nombre de produits ayant une action sur la coagulation. Les anticoagulants naturels sont nombreux, on peut citer [51] :

- curcuma, ginseng, gingembre, ginkgo biloba ;
- ail, poivre de Cayenne, cannelle, menthe, réglisse ;
- chardon-marie, graines de lin, reine des prés, mélilot, marron d'Inde ;
- Omega-3 issus des poissons gras et de l'huile de foie de morue (EPA, DHA), vitamine E (amandes, graines de tournesol, noisettes, pignons de pins) ;
- choux, baies, raisin et extraits de pépins de raisins, pommes, oignons rouges, haricots verts, concentré de tomates, câpres ;
- thé, sarrasin ;
- olicosanol extrait de la canne à sucre.

Les anticoagulants naturels sont probablement utiles dans la prévention du risque cardiovasculaire même si peu d'études existent sur le sujet. Selon leurs propriétés anticoagulantes ou anti-agrégante, leur action anti-thrombotique participerait à l'inhibition de la formation de caillots dans le circuit artériel et veineux de l'organisme [51].

En cas de traitement par des médicaments anticoagulants, il s'agit d'être vigilant afin de ne pas provoquer d'interactions entre les aliments et ces médicaments afin d'éviter un surdosage (et un risque d'hémorragie) [51].

*Deuxième partie*  
*Etude expérimentale*

*Chapitre IV :*  
*Matériels et méthodes*



## IV. Matériels et méthodes :

### IV .1.Le matériel végétal:

On a procédé à la récolte de la plante dans la région de Sedrata wilaya de Souk Ahras (Est de l'Algérie) pendant la moitié du mois de Mars 2016 au cours des matinées ensoleillées. La partie aérienne de la plante est nettoyée, séchée à l'ombre et à température ambiante, puis stockée jusqu'à utilisation.



Figure IV.1. Les fruits de *Rhaponticum acaule* L., fraîche et après séchage.

### IV .2.Description de la zone d'étude :

#### IV .2.1. Localisation de la commune :

Sedrata est une commune algérienne, située dans le daïra de sedrata wilaya de Souk Ahras, entourée par les communes suivantes : Aïn Soltane, Zouabi, Bir Bou Haouch, Oum El Adhaim, Ragouba, Khemissa et wilaya de Guelma.



Figure IV.2. Partie de la carte Administrative de la Wilaya De Souk-Ahras [52].

### IV .2.2.Coordonnés géographiques :

Coordonnées géographiques de la région de Sedrata indiquée dans le tableau (IV.1).

**Tableau IV.1. Coordonnés géographiques du site de récolte [53].**

Wilaya	Commune	Altitudes (m)	Latitude	Longitude
Souk Ahras	Sedrata	811	36 .1284°	7.53147°

### IV .2.3.Climat :

Le climat de Sedrata est chaud et tempéré. La pluie dans Sedrata tombe surtout en hiver, avec relativement peu de pluie en été. La carte climatique de Köppen-Geiger y classe le climat comme étant de type Csa (climat méditerranéen). En moyenne la température à Sedrata est de 14.2 °C. La moyenne des précipitations annuelles atteints 523 mm [54], d'après le tableau (IV.2).

**Tableau IV.2. Table climatique de Sedrata [54].**

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
<b>Température moyenne (°C)</b>	5.4	6.5	9	11.7	16.1	20.2	24.1	24.3	21.3	15.3	10.5	6.6
<b>Température minimale moyenne (°C)</b>	0.6	1.5	3.2	5.3	9.2	12.4	15.6	16.2	14.5	9.5	5.5	1.9
<b>Température maximale (°C)</b>	10.2	11.6	14.8	18.2	23	28	32.6	32.4	28.2	21.2	15.6	11.3
<b>Précipitations (mm)</b>	73	63	56	45	50	21	9	11	32	42	55	66

### IV. 3. L'extraction par macération:

#### IV.3.1. Principe :

La macération est un procédé qui consiste à tremper le solide dans un solvant à température ambiante, pendant un certain temps suffisant pour en extraire les constituants solubles. Cette méthode présente l'avantage d'être rapide, surtout avec les solvants à l'ébullition, la quantité de solvant nécessaire est environ dix à vingt fois la masse d'échantillon traité [04].

#### IV.3.2. Mode opératoire :

La macération consiste à émerger 60g de poudre de *Rhaponticum acaule* L., dans 600 ml de méthanol pendant 24 heures à température ambiante, Ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré après l'évaporation du filtrat dans un évaporateur rotatif, à une température de 60°C. L'extrait obtenu a été conservé au 4°C jusqu'à l'utilisation. Voir figures (IV.3) et (IV.4).

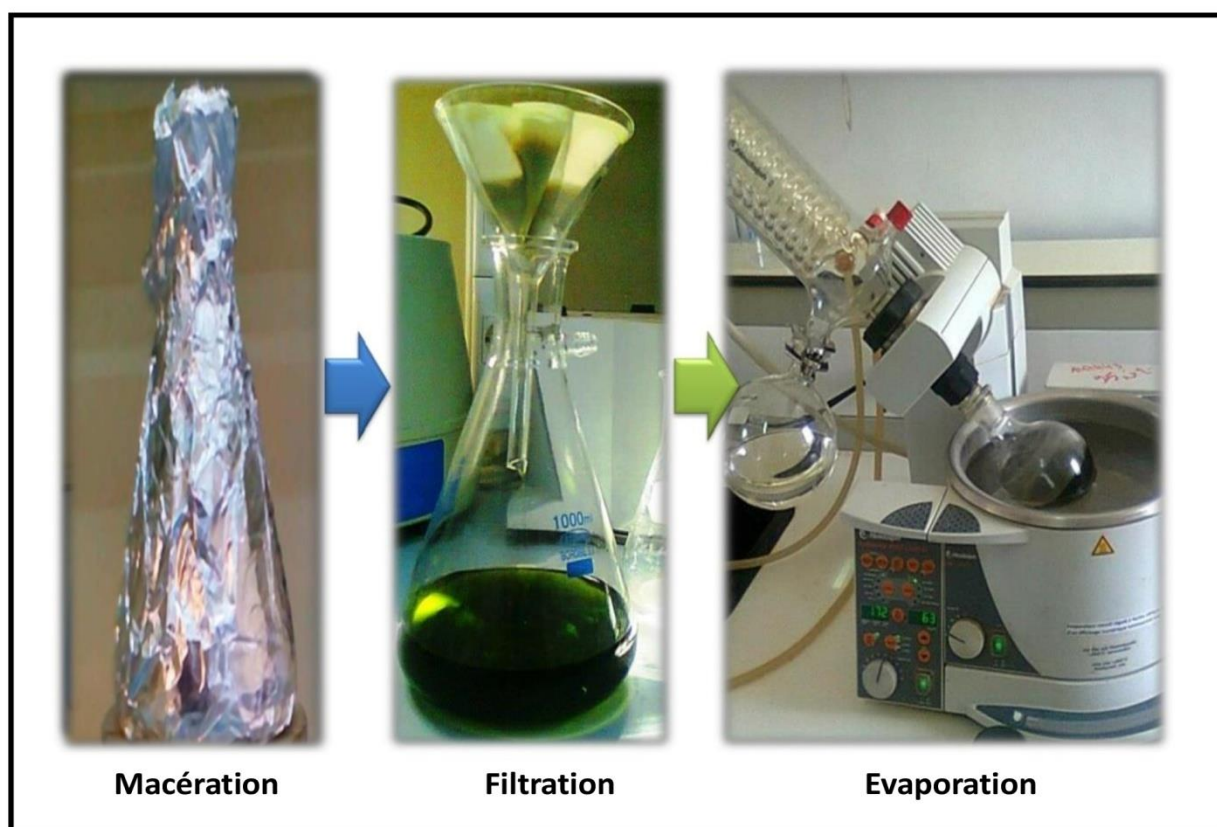


Figure IV.3. Les étapes d'obtention d'extrait méthanolique.

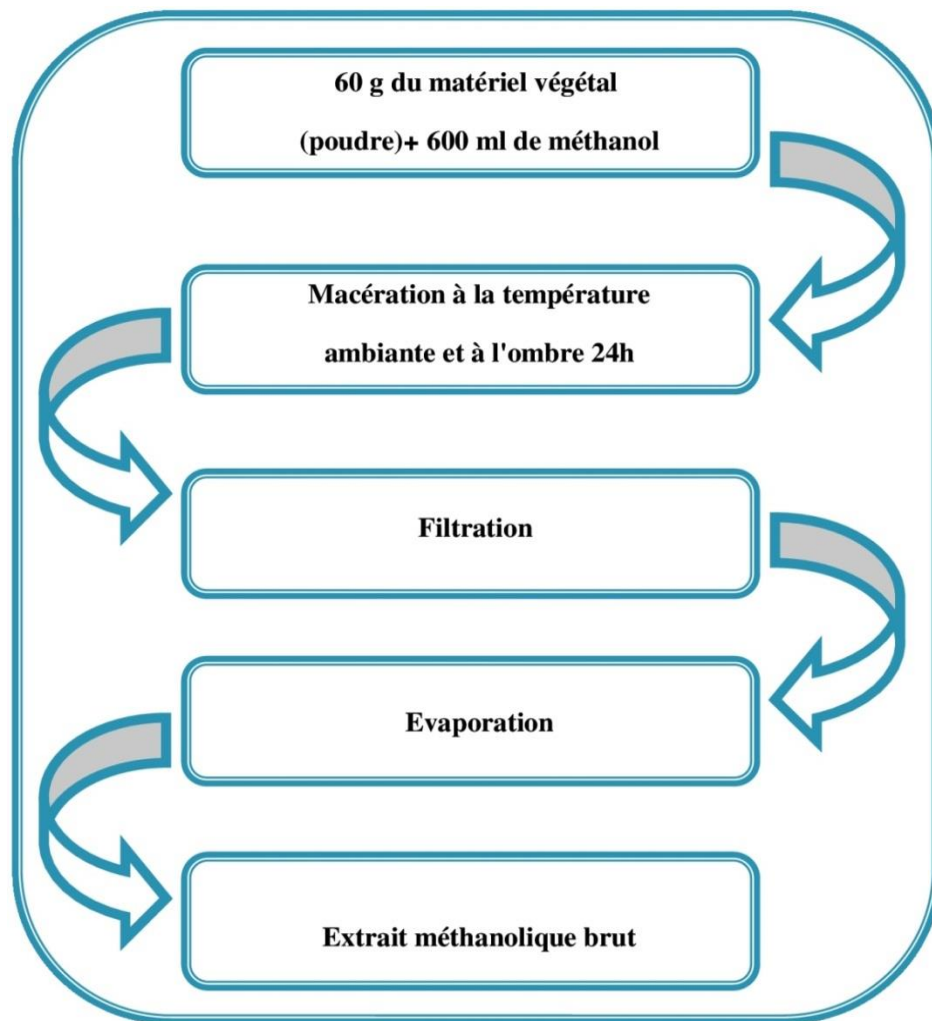


Figure IV.4. Protocole d'obtention d'extrait méthanolique par macération.

#### IV.4. Détermination de rendement d'extraction:

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante [55]:

$$R (\%) = 100 \text{ Mext} / \text{Méch.}$$

Où :

**R:** C'est le rendement en % ;

**Mext:** C'est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg ;

**Méch:** C'est la masse sèche de la plante en mg.

## IV .5.Evaluation des activités biologiques :

### IV .5.1. Evaluation de l'activité antioxydante par test au DPPH:

#### IV .5.1. 1. Principe :

L'activité antiradicalaire de l'extrait a été évaluée par la capacité de piégeage du radical libre DPPH. Cette méthode décrite par Masuda consiste à suivre la réduction du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par un antioxydant à l'aide de spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence de l'extrait [56].

Le radical 2,2- diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2.2 diphényl-1- picrylhydrazyle) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl -1- picryl hydrazine de couleur jaune [57].

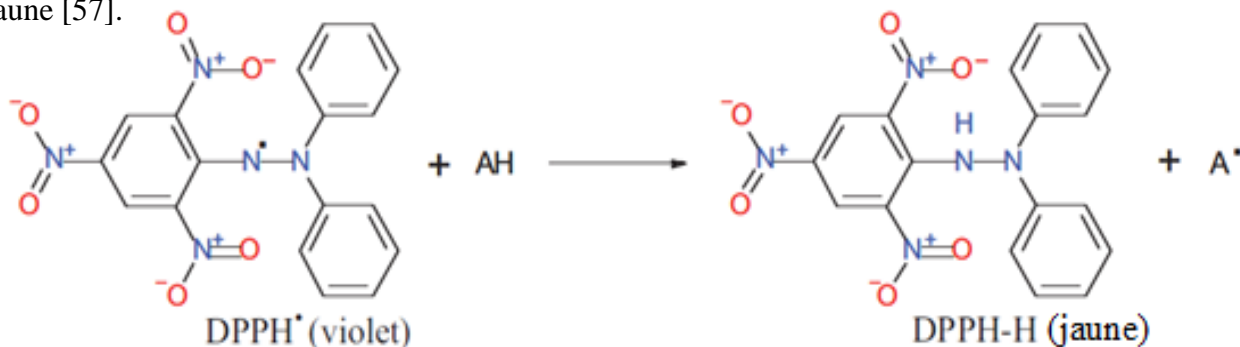


Figure IV.5. Neutralisation du radical DPPH• en présence d'un antioxydant [57].

#### IV.5.1. 2. L'essai au DPPH:

Le protocole est décrit par HAMIDI ABDELRAZAG [58], avec quelques modifications. 1ml de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations, sont ajoutés à 1ml de la solution méthanolique du DPPH (0,1 mM). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1ml de la solution méthanolique de DPPH. Après homogénéisation, le mélange est incubé à la température ambiante 25 °C à l'abri de la lumière.

Après 30 min d'incubation, la lecture de l'absorbance est effectuée à 517nm contre un blanc qui ne contient que de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (acide ascorbique) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que celles des échantillons.

**IV .5.1. 3. Expression des résultats :****IV .5.1. 3.1. Calcul des pourcentages d'inhibition:**

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé en utilisant la formule suivante [59]:

$$I (\%)= [(Ab-Ae) / Ab] \times 100$$

**I (%)**: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH ;

**Ab**: Absorbance du contrôle ;

**Ae**: Absorbance de l'échantillon.

**IV .5.1. 3.2. Calcul des concentrations efficaces IC50 :**

L'IC50 ou concentration inhibitrice de 50 %, permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées [60], en utilisant le logiciel Microsoft Excel version 2007 .

**IV.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne :**

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait sont effectués au sein de centre de diagnostic médical IBN SINA –Ouargla.

**IV.5.2.1.Principe de méthode par diffusion en milieu gélosé (méthode de disques) :**

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante [61].

**IV.5.2.2.Lecture des résultats [52]:**

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant l'extrait à tester.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait.

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

#### **IV.5.2.3.Souches bactériennes testées :**

Les souches bactériennes ayant fait l'objet de cette étude ont été isolées des patients de centre de diagnostic médical IBN SINA -Ouargla et qui sont:

- *Escherichia coli* ;
- *Staphylococcus aureus* ;
- *Enterococcus faecalis* .

#### **IV.5.2.4.protocole expérimentale :**

Le protocole est décrit par FROUHAT Zoulikha et al [53], avec quelques modifications.

##### **IV.5.2.4.1. Préparation des disques :**

Les disques sont préparées à partir du papier wattman N3 de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 15minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

##### **IV.5.2.4.2. Préparation des précultures :**

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

**IV.5.2.4.3. Préparation des suspensions bactériennes :**

A l'aide d'un inoculateur nous avons prélevée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (Na Cl).

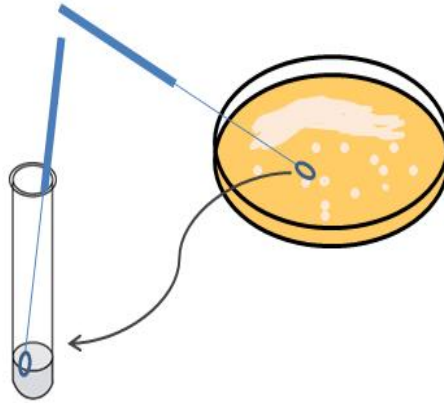


Figure IV.6. Etape de préparation des suspensions bactériennes [64].

**IV.5.2.4.4. Ensemencement :**

Sur des boites contenant le milieu gélosé (Mueller Hinton) d'une épaisseur de 2 mm bien séché, on introduit 3 à 5 ml de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon stérile, On obtient ainsi un étalement uniforme en nappe.

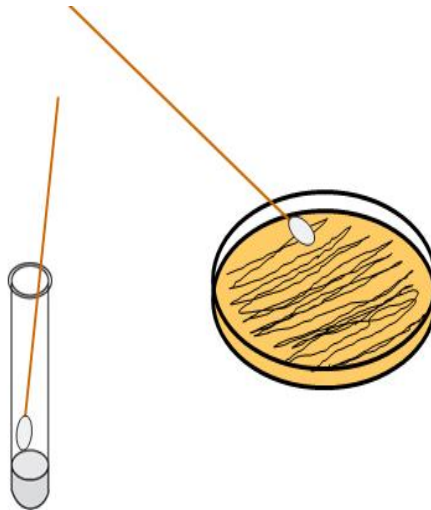


Figure IV.7. Etape de l'ensemencement [64].

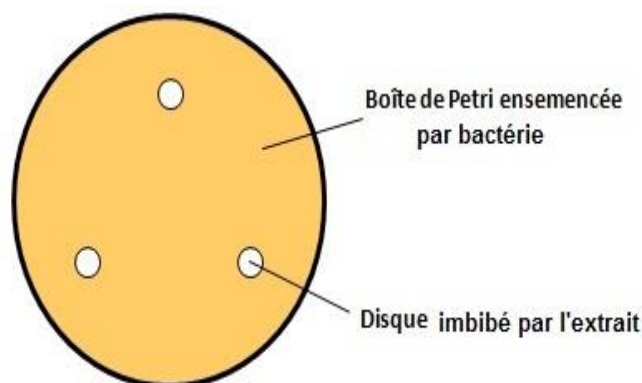
**IV.5.2.4.5. Préparation des dilutions de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L. :**

Des dilutions de l'extrait à 25%, 50%, 75% et 100% sont effectuées avec le DMSO.



**IV.5.2.4.6. Incubation :**

Les disques sont prélevés à l'aide d'une pince stérilisée, puis imbibés par 10 µl des différentes dilutions d'extrait de la plante. Les disques ainsi traités déposés sur la surface de la gélose inoculée diffusés, puis incubés à 37°C à l'étuve pendant 24 heures.



**Figure IV.8. Etape de l'incubation [64].**

**IV.5. 3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène :**

L'évaluation de l'activité anticoagulante est effectuée au niveau de laboratoire d'analyse biologique de l'établissement hospitalier public Hocine Aït-Ahmed de Hassi Messaoud.

L'activité anticoagulante de l'extrait de *Rhponiticum acaule* L., a été évaluée *in vitro* vis-à-vis par voies de coagulation exogène sur un plasma normal déplaquetté et à l'aide des tests globaux et coagulométriques, le taux de prothrombine (TP) et International Normalized Ratio (INR).

**IV.5. 3. 1. Prélèvements sanguins :**

Le sang est prélevé dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang le jour même de son utilisation.

**IV.5. 3.2. Préparation du plasma déplaquetté :**

Le sang est centrifugé pendant 10 minutes à une vitesse de 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (ppp). Le plasma déplaquetté utilisé directement ou bien conservé à basse température (-10°C) jusqu'à son utilisation.

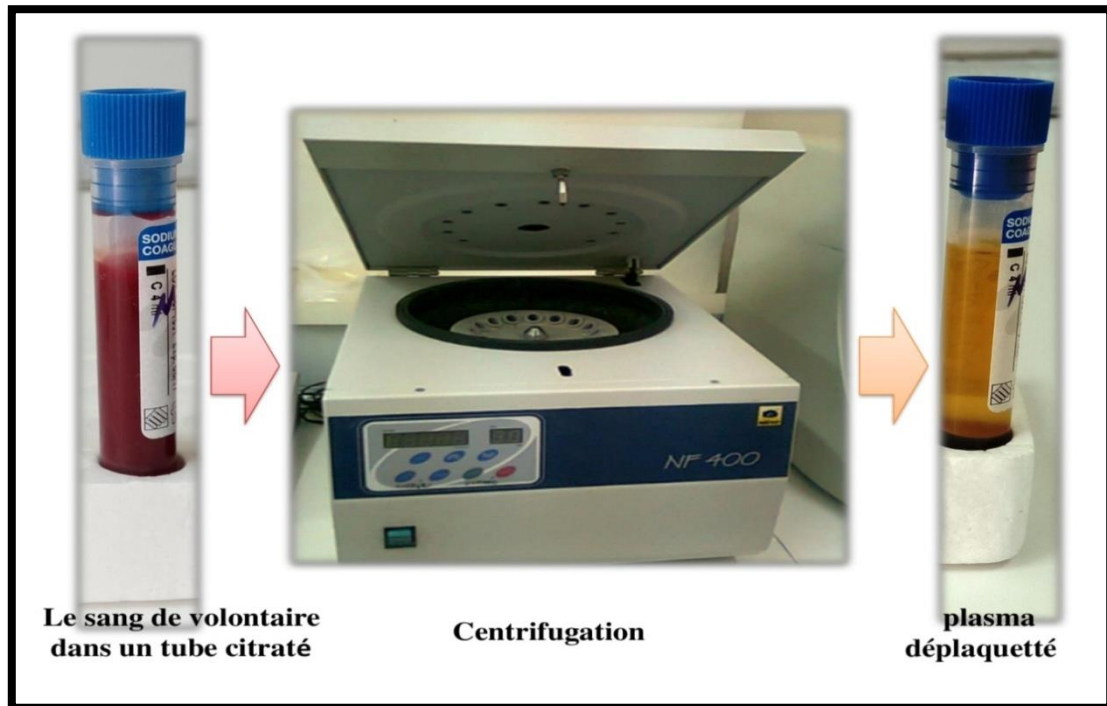


Figure IV.9. Préparation du plasma déplaqueté.

#### IV.5. 3.3. Préparation des dilutions de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L. :

L'extrait est dilué avec du DMSO, les dilutions obtenues sont : 100% ,75%,50% et 25%.

#### IV.5. 3. 4. Test de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène :

L'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation a été évaluée en utilisant un test de coagulation appelé le taux de prothrombine(TP) qui permet d'une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (La proconvertine VII, la prothrombine II, la proaccélérine V, le facteur stuart X et aussi le fibrinogène) [02].

##### IV.5. 3. 4.1. Principe:

La prothrombine désigne une protéine qui intervient dans le cadre de la coagulation sanguine. Mesuré lors de certains examens biologiques, le temps de prothrombine sert à déterminer le délai selon lequel le plasma sanguin coagule au contact d'un tissu que l'on appelle thromboplastine, Le temps de coagulation est déterminé à 37°C [65,66].

Le TP exprimé en pourcentage %, Nous avant converti taux de prothrombine (TP) en International Normalized Ratio(INR) a fin d'expliqué bien les résultats.

**IV.5. 3. 4.2. Mode opératoire :**

- Décanter le réactif de travail du TP dans le récipient de réactif et chauffer à 37 C ° dans l'incubateur du réactif (Station 03), entre 5 et 10 minutes ;
- placer les doubles cupules dans les deux des rangées d'incubation (Station 04,05).Et distribuée la bille magnétique, Pipette (90µl de plasma + 10µl de l'extrait a 25%) dans la double cupule ;
- En exerçant une brève pression sur la cupule droite, la minuterie d'incubation est démarrée ;
- Une fois que le temps d'incubation est terminée, placer la cuvette dans le canal de mesure (Station 02) et appuyez sur la < RESET> et attendre l'ajustement, Une fois l'affichage affiche " 0.0" . La mesure peut maintenant commencer ;
- Aspirer 200 µl de réactif du travail (TP) et la pipette dans la cupule ;
- Le temps de mesure sera arrêté une fois la coagulation se produit ;
- On appuie sur <TEST> pour prendre la valeur d'INR ;
- Retirez les cuvettes du canal de mesure et commencer les prochaines mesures avec les dilutions 50%,75% et 100%.



Figure IV.10. Appareil de mesure Coagulométre.

*Chapitre V :*  
*Résultats*  
*et*  
*discussions*

## V. Résultats et discussions :

### V. 1. Rendement d'extraction:

Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du *Rhaponticum acaule* L., nous avons calculé le rendement de l'extraction, les résultats obtenus sont présentes dans le tableau suivant :

**Tableau V.1. Rendement de l'extraction des fruits de le *Rhaponticum acaule* L.**

Espèce	poids de la matière sèche en (g)	poids de l'extrait brut en (g)	Rendement en (%)
<i>Rhaponticum acaule</i> L.	60	10,13	16,88

### V. 2. caractères organoleptiques de l'extrait :

Les caractères organoleptiques de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau V.2. Caractères organoleptiques de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L.**

	Odeur	Aspect	Couleur
Extrait de <i>Rhaponticum acaule</i> L.	Fort	Visqueux	Vert Foncé

### V.3. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'extrait du *Rhaponticum acaule* L, .et du témoin (Acide ascorbique), ont été déterminées par la méthode au DPPH. Les pourcentages d'inhibition de DPPH pour chaque concentration sont présentés dans les figures (V.1) et (V.2).

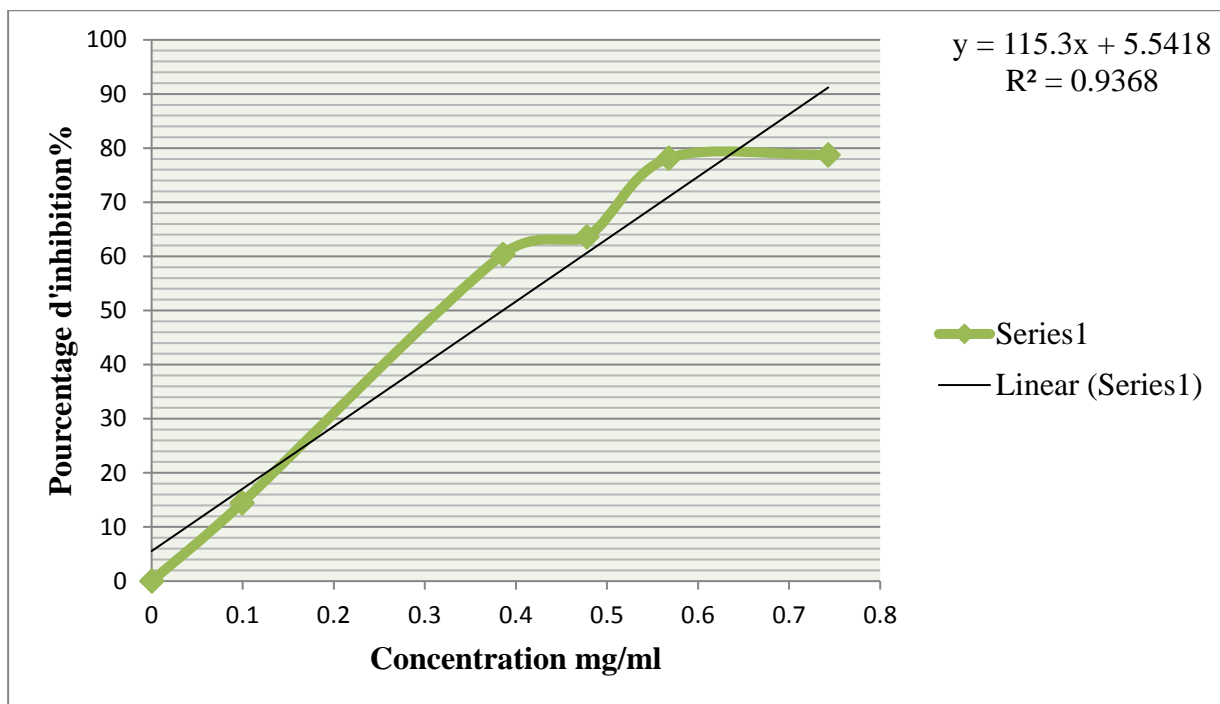


Figure V.1. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.

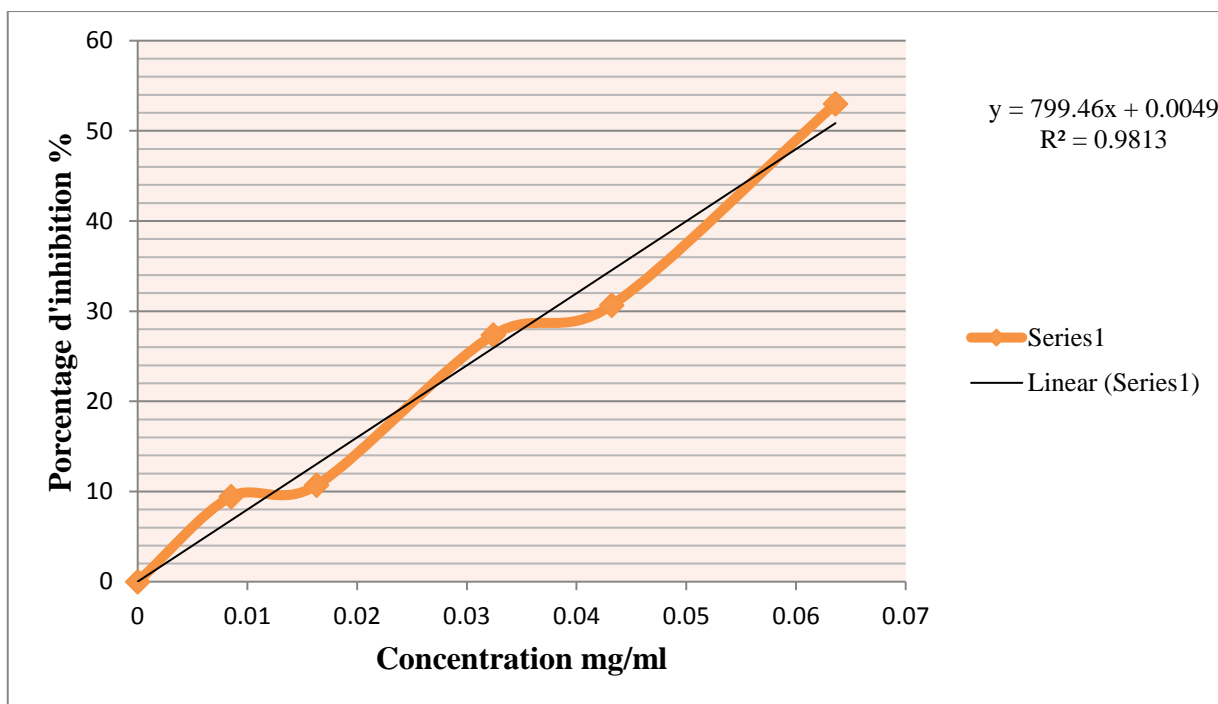


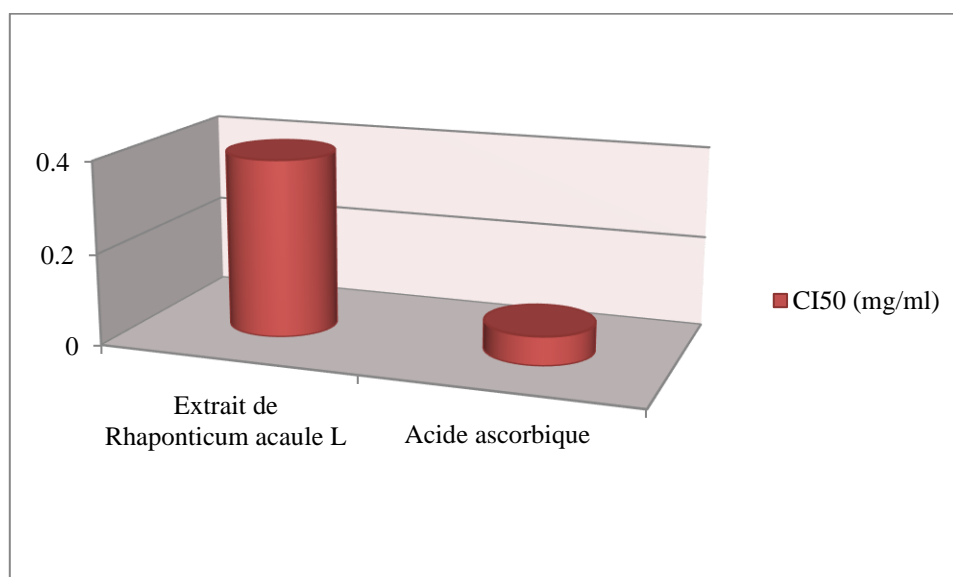
Figure V.2. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

À partir d'équations linéaires obtenues, nous pouvons déterminer d'inhibition obtenus en la valeur d'IC<sub>50</sub> de l'extrait ainsi que celle de l'antioxydant standard. Plus la valeur de IC<sub>50</sub> est petite, plus l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., à une forte activité antioxydante.

Les valeurs des concentrations efficaces de l'extrait et l'acide ascorbique qui permettent d'inhiber l'effet de 50% du DPPH sont rapportées dans le tableau (V.3) et dans la figure (V.3) :

**Tableau V.3. Les valeurs des concentrations d'inhibitions IC<sub>50</sub>.**

	Extrait de <i>Rhaponticum acaule</i> L.	Acide ascorbique
IC <sub>50</sub> (mg/ml)	0,39	0,063



**Figure V.3. Les valeurs des concentrations d'inhibition IC<sub>50</sub> de l'extrait et de l'acide ascorbique.**

Les résultats d'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de fruits de *Rhaponticum acaule* L., montrent un IC<sub>50</sub> = 0,39 mg/ml, qui est plus élevée que celle enregistrée pour l'acide ascorbique qui est de 0,063 mg/ml.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, la tocophérol, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène [67].

À partir de ces résultats on peut dire que cette activité antioxydante de *Rhaponticum acaule* L., pourrait être liée à sa richesse en principes actifs qui ont un pouvoir antioxydant, et on peut dire que l'extrait a un pouvoir réducteur pour neutraliser les radicaux libres DPPH.

#### V.4. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., est évaluée sur trois souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) après 24 heures d'incubation à une température de 37°C.

Le pouvoir antibactérien de l'extrait est obtenu par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en mm à l'aide d'une règle.

Le tableau (V.4) et la figure (V.4) illustrent les valeurs des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues en présence de l'extrait.

Tableau V.4. Diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'extrait du *Rhaponticum acaule* L.

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	36	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	++
<i>Enterococcus faecalis</i>	13	+

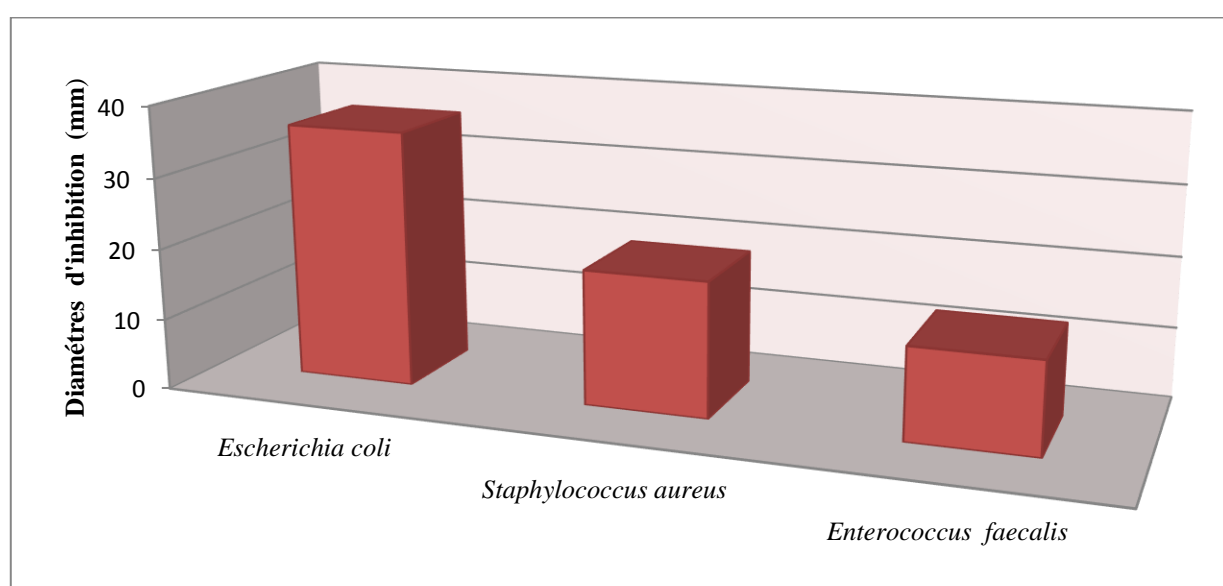


Figure V.4. Diamètres des zones d'inhibition pour les trois souches bactériennes.

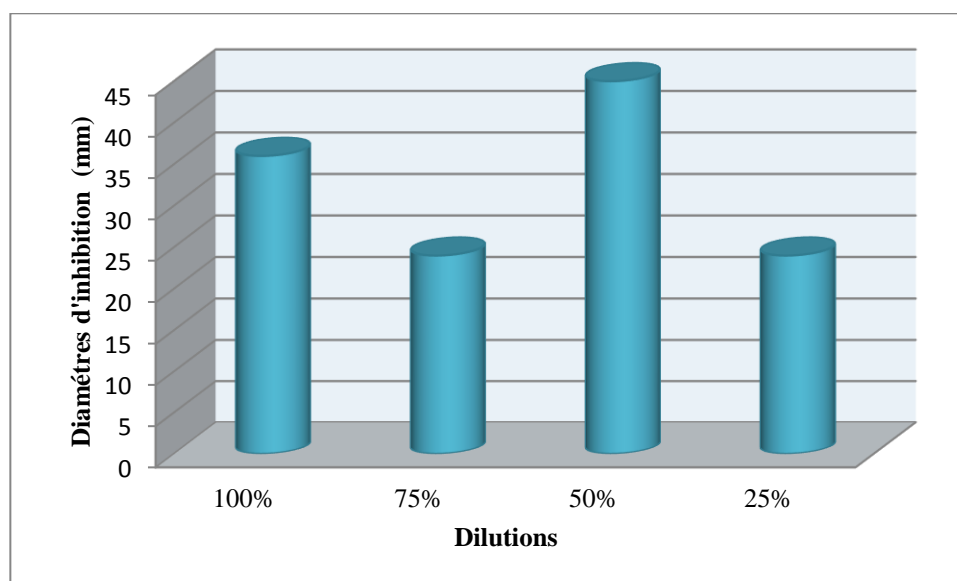


L'extrait de *Rhaponticum acaule* L., présente un effet positif sur les trois souches bactériennes étudiées avec des diamètres d'inhibition de 36 mm, 19 et 13 mm respectivement pour *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Enterococcus faecalis*.

Les résultats obtenus après la dilution de l'extrait, sont présentés dans les tableaux et les figure ci-dessous :

**Tableau V.5. Diamètres des zones d'inhibition d'*Escherichia coli* pour différentes dilutions.**

Dilutions	100 %	75 %	50 %	25 %
Zone d'inhibition	36 mm	24 mm	45 mm	24 mm



**Figure V.5. Diamètres des zones d'inhibition de la souche *Escherichia coli* pour chaque dilution.**

La souche *Escherichia coli* donne un diamètre de 24 mm avec la dilution 75%, une zone de 45 mm de diamètre avec la dilution 50% et un diamètre de 24 mm avec la dilution 25%, donc pour *Escherichia coli* est extrêmement sensible pour toutes les dilutions de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L.

Tableau V.6. Diamètres des zones d'inhibition des dilutions pour *Staphylococcus aureus*.

Dilutions	100 %	75 %	50 %	25 %
Zone d'inhibition	19mm	08mm	08mm	-

Notes: (-): pas d'inhibition

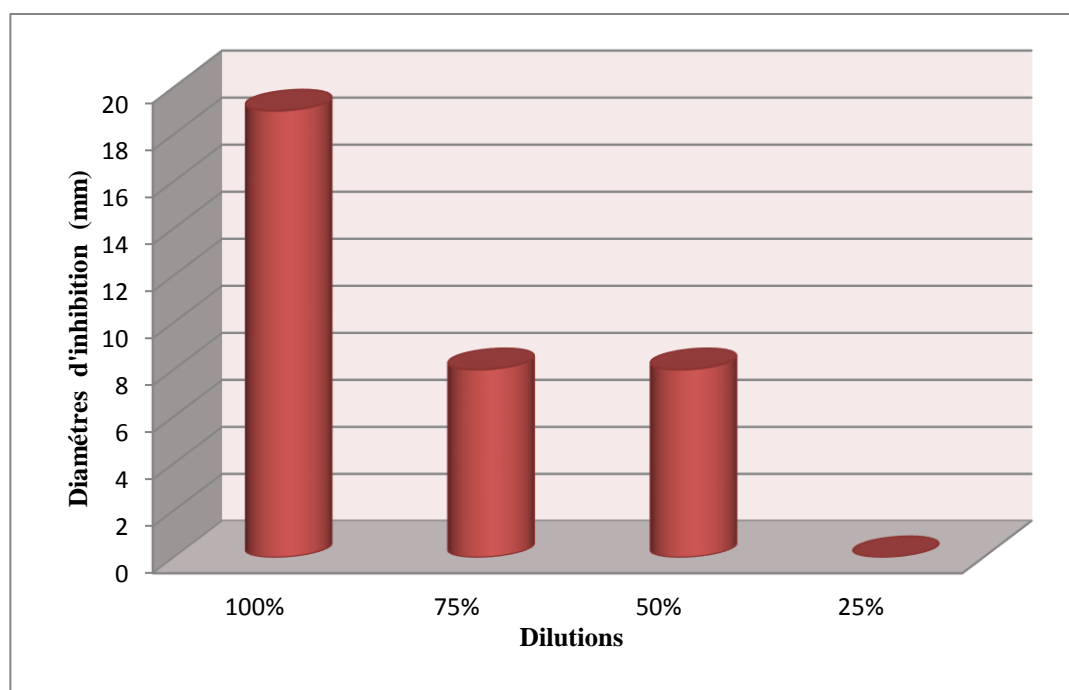
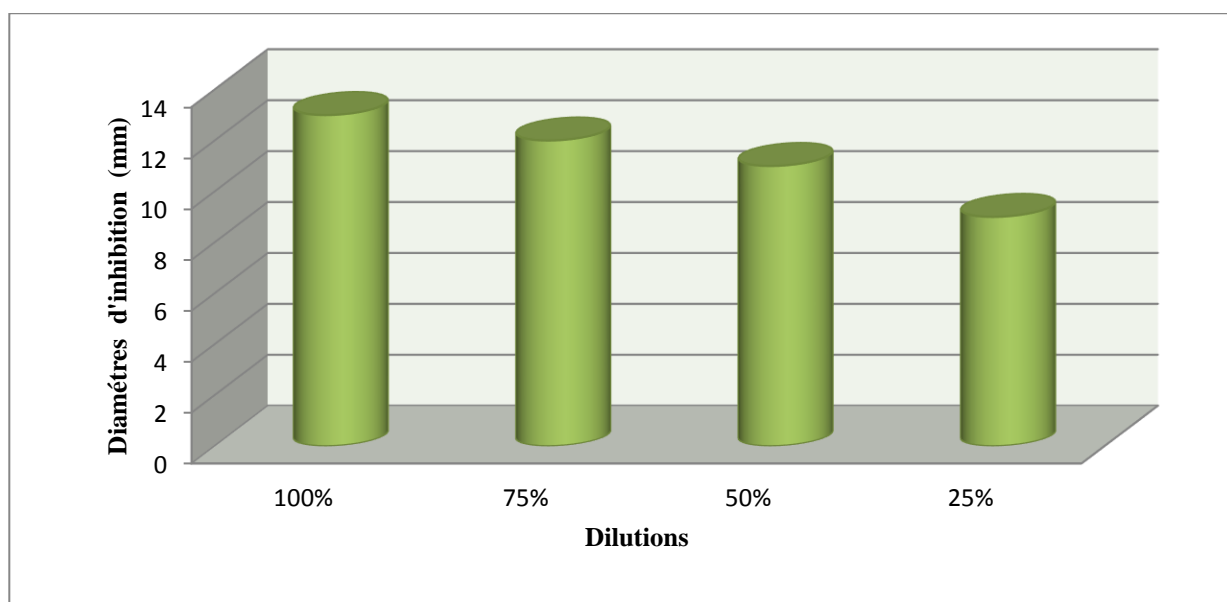


Figure V.6. Diamètres des zones d'inhibition pour chaque dilution de la souche *Staphylococcus aureus*.

La souche *Staphylococcus aureus* donne un diamètre de 08 mm avec la dilution 75%, une zone de 08 mm de diamètre avec la dilution 50% et aucune inhibition avec la dilution 25%, donc pour *Staphylococcus aureus*, elle est moins sensible pour toutes les dilutions de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L.

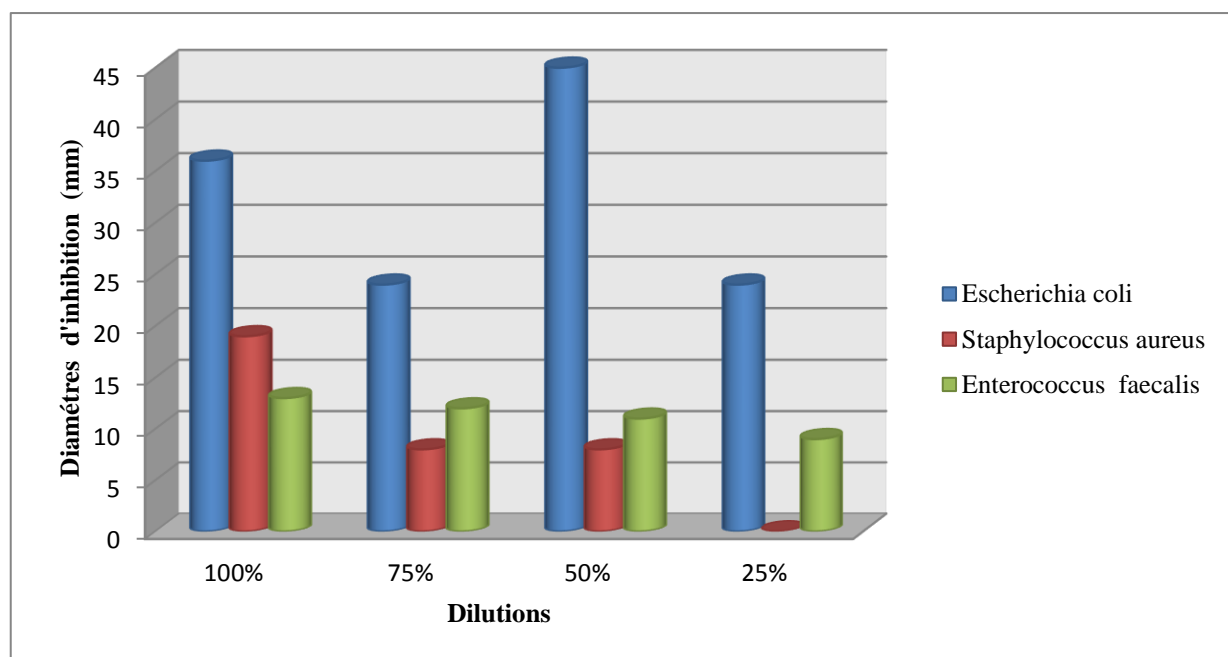
Tableau V.7. Diamètres des zones d'inhibition des dilutions pour *Enterococcus faecali*.

Dilutions	100 %	75 %	50 %	25 %
Zone d'inhibition	13mm	12mm	11mm	09mm



**Figure V.7. Diamètres des zones d'inhibition pour chaque dilution de la souche *Enterococcus faecalis*.**

La souche *Enterococcus faecalis* donne un diamètre de 12 mm avec la dilution 75%, une zone de 11 mm de diamètre avec la dilution 50% et un diamètre de 09 mm avec la dilution 25%, donc pour *Enterococcus faecalis*, elle est sensible pour toutes les dilutions de l'extrait.



**Figure V.8. Diamètres des zones d'inhibition pour chaque dilution et souche bactérienne.**

A partir des résultats des diamètres des zones d'inhibition dans les tableaux et les figures, on remarque que l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., possède une activité antibactérienne différente d'une souche à l'autre pour les bactéries de gram positive et négatif, donc la souche

*Escherichia coli* et extrêmement sensible vis -à-vis toutes les dilutions de l'extrait, la souche *staphylococcus aureus* très sensible avec l'extrait pur et la souche *Enterococcus faecalis* est sensible vis-à- vis toutes les dilutions de l'extrait.



Figure V.9. Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait des fruits de *Rhaponticum acaule* L.

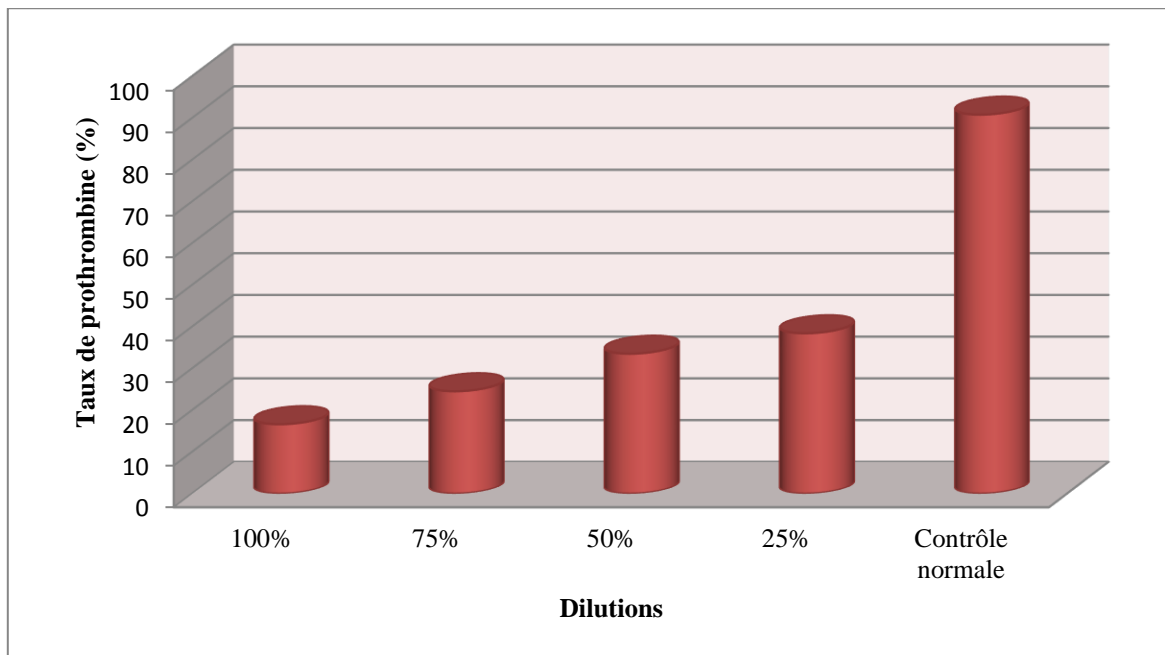
#### V .5.Evaluation de l'activité anticoagulante :

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.

Le tableau 13 montre l'évaluation de la capacité anticoagulante de *Rhaponticum acaule* L., vis-à-vis la voie exogène de la coagulation qui est réalisée à l'aide du test de Taux de prothrombine (TP).

Tableau V.8. Résultats de Taux de prothrombine (TP).

Dilutions	Taux de prothrombine (TP%)
100%	16,6
75%	24,5
50%	33,5
25%	38,4
Contrôle normale	90,80



**Figure V.10. Les valeurs du Taux de prothrombine (TP) en fonction des dilutions.**

Généralement un TP normal sans la consommation d'un anticoagulant compris entre 70% et 100% [68]. Dans notre cas le contrôle normal égale a 90,80% alors il est dans norme.

Dans le cas d'un traitement par un anticoagulant (par exemple anti-vitamine K) on à :

- $20\% < TP < 30\%$  ; Cas de Prévention des thromboses artérielles [68] ;
- $30\% < TP < 40\%$  ; Cas de Prévention des thromboses veineuses [68] ;

Dans notre cas l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., donne les résultats suivants :

- Dilution de 25% : TP= 38,4 % et dilution de 50 % : TP= 33,5 %, donc TP est compris entre 30 et 40 ( $30 < TP < 40$ ),
- Dilution de 75% : TP= 24,5%, donc TP est compris entre 20 et 30 ( $20 < TP < 30$ ).

Tableau V.9. Résultats d'International Normalized Ratio (INR).

Dilutions	International Normalized Ratio(INR)
100%	6,35
75%	3,83
50%	2,71
25%	2,35
Contrôle normale	1,07

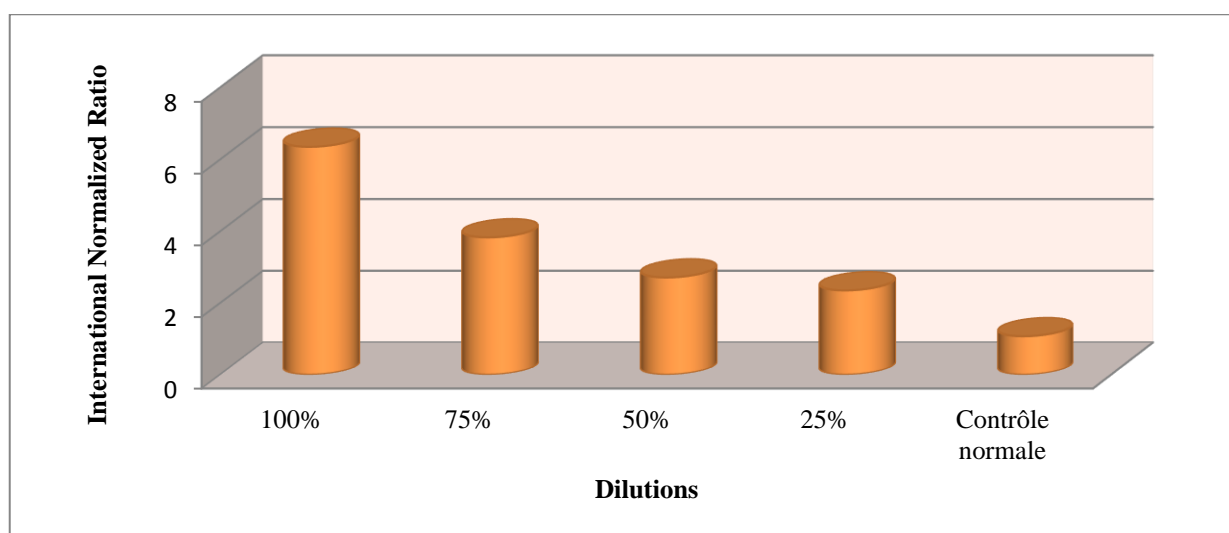


Figure V.11. Les valeurs d'International Normalized Ratio (INR).

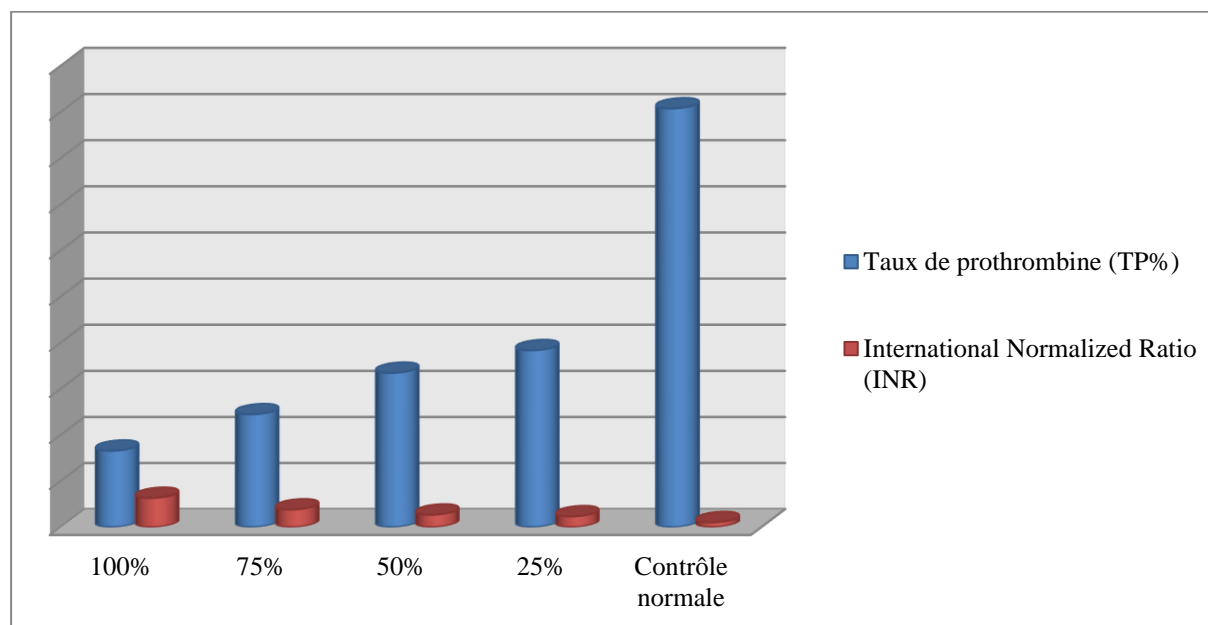
Généralement un INR normal sans consommation d'un anticoagulant compris entre 0,80 et 1,20 [69]. Dans notre cas le contrôle normal égale à 1,70 alors il est dans les normes.

Dans le cas d'un traitement par un anticoagulant (par exemple anti-vitamine K) on a :

- $2 < \text{INR} < 3$ , L'intervalle recherché dans la majorité des situations pathologiques [70] ;
- $\text{INR} < 2$ , Traduit une anticoagulation insuffisante [70] ;
- $\text{INR} > 3$ , Traduit un excès d'anticoagulation [70] ;
- $\text{INR} > 5$ , Associé à une majoration significative du risque hémorragique [70].

Dans notre cas l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., donne les résultats suivants :

- Dilution de 25% = 1.35 et 50 % = 2.71, donc INR compris entre 2 et 3 ( $2 < \text{INR} < 3$ ) ;
- Dilution de 75% = 3.83, donc INR supérieure à 3 ( $\text{INR} > 3$ ) ;
- Cas de l'extrait pure 100% = 6.35, donc INR supérieure à 5 ( $\text{INR} > 5$ ).



**Figure V.12. Histogramme des résultats d'International Normalized Ratio (INR) et Taux de prothrombine (TP).**

Généralement lorsque le TP diminue et l'INR augmente, c'est les cas des maladies hémorragiques, les insuffisances hépatiques ou bien la consommation d'un anticoagulant.

D'après les résultats expérimentaux, l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., possède une activité anticoagulante, dans les normes telle qu'un anticoagulant (par exemple anti-vitamine K), l'extrait avec dilution 25% et 50% (très efficace), avec 75% (excès de l'anticoagulant), avec 100% (risque de l'hémorragie).

*Conclusion générale*  
*et*  
*perspectives*



### **Conclusion générale et perspectives :**

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne, Stress oxydatif et maladies associées, et coagulation sanguine qui provoque des maladies thrombotiques.

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, évaluée l'activité antioxydant, antibactérienne et anti coagulante de l'extrait brute de la plante *Rhaponticum acaule* L., récoltée dans la région de Sedrata wilaya de Souk el ahrase (Algérie).

L'extraction de fruit de *Rhaponticum acaule* L., est réalisée par la macération à froid avec un rendement très important (16,88%).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait issu de l'espèce *Rhaponticum acaule* L., selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydant modérée (IC<sub>50</sub> égale 0,39 mg/ml), cet extrait pourrait donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques et contre les maladies associées du stress oxydatif.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur trois souches bactériennes, selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, Les résultats indiquent que l'extrait possède une activité antibactérienne importante sur toutes les souches testées (gram positif et négatif). Cet extrait pourrait donc constituer une alternative contre la résistance bactérienne.

L'évaluation de l'activité anticoagulante de l'extrait issu de l'espèce *Rhaponticum acaule* L., à été évaluée *in vitro* vis-à-vis par voies de la coagulation exogène sur un plasma normal déplaquetté et à l'aide des tests globaux et coagulométriques, le temps de prothrombine (TP) et International Normalized Ratio (INR). Les résultats montrés que TP démunie et l'INR augment qui doit être expliqué dans le cas de la consommation d'un anticoagulant. Donc cet extrait pourrait donc constituer une alternative contre les maladies thrombotiques.

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- rechercher directement l'activité antioxydante de l'extrait in vivo pour corrélérer les résultats observés dans les deux cas (in vivo et in vitro) ;
- Évaluée l'activité anticoagulante par voie endogène par le test de temps du céphaline-kaolin (TCK) ;
- Évaluée les autres activités biologiques : antifongique, antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreuse et l'activité hémolytique (cytotoxicité) ;
- Caractériser et isoler les principes actifs de fruits de *Rhaponticum acaule* L., responsables de ces propriétés pharmacologiques.

*Références  
bibliographiques*

**Références bibliographiques :**

- [01]. Boutheina Ayaidia, Etude comparative de trois variétés d'huiles essentielles de menthe dans la région de ouargla, Mémoire de master en génie des procédés, université kasdi Marbah - Ouargla, pages : 19, (2011).
- [02]. Afaf Lemaoui, Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa*.L algérienne, Mémoire de magister en biochimie, université Ferhat Abbes - Sétif, pages : 19, (2010-2011).
- [03]. Noudjoub Mebarki, Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et application a la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne, Mémoire de magister en Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara- Boumerdes, page : 01, (2010).
- [04]. Karima Bechlagham, Screening phytochimique de la Rhapontique, une plante commune dans toute l'Algérie septentrionale, Mémoire de magister en chimie organique, Université-Abou Bakr Belkaid-Tlemcen .Pages : 11, 15,88, (2009).
- [05]. H. Lahsissene, A. Kahouadji, M. Tijane et S. Hseini, catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental), revue de botanique, Lejeunia, Nouvelle série N° 186.page :08, (Décembre 2009).
- [06]. Ikram Slimani, Mariem Najem, Rajae Belaidi, Lamiae Bachiri, EL Houssine Bouiamrine , Laila Nassiri, et Jamal Ibjibijen , Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Zerhoun -Maroc-, International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 15 No. 4 May 2016, pp. 846,863.
- [07]. Mhamed Benghanou, La phytothérapie entre la confiance et méfiance, mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical chettia, (2009-2012).
- [08]. Sadok Gahbiche, la phytothérapie, section : hydro-thermo-thalasso-thérapie, 3ème année thalasso-thérapie, école supérieure des sciences et techniques de la sante de Sousse.
- [09].<http://phytotherapie-tp1s.e-monsite.com/pages/diffundefinedrents-types.html> , [12/02/2017].
- [10]. Dorling Kindersley Limited, Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition), Londres Text copyright © 1996, 2001 Andrew Chevallier.
- [11]. Anthoula Adossides, La filière "Plantes Aromatiques & Médicinales", stratégie et politique agricole, Direction des Etudes et de La Coordination, Ministère de l'Agriculture, République Libanaise, page : 6,7. (Octobre 2003).
- [12]. Mohamed Zekkour, Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques les plus usuelles au Maroc, thèse doctorat en pharmacie, université Mohamed v-Souissi Rabat, pages 18,19, (2008).

- [13]. <http://www.maplante.com/principes-actifs> , [17/02/2017].
- [14]. Nadjiya Merad , Etude comparative des teneurs des poly phénols et antioxydants des extraits des pépins de melon , Mémoire de master en chimie, Faculté des sciences, Université-Abou Bakr Belkaid-Tlemcen .Pages :13, (2015).
- [15]. Sylvain Jeanmaire, les médicaments a base de plantes : Présentation du logiciel Phythoérabase , base de données de spécialités de phytothérapie vendues en officine ,Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes , page :13,14, (2010).
- [16]. Hakim Alilou, Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens subsp. Odorus (Schousb.) Greuter* et *Asteriscus imbricatus (Cav.) DC.*, thèse de doctorat en Biologie, Université Ibn Zohr Agadir, (2012).
- [17]. Dr. Hassiba Benabdallah , Polycopié du Cours: Techniques d'extraction, de purification et de Conservation, Master I: Analyses biochimiques, Université Ferhat Abbas de Sétif, pages : 17,18, (2015-2016).
- [18].[https://www.researchgate.net/profile/Ying\\_Li43/publication/278244630/figure/fig4/AS:294362689884161@1447192942063/fig-54-Microwave-hydrodiffusion-and-gravity-MHG.png](https://www.researchgate.net/profile/Ying_Li43/publication/278244630/figure/fig4/AS:294362689884161@1447192942063/fig-54-Microwave-hydrodiffusion-and-gravity-MHG.png) . [25/04/2017].
- [19]. Fiche des Astéracées : La production de semences d'Astéracées, bio d'aquitaine, fédération des agriculteurs, (2012).
- [20]. Adlen Benguerba, étude phytochimique et de la phase butanolique de l'espece *Inula crithmoides* L, Mémoire de magister en chimie, université Mentouri Constantin, (2008).
- [21]. <http://www.afd-ld.org/~adventices/especes.php?id=59> , [10/04/2017].
- [22]. Batoul Benyelles, composition chimique de quelques extraits de la partie aérienne de la *Rhaponticum acaule* L., Mémoire de magister en chimie, Université-Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, Pages : 09, 11,56, (2009).
- [23]. <http://fr.treknature.com/gallery/Africa/Morocco/photo286415.htm>, [16/03/2017].
- [24]. Mohamed El hafian , Noureddine Benlamdini, Houda El Elyacoubi , Lahcen Zidane et Atmane Rochdi, Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida – Outanane , Maroc , Journal of Applied Biosciences, ISSN 1997–5902.Page : 7208, (2014).
- [25]. Lahcen Bouayyadi, Mohamed El hafian et Lahcen Zidane, Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc, Journal of Applied Biosciences, ISSN 1997–5902.page :8781, (2015).
- [26]. Abdelaziz Sbai, Réalisée par détritition de l'observation des études et de la coordination, Etude Nationale sur la biodiversité, Economie de la diversité, Institut d'agronomie et vétérinaire Hassan II Rabat-Agdal, page 88, (1998).

- [27]. Batoul Benyelles , Hocine Allali , Mohamed El Amine Dib ,Nassim Djabou , Boufeldja Tabti , Jean Costa, Essential oil from *Rhaponticum acaule* L. roots: Comparative study using HS-SPME/GC/GC–MS and hydrodistillation techniques, King Saud University, Journal of Saudi Chemical Society, (2014).
- [28]. Mebarka Lamamra, Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb, Mémoire de magister en biologie, université Ferhat Abbas-Sétif.
- [29]. Nathalie Chahine, Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique, thèse de doctorat en Physiopathologie, l'Université de Reims Champagne-Ardenne et l'Université Libanaise. Pages: 11,14, (2014).
- [30]. Ikram Atti, Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout », Mémoire de master en Biochimie, université kasdi Marbah - Ouargla, (2014).
- [31]. Yemeda Ladoh, S.D.Dibong, M.A. Nyegue, R.P Djembissi Talla, B.Lenta Ndjakou, E.Mpondo, J.Yinyang, J.D.Wansi, Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*, Journal of Applied Biosciences, ISSN 1997–5902, page : 7637, (2014).
- [32]. Mourad Boudjouref, Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L., Mémoire de magister en Biochimie, Université Ferhat Abbes de Sétif, (2011).
- [33]. Moufida Adjadj, propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Ajuga iva* (L.) Schreber, Mémoire de magister en biologie, Université Mentouri Constantine, (2009).
- [34]. Nour El Houda Ladhem, Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux de *Tetraclinis articulata* (Thuya de Berbérie), Mémoire de master en Sciences des aliments, Université-Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, (2016).
- [35]. Chahnez Sanaa, Effet de l'Irradiation sur les propriétés antioxydantes , antimicrobiennes & cytoprotectrices de l'écorce de *Punica granatum*, Mémoire de master professionnel en sécurité sanitaire des aliments , université de carthage, page : 43,(2012-2013).
- [36]. bactérie, FEPS (Fondation de l'Eau Potable Sure), page : 01.
- [37]. Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène, Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie – Structure, page : 03, (2014).
- [38]. [https://fr.wikiversity.org/wiki/Introduction\\_%C3%A0\\_la\\_biologie\\_cellulaire/Les\\_cellules](https://fr.wikiversity.org/wiki/Introduction_%C3%A0_la_biologie_cellulaire/Les_cellules) . [10/03/2017].
- [39]. Les bactéries, Infectiologie – Hygiène, page 02, (2010).

- [40]. <http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/bact%C3%A9rie/25038> , [11/03/2017].
- [41]. Pharmacologie, Les antibiotique, Pénicilline, <http://intranet.tdmu.edu.ua> . [26/02/2017].
- [42]. Elodie Guinoiseau, Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action, thèse de doctorat en Biochimie - Biologie moléculaire, Université de Corse, pages : 45, (2011).
- [43]. Livre Bactériologie, Service de Bactériologie, Niveau DCEM1, Université Pierre et Marie Curie, page (2003).
- [44]. C.Nauciel et J-L. Vildé, Livre de Bactériologie Médicale, 2<sup>émé</sup> Edition, Elsevier Masson SAS, pages 77 a 79 et 88, (2007).
- [45]. <https://fr.wikipedia.org> . [10/02/2017].
- [46]. Centre d'expertise en analyse environnementale du QUÉBEC. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* thermotolérants dans l'eau : méthode par filtration sur membrane utilisant le milieu de culture mFc-BCIG, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec, 2013.
- [47]. Nacira Bellaouar, Ouarda Khemgani, Le potentiel antioxydant in vitro et l'activité biologique des dithiolethiones, Mémoire de master en chimie, université kasdi Marbah - Ouargla, pages : 19,20,(2016) .
- [48]. <https://www.creapharma.ch/thrombose.htm> , [02/03/2017].
- [49]. Ahlem Manallah, Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L., Mémoire de magister en biochimie, Université Ferhat Abbes - Sétif, pages : 11, 19,20, (2012).
- [50].[http://www.sanoficardiovasculaire.tn/web/maladies\\_cardiovasculaires/infarctus\\_myocarde/mieux\\_comprendre\\_la\\_maladie](http://www.sanoficardiovasculaire.tn/web/maladies_cardiovasculaires/infarctus_myocarde/mieux_comprendre_la_maladie) ,[30/03/2017].
- [51]. <https://medicament.ooreka.fr/astuce/voir/679557/anticoagulant-naturel> , [04/03/2017].
- [52]. Invest in Alegria, wilaya de Souk Ahras ,andi 2013.
- [53]. <http://www.annuaire-mairie.fr/ville-sedrata.html>, [07/05/2017].
- [54]. <https://fr.climate-data.org/location/45684/> , [07/05/2017].
- [55]. Souhila Mahmoudi, Mustapha Khali et Nacéra Mahmoudi, Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013, Pages : 35 à 40.
- [56]. Faiza Meratate, Etude phytochimique et pouvoir biologique des métabolites secondaires de la plante *Zizyphora hispanica* L.de la région de M'SILA, Mémoire de magister en chimie, université de M'sila, (2013).

- [57]. Fatima Benzaoui et Ahlam Houari, Contribution à l'étude des activités biologiques de *Brocchia cinerea*(Vis.) et *Matricaria pubescens*(Desf.) , Mémoire de master en Biochimie , université kasdi Marbah - Ouargla, page : 31,( 2016 )
- [58]. Abdelrazag Hamidi, Etude phytochimique et activité biologique de la plante *limoniastrum guyonianum*, Mémoire de magister en chimie, université kasdi Marbah - Ouargla, 2013.
- [59]. Pélagie Yété, Togbé Alexis, Yaya Koudoro, Pascal Agbangnan, Vital Ndahischimiye, Djènontin T. Sébastien, Dieudonné Wotto, Eni-Coffi Azandégbé and Dominique Sohounhloue, Etude comparative des Composés phénoliques et activité antiradicalaire des extraits des Graines de *Garcinia kola* (Guttiféreae) et de *Cucumeropsis edulis* (cucurbitacéae) du Bénin, International Journal of Innovation and Scientific Research , ISSN 2351-8014 Vol. 15 No, page: 219. (1 May 2015).
- [60]. Sofiane Arous, Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Fredolia aretioides*, Mémoire de master en biochimie, Université Tlemcen, (2012).
- [61]. Hiham Boughendjiou, Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau.Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobiennne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse de doctorat en sciences, universite Badji-Mokhtar – Annaba, (2014-2015).
- [62]. Zoulikha Frouhat, Basma Lahcini, Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, Mémoire de master en biochimie appliquée, université kasdi Marbah - Ouargla, (2013).
- [63]. Sihem Halmi, Etude botanique et phytochimique : approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus india*, thèse de Doctorat en Sciences, université des Frères Mentouri de Constantine, (2014-2015).
- [64]. [http://bioutils.unige.ch/experiences/exp\\_antibiotiques.php](http://bioutils.unige.ch/experiences/exp_antibiotiques.php) [02/03/2017].
- [65].<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/22358-prothrombine-definition> [25/04/2017].
- [66]. BIO-TP , Taux de prothrombine (TP) , BIOLABO,support et technique commandes, Version 2013 .
- [67]. H. Talbi, A. Boumaza, K. El-mostafa, J. Talbi, A. Hilali, Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (*Mater. Environ. Sci.* 6 (4) 1111-1117, ISSN : 2028-2508, CJMESCN, (2015).
- [68]. [http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/sa\\_719\\_prothrombine\\_.htm](http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/sa_719_prothrombine_.htm) [27/04/2017].
- [69]. René Caquet, Liver 250 examens de laboratoire Prescription et interprétation, 11<sup>ème</sup> Edition, Elsevier Masson SAS, Page : 208. (2010).
- [70]. Anti-Vitamines K, Module de Cardiologie, 4<sup>ème</sup> année médecine, rotation 3, (2015/2016).



# *Annexes*

## Annexes :

## I. Produits chimiques :

Tableau I. Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques utilisés.

Produit	Forme	Formule	Masse moléculaire (g/mol)	Densité (g/cm <sup>3</sup> )	Pureté (%)	Fournisseur
Méthanol	Liquide	CH <sub>3</sub> OH	32,04	0,79	99,9	SIGMA-ALDRICH
DPPH	Poudre	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>	394.32	1,4	-	SIGMA-ALDRICH
Acide ascorbique	Poudre	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	176,12	1,65	-	SIGMA-ALDRICH
DMSO	Liquide	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO	78 ,13	1,1	≥99	SIGMA-ALDRICH

Tableau II. Composants et origine des milieux de cultures utilisés.



Milieux	Composants (dans 1L d'eau distillée)	Fournisseur
Gélose nutritive	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ peptone .....10g/l</li> <li>➤ Extrait de viande..... 05g/l</li> <li>➤ NaCl..... 05g/l</li> <li>➤ Agar .....15g/l</li> </ul>	REALAB
Mueller Hinton	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Peptone .....17, 50 g/l</li> <li>➤ Extrait de viande .....2,00 g/l</li> <li>➤ Amidon .....1,50 g/l</li> <li>➤ Agar..... 17,00 g/l</li> </ul>	REALAB





Tableau III. Composants et origine des réactifs utilisés.


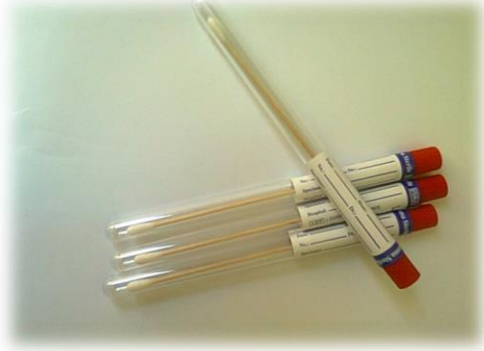

Réactif	Composants	Fournisseur
Taux de prothrombine	<p><b>Flacon R1</b> : Thromboplastine lyophilisée (Tissu cérébrale de lapin).</p> <p><b>Flacon R2</b> : Tampon HEPES, conservateur.</p>	BIOLABO

## II. Matériels :

Tableau IV. Type des appareils et instruments utilisés.

Photo	Appareil/Instrument	Type
	Balance sensible	KERN (ALS 220-4N)
	Evaporateur rotatif	LABOROTA 4002

	Micropipette	BIOCONTROLE
	Spectrophotomètre UV-VIS	Spectro Scan 80 DV
	Centrifugeuse	NF400
	Coagulométer	Thrombotimer 2-channel

	Etuve	J.P SELECTA
	Ecouvillon	Gomma stérile
	Inoculateur	Citotest

## الملخص

تهدف دراستنا إلى تقييم القدرة المضادة للأكسدة، المضادة للبكتيريا و المضادة للتخثر الدموي لمستخلص ثمار التافعة بساق قصيرة المزروعة في منطقة سدرا ته بولاية سوق أهراس ( الجزائر).

المستخلص الميثانولي الخام تم تحضيره بطريقة النقع فقدر المرود بـ: % 16,88 .

تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي بواسطة اختبار DPPH, أظهرت النتائج أن للمستخلص قدرة مهمة على كبح الجذر الحر DPPH• بحيث قدر التركيز التثبيطي لـ 50% بـ : 0,39 ملغ /مل .

تم تحديد الفعالية المضادة للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار في وسط جيلوزي على ثلاث سلالات بكتيرية (البكتيريا القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، المعوية البرازية) حيث أظهرت النتائج أن لسلالات حساسية مهمة جدا مع مختلف تراكيز المستخلص ( الأقطار التثبيطية تتراوح بين 45 مم إلى 25 مم للبكتيريا القولونية، بين 19 مم إلى 00 مم المكورات العنقودية الذهبية، و تراوحت بين 13 مم إلى 09 مم بالنسبة للمعوية البرازية) .

تم تقدير الفعالية المضادة للتخثر الدموي للمستخلص الخام لتافعة بساق قصيرة بواسطة اختبار زمن البروترومبين (TP) و النسبة العالمية للتقييس (INR), النتائج المتحصل عليها في بلازما شخص سليم بتواجد المستخلص تشير إلى أن هنالك فعالية مهمة مضادة للتخثر الدموي في المسري الخارجي للتخثر .

**الكلمات المفتاحية :** النباتات الطبية، التافعة بساق قصيرة , المستخلص الميثانولي , الفعالية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة للبكتيريا، الفعالية المضادة للتخثر الدموي.

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de pouvoir antioxydant, antibactérien et anticoagulant de l'extrait obtenu des fruits de *Rhaponticum acaule* L., cultivée de la région de Sedrata wilaya de Souk Ahras (Algérie).

L'extrait méthanolique brut a été obtenu par la macération avec un rendement de 16,88 %.

Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique a été évalué *in vitro* par le test du DPPH, les résultats obtenus, il ressort que l'extrait à une capacité importante de piéger le radical DPPH• avec IC<sub>50</sub> égale 0,39 mg/ml.

L'activité antimicrobienne a été déterminée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé sur trois souches testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) les résultats ont montré que les souches sont de sensibilité très important avec différentes concentrations de l'extrait (Diamètres d'inhibition varions entre 45 à 25 mm pour *Escherichia coli*, de 19 à 00 pour *Staphylococcus aureus* et de 13 à 09 pour *Enterococcus faecalis*).

L'activité anticoagulante de l'extrait de *Rhaponticum acaule* L., a été également évaluée *in vitro* en utilisant les tests, taux de prothrombine (TP) et International Normalized Ratio (INR), les résultats obtenus sur un plasma chez une personne normal en présence de l'extrait indiquent qu'elles exercent une activité anticoagulante très importante sur la voie exogène de la coagulation.

**Mots clés:** Plantes médicinales, *Rhaponticum acaule* L., extrait méthanolique, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité anticoagulante.