



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ KASDI MERBAH Ouargla

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département Des Sciences Biologiques

Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par : OUARGLI Wissem Nour El Houda

KOUANI Hasna

Le / /

Etude comparative des activités biologiques des épices selon leurs types

Devant le jury :

Mme OULD EL HADJ-KHELIL A.

Président

Professeur

Mme ANNOU G.

Encadreur

MCB UKM Ouargla

Mme ABBAS A.

Examineur

MCA UKM Ouargla

Année Universitaire : 2020/2021

Table des matières

Remerciements	
Liste d'abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

Partie I. Synthèse bibliographique	P
CHAPITRE I : Généralité sur les épices	
1. Histoire des épices	05
2. Définition des épices	05
3. Classification des épices	06
4. Domaines d'utilisation des épices	07
4.1. Utilisation médicinale	07
4.2. Utilisation culinaire	08
4.3. Usage cosmétique	08
Chapitre II. Teneur des épices en métabolites secondaires	
1.Composés phénoliques	10
1.2. Classification des composés phénoliques	11
1.3. Teneur des épices en composés phénoliques	12
2.Terpénoïdes	14
2.1. Définition	14
2.2. Classification	14
2.3. Teneur des épices en terpénoïdes	15
3.Alcaloïdes	16
3.1. Définition	16
3.2. Teneurs des épices en alcaloïdes	17
Chapitre III. Aperçus sur les activités biologiques à étudier	
1.Activité anticoagulante	19
1.1. Coagulation du sang	19
1.1.1.Définition	19

1.1.2. Rôle des facteurs de coagulation	19
1.2.Rôle des plaquettes sanguines dans la coagulation	20
2.Voies de coagulation	20
2.1. Voie endogène ou intrinsèque	20
2.2. Voie exogène ou extrinsèque	21
3. Anticoagulants	22
3.1. Les héparines	22
3.2. Les anti vitamines k	23
3.3. Les nouveaux anticoagulants	24
4. Activité hémolytique et anti-hémolytique	24
4.1.Structure des globules rouges	24
4.2. Fonction des globules rouges	25
4.3.Hémolyse des globules rouges	25
4.3.1.Hémolyse physiologique	25
4.3.2.Hémolyse pathologique	26
4.3.2.1.Hémolyse intravasculaire	27
4.3.2.2.Hémolyse extravasculaire	27
4.3.3. Relation entre le stress oxydatif et l'hémolyse	28
5.Facteurs Anti-hémolytiques	29
5.1. Action des anti-hémolytiques synthétiques	29
5.2. Action des anti hémolytiques naturels	29
Partie II. ETUDE EXPERIMENTALE	
Chapitre I. Matériels et méthodes	
1.Matériels	32
1.1. Matériel végétal	32
1.1.1.Présentation des épices sélectionnées	33
2. le sang utilisé pour les activités biologiques	34
3. Méthodes	35
3.1. Préparation de matériel végétal	35
3.2. Extraction des principes actifs	35
3.2.1.Obtention des extraits bruts	35
3.2.2.Rendement d'extraction	36
3.3. Screening phytochimique	36
3.3.1. Teste des alcaloïdes	37
3.3.2. Teste des Tanins	37
3.3.3. Teste des Saponosides	37

3.3.4. Test des Flavonoïdes	37
3.3.5. Teste des terpénoïdes	37
3.3.6. Teste des Anthocyanes	38
3.3.7. Teste des poly phénols	38
4. Dosage quantitatif par des réactions colorimétriques	38
4.1. Dosage quantitatif des poly phénols	38
4.2. Dosage quantitatif des flavonoïdes	39
5. Evaluation des activités biologiques des extraits	39
5.1. Evaluation de l'activité anticoagulante	39
5.1.1. Temps de Quick ou taux de prothrombine (TP)	39
5.1.1.1. Principe du test	39
5.1.1.2. Préparation du plasma pool (standard) dépaquetées	40
5.1.1.3. Mode opératoire	40
5.2. Evaluation de l'activité anti hémolytique des extraits	41
5.2.1. Principe	41
5.2.2. Mode opératoire	41
5.2.3. Exploitation des résultats	42
Chapitre II. Résultats et discussions	
1. Rendement d'extraction	44
1.1. Résultats	44
1.2. Discussion	45
2. Screening phytochimique	45
2.1. Résultats	45
2.2. Discussion	47
3. Teneur des épices en polyphénols totaux	48
3.1. Résultats	48
3.2. Discussion	49
4. Teneur des épices en Flavonoïdes	50
4.1. Résultats	50
4.2. Discussion	51
5. Activités biologiques des épices étudiées	52
5.1. Activité anticoagulante	52
5.1.1. Résultats	52
5.1.2. Discussion	54
5.2. Activité anti hémolytique	56
5.2.1. Résultats	57
5.2.2. Discussion	59
Conclusion	62
Références bibliographiques	65

Annexes.

Glossaires.

Remerciement

Un travail scientifique, étant le résultat de plusieurs efforts conjugués, tout apport pour l'améliorer est le bienvenu ...

*Nos remerciements s'adressent avant tout à l'Éternel **Dieu** Tout-Puissant, Maître des temps et des circonstances qui, dans son amour, nous fait vivre et nous rend vainqueur. À lui, gloire et louange éternellement.*

*Ce travail a été réalisé sous la direction de notre encadreur Mme **ANNOU G.**, maitre de Conférences «B» au département de sciences biologiques de la faculté SNV à l'université **KASDI MERBAH-Ouargla**, dans un climat rigoureux et fortifiant. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude pour sa présence et sa disponibilité permanente, pour ses conseils et son soutien, et pour nous avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté le présent travail. Nous avons l'honneur de lui exprimer nos très profondes reconnaissances et nos sentiments les plus sincères. Nous tenons à exprimer également nos profondes reconnaissances aux membres de jury ; Mme **OULD EL-HADJ KHELIL Aminata**, Professeur au Département des Sciences Biologique Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Ouargla, pour avoir accepté de présider ce jury. Mme **ABBAS Amel**, Maître de Conférences « A » au Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Ouargla, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à notre Université Kasdi Merbah Ouargla qui nous a procuré une bonne formation. Un remerciement particulier va à Mr **Boumakel M.**, chef de laboratoire de biochimie à l'hôpital de Mohammed Boudiaf Ouargla, pour leur aide durant la réalisation de ce travail, aussi nous remercions Mr **DADDA MOUSSA B.**, responsable de laboratoire interne de l'hôpital Mohammed Boudiaf OUARTGLA pour leur aide durant la réalisation de ce travail. Nous remercierons aussi toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail, ainsi tous nos amies de notre promotion Master II Biochimie Appliquée 2020/2021.*

Dédicace

C'est un moment de plaisir de vous dédier cette thèse de fin d'étude, vous qui ravivez dans mon esprit un sentiment profond d'une vie sûre et correcte, suivi tant par tes chaleureuses bénédictions.

Je dédie ce modeste travail:

*A la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie, ma chère mère «**Naima**»
Qui n'a jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir
et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*A mon chère frère: «**Mohsin**»*

*A ma chère cousine : «**Assia** »*

A toute ma famille,

Pour ses soutiens moral et leurs conseil précieux tout au long de mes études. Je vous aime.

*A Ma chère amis et binôme «**Wissem**» qui a partagé ce travail avec moi.*

A tous mes enseignants

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

Hasna.

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie cette thèse à :

A Mon très cher Père **Abdelghani** : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis ma formation le long de ces années.

A Ma tendre Mère **Hind** : Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A mon très cher mari **Ayoub** : Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A ma petite adorable sœur : « **Takwa** »

A mes chers frères : « **Ahmad Haidar, Achraf Taha et Abdelbari ...** »
Je vous aime...

A Ma chère amis et binôme « **Hasna** » qui a partagé ce travail avec moi.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

Wissem Nour El Houda.

Liste des abréviations

ASA : Acide acétylsalicylique(Aspirin)
DMSO : Diméthyl sulfoxyde
DO : Densité optique
DOX : doxorubicine
EAG/gES Equivalent Acide Gallique par gramme d'extrait sec
FDA : Food and Drug administration
Fl : femtolitre
GRs : Globules rouges.
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
INR: International Normalized Ratio.
mg : Milligramme
Mg/EAG/g : milligramme d'extrait sec équivalent Acide gallique par gramme de poudre.
Mg/ER/g : milligramme d'extrait sec équivalent rutine par gramme de poudre.
Mg₂₊ : Magnésium
min : Minute
ml : Millilitre
Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction
Na₂CO₃ : Carbonate de sodium
NaOH : Hydroxyde de sodium
NH₄OH: Ammoniaque
O: Oxygen
PPT : Polyphénols totaux
R Rendement
S: Seconde
t : Temps
TCK : Temps de céphaline kaolin
TCK : Temps de céphaline kaolin
TiO₂ NPs : Titanium dioxide nanoparticles
TiO₂ : Titanium dioxide
TP : Taux de prothrombine
TP : Taux de prothrombine
TQ : Temps de Quick
TQ : Temps de Quick
TRPV1: Transient receptor potential cation channel subfamily V member1(capsaicin receptor)
V/V : Rapport volume par volume.
% : Pourcentage

Liste des figures

<i>Numéro</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Figure1	Aspect de quelques épices	06
Figure2	Métabolites primaires et métabolites secondaires	10
Figure 3	Structure de base des polyphénols.	11
Figure 4	Classification des polyphénols .	12
Figure 5	Structure de l'isoprène, hémiterpène, monoterpène et de sesquiterpène	15
Figure 6	Cibles principale de la cascade de coagulation	22
Figure 7	Effet des héparines sur la coagulation .	23
Figure 8	Voie de l'hémolyse intra tissulaire.	26
Figure 9	Hyper hémolyse extravasculaire.	28
Figure 10	Séchage, broyage , filtration et extraction des épices.	36
Figure 11	Mesure de TP dans le coagulomètre	40
Figure 12	Les dilutions dans DMSO avec les suspensions érythrocytaires	41
Figure 13	Rendements d'extraction. A. des épices séparées, B. des binaires d'épices	44
Figure 14	Résultats du screening phytochimique de quelques épices.	45
Figure 15	Coloration du milieu réactionnel lors de dosage	48

des polyphénols		
Figure 16	Teneur des épices en Polyphénols .A: Les épices séparées; B: Les épices en binaire	49
Figure 17	Coloration du milieu réactionnel lors de dosage des flavonoïdes	50
Figure 18	Teneurs des épices en flavonoïdes. A: épices séparées ;B: épices en binaire.	51
Figure 19	Temps de prothrombine (TP) en fonction des concentrations de différent extrait épice.	53
Figure 20	Taux d'inhibition de l'hémolyse (activité anti hémolytique) de différents extraits.	58

Liste des tableaux

<i>Numéro</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Tableau I	Classification des épices selon leur propriétés organoleptique .	06
Tableau II	Principales classes de composés phénoliques .	11
Tableau III	Teneur des épices en composés phénoliques	13
Tableau IV	Exemples des terpénoïdes contenus dans les épices	15
Tableau V	Exemples d'alcaloïdes contenus dans les épices	17
Tableau VI	Taxonomie et description botanique des plantes sélectionnées	32
Tableau VIII	Les résultats de screening phytochimique	46

INTRODUCTION

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement pour traiter et soigner toutes sortes de maladies (Lee, 2004). Actuellement, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plantes en tant que soins primaire de santé (OMS, 2002 ; Elujoba *et al.*, 2005).

Les épices sont classées parmi les plantes aromatiques qui font partie de plantes médicinales. Celles-ci appartiennent aux différentes familles végétales, et au sein de ces familles, différentes parties de la plante peuvent donner des épices ; des grains comme pour le fenouil, la coriandre, de feuilles, le cas du laurier, des fleurs, le cas clou de girofle de rhizome exemple du curcuma et du gingembre (Farrell, 1990). En revanche, le domaine des industries alimentaires et de la gastronomie, regroupe les épices en fonction de leurs propriétés organoleptiques (couleur, odeur, arômes et saveur) (Richard, 1987).

Ces épices sont douées non seulement de qualités parfumées et culinaires, mais aussi de vertus médicinales grâce à leur aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires. Elles constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques exploité dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacologie.

Selon leurs structures chimiques, les principes bioactifs sont classés en polyphénols englobant les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les coumarines, les anthocyanes, les stilbènes et les lignanes. Les autres classes sont représentées par les alcaloïdes et les terpénoïdes y compris les huiles essentielles (Baharun *et al.*, 1996). La recherche accentuée sur ces molécules a prouvé que ce sont des acteurs privilégiés dans le traitement et la prévention de diverses maladies grâce à leurs activités : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antimutagène, anti hémolytique, réductrice des risques des maladies cardiovasculaires, du diabète (Surh, 2003 ; Bi *et al.*, 2017, Kocaadam et Sanlier, 2017), de l'asthme, du cancer, des maladies neurodégénératives...etc. (Oparaet Chohan, 2014).

Le stress oxydant, défini comme un déséquilibre de la balance entre les agents oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, est à l'origine de diverses pathologies. Le globule rouge est un des cibles des espèces réactives de l'oxygène générées au cours du

stress oxydant. Celles-ci entraînent de sévères défauts au niveau de sa membrane et de nombreuses anomalies fonctionnelles, susceptibles de participer au déclenchement de l'hémolyse sur tous chez les patients drépanocytaires et immunodéficients (Hsiero, 2015).

D'autres affections de la vie moderne, également très disséminée, sont les maladies cardiovasculaires. Selon l'OMS (2011), représente 35% des causes de mortalité chez l'homme et 40% chez la femme. Principalement, elle constitue la conséquence de l'évolution et de la complication pathologique des maladies thrombotiques artérielles ou veineuses. Les anticoagulants fréquemment utilisés sont jusqu'à présent, sont l'héparine et ses dérivés et les anti-vitamines K (Kortchinsky *et al.*, 2013). L'héparine est un polysaccharide hautement sulfaté qui présente certains inconvénients liés à son extraction, sa purification, son origine (majoritairement extrait de la muqueuse intestinale porcine) (Elalamy, 2012). Ainsi que ses effets secondaires à long terme. C'est la raison pour laquelle plusieurs études sont focalisées sur la recherche d'autres anticoagulants naturels pour traiter ces pathologies vasculaires (Athukorala *et al.*, 2006 ; Mannallah, 2012).

C'est dans ce contexte, notre travail se réside. Dont l'objectif est l'étude du contenu de quelques épices en métabolites secondaires qualitativement par un screening phytochimique et quantitativement pour les polyphénols et les flavonoïdes. Et l'évaluation de leurs activités anticoagulante et anti hémolytique. Huit épices sont sélectionnées classées en quatre type selon leur saveur afin d'en ressortir la relation entre ce critère et les paramètres étudiés.

Notre manuscrit est scindé en deux partie, dans la première, une synthèse bibliographique a été rapportée. La deuxième partie englobe le matériels et la méthodologie adoptée pour l'expérimentation, ainsi, les résultats obtenus et leurs discussions. Enfin, une conclusion achèvera notre travail.

PARTIE I.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I.
GÉNÉRALITÉS SUR LES ÉPICES

Partie I. Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : Généralités sur les épices

1. Histoire des épices

L'histoire des épices a débuté 4 000 ans avant notre ère au sud-ouest de l'Inde. Le premier homme qui avait cueilli du poivre pour parfumer son riz fut à l'origine d'une course folle de nouvelles saveurs permettant d'agrémenter la nourriture de base. Ces épices, dont la plupart sont exotiques sont parmi les produits commerciaux les plus coûteux durant l'Antiquité et le Moyen-âge (Heers, 2008). Les égyptiens se servaient aussi des épices pour embaumer les morts et confectionner des parfums et des onguents. Au XIX^{ème} siècle, la culture des épices s'est très largement étendue. (Droniou-Cassaro, 2012).

Aujourd'hui, les épices sont devenues de banals ingrédients de l'art culinaire, ils sont toujours un peu précieuses, surtout quand elles sont rares et leurs pouvoirs sont encore reconnus (Droniou-Cassaro, 2012).

2. Définition des épices

Le mot épice vient de du mot latin « spices » signifie tout simplement espèce ou substance (Alix, 2012). Selon Carole, (2011), les épices sont des substances d'origine végétale, aromatiques ou piquantes, servant à l'assaisonnement des mets. Elles sont destinées à relever, à parfumer, à conserver et colorer tout en communiquant une saveur particulière. Les épices sont généralement composés de fibres, hydrates de carbone, protéines, gomme, cendres, mais essentiellement des métabolites secondaires volatiles (huiles essentielles), et non volatiles. Ces composants répandent à chaque épice des caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles particulières (Raghavan, 2007).



Figure 1 : Aspect de quelques épices. (Carole,2011)

3. Classification des épices

La classification des épices est basée sur les caractéristiques morphologiques des plantes (tableau I). Or, dans le domaine des industries alimentaires et de la gastronomie, il est intéressant de regrouper les épices en fonction de leurs propriétés organoleptique (tableau I). (Couleur, odeur, arômes et saveur) (Richard, 1987).

Comme il n'est guère aisé de sélectionner des critères de classification des épices ; celles-ci appartiennent à différentes familles végétales, et au sein de ces familles, différentes parties de la plante peuvent donner des épices (Redhead, 1990), des grains, comme le cumin et le cardamome ; des fleurs comme le clou de girofle, safran ; des fruits comme le cas du noix de muscade et la vanille ; des racines comme l'exemple du curcuma et du gingembre et de l'écorce comme la cannelle (Alix, 2012).

Tableau I : Classification des épices selon leur propriétés organoleptique (Richard, 1987)

Classe	Exemple d'épice	Famille
Epices à saveur piquante et Brulante	Poivres	pipéracée
	Gingembre	zingibéracée
	Piment	solanacée
Epices amères	Cumin	Ombellifère
	Carvi	Ombellifère
	Curcuma	zingibéracée
Epices chaudes	Cannelle	Lauracées
	Clou de girofle	Myrtacée
Epices à odeur anisée	Anis vert	Ombellifère
	Fenouil	Ombellifère

4. Domaines d'utilisation des épices

Les épices ont de nombreuses utilisations. Elles sont employées, soit sous leur forme naturelle comme condiment et en pharmacopée traditionnelle, soit par leurs extraits renfermant des principes actifs recherchés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (Bahorun *et al.*, 1997).

4.1. Utilisation médicinale

Les épices sont devenues aujourd'hui des denrées banales ; On les utilise pour leurs qualités gustatives mais aussi pour leurs vertus médicinales : antibactériennes, antioxydants, antiseptiques, analgésiques, énergisantes, anti-inflammatoires, antiémétiques et antispasmodiques et autres (Xavier, 1996 ; Raghavan, 2007 ; Droniou, 2012 ; Muhammad *et al.*, 2012)

Le cumin, en poudre ou en décoction est très utilisé dans le traitement des troubles gastro-intestinaux. Il est en effet recommandé comme stomachique, carminatif, antispasmodique et vermifuge. On emploie aussi sa décoction comme emménagogue. En usage externe, le cumin est utilisé en cataplasmes sur la nuque contre les oreillons (Bellakhdar, 1997). Le gingembre est également employé comme agent stomachique, tonique et dans le traitement des gastrites, des dyspepsies et l'inappétence. Il augmente le flux salivaire et le tonus de la musculature intestinale (Wichtl et Anton, 2003). La curcumine, en effet exerce une activité antiprotéase inhibant l'action du HIV (Virus de l'Immunodéficience Humaine) ainsi qu'une activité anticancéreuse. La principale action de la curcumine est sa capacité à inhiber la formation d'espèces oxygénées actives comme les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde (Portes, 2008). Enormément d'épices ont des activités antimicrobienne et antioxydant, et sont utilisées alors comme antiseptiques, analgésiques et anti-inflammatoires et également indiquées pour lutter contre les maladies du stress (Doucet-leduc, 1993 ; Mohammadi, 2006 ; Droniou et Cassaro, 2012 ; Omar et Atrooz, 2013).

4.2. Utilisation culinaire

On utilise les épices pour l'assaisonnement, la coloration et la conservation des aliments ou des boissons, certaines épices sont aussi utilisées comme suppléments diététiques, L'exemple de curcuma « safran de l'Inde », riche en curcumine, qui est un colorant atoxique autorisé (E100), stable à la chaleur et peu sensible aux variations de pH. D'où leur large utilisation comme colorant alimentaire autorisé (E100) (Beraoud, 1990 ; Wichtl et Anton, 2003). Certaines épices doivent être ajoutées en début de cuisson, d'autre ne doivent pas cuire, elles sous peine de perdre toutes leurs qualités. En règle générale, il faut ajouter les épices aux trois quarts de la cuisson (Beraoud, 1990).

4.3. Usage cosmétique

Un grand nombre des épices et leurs constituants sont utilisés dans l'élaboration des parfums, produits de beauté et produits de toilette. Ces essences servent à préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique tout en leur assurant leur odeur agréable. Les huiles essentielles de la cannelle et du clou de girofle. Rentrent largement dans la fabrication des dentifrices (Sophie, 2006).

CHAPITRE II.

TENEUR DES ÉPICES EN

MÉTABOLITES SECONDAIRES

Chapitre II : Teneur des épices en métabolites secondaires

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures appartiennent à des groupes chimiques variés (composés phénoliques, alcaloïdes, et terpénoïdes) ont été identifiés (figure 2) (Cuendet, 1999 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Hartmann, 2007 ; Kone, 2009 ; Vermerris, 2006).

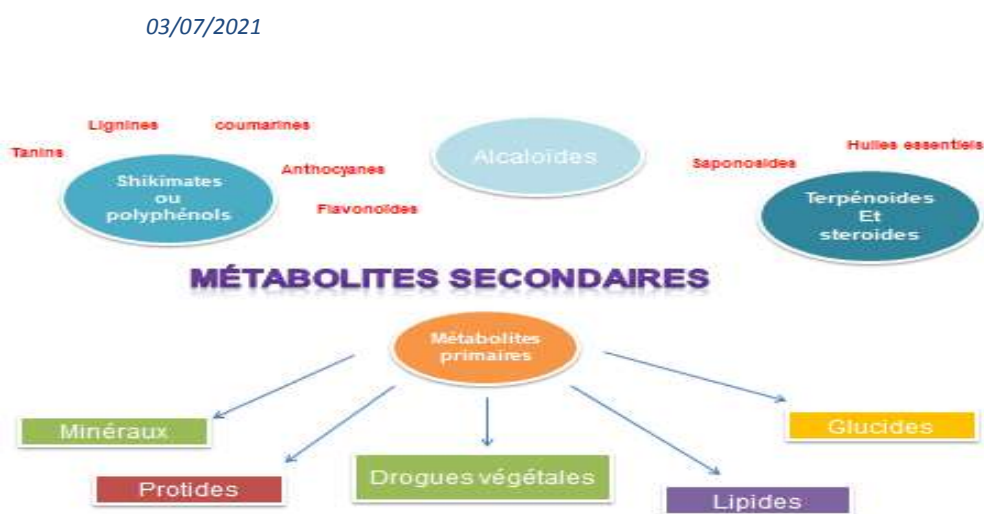


Figure 02 : Métabolites primaires et métabolites secondaires

1. Composés phénoliques

1.1. Définition

Ce sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Garcia-salas *et al.*, 2010). De poids moléculaire compris entre 500 et 3000 daltons, présents dans tous les organes de la plante : racines, feuilles, fruits et l'écorce. (Boizot et charpentier, 2006). Ils représentent 2 à 3 % de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage, ils regroupent un vaste ensemble de substance chimique comprenant au moins un noyau aromatique (figure3) et un ou plusieurs groupes

hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Sarnimanchado et cheynier 2006).

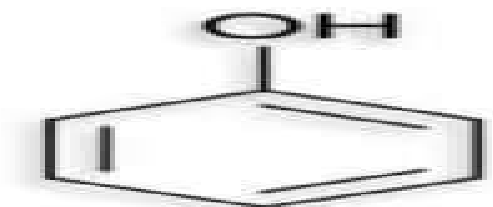


Figure 3 : Structure de base des polyphénols (Macheix *et al.*, 2005)

1.2. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols sont classés en six classes représentés par les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les stilbènes et les lignanes. Qui se distinguent les uns des autres par le nombre d'atomes constitutifs par la structure de squelette de base (figure 3) (Harbone, 1980 ; Herbert, 1989 ; Macheix *et al.*, 2005 ; beta *et al.*, 2005).

Tableau II : Principales classes de composés phénoliques (Harbone, 1980 ; Macheix *et al.*, 1990)

Squelette carboné	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
C6-C3-C6	Flavonoïdes
(C6-C3-C6) n	Tanins condensés

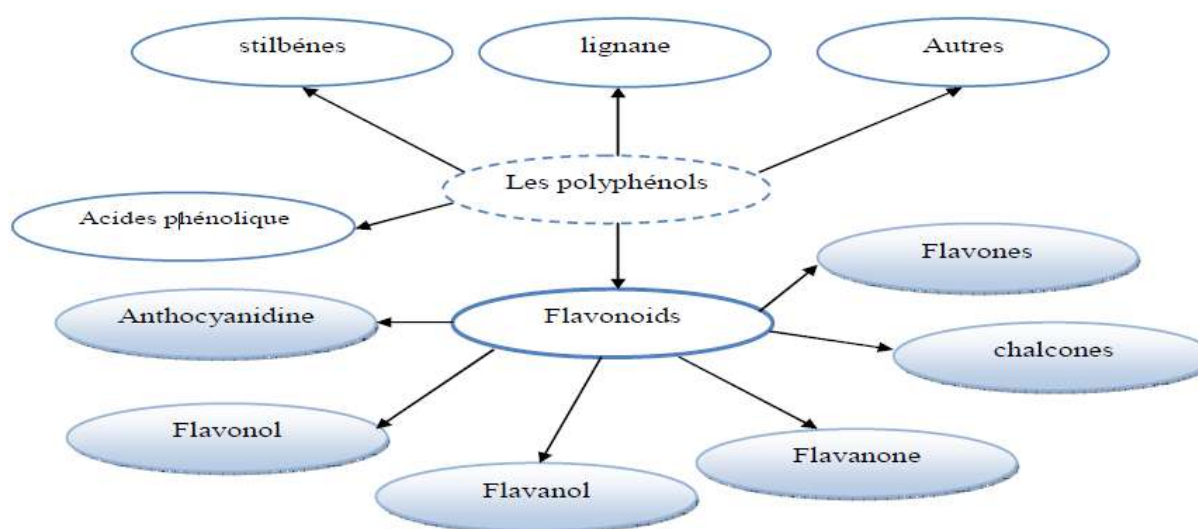


Figure 4 : Classification des polyphénols (Boros et al., 2010).

1.3. Teneur des épices en composés phénoliques

Les polyphénols sont présents dans de nombreux aliments d'origine végétale, notamment les herbes et les épices, qui, en particulier sous leurs formes séchées, contiennent généralement des niveaux relativement élevés par rapport aux autres aliments connus par leur richesse en ces métabolites comme le brocoli, le chocolat noir, les baies rouges, bleues et violettes, le raisin et l'oignon (Opara and Chohan, 2014)

Quelques types de polyphénols et les épices qu'ils renferment sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Teneur des épices en composés phénoliques

Épices	Teneur en composés phénoliques	Références
Curcuma	tanins, flavonoïdes (le curcumine, le desméthoxycurcumine, le bidesméthoxycurcumine et le dihydrocurcumine), phénols.	(Boukeria et al., 2019 ; Kim et al., 2011)

Cumin	Flavonoïdes(Quercetin, kaempferol, 3-(2-Carboxyethenyl)-cis,cis-muconate , Sexangularetin), Anthocyanes (Cyanidin, Salvianin, Peonidin) ; phenolic compound (Salvianolic acid L).	(Pandey <i>et al.</i> , 2015 ; Bekara <i>et al.</i> , 2016)
Cannelle	,flavonoïdes (La quercétrine, la quercétine et le kaempferol), anthocyanes, coumarines, quinons libres.	(Merghache <i>et al.</i> , 2012 ; Prasad <i>et al.</i> , 2009)
Clou de girofle	Flavonoïdes (C-glucoside, isobiflorin (5, 7-dihydroxy-2-methoxychromone-8-C-β-D-glucopyranoside); tanins (Eugenin et ellagitannin).	(Milind <i>et al.</i> , 2011)
Poivre noir	flavonoïdes (la quercétine et kaempferol)	(Parmar <i>et al.</i> , 1997)
Piment	Aglycans flavons :quercetin, Et myricetin .	Bahorun <i>et al.</i> , (2004)
Fenouil	Gallic acide, chlorogenic acid, et protocatechuic, quercétine et le kaempferol),	(Oulebsir <i>et al.</i> , 2018 ; Dua <i>et al.</i> , 2013)
Anis	Phenolic acid (Gallic acid, Chlorogenic acid, Syringic acid, Coumaric acid, Rosmarinic acid, Ellargic acid), flavonoïdes (la quercetin-3-glucuronide, rutine, luteolin-7-glucoside, isoorientine, isovitexine, apigenin-7-glucoside).	(Charles., 2013 ; Bettaieb Rebey <i>et al.</i> , 2019)

2. Terpénoïdes

2.1. Définition

Les terpénoïdes appelés aussi terpènes, constituent un vaste groupe de métabolites secondaires. Ce sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Hellal, 2011). En effet les plantes synthétisent plus de vingt-deux milles dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Conolly, 1992). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$ (Seenivasan., 2006), c'est-à-dire leur particularité structural la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (Hernandez-Ochoa, 2005).

Les précurseurs de tous les isoprénoïdes, le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère allylique pyrophosphate diméthylallyl (DMAPP), avec près de 40 milles structures moléculaires (Yu et Utsumi, 2009). Les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire.

2.2. Classification

La classification des terpenoïdes repose sur le nombre d'unités terpéniques C5 : hémiterpènes (une unité isoprène), C10 : monoterpènes (deux unités isoprène), C15 : sesquiterpènes (trois unités isoprène), C20 : diterpènes (quatre unités isoprène), C30 : triterpènes, C40 : tetraterpènes (caroténoïdes), C45 et C50 : queues terpéniques des molécules d'ubiquinone et de plastoquinones, Au-delà de 50 atomes de carbones on obtient des polyterpènes (caoutchouc...) (figure 5).

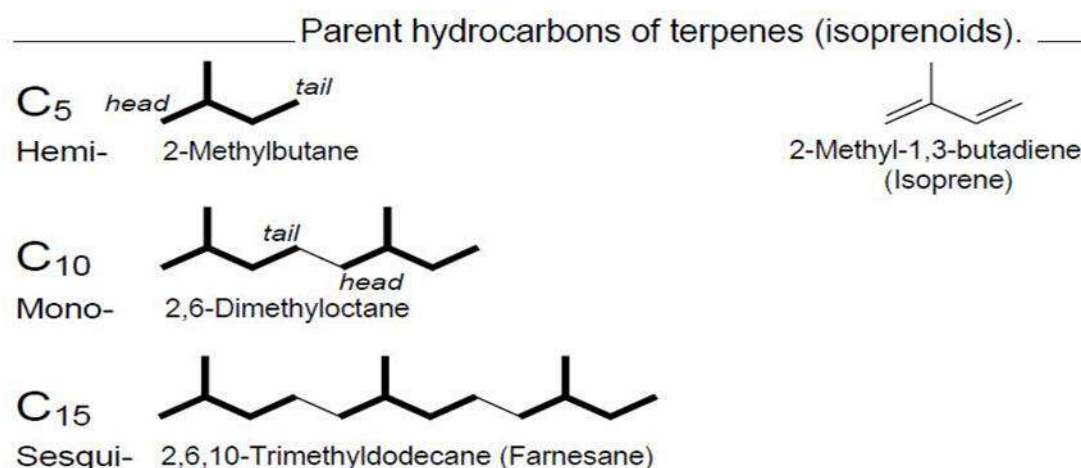


Figure 05 : Structure de l'isoprène, hémiterpène, monoterpène et de sesquiterpène (Hellal, 2011)

2.3. Teneur des épices en terpénoïdes

Les terpénoïdes contenu dans les plants y compris les épices remplissent plusieurs fonctions importantes pour l'homme. Les monoterpènes et diterpènes, qui sont les principaux composants des huiles essentielles, agissent comme agents antioxydants, antimicrobiens, anticancérogènes...etc. Plusieurs classes des terpénoïdes ont été identifiés dans les épices. Quelques exemples sont rapportés dans le tableau IV.

Tableau IV : Exemples des terpénoïdes contenus dans les épices

Épices	Teneur en terpénoïdes	Références
Curcuma	Diterpènes. saponosides	(Bimal., 2015)
Cumin	γ -terpinene.	(Pandey et al., 2015)
Cannelle	α -pinene ,Camphene β -pinene, Myrcene, α - phellandrene , Terpinolene, trans-3-Caren-2-ol, Linalol α -terpineol ,Cinnamaldehyde , Safrole ,Eugenol , Copaene Caryophyllene ,Cinnamyl	(Gunawardena et al., 2015) (Plata-Rueda et al., 2018)

	acetate	
Clou de girofle	Triterpene, 2 α -hydroxyoleanolic acid,	(Milind et al., 2011)
Poivre noir	Linalool, α -Terpinene, α -Pinene,, Limonène , Myrcène , α -phellandrène , Δ 3-Carene.	(Joon-Goo et al., 2020 ; Wright L., 2020)
Piment	Linalooloxide , p-Menth-1-en-9-al	(Eggink et al., 2013)
Fenouil	Benzene,1-methyl4-(1-methylethyl), a- and b-pinene, and terpene hydrocarbons, 1-Limonene	(Mohamad et al., 2011)
Anis	Linalool, α -Terpinene, Anisole, Estragole, trans-Anethole, p-Anisaldehyde, Cis-Isoeugenol, β -Elemene , γ -Himachalene,Zingiberene β -Himachalene , β Bisabolene Isolongifolene , Diepi- α -cedrene	(Bettaieb et al., 2019)

3. Alcaloïdes

3.1. Définition

Le mot alcaloïde dérive du mot *alcalin* qui était utilisé pour décrire les bases de Lewis contenant les hétérocycles azotés. Le terme alcaloïdes a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances réagissant comme des bases. Il n'existe pas de définition précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels (Bruneton, 1999), Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques,

ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (Muanda, 2010).

3.2. Teneurs des épices en alcaloïdes

Diverses actions pharmacologiques sont douées par les alcaloïdes même à faible dose. elles agissent comme psychotropes, psychoactives, stimulantes, dopantes, toniques, vomitives, calmantes, dormitives, et analgésiques (Zenk et Juenger, 2007). Quelques types d'alcaloïdes contenus dans les épices sont rapportés dans le tableau V.

Tableau V : Exemples d'alcaloïdes contenus dans les épices

Épices	Teneur en alcaloïdes	Références
Curcuma	la pipérine(ou 1-pipéroylpipéridine)	(Akbar et al., 2019 ; Shoba, 1998)
Cumin	Methylhexacosane, 3-Epidemissidine.	(Pandey et al., 2015)
Cannelle	Quinolizidine	Jeong-Ok et al., (2007)
Clou de girofle	Absence des alcaloïdes	(Fitrilia et al., 2015)
Poivre noir	la pipérine(ou 1-pipéroylpipéridine) : Pipérine (trans-transisomère) - Isopipérine (cis-transisomère) - Chavicine (cis-cisisomère) - Isochavicine (trans-coisisomère)	(Shoba, 1998 ; Wright, 2020)
Piment	Capsaïcine	(Puvača, 2018)
Fenouil	Absence des alcaloïdes	(Oulebsir et al., 2018)
Anis	Absence des alcaloïdes	(Ajebli et al., 2017)

CHAPITRE III.
APERÇUS SUR LES ACTIVITÉS
BIOLOGIQUES À ÉTUDIER

Chapitre III : Aperçus sur les activités biologiques à étudier

1. Activité anticoagulante

1.1. Coagulation du sang

1.1.1. Définition

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

1.1.2. Rôle des facteurs de coagulation

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

*Précurseurs (pro-enzymes ou zymogènes) de sérine-protéases représentés par prothrombine (F II), proconvertine (FVII), anti-hémoph B (F IX), Stuart (FX), Rosenthal (F XI) et Hageman (FXII).

*Cofacteurs représentés par la proaccéléline (FV), l'anti-hémoph A (FVIII) et la fibrinogène qui est le substrat (FI). La vitamine K intervient au stade terminal de la synthèse de 4 facteurs de la coagulation (F II, VII, IX, X appelés facteurs vitamine K dépendants) en leur faisant acquérir la capacité de se complexer avec le calcium et les phospholipides. En l'absence de vitamine K, le foie libère des facteurs de la coagulation anormaux non fonctionnels appelés PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence) (Moerloose et Boehlen, 2005).

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

A côté de ces facteurs, ils existent des systèmes inhibiteurs : système des antithrombines, système protéine C- protéine S, inhibiteur de la voie extrinsèque (TFPI pour Tissue Factor Pathway inhibitor). Ils sont prédominants dans le plasma et régulent en permanence le processus d'hémostase (Schved, 2007). Le Facteur von Willebrand (VWF) joue également un rôle dans la coagulation, il circule lié au facteur

Anti hémophilique A qu'il protège contre la protéolyse. Ainsi, une diminution importante du facteur Willebrand entraînera une diminution du FVIII (Schved, 2007).

1.2. Rôle des plaquettes sanguines dans la coagulation

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

Le cytoplasme des plaquettes comporte deux réseaux de canaux, Le système canaliculaire ouvert qui fait de profondes invaginations de la membrane plaquettaire, permettant ainsi une communication rapide entre des éléments extra cellulaires et l'intérieur des plaquettes et le système tubulaire dense qui représente le lieu de stockage du calcium. De même, on y trouve des granulations de trois types : granules denses comme l'ATP, l'ADP, la sérotonine et le calcium ; des granules alpha (α) tel que le facteur 4 plaquettaire, le β -thromboglobuline, le facteur Willebrand et de très nombreuses autres substances, ainsi que les grains lysosomiaux comme les hydrolases et les phosphatases. Ces produits stockés pourront être libérés rapidement en grande concentration là où se déroule le processus d'hémostase (Moerloose et Boehlen, 2005).

2. Voies de la coagulation

2.1. Voie endogène ou intrinsèque

Dans cette voie de coagulation, tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. D'abord, elle est déclenchée par l'activation du facteur XII par son contact aux structures électronégatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycanes) (Vogler *et al.*, 2009). Cette activation conduit par la suite à l'activation de pré-kallikréine en kallikréine qui à son active le facteur XII. Ce dernier activé catalyse la transformation de la forme zymogène du facteur XI à la forme protéolytique activée qui active par la suite le facteur IX (Vogler *et al.*, 2009). Le facteur IX se lie à la surface de phospholipides anioniques des plaquettes (PS) par l'intermédiaire des ions calcium et forme, en présence de son co-facteur, le facteur VIII, le complexe tenase qui

est responsable de l'activation du facteur X (le facteur Stuart). Ce dernier forme avec son cofacteur, le facteur V (proaccélérine), les phospholipides plaquettaires et par l'intermédiaire aussi des ions de calcium le complexe prothrombinase qui catalyse la transformation de prothrombine (facteur II) en thrombine (Ajjan et Grant, 2006).

2.2. Voie exogène ou extrinsèque

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

La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène (FI) en monomères de fibrine qui s'associent les unes aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIIIa (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine (fig. 6) (Ajjan et Grant, 2006).

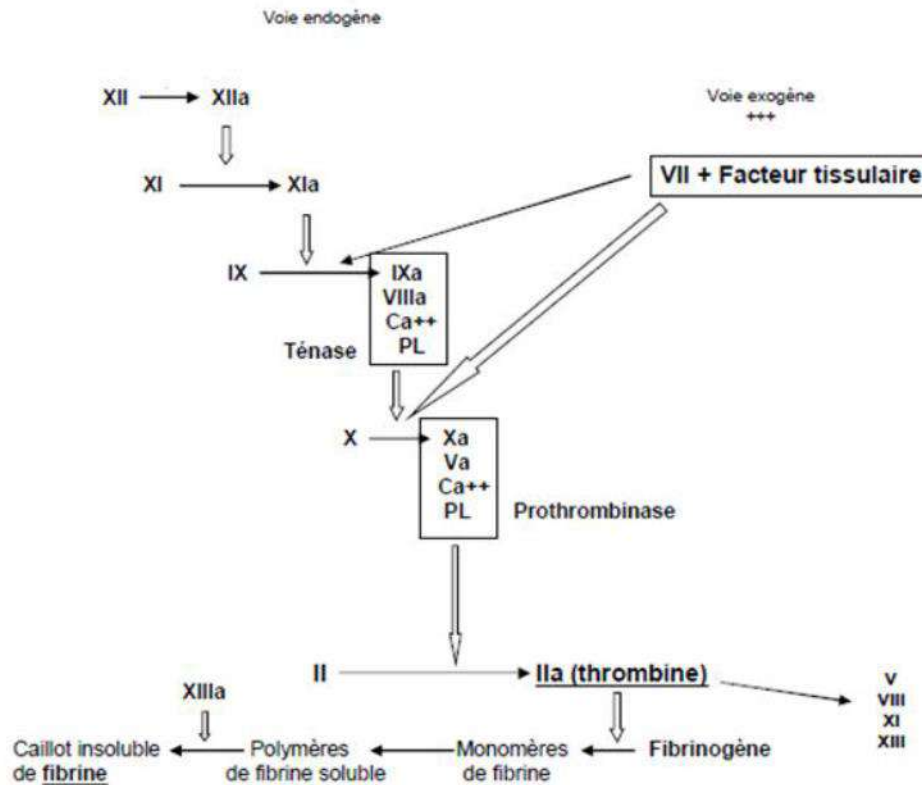


Figure 06 : Cibles principale de la cascade de coagulation (Elalamy, 2012).

3. Anticoagulants

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

3.1. Héparines

Il existe deux types des héparines utilisables et administrées par voie intraveineuse ou sous cutanée, l'héparine non fractionnée (HNF) et les héparines de bas poids moléculaire (HBMP) (Batty et Smith, 2010). L'héparine non fractionnée est composée d'un mélange hétérogène de chaînes polysaccharidiques sulfatées de taille et de structures différentes extraites de la muqueuse intestinale de porc. Le poids moléculaire varie de 5000 à 35000 daltons alors que les héparines de bas poids moléculaire sont issues de la dépolymérisation des chaînes polysaccharidiques de l'HNF par des procédés chimiques ou enzymatiques dont

leurs poids moléculaires varient de 3000 à 5000 daltons. L'HNF et les HBPM forment un complexe avec l'anticoagulant physiologique l'antithrombine III potentialisant son effet sur l'inactivation de divers facteurs de coagulation. Le complexe HNF-antithrombine III inactive le plus notamment les facteurs Xa et la thrombine (facteur IIa), mais à un moindre degré les facteurs IXa, XIa et XIIa, alors que le complexe HBPM-antithrombine III inhibe particulièrement le facteur Xa et à moindre degré la thrombine (figure 7) (Batty et Smith, 2010).

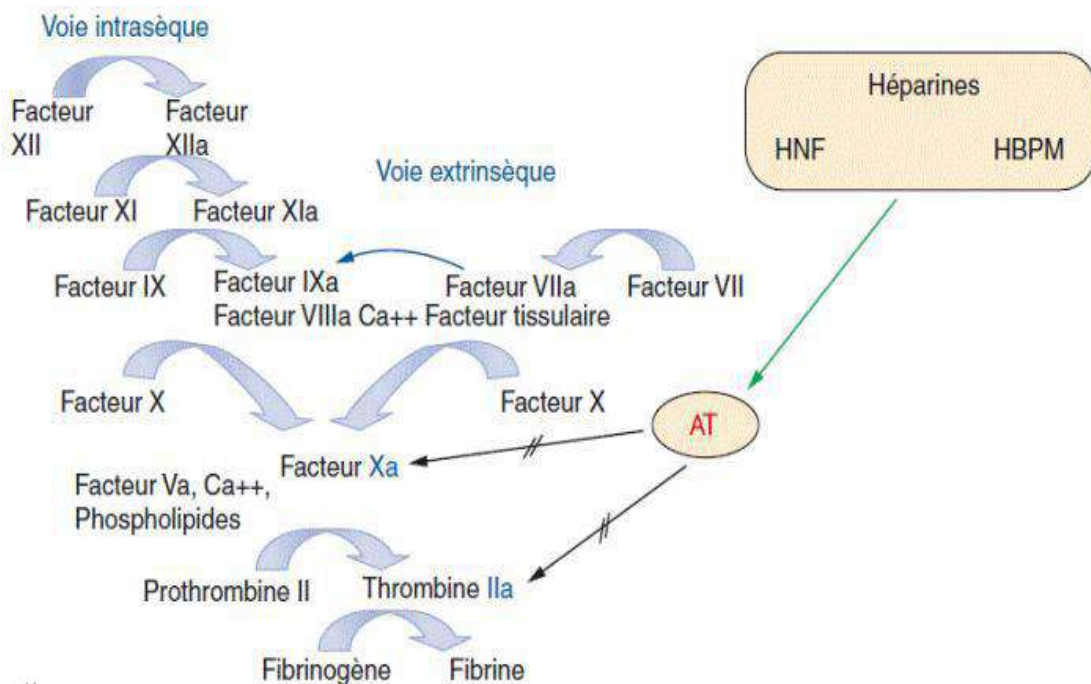


Figure 07 : Effet des héparines sur la coagulation (Vogler et Siedlecki, 2009).

3.2. Anti vitamines K

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

3.3. Nouveaux anticoagulants

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

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

Les inhibiteurs directs agissent directement sur le facteur Xa ou la thrombine, et parmi lesquelles le DX-9065a, l'hirudin, l'argatroban,...etc. Le DX-9065a est un dérivé synthétique de l'acide propanoïque qui inhibe directement le facteur Xa libre et le facteur Xa lié dans le complexe prothrombinase (Girardel et Samama, 2006) alors que l'hirudin est un peptide de 65 acides aminés, extrait de la glande salivaire d'une espèce de ver (*Hirudomedicinalis*) et il inhibe directement et de façon irréversible la thrombine.

L'argatroban est un dérivé synthétique d'acide carboxylique qui inhibe directement la thrombine (Samama *et al.*, 2002).

4. Activité hémolytique et anti-hémolytique

4.1. Structure des globules rouges

Les globules rouges (GR), ou érythrocytes, sont des composantes cellulaires les plus abondantes dans le sang et ont été largement caractérisés depuis leur observation initiale à la fin des années 1600. Ils constituent la majorité des cellules sanguines, représentant 35 à 45% du volume de sang (Whelihan et Mann, 2013).

Les GRs, sont des disques biconcaves avec un diamètre moyen de 8µm et un volume moyen de 90 femtolitre (fl). Ils sont critiques pour l'échange gazeux. Leur produit principal est l'hémoglobine (Hb), le pigment rouge qui représente le vecteur d'O₂ et de CO₂ à travers le corps). La forme biconcave des GRs, associés à la flexibilité de la membrane cellulaire, permettent aux cellules de se dilater jusqu'à 150 fl ou d'entrer dans des capillaires d'un diamètre considérablement inférieur à 8 µm (Klinken, 2002). La durée de séjour des GRs dans le sang est de 120 jours en moyenne et le temps de transit médullaire des érythroblastes est de

5/6 jours. À mesure que les GRs vieillissent, leurs membranes deviennent rigides et inflexibles, ils sont ensuite retirés de la circulation par les macrophages (Valensi, 2005).

4.2. Fonction des globules rouges

La fonction principale associée aux érythrocytes est le transport d'oxygène des capillaires pulmonaires aux tissus capillaires, où il est échangé contre le dioxyde de carbone (Klinken, 2002). Ils jouent également un rôle dans l'homéostasie en protégeant contre les dommages oxydatifs et en régulant la distribution du flux sanguin dans le muscle squelettique. D'autres fonctions potentielles ont également été attribuées aux érythrocytes. Ils peuvent jouer un rôle dans la modulation de la prolifération et de la survie des lymphocytes T en améliorant la sécrétion de cytokines et l'induction de l'IL2R, modulant ainsi les ratios CD4+/CD8+ (Morera et MacKenzie, 2011).

4.3. Hémolysse des globules rouges

4.3.1. Hémolysse physiologique

L'hémolysse vient des mots grecs : haema : sang et lyse : perturbation (Beris et Picard, 2015). C'est un terme médical qui décrit la destruction des GR par des mécanismes de lyse de leurs membranes (Anastasiou *et al.*, 2018).

L'hémolysse est un phénomène physiologique irréversible correspond à la mort des hématies après une durée de vie moyenne de 120 jours, la perte physiologique quotidienne (estimé de 1/120^{ème} de la masse globulaire totale) (Loustau *et al.*, 2011).

Ce phénomène est essentiellement intra-tissulaire, juste une faible partie (10 à 20%) est intravasculaire (Meftah, 2016). Au cours de quel, les hématies âgées appauvries en enzymes, peu déformables, sont ralenties et bloquées dans les sinusoides où l'hypoxie et la baisse du pH aggravent leur altération. Elles sont alors phagocytées principalement par les macrophages de la moelle osseuse, mais aussi par ceux du foie et de la rate.

La molécule d'Hb est catabolisée. L'hème est séparé de la globine ; la globine subit une protéolyse tandis que l'hème sous l'action d'une hème oxydase voit son cycle tétrapyrrolique ouvert avec libération de fer et de biliverdine. Le fer est oxydé en fer ferrique, stocké dans la ferritine et réutilisé dans la synthèse de l'hème par les érythroblastes. La biliverdine est transformée en bilirubine par une biliverdine réductase. La bilirubine passe dans le plasma où

elle est liée à l'albumine. Au niveau hépatique, la bilirubine libérée de l'albumine est glycuco conjuguée par une glycuronyl transférase et excrétée dans la bile. Dans l'intestin, elle subit une déconjugaison partielle et une série de réductions qui conduisent à l'urobilinogène éliminée dans les urines et au stercobilinogène éliminé dans les selles après avoir, en partie, réabsorbés et subissent un cycle entérohépatique (figure 8) (Meftah,2016).

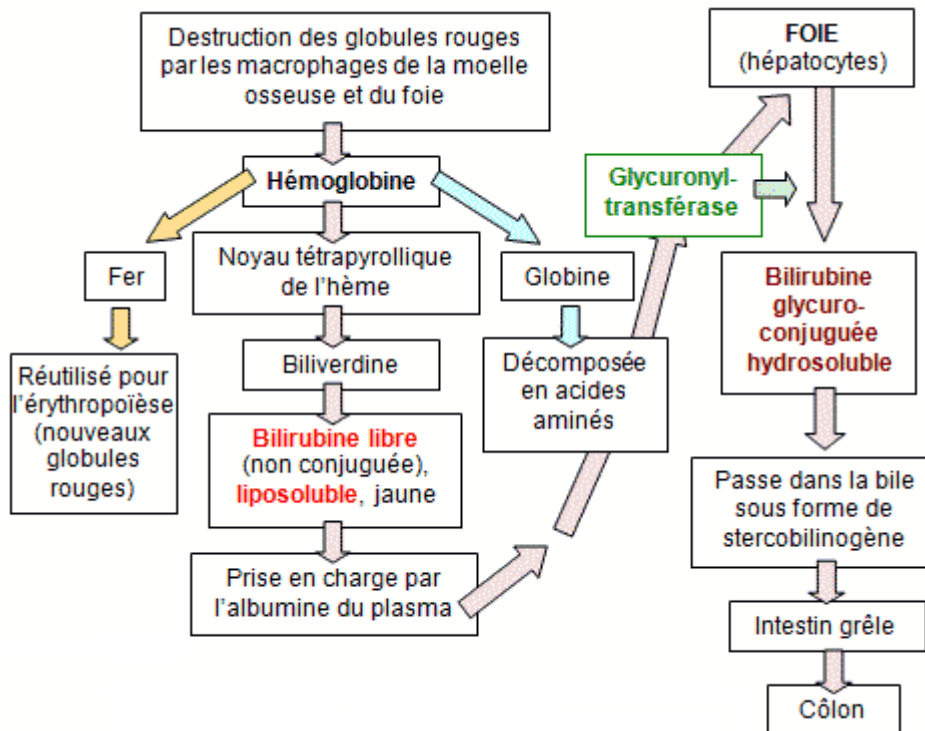


Figure 08 : Voie de l'hémolyse intra tissulaire (Meftah, 2016).

4.3.2. Hémolyse pathologique

L'hémolyse est pathologique lorsque la destruction des hématies survient après une durée de vie raccourcie (Burnat *et al.*, 1998), entraînant alors une libération excessive des constituants érythrocytaires dans le plasma en particulier l'Hb, ce qui leur confère une coloration plus ou moins rougeâtre après une centrifugation (Mezzou *et al.*, 2006). Si l'hyper hémolyse est plus importante que la compensation médullaire, apparaît alors le syndrome d'anémie hémolytique (AH) définie par une Hb inférieure à 130 g/L chez l'homme, et inférieure à 120 g/L chez la femme (Burnat *et al.*, 1998).

L'hémolyse pathologique peut être extra- ou intravasculaire. Ceci dépend du mécanisme causal et de la brutalité avec laquelle la membrane érythrocytaire est attaquée (Meftah, 2016).

4.3.2.1. Hémolyse intravasculaire

La lyse du GR provoque la libération de ses composants (Hb, LDH, potassium) dans le plasma où leur concentration augmente. L'Hb, libérée lors d'une hémolyse, se lie à la α_2 -globuline : l'haptoglobine. Les complexes haptoglobine-Hb sont absorbés par les cellules hépatiques qui catabolisent l'Hb et transforment l'hème en bilirubine.

Lorsque la libération d'Hb est suffisante (0,5 à 1,5 g/L d'Hb libre), la concentration en haptoglobine plasmatique chute. L'Hb se lie alors à une autre protéine, l'hémopexine ; ce complexe est éliminé par le foie. En cas de saturation, l'Hb peut se lier à l'albumine. L'Hb libre prend trois voies :

- Métabolisation par le foie ;
- Filtration glomérulaire, réabsorption tubulaire et en cas de saturation tubulaire provoque une hémoglobinurie ;
- Oxydation en méthémoglobine.

4.3.2.2. Hémolyse extravasculaire

Elle est liée à la destruction des hématies par le système macrophagique (Figure 9). Il s'agit notamment des hématies sensibilisées par la fixation d'anticorps à leur surface. L'Hb libérée dans la circulation, faisant chuter la concentration d'haptoglobines et augmentant celle de la bilirubine (Burnat *et al.*, 1998).

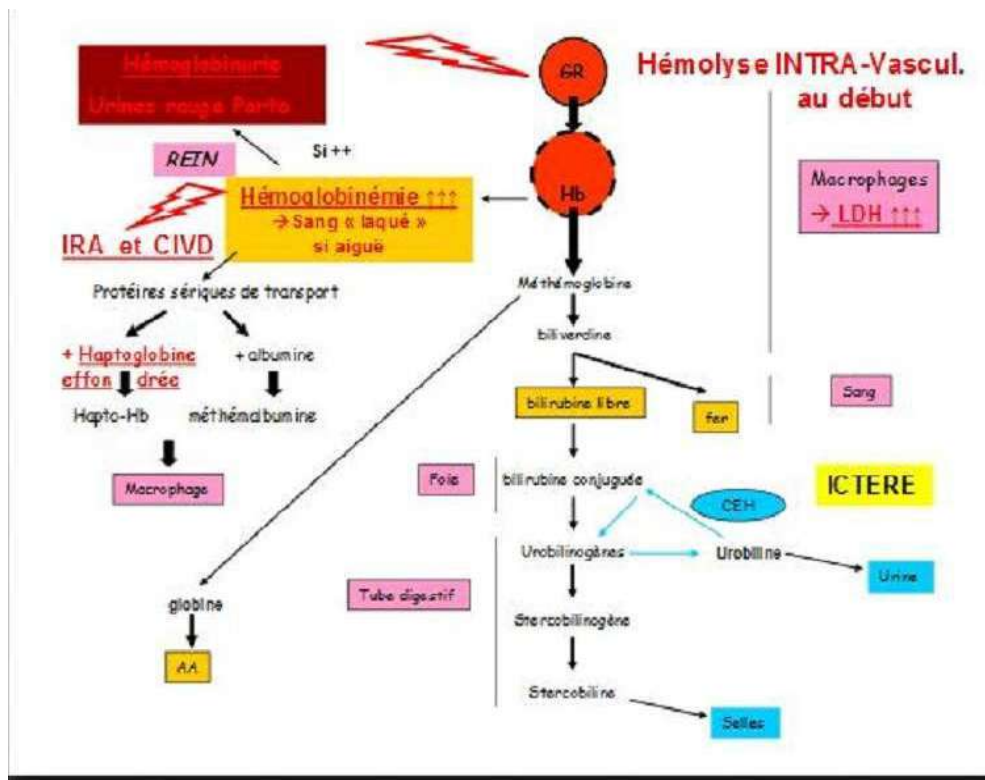


Figure 09 : Hyper hémolyse extravasculaire (Meftah, 2016).

4.3.3. Relation entre le stress oxydatif et l'hémolyse

En présence d'oxygène, l'hémoglobine est capable de s'auto-oxyder, induisant ainsi la formation de méthémoglobine $HbFe^{3+}$ par l'oxydation de Fe^{2+} en Fe^{3+} . Cette auto-oxydation de l'hémoglobine génère des radicaux libres parmi lesquels les anions superoxydes $O_2^{\cdot -}$. En effet, l'Hb A est capable de contrecarrer ces réactions, mais dans d'autres pathologies tels que certains anémies hémolytiques (le cas de la drépanocytose à Hb S), l'hémoglobine se retrouve rapidement submergée par la production continue d' $O_2^{\cdot -}$, puis par sa dismutation en H_2O_2 , ce dernier pouvant produire alors de l' OH^{\cdot} . Par ailleurs la metHb, en absence de réduction du fer par la méthémoglobine réductase, va se dénaturer en hémichromes. Ces hémichromes, retrouvés à des taux très élevés dans la membrane érythrocytaire et vont favoriser l'oxydation des constituants membranaires des globules rouges (Heirso, 2015).

5. Facteurs anti-hémolytiques

Le traitement de l'anémie hémolytique dépend de la cause. Les médicaments anti-hémolytiques sont des substances d'origine synthétiques ont la capacité à retarder ou à inhiber la lyse des globules rouges. Plusieurs existent, nous citerons l'acide folique, le complément de fer, la vitamine B12 et les corticoïdes (Bachy *et al.*, 2015).

5.1. Action des anti-hémolytiques synthétiques

Les corticoïdes (cortisone ou un de ses dérivés) sont utilisés Essentiellement pour les anémies hémolytiques auto-immunes AHAI à anticorps chauds. Ce type de médicament permet d'enrayer la destruction accrue des GRs. Les corticoïdes sont ici employés comme traitement symptomatique pour diminuer les réactions immunitaires, ils ne ciblent pas l'anticorps responsable de l'affection (Pierrel, 2015).

5.2. Action des anti hémolytiques naturels

A cause des effets secondaires et indésirables des médicaments, le domaine de la recherche scientifique à fortement focalisé son intérêt vers des substances anti hémolytiques d'origine végétales. Le mécanisme de protection est encore en discussions mais il est suggéré que les polyphénols ont la capacité de stabiliser la membrane des globules rouges contre la lyse osmotique. L'attachement des composés phénoliques dans la membrane cellulaire et la restriction qui en résulte sur la fluidité membranaire pourrait, également, gêner stériquement la diffusion des radicaux libres et de diminuer la cinétique des réactions radicalaires (Suwalsky *et al.*, 2007).

PARTIE II.

ETUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I.
MATÉRIELS ET MÉTHODES

Partie II. ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I. Matériels et méthodes

1. Matériels



1.1. Matériels végétales

1.1.1. Présentation des épices sélectionnées

Notre travail vise à montrer la relation entre les types des épices et leurs contenus en métabolites secondaires, ainsi que, certaines de leurs activités biologiques. Pour se faire, huit épices ont été sélectionnées réparties en quatre types : deux épices à caractère doux, il s'agit de l'anis vert et de fenouil, deux autres chaudes représentées par la cannelle et le clou de girofle. Deux épices amères, ce sont le cumin et le curcuma. Alors que, le piment rouge et le poivre noir appartiennent au type d'épices piquantes.

Les épices sélectionnées sont présentées dans le tableau VI suivant

Tableau VI : Taxonomie et description botanique des plantes sélectionnées.

L'épice	Description	Taxonomie
<p><i>Anis vert</i></p>  <p><i>Pimpinella anisum L.</i> (Yar Khan, 2012).</p>	<p>L'anis vert est une plante aromatique herbacée annuelle (Babulka, 2004), originaire d'Asie occidentale et du bassin méditerranéen, cultivée actuellement dans la plupart des pays semi-tropicaux et tempérés chauds (FAO, 1990). Atteignant 30 à 70 cm de haut, dont on utilise le fruit velu, de 3 à 5 mm de longueur qui se présente sous forme de diakènes vert grisâtre à stries claires (Babulka, P, 2004). Elle a une saveur et odeur douces très aromatique (Alix, 2012).</p>	<p>Embranchement: Spermatophytes Sous-embranchement : Angiospermes Classe : Dicotylédones Sous-classe : Rosidae Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : Pimpinella L. Espèce : anisum (Dupont et al., 2012)</p>
<p><i>Cannelle</i></p>  <p><i>Cinnamomum cassia L.</i> (Vangalapati, 2012)</p>	<p>La cannelle est la plus ancienne des épices connues, originaire du Sri-Lanka ou de Birmanie. Elle est issue du cannelier, arbre de 10 à 15m à l'état sauvage (Pascale, 2012). L'écorce intérieure du cannelier, se présente sous la forme de petits tubes (Alix, 2012). Leur parfum est plus fort, plus chaud, moins sucré (Lille, 2004).</p>	<p>Règne: Plantae Sous Règne: Tracheobionta Classe: Magnoliopsida Sous-classe: Rosidae Laurales Famille: Lauraceae Espèce: Cinnamomum Cassia L. (Boullard, 2001)</p>

<p style="text-align: center;">Cumin</p>  <p style="text-align: center;"><i>Cuminum cyminum L.</i> (Quezel et Santa ,1963).</p>	<p>Le cumin est une plante d'origine d'Asie centrale (Lille, 2004), mince, glabre, herbacée et annuelle. Elle peut atteindre une hauteur de 20 jusqu'à 60cm (Dridi, 2005). Il possède des feuilles vertes, très fines, et des petites fleurs, (Dridi, 2005). Dont chacune de ces fleurs produit deux graines (Alix, 2012). Les semences d'une couleur verte pâle qui tend vers le brun doré, d'une forme elliptique, longueur comprise entre 5 à 6 mm, hérissés de longue (Dridi, 2005). Elles ont une saveur forte et amère et une odeur aromatique (Matthyssens, 1866).</p>	<p>Règne: Plantes Embranchement: Spermaphytes Classe: Dicotylédones Ordre: Apiales Famille: Apiaceae Genre: Cuminum Espèce: <i>Cuminum cyminum L.</i> (Vican, 2001).</p>
<p style="text-align: center;">Curcuma</p>  <p style="text-align: center;"><i>Curcuma longa L.</i> (Wichtl et Anton, 2003)</p>	<p>Le curcuma est une grande plante originaire de l'Asie du sud-est (Pélissier, 2012), herbacée, vivace, pousse dans les pays tropicaux. De 60 cm à 1m de hauteur, elle est robuste et érigée. Elle comporte plusieurs tiges avec des feuilles oblongues et des fleurs qui vont de jaune pâle à l'orange éclatant (Pascale, 2012). Le rhizome qui représente l'épice a un goût légèrement piquant et amère, utilisé comme colorant alimentaire et additif pour la conservation (pascale, 2012 et Patrick <i>et al.</i>,2006).</p>	<p>Règne: Planta. Embranchement: Magnoliophyta. Classe: Liliopsida Ordre: Zingibérales. Famille: Zingibéracée. Genre: Curcuma. Espèce :<i>Curcuma longa L.</i> (Boullard, 2001)</p>
<p style="text-align: center;">Fenouil</p>  <p style="text-align: center;"><i>Foeniculum vulgare Mill.</i> (Shamkant <i>et al.</i>, 2014)</p>	<p>Le fenouil est une plante annuelle, vivace, originaire du bassin Méditerranéen et du sud de l'Europe. Il atteint une hauteur de 0.6 à 1.5m. Les feuilles sont molles et plumeuses. Les fleurs sont minuscules, jaunes, réunies en ombelles. La tige est dressée, pleine de moelle, très ramifiée (Ernest et Grace, 2001). Les semences de fenouil d'une forme elliptique allongés et sont marqués à l'extérieur de nervure longitudinales, leur couleur est jaune-verdâtre, d'une saveur douce, odeur aromatique agréable (Aline, 2006).</p>	<p>Embranchement: Spermaphytes Sous-embranchement : Angiospermes Classe : Dicotylédones Sous-classe : Rosidae Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : Foeniculum Espèce : <i>Foeniculum vulgare Mill.</i> (Dupont <i>et al.</i>, 2012)</p>
<p style="text-align: center;">Poivre noir</p> 	<p>Le poivre noire est une plante grimpante et vivace de 8 à 10m (Baker, 2008 ; Huguette, 2008), originaire d'Inde. Il est obtenu à partir de baies parvenue presque à maturité de poivrier. (Sophie, 2015). Il se présente sous forme des grains sphériques, de la grosseur d'un très petit pois ; sa pellicule extérieure est brune-noirâtre, ridée, à l'intérieur se trouve un</p>	<p>Embranchement: Spermaphytes Sous embranchement: Angiospermes Classe: Dicotylédones Sous-classe: Apétales Ordre: Pipérale Famille: Pipéracées Genre: Piper Espèce : <i>Piper nigrum L.</i></p>

<p><i>Piper nigrum L.</i> (Meghwal et Goswami, 2012)</p>	<p>grain blanchâtre d'une consistance quelque peu cornée (Matthyssens,1866). Son odeur est forte et son saveur âcre brulante (Sorlot, 2014).</p>	<p>(Borge, 1991).</p>
<p><i>Clou de girofle</i></p>  <p><i>Syzygium aromaticum</i></p>	<p>Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut. Il présente un port érigé et pyramidal. Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers. Les fleurs sont disposées en cymes terminales de 25 fleurs environ, formant 3 fourches. Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon Duveteux d'étamines blanches</p>	<p>Classe : Angiosperme Sous- Classe : Tiporées Classe : Rosidées Ordre : Myrtales Famille : Myrtaceae Sous Famille : Myrtoideae Genre: Syzygium Espece: Syzygium Aromaticum</p> <p>(Dupont, 2012)</p>
<p><i>Piment</i></p>  <p><i>Capsicum annuum</i></p>	<p>Le piment est une plante annuelle, autogame préférentielle et multipliée par semences (Doré et Varoquaux, 2006). Ses feuilles sont ovales, lancéolées, groupées par trois. Ses fleurs sont de couleur blanche pale, à raison de cinq à sept, disposées par paire ou solitaires. Le fruit du piment est une baie peu charnue renfermant de nombreuses graines jaunâtres sur de très gros placentas (Goetz et Le Jeune, 2012), de couleur rouge et forme allongée) est saveur piquant. La graine du piment est assez petite, plate et lisse.</p>	<p>Règne : Plantae Sous règne : Tracheobionta Subdivision: Spermatophyta Division: Magniophyta Classe : Magniopsida Sous classe : Asteridae Ordre : Solanales Famille : Solanaceae Genre : Capsicum Espèce : <i>Capsicum annuum</i></p> <p>(Dehoua, 2017).</p>

2. Sang utilisé pour les activités biologiques

Au cours de notre étude, on a utilisé comme matériels biologique du plasma pour l'activité anticoagulante et des globules rouges pour l'activité anti-hémolytique. Ces éléments sont prélevés des échantillons du sang déjà analysées au niveau de laboratoire interne de l'hôpital Mohammed Boudiaf, sans doute, après la licence du directeur du laboratoire. Les donneurs du sang ne présentent aucune affection ou problème liée à la coagulation du sang ou bien aux globules rouges.

3. Méthodes

3.1. Préparation de matériel végétal

Trois échantillons différents de chacune des épices sélectionnées ont été achetés des herboristes de la région. On a insisté dans l'achat sur l'odeur forte et la couleur éclatante caractéristique.

Après collecte, le matériel est bien nettoyé, lavé rapidement dans l'eau de robinet puis dans de l'eau distillé. Puis essayé et séché dans un endroit aéré, frais et à l'abri de soleil. Après séchage les épices sont broyées dans un moulin électrique.

3.2. Extraction des principes actifs

3.2.1. Obtention des extraits bruts

Les extraits bruts des épices étudiées sont obtenus par macération selon la méthode de (Motamed et Naghibi,2010). Le principe d'extraction repose sur un simple contact entre le support solide et le solvant (fig.10) (Penchev, 2010).

Pour se faire, les poudres des épices étudiées sont mises à macérer pendant 24heures à la température ambiante, dans un mélange méthanol-eau (80:20 V/V). Le méthanol est le solvant approprié, il permet une haute récupération de polyphénols (Falleh *et al.*, 2008). L'extraction est refaite 3 fois avec renouvellement du solvant. Les macéras sont réunis et filtrés sur papier filtre. Après séchage, les extraits secs obtenus sont solubilisés dans le méthanol pour le screening phytochimique et le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes et dans le diméthyle sulfoxide (DMSO) pour les activités biologiques étudiées.



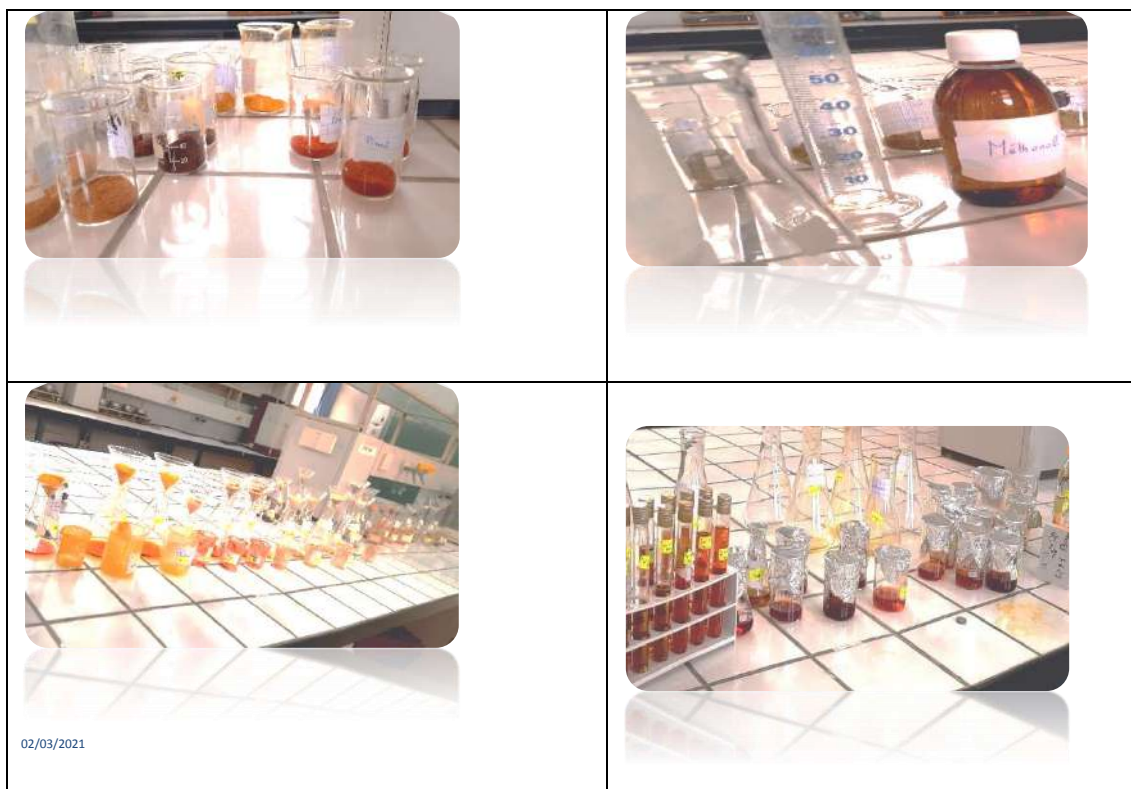


Figure10 : Séchage, broyage et extraction des épices .

3.2.2. Rendement d'extraction

Le rendement des extraits bruts est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé *via* l'équation

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

R (%) : Rendement en %

Me : Masse de l'extrait sec

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998).

3.3. Screening phytochimique

Le terme de screening désigne une suite de nombreux essais et erreurs. Le screening phytochimique correspond à une technique de criblage qui consiste à la recherche systématique des produits naturels contenus dans les plantes récoltées en faisant de nombreux tests ou essais (Nouioua, 2012). D'après Azzi, (2013), le screening phytochimique regroupe des tests qualitatifs qui permettent de caractériser les différents groupes chimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides...etc. contenus dans un

organe végétal, en utilisant la méthode standard basée sur des réactions de coloration et de précipitation (Houmènou *et al.*, 2018).

3.3.1. Test des alcaloïdes

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1 %) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence des alcaloïdes (Kumar *et al.*, 2010 ; Benzeggouta, 2015).

3.3.2. Teste des Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1ml de l'extrait aqueux, 1ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée 10 fois. L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-verte indique la présence des tanins (Boukhatem, 2017).

3.3.3. Test des Saponosides (test de mousse)

L'existence des saponosides est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante. Pour se réaliser, on met deux millilitres de l'extrait dans un tube à essai, on bouche le tube et on l'agite verticalement pendant 30 secondes. Après 15 minute de repos on mesure la hauteur de la mousse (Senhaji *et al.*, 2005).

3.3.4. Test des Flavonoïdes

La révélation des flavonoïdes est effectuée en traitant 2 ml de chaque extrait par 2 ml d'acétate de plomb 10%, l'apparition d'une couleur verte jaunâtre indique la présence des flavonoïdes (Harbarne, 1973).

3.3.5. Test des térapénoïdes

Pour détecter l'existence des térapénoïdes dans nos extraits, on introduit 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai puis on rajoute 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'une interphase marronne entre deux phases indique la présence des térapénoïdes. (Khan *et al.*, 2011).

3.3.6. Test des Anthocyanes

Les anthocyanes sont révélés en mélangeant 1ml de chaque extrait avec 3ml d'acide sulfurique H_2SO_4 à 10% et 1ml d'ammoniac NH_4OH à 10%, si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique, ceci indique la présence des anthocyanes (Djalla, 2000).

3.3.7. Test des polyphénols

La teneur de nos extraits en polyphénols est révélée par l'addition de huit gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 2% à 1 mL de l'extrait. Après quelques minutes d'incubation à la température ambiante, le chlorure ferrique développe une coloration bleu-noir ou verte plus au moins foncée fut le signe de présence des polyphénols (N'Guessan *et al.*, 2009).

4. Dosage quantitatif par des réactions colorimétriques

4.1. Dosage quantitatif des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Singleton et Rossi (1965). Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de poly phénols présents dans les extraits végétaux, cette coloration possède un maximum d'absorption à 765 nm. Le test est réalisé selon le protocole décrit par Li *et al.* (2007). Un volume de 200 μ l de chaque extrait (dissous dans le méthanol) est ajouté à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée. Les solutions sont mélangées et incubées pendant 4 minutes. Puis, 800 μ l de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 75g/l) est ajoutée. Le mélange final est agité puis incubé pendant 30 minutes à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre (SHIMADZU UV-1800) à 765 nm contre un blanc sans extrait (Yakhlef, 2010). L'étalon utilisé est l'acide gallique (AG) (Montreau, 1972) à différentes concentrations dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons étudiés. Les résultats sont

exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) (Wong *et al.*, 2006).

4.2. Dosage quantitatif des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes (**Huang *et al.*, 2004**).

La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produisent un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm (Ababsa, 2009). Pour se réaliser, 1 ml de l'extrait (préparé dans le méthanol avec les dilutions convenables) a été ajouté à 1ml de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Après 10 min d'incubation, l'absorbance été lue à 430 nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois (Yakhlef, 2010).

La courbe d'étalonnage est effectuée par la routine à différentes concentrations, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage (Manallah, 2012).

5. Evaluation des activités biologiques des extraits

5.1. Evaluation de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante est évaluée *in vitro* par deux test : le temps de Quick (TQ) ou nommé également taux de prothrombine (TP) pour la voie exogène et le temps de céphaline kaolin (TCK) concerne la voie endogène de la coagulation. Pour notre travail, on a manipulé uniquement le temps de Quick vue la non disponibilité de réactif pour le test de TCK.

5.1.1. Temps de Quick ou taux de prothrombine (TP)

5.1.1.1. Principe de test

Le test de Temps de Quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP) permet d'explorer les facteurs de la voie exogène de la coagulation : facteur VII, facteur X, facteur V, facteur II et fibrinogène (Caquet, 2004). Ce test évalue l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%. Le test permet de mesurer le temps que met à se former un caillot de fibrine à 37°C lorsqu'on ajoute dans le plasma un excès de

thromboplastine ou facteur tissulaire en présence de calcium. Normalement le caillot se forme en 12 à 13 seconds ce qui représente le temps de Quick normale. Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation.

5.1.1.2. Préparation du plasma pool (standard) déplaquetés

Les échantillons du sang utilisés présentent des TP et TCK normaux, ces échantillons sont prélevés dans des tubes à anticoagulant de type citrate de sodium à 3,2% et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang était ensuite centrifugé (à l'aide d'une centrifugeuse HuMax 14k Human) pendant 4 minutes à 5000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Les plasma déplaquetés ont été conservé à basse température (-10C°) jusqu'à son utilisation (Athukorala *et al.*, 2007).



Figure11. Mesure de TP dans le coagulomètre

5.1.1.3. Mode opératoire

L'activité anticoagulante des extraits est évaluée suivant le protocole décrit par Athukorala *et al.*, (2007). Pour se réaliser, 50 µl des extraits à différentes concentrations sont additionnées à 90µl du plasma standard. Le mélange est incubé à 37C° durant 15minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200µl de thromboplastine pré incubé à 37C° pendant 15 minutes, et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux est alors mesuré automatiquement à l'aide du coagulomètre de type Thrombotimer 1, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s). Un témoin négatif est préparé sans extrait et l'autre en remplaçant l'extrait par un anticoagulant de référence.

5.2. Evaluation de l'activité anti hémolytique

5.2.1. Principe

L'effet anti-hémolytique d'un extrait est évalué *in vitro* par l'utilisation de modèle érythrocytaire. Ce dernier est facile à isoler du sang et sa membrane présente des similitudes avec d'autres membranes cellulaires (Shobana et Vidhya, 2016). L'exposition des globules rouges à certains paramètres physicochimiques tel que le milieu hypotonique, l'utilisation d'un perturbateur membranaire comme les détergents ou les espèces réactives oxygénées, provoque une rupture de sa membrane cytoplasmique provoquant ainsi la libération de l'hémoglobine qui sera alors dosée par spectrophotométrie d'absorbance visible à 540 nm. Dans notre test on a utilisé le détergeant triton X-100.

5.2.2. Mode opératoire

La suspension érythrocytaire est obtenue après centrifugation du sang à 3000rpm /5min, le culot récupéré est lavé 3 fois avec de l'eau physiologique, le culot obtenu est resuspendu dans l'eau physiologique à raison de 1 volume du culot à 9 volumes de l'eau physiologique, permettant ainsi d'obtenir un hématocrite à 10% (Rani *et al*, 2014).

Pour évaluer l'effet anti hémolytique de nos extraits, un volume de 1mL de chaque extrait de à différentes concentrations (0.0001-0.1mg/ml) est ajouté à 500µl de la suspension érythrocytaire, le mélange est incubé pendant 5 min à la température ambiante, puis 800µl du détergent triton X100 à 1% été additionné. Le mélange est incubé pendant une heure à 37°C suivie d'une centrifugation à 3000rpm/10 min. l'absorbance ensuite est lu à 540 nm. Le contrôle négatif est préparé par le remplacement de l'extrait par un même volume en eau physiologique (Muthu et Durairaj, 2015).



01/04/2021

Figure12 :Les dilutions dans DMSO avec les suspensions érythrocytaires

5.2.3. Exploitation des résultats

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des extraits et de control négatif sont calculé *via* l'équation décrite ci-dessous (Shobana et Vidhya, 2016)

$$\% \text{ d' } \textit{inhibition de l'hémolyse} = \left(\frac{\textit{DO de l'extrait} - \textit{DO de témoin négatif}}{\textit{DO de témoin négatif}} \right) \times 100$$

CHAPITRE II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Chapitre II. Résultats et discussions

1. Rendement d'extraction

1.1. Résultats

Les rendements représentant le poids de l'extrait par rapport au poids du matériel végétal utilisé sont calculés et les résultats sont illustrés dans la figure (13) suivante :

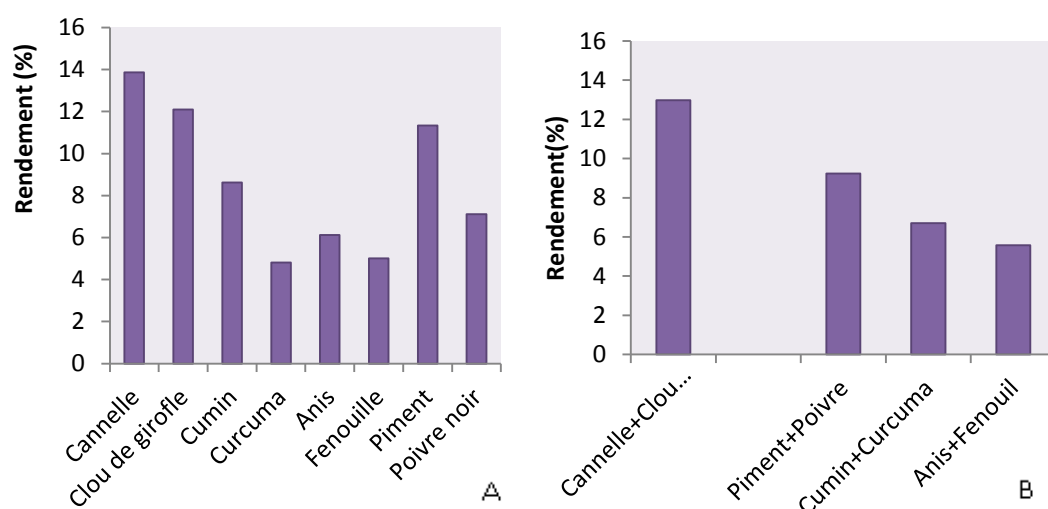


Figure 13 : Rendements d'extraction. A. des épices séparées, B. des binaires d'épices

Les valeurs des rendements d'extraction consignés dans la figure (13A) montrent que la cannelle a donné le meilleur rendement d'extraction avec un taux de 13,87%. Suivie de Clou de girofle, le piment, cumin et le poivre noir qui marquent les valeurs 12,09%, 11,34%, 8,62% et 7,12% respectivement. Les rendements relativement faibles ont été obtenus avec les épices : anis vert, fenouil et curcuma, dont les taux sont de 6,12%, 5,02% et 4,81% respectivement.

D'après la figure **13B**, On constate que le meilleur rendement des binaires des épices, selon leur classe, est celui des épices chaudes (cannelle et clou de girofle) évalué à 12,98%. Les épices piquants (piment et poivre noir) ont un rendement d'extraction élevé (9,23%) par rapport aux épices amères (cumin et Curcuma) et douces (anis vert et fenouil) qui ont respectivement les valeurs 6,71% et 5,57%.

1.2. Discussion

Le solvant utilisé pour l'extraction est le méthanol, trouvé le meilleur utilisé pour l'extraction des composés bioactifs polaires et légèrement apolaires, tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes, les glycosides et les terpénoïdes. Leur faible point d'ébullition (65°C) permet son évaporation facile après l'extraction.

Lorsque on compare nos résultats avec la littérature, on trouve des différences par fois remarquables dans les rendement d'extraction. Ceux de la cannelle et de poivre noir confirment les résultats de Ghilani (2016) et Annou (2017) par une étude sur une gamme d'épices. Mais pour les autres épices, nos rendement savèrent plus important. Ces variations semblent être en relation avec la richesse de la partie extraite en métabolites secondaires, elle-même variés en fonction des facteurs environnementaux (température, taux d'exposition au soleil, sécheresse, salinité), pratiques culturelles, la maturité à la récolte, les atteints parasitaires, les conditions et la durée de stockage, la période de récolte et la méthode d'extraction appliquée (Falleh et *al.*,2008 ; Wojdulo *et al.*,2009). Comme elle dépend de type du solvant utilisé (Zhao *etal.*,2006).

2. Screening phytochimique

2.1. Résultats

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés contenus dans les épices par les réactions qualitatives caractérisés par la coloration du milieu réactionnel spécifiquement au composé à détecter (fig.14).

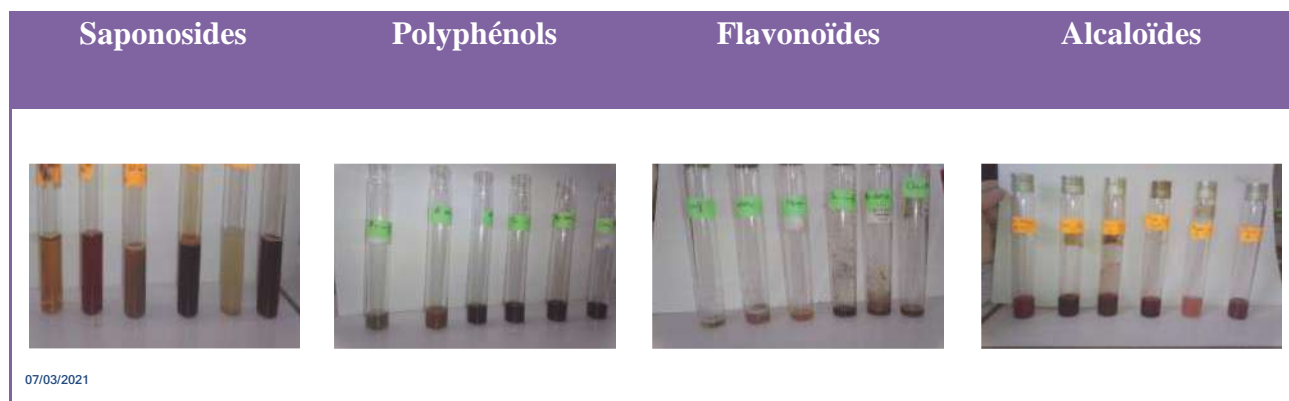


Figure 14 : Résultats du screening phytochimique de quelques épices.

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau **VII** suivant :

Tableau VII : Les résultats de screening phytochimique.

épices Métabolites secondaires	Cannelle	Clou de girofle	Poivre noir	Piment	Cumin	Curcuma	Anis vert	Fenouil
Saponoside	+++	+	++	++	+	++	-	+
Flavonoïdes	+	+	++	-	++	+++	+	+
Poly phénols	+	+	+	-	+	+++	+	+
Tanins	+	+	+	-	-	-	+	-
Alcaloïdes	+	-	+	+	-	+	-	+
Terpénoides	+++	++	+	-	++	+	-	+
Anthocyanes	+	+	-	+	+	+	-	-

(+++): Présence en quantité importante/(++): Présence en quantité moyenne/(+): Présence/ (-) : Absence.

Au vue du tableau VII, il apparait que les épices chaudes sont pourvues de toutes les métabolites étudiés à l'exception des alcaloïdes qui sont absents chez les clous de girofle. Les teneurs en saponines et en terpénoïdes semblent importantes chez la cannelle.

Les épices piquantes montrent des différences remarquables dans leurs teneurs en métabolites, il apparait à partir du tableau que, tous les composés sont présents chez le poivre noir à l'exception des anthocyanes, la présence des saponosides et les flavonoïdes est plus important, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les terpénoïdes sont absents chez le piment.

Concernant le cumin et le curcuma caractérisé par leur amertume, il apparait que ces deux épices renferment des polyphénols, des flavonoïdes des saponosides, des terpénoïdes et des anthocyanes. Les polyphénols sont fortement présents chez le curcuma. Les tanins sont absents, alors que les alcaloïdes ne sont révélés que chez le curcuma.

L'examen du tableau VII laisse constater que les épices douces sont différemment pourvues en métabolites, le fenouil semble le plus riche car, il renferme tous les métabolites à l'exception des tanins et des anthocyanes. Alors que, l'anis vert renferme uniquement les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

2.2. Discussion

Les analyses phytochimiques réalisés sur les extraits des épices est une étape préliminaire d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence ou l'absence des constituants connus par leurs activités biologiques et possédantes des vertus médicinales (Sofowora, 1993).

La richesse de la cannelle en métabolites est décrite également par Toubal *et al.* (2012). Cependant, ces mêmes auteurs ont mentionné l'absence des alcaloïdes et des saponosides dans cette épice. D'autre part, Shiney et Ganesh (2012) et Mazimba *et al.*, (2015) ont révélé l'existence des saponosides et des alcaloïdes chez la cannelle. Les saponines dans les plantes médicinales sont responsables de la plupart des effets biologiques liés à la croissance et à la division des cellules chez les humains et ont un effet inhibiteur sur l'inflammation (Just *et al.*, 1998).

Les résultats de criblage des clous de girofle confirment d'une part et non pas, d'autre part, ceux de Benzeggouta (2015), qui a mentionné la présence des saponosides, des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des terpènes et des stérols mais l'absence des alcaloïdes et des anthocyanes dans le clou de girofle.

Les résultats des travaux antérieurs rapportent que les tests phytochimiques réalisés sur le piment, ont montré la présence des flavonoïdes, des tanins et des coumarines. De même, Baytop(2003) a signalé la présence des tanins et des flavonoïdes dans les feuilles de cette épice. D'ailleurs, le goût piquant et l'odeur fort du piment sont dues à la capsaïcine, alcaloïde lipophile qui ne serait pas liée à la couleur de cette épice. Ce composé a un effet positif sur le mécanisme d'excrétion (Collera-Zuniga *et al.*, 2004 ; Kollmannsberger *et al.*, 2011).

La richesse de Poivre noiren composé phénoliques et alcaloïdes a été rapportée également par Bandyopadhyay(1990) et Ahmad *et al.*,(2015). La sensation piquante lors de la consommation de poivre noir est causé par un alcaloïde appelé la pipérine. Caractérisé par leur pouvoir antimicrobienne, anti-inflammatoire, hépatoprotectrice...etc.

La caractérisation phytochimique de l'extrait méthanolique du curcuma par Nilanjana *et al.*, (2013) et Chairman *et al.*, (2015) assure nos résultats sur les teneurs de cette épice en différentes métabolites recherchés, mais ne confirme pas l'absence des tanins trouvé dans

notre criblage. Le test préliminaire a indiqué l'absence des tanins et des alcaloïdes dans notre extrait de Cumin, ces résultats sont obtenus également par Athamena (2009) et Annou(2017).

Le screening phytochimique de l'anis vert a révélé que cette épice est la moins pourvue en métabolites, ceci n'est pas confirmé par la littérature. Car, Marufee Islam *et al.*, (2016) ont détecté, en plus des composés phénoliques y compris les flavonoïdes et les tanins, la présence des alcaloïdes, des saponines, des terpenoïdes et des stérols. L'absence des tanins et des anthocyanes dans le fenouil ne concorde pas les résultats de Toubal *et al.*, (2012) et de Mallik *et al.*, (2020).

Plusieurs facteurs peuvent influencer les teneurs des épices en métabolites, ce sont les mêmes facteurs qui influent les rendements. De plus les pigments présents dans les extraits rendent difficile la distinction de la couleur caractéristique du test.

3. Teneur des épices en polyphénols totaux

3.1. Résultats

Le dosage des polyphénols est réalisé par la méthode colorimétrique de folin-ciocalteu, dont l'aspect du milieu réactionnel est illustré dans la figure 15.



Figure 15 : Coloration du milieu réactionnel lors de dosage des polyphénols

Les concentrations des extraits en polyphénols totaux sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), Ces concentrations sont calculées *via* l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats sont illustrés dans la figure (16) suivante :

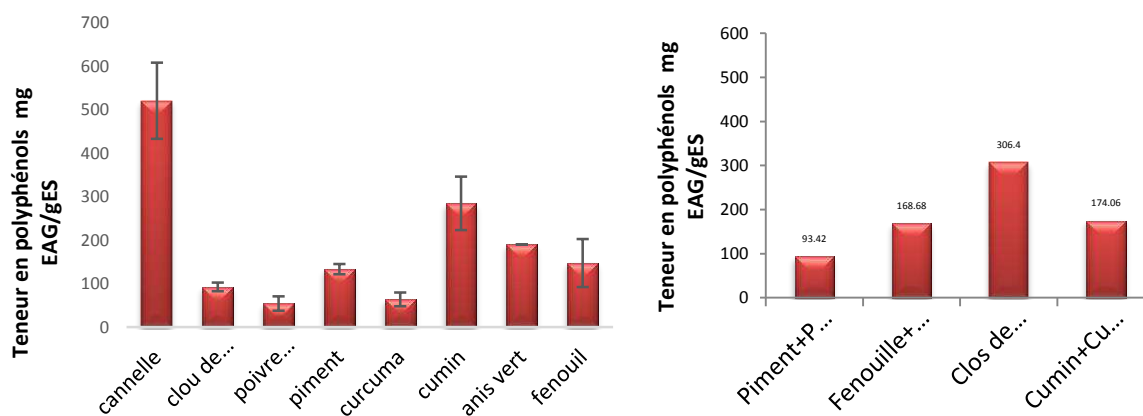


Figure 16 : Teneur des épices en Polyphénols .A: Les épices séparées; B: Les épices en binaire

L'examen de la figure (16) laisse constater que toutes les épices étudiées contiennent des composés phénoliques. La cannelle est de loin l'épice la plus riche en ces métabolites avec une concentration de 520.62 ± 87.63 mg EAG/gES. Le cumin, l'anis vert, le fenouil et le piment ont également des concentrations importantes allant de 284.56 ± 61.64 à 133.06 ± 10.82 mg EAG/gES. Cependant, le curcuma et le poivre noire révèlent les moins pourvues en ces métabolites (fig. 16).

Lorsque on examine les teneurs des binaires d'épices en polyphénols, il apparaît que les épices chaudes sont les plus riches, la concentration est de 306.4 mgEAG/gES. Les épices douces et amères ont des concentrations proches alors que les épices piquantes sont relativement les plus pauvres avec une concentration de 93.42 mgEAG/gES.

3.2.Discussion

Plusieurs études ont été effectuées sur la quantification des métabolites secondaires et surtout les polyphénols y compris les flavonoïdes vue l'importance de ces métabolites dans la recherche biomédicale, biochimiques et autres.

Les concentrations obtenues semblent très important en comparant avec celles de la littérature. En effet, Annou (2017) a trouvé des concentrations de 89.32, 73.32, 60.38, 24.81, 9.37 mgEAG/Ges respectivement avec le curcuma, le poivre noir, la cannelle, l'anis vert et le fenouil. Egalement, Menea (2016) et Ho *et al.* (2008) ont trouvés, pour le cumin, des teneurs évaluées à 105.92 ± 0 mgEAG/gES et 75 ± 1 mg EAG/g ES respectivement ; IlSuk *et al.* (2011) ont signalé que le curcuma est le plus riche en polyphénols, sa concentration est de 67.9

mg/gES, suivie de l'anis vert, la noix de muscade, le gingembre, la cannelle, le cumin, le carvi, le fenouil, la coriandre et le poivre noire.

En plus des facteurs intrinsèques liées à l'épice elle-même, On pense que, le changement des conditions de travail influe considérablement les teneurs en polyphénols. Ces différences peuvent être dues aussi à la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu qui est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines...etc. (Perez-Jimenez & Saura-Calixto, 2006). Les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques, ce qui confère aux épices qui les renfermant des intérêts exploités dans de nombreux domaines. Ces composés agissent comme des antioxydants, antimicrobiens, anti tumoraux, anti-radicalaires, anti-inflammatoires, analgésiques, antiallergiques, antispasmodiques, hépatoprotectrices,estrogéniques...etc. (Diebolt, 2003).

4. Teneur en Flavonoïdes

4.1.Résultats

Le réactif de trichlorure d'aluminium est utilisé pour quantifier les flavonoïdes en donnant avec ceux-ci une coloration jaune (fig. 17).

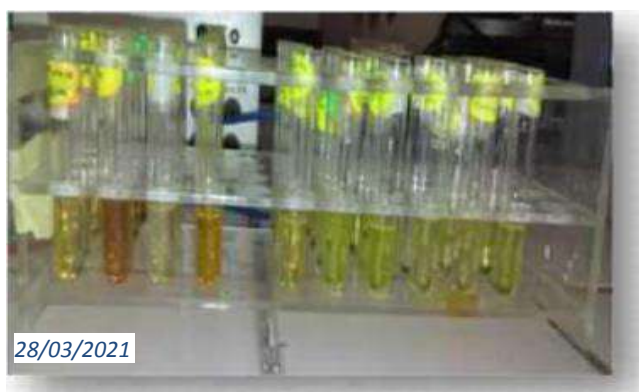


Figure 17 : Coloration du milieu réactionnel lors de dosage des flavonoïdes

Après le mesure des densités optiques, les concentrations, exprimées en mg équivalent rutine par gramme d'extrait sec, sont calculées suivant la formule donnée par la courbe de régression linéaire tracée avec le standard rutine. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure (18).

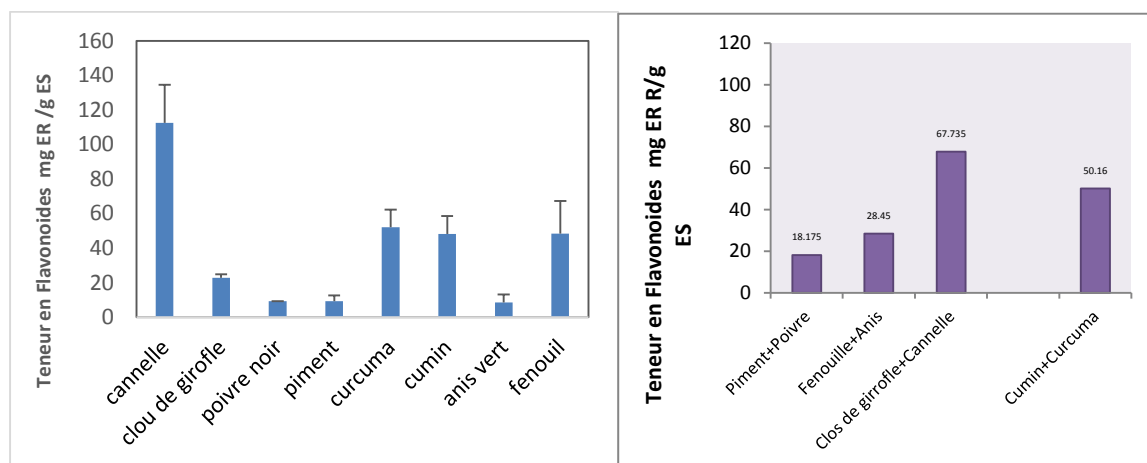


Figure 18 : Teneurs des épices en flavonoïdes. A: épices séparées ;B: épices en binaire.

L'exécution de la figure 18, laisse constater que toutes les épices étudiées contiennent des flavonoïdes avec des teneurs variant de 112 ± 22.02 à 8.51 ± 4.67 mg ER/g ES, la valeur maximale est obtenue avec la cannelle et la plus faible avec l'anis vert (fig.18A). Les épices curcuma, cumin et fenouil renferment relativement des teneurs importantes en flavonoïdes. Concernant les binaires d'épices, il apparait que la valeur la plus importante est celle des épices chaudes suivie de celles des épices amères, douces et piquant, dont les valeurs sont de 67.73, 50.16, 28.45, 18.17 mg ER/g ES.

4.2. Discussion

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques naturels communs à la plupart des aliments d'origine végétale.

Des différences appréciables dans les concentrations de nos épices en flavonoïdes et celles de la littérature. En effet, la teneur de la cannelle en flavonoïdes apparait nettement supérieure à celle trouvée par Annou (2017) ayant signalé une concentration de 13.76 ± 1.16 mg EQ/g ES. Kim *et al.* (2012) ont dosé le contenu de 13 épices en flavonoïdes. Ils ont constaté par leur étude la richesse de curcuma en ces métabolites en comparant avec les autres épices. Les résultats de Ho *et al.* (2008) ont trouvé que l'extrait méthanolique du cumin est nettement le plus riche en flavonoïdes. Une autre étude réalisée par Hinneburg *et al.* (2006), et qui corrobore encore celle de Djouder (2017), sur l'anis vert et le fenouil à montrer des teneurs de 806 et 48,39 mg ER/g de poudre respectivement, et qui semblent nettement plus importantes à nos concentrations. Cependant, la teneur de clou de girofle trouve leur concordance avec celle

de Beamed (2014) signalant une concentration de 25.611 mg ER /g d'extrait méthanolique sec.

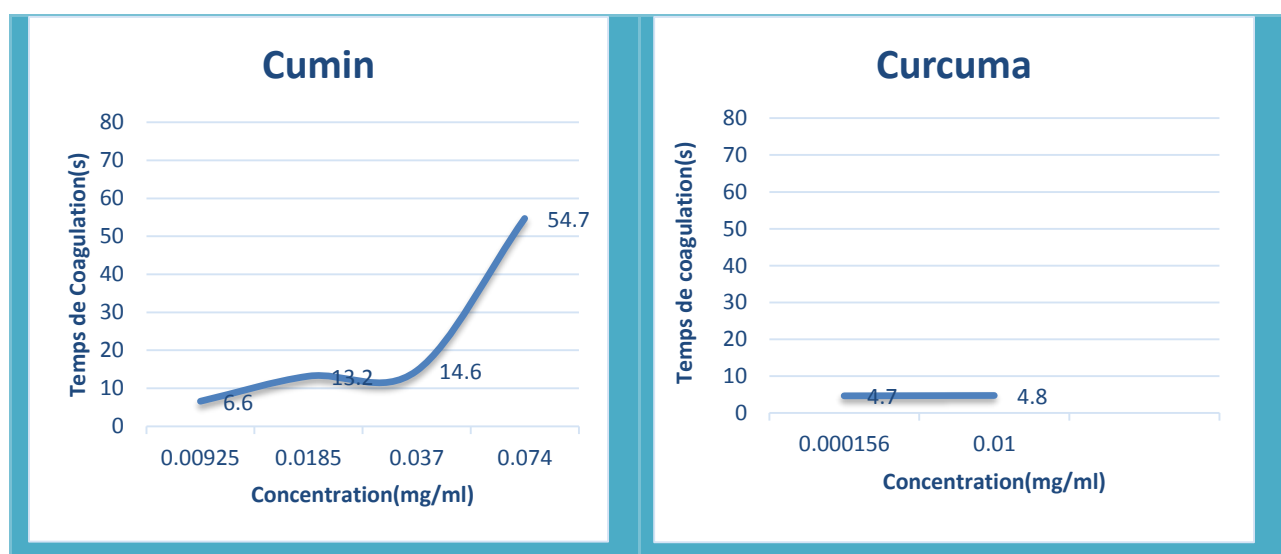
D'après notre étude, on peut constater que le gout et l'odeur proche entre deux épices ou plus n'a pas de relation avec leurs teneurs en flavonoïdes. Ceci est remarqué pour les épices chaudes et douces qui ont des teneurs, au sein de chaque binaire, très distinctes en flavonoïdes. Ceci laisse constater qu'il est difficile d'établir un lien entre la nature du gout et la quantité des composés phénoliques. Sachant que, d'autres métabolites pourrait être également à l'origine du l'odeur et du gout comme les alcaloïdes, le cas de la pipérine chez le poivre noir et la capsaïcine chez le piment. Les huiles essentielles, sont également caractérisées par leur pouvoir organoleptique.

5. Activité biologiques des épices étudiées

5.1. Activité anticoagulante

5.1.1. Résultats

Dans notre étude, l'activité anticoagulante est évaluée par la voie exogène seulement. Qui consiste à la détermination de temps de prothrombine TP d'une série de concentration pour chaque épice. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure (19).



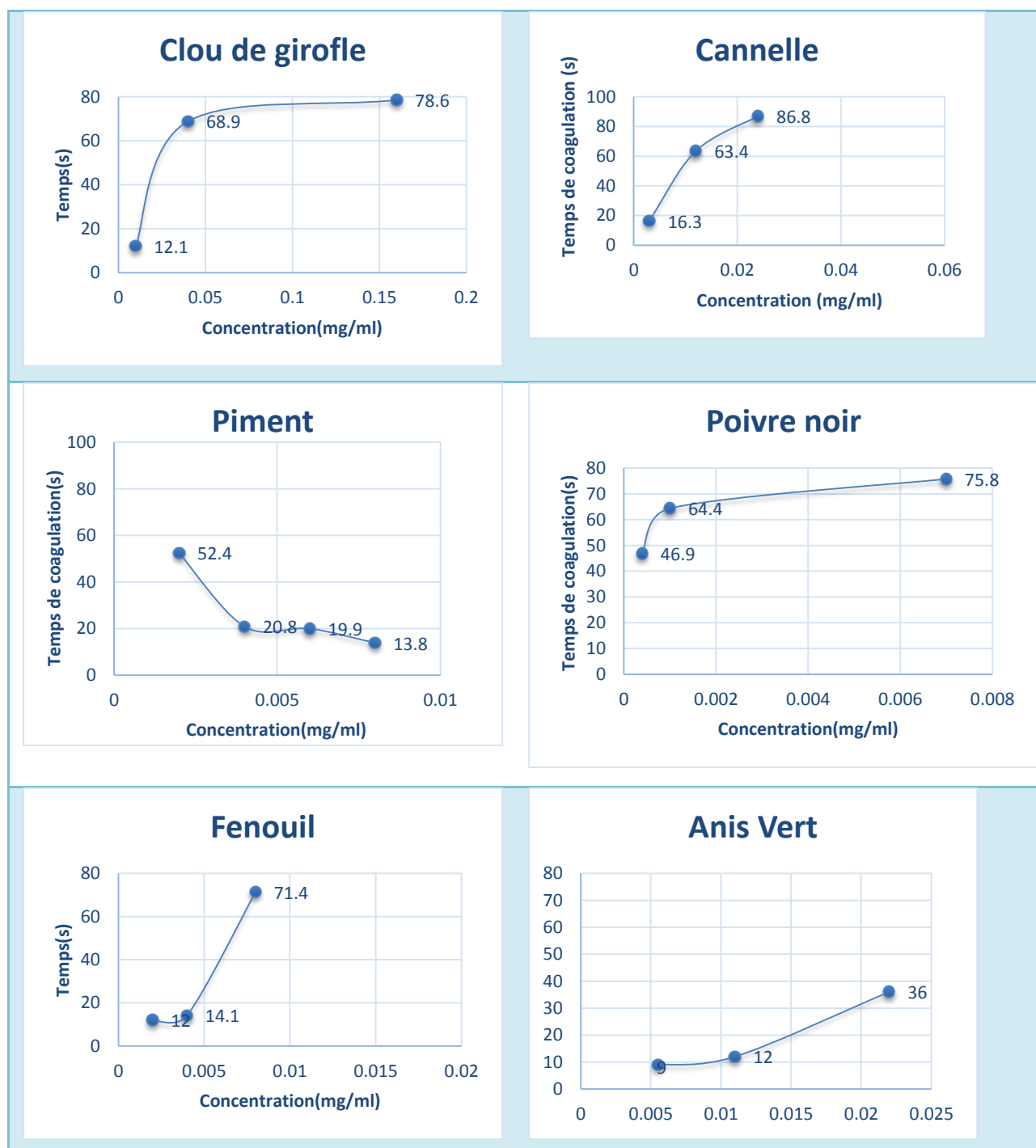


Figure 19 : Temps de prothrombine (TP) en fonction des concentrations de différent extrait épice.

Le TP du plasma normal (control négatif) est compris entre 12 et 14 secondes. Donc n'importe quel allongement dans le temps de la coagulation par rapport au contrôle négatif montre que le matériel testé a un effet anticoagulant vis-à-vis la voie exogène de la coagulation

L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits brutes de différents épices laisse ressortir que le poivre noir à un pouvoir anticoagulant nettement important que les autres épices, suivi de la cannelle et de fenouil, ces trois épices marquent des temps de prothrombine de 75.8s à la concentration 0.007 mg/ml, 86.8s à la concentration 0.012 mg/ml et 71.4s à la concentration 0.008mg/ml respectivement. En deuxième situation se trouve le clou de girofle qui a étendu la coagulation jusqu'à 78.6s à la concentration 0.16mg/ml. Les graphes tracés avec le cumin, l'anis vert et le piment indiquent qu'elles présentent des pouvoir proches, avec lesquelles les le temps de prothrombine sont évalués à 54.7s à la concentration 0.074, 36s à la concentration 0.044 mg/ml et 52.4s à la concentration 0.166 mg/ml respectivement. En revanche le curcuma a donné un effet inverse, il apparait que cette épice a un effet coagulant car il a raccourci le temps de prothrombine à 4.7s à la concentration 0.000156mg/ml. Avec des concentrations plus élevé en extrait de curcuma, le coagulomètre à donner le signal « out ». Ce signal est apparu également avec les extraits de curcuma, poivre noir, fenouil, anis vert, cannelle et clou de girofle.

5.1.2. Discussion

Les différents extraits paraient d'un effet anticoagulant par la voie exogène à l'exception de curcuma. Etant donné que le temps normal de TP se situe entre 12 et 14 s (Caquet, 2004). Par ailleurs, l'héparine utilisé usuellement comme témoin positif, et comme indique la littérature, est sans effet anticoagulant sur la voie exogène. Leur temps de prothrombine est de 13,5s à la concentration 0.01- 0.2 mg/ml (Tomaru *et al.*, 2005 ; Rouba, 2012) et de 12s à la concentration 0.01mg/ml (Ziani, 2018). En effet, l'activité anticoagulante de l'héparine résulte de l'inactivation des enzymes de la coagulation de la voie endogène en formant un complexe avec l'antithrombine III.

Nos résultats concordent ceux de Ahamadi *et al.*, (2019), qui ont trouvé par l'utilisation de l'HPLC, que l'extrait méthanolique de cannelle est riche en flavonols(quercétine) et en acide gallique. Comme il renferme des concentrations faibles en coumarines, eugénol et l'hespérétine. Les résultats ont révélé que les composants majeurs sont responsables de l'activité anticoagulante en inhibant les polymères de fibrine ainsi la formation d'un caillot.

Le fenouil, également, a prouvé un grand pouvoir anticoagulant. Ceci pourrait être due aux composés terpéniques, susceptibles d'être extraits comme montre l'étude de Tognolini *et*

al.(2007), qui ont trouvés que le composant principal de l'huile essentielle de fenouil : l'anéthol, exerce une inhibition comparable de l'agrégation plaquettaire et de la rétraction du caillot vers le phytocomplexe. Leur pouvoir inhibiteur contre l'acide arachidonique et l'agrégation induite par le collagène était comparable à l'AAS (Acide acétylsalicylique(Aspirin). Cependant, leur mécanisme d'action n'est pas simplement attribuable à l'inhibition de cascade d'arachidonate, car, ils ont présenté un spectre antiplaquettaire plus large que l'AAS, empêchant également l'agrégation stimulée par l'ADP et l'agoniste du thromboxane (A2). L'évaluation des hémorragies, qui est un outil pour estimer l'effet prohémostatique des traitements pharmacologiques affectant l'hémostase primaire, a montré que l'huile essentielle de fenouil ou le traitement à l'anéthole, au contraire de l'AAS, n'affectait pas la perte de sang (Gresele *et al.*, 1990).

Notre étude a révélé une extrême activité anti coagulante par la voie exogène de poivre noir. En revanche Zayed *et al.* (2020) ont constaté que la pipérine (composé bioactif du poivre noir) pourrait être un puissant inhibiteur du métabolisme du cytochrome P450 et de l'anticoagulant :warfarine (composés de la classe des coumarines) *in vivo*. L'ingestion de pipérine avec la warfarine pourrait même réduire la concentration plasmatique de ce dernier. Cette interaction pourrait avoir une signification clinique et devrait être étudiée chez les patients.

Le piment, comme montre nos résultats, possède une importante capacité anticoagulante. D'ailleurs Parvez (2017) a trouvé que l'utilisation de capsaïcine(responsable du gout piquant du piment) à des doses thérapeutiques (2,5-10,0 mg/kg) peut réduire la thrombo-embolie sans aucune modification, cliniquement significative, des plaquettes. La capsaïcine inhibe l'agrégation plaquettaire et l'activité des facteurs de coagulation VIII et IX, une propriété qui réduit l'incidence des maladies cardiovasculaires. Il a été suggéré que la capsaïcine était capable de passer à travers la membrane plasmique des plaquettes et d'altérer la fluidité de la membrane (Mozsik *et al.*,1999).

L'épice anis vert a également étendu le temps de prothrombine. Ces résultats sont soutenus par ceux de Heck *et al.*,(2000) signalant l'effet coopératif d'un composé coumarinique extrait de l'anis vert avec le Coumadin (warfarine)sur la coagulation.

Le temps de prothrombine paraît allonger d'une manière important aussi par le clou de girofle. Cette constatation confirme celle signalé par Chegu *et al.*,(2018) ayant trouvés que les polysaccharides isolés du clou de girofle peuvent avoir des effets antithrombiques *in vitro*. Par

conséquent, l'utilisation avec d'autres anticoagulants ou antiagrégants plaquettaires peut entraîner des effets additifs et un risque accru de saignement. Car, le clou de girofle participe à l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (augmentation de l'INR : International Normalized Ratio) et de rapport de coagulation intravasculaire disséminée CIVD). Cependant, Srivastava *et al.*, (1987) avaient rajouté que l'huile de girofle contient un produit chimique appelé eugénol qui semble ralentir la coagulation sanguine.

A l'inverse des résultats obtenus avec les différentes épices, l'extrait brut du curcuma a exercé un effet coagulant traduit par le raccourcissement de temps de coagulation avec des concentrations faibles. Ce résultat n'est pas soutenu par Kim *et al.*, (2012), qui ont trouvé que le curcuma empêche l'agrégation plaquettaire et la formation des caillots, ce qui aide et stimule la circulation, et signalent également que la curcumine (par leur groupe méthoxy) prolonge significativement le PTT (temps de céphaline activé) et le TP et inhibe les activités de thrombine et de facteur FXa. Nos résultats restent donc à confirmer par d'autres répétitions.

On suggère que, la consommation parcimonie et régulière des épices dotées d'activité anticoagulante par les personnes sains ou présent le risque de développés des thrombose (maladies thromboemboliques), participe à la réduction ou à l'évitement de ces complications. Et le risque d'avoir des hémorragies, par la consommation de ces épices est écarté pour les sujets sains.

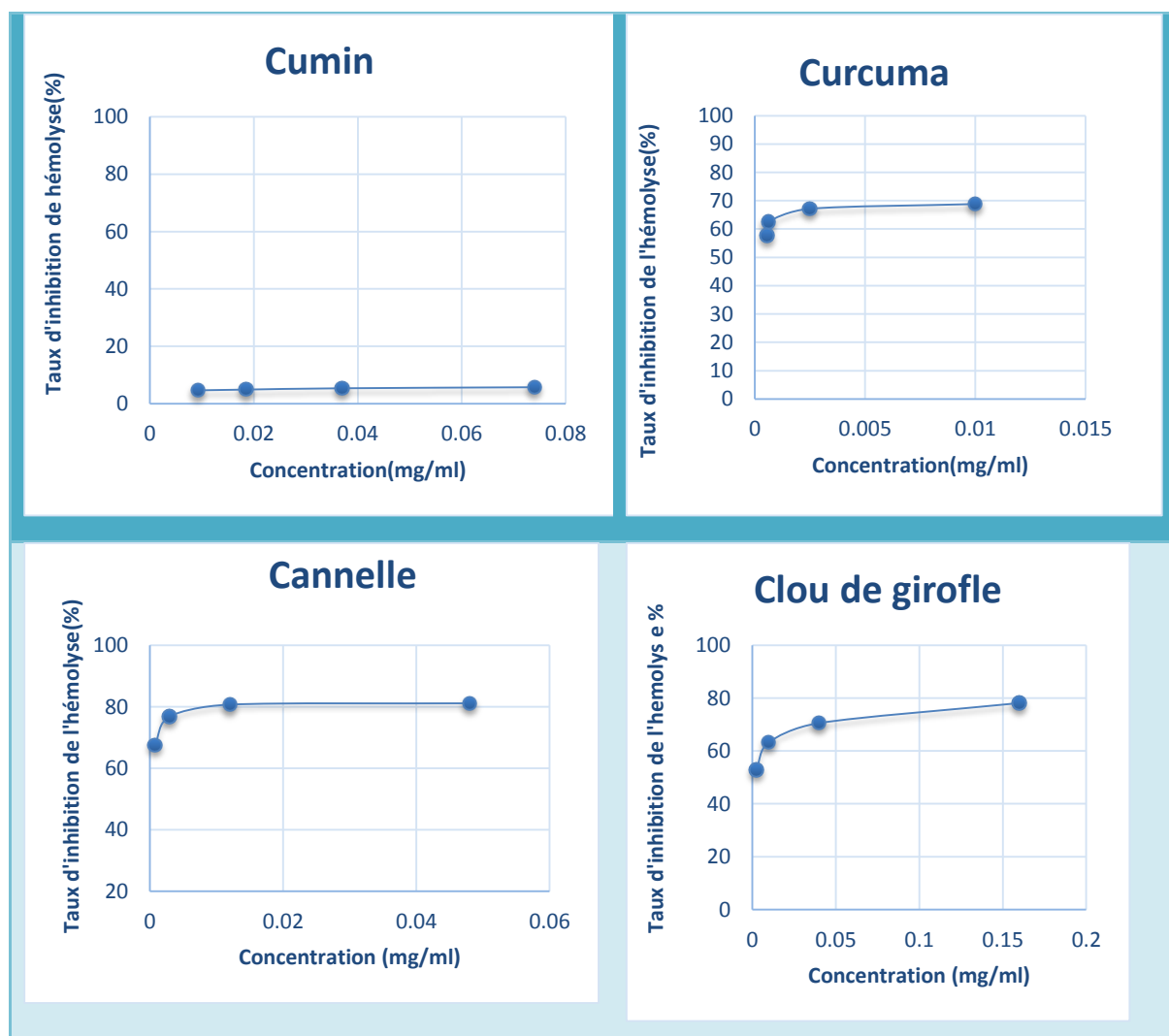
Comme on suggère que ces épices sont déconseillées pour les sujets qui présentent des troubles traduites par une male coagulation de sang (maladies de Willebrand, hémophilie, carence en vitamine K, coagulation intravasculaire disséminée...etc.).

D'après notre étude, il est apparu que l'activité anticoagulante ne dépend pas de la saveur ou de type d'épice. Bien que le fenouil est une épice douce, il possède une activité anticoagulante nettement forte que le piment (épice piquante) et le clou de girofle (épice chaude).

5.2 Activité anti hémolytique

5.2.1. Résultats

L'activité anti hémolytique des épices est évaluée en testant l'effet protecteur de différents extraits contre l'hémolyse produite par le détergeant triton X-100. Plus un extrait possède l'activité anti hémolytique, plus la libération de l'hémoglobine sera faible et plus la densité optique se diminuera. Mais l'activité anti hémolytique est exprimée en pourcentage qui est proportionnel à elle. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure(20).



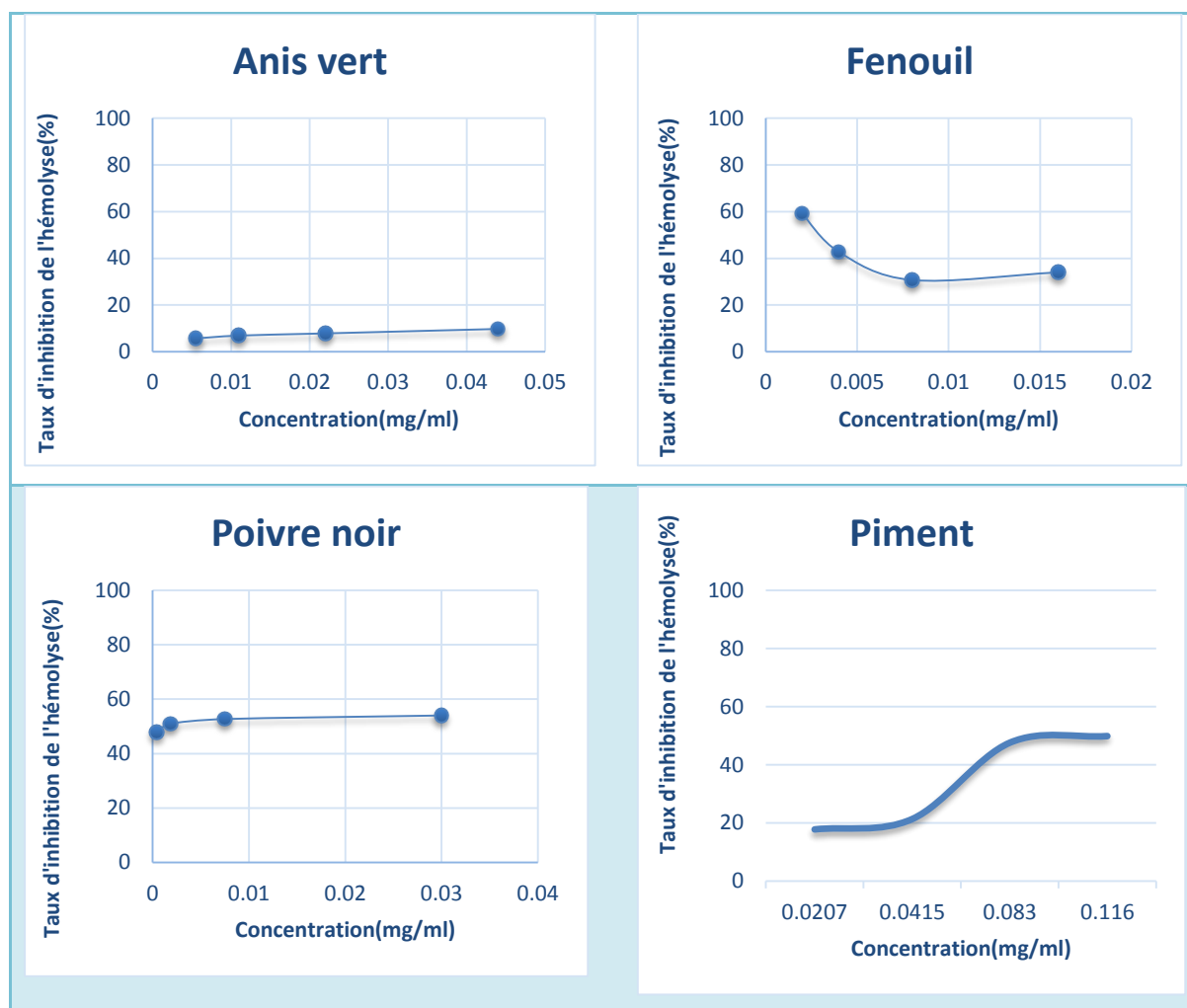


Figure 20: Taux d'inhibition de l'hémolyse (activité anti hémolytique) de différents extraits.

L'examen des graphes illustrés dans la figure (20), laisse constater que les différents extraits d'épices exhibent des pouvoirs anti hémolytiques distincts. En trouve en premier lieu le clou de girofle, suivie de la cannelle, le curcuma et le poivre noire, qu'ayant marqué des taux d'inhibition d'hémolyse importants évalués de 78.2 % à la concentration 0.04mg/ml, 81.18% à la concentration 0.16 mg/ml, 68.82% à la concentration 0.01 mg/ml et 54.03% à la concentration 0.03 mg/ml respectivement pour la cannelle, le clou de girofle, le curcuma et le poivre noir. Quant au piment, lui aussi a exercé un effet anti hémolytique important évalué de 47.59 % à la concentration 0.11 mg/ml (fig.20).En dernier rangé se situent l'anis vert suivie du cumin qui n'ont montré relativement que des faibles taux d'inhibition de l'hémolyse, 9.76 % à la concentration 0.07 mg/ml pour le cumin et 5.75 % à la concentration 0.04 mg/ml pour l'anis vert. En revanche le fenouil a donné une allure graphique différente(fig.19), il apparait

que cette épice exerce leur pouvoir anti hémolytique à des faibles concentrations puis plus la concentration s'augmente plus l'activité sera diminuée(fig.20).

5.2.2. Discussion

Cette partie d'étude est consacrée à mettre en évidence l'effet protecteur des épices envers l'hémolyse produite par le triton X-100. Ce dernier a la capacité de perturber la membrane des globules rouges et des cellules en général. C'est un détergent de synthèse non ionique qui est constituée d'une partie polaire hydrophile et d'une queue hydrophobe. Les molécules du triton X-100 rentrent en interaction avec les parties hydrophobes des lipides de la membrane érythrocytaire jusqu'à saturation, ce qui provoque l'extraction des lipides et puis la perturbation de l'organisation de la membrane. A des concentrations très élevées, les globules rouges seront totalement solubilisés sous forme de micelles ou de liposomes(Muthu et durais,2015).

Selon les résultats obtenus, le clou de girofle a montré un important effet protecteur contre l'hémolyse des hématies. En effet, Hussein (2019) a trouvé que les extraits de clou de girofle ont une activité anti hémolytique élevée, cette dernière est significativement corrélée avec le contenu en polyphénols y compris les flavonoïdes. Interprétant ainsi cette effet par l'interférence des flavonoïdes avec les lipides et les protéines membranaires des érythrocytes vis-à-vis la peroxydation lipidique.

L'extrait de la cannelle a prouvé également leur effet anti hémolytique, ceci confirme les résultats de Dorri *et al.* (2018) ayant attribué cette activité à la richesse de la cannelle en métabolites et également leur richesse en manganèse et en fer.

Le curcuma, surnommé « ami de la santé », comme montre nos résultats, a protégé fortement et à des faibles doses, les globules rouges. Ces résultats trouvent leur confirmation par la littérature. L'étude de Thephinlap *et al.* (2013) a mentionné ce pouvoir du curcuma et leur relation étroite avec le contenu de cette épice en métabolites secondaires. Par ailleurs, la curcumine, la déméthylcurcumine, et la tétrahydroxycurcumine caractéristiques de curcuma, présentaient des activités anti-hémolytiques avec la dominance significative ($P < 0,05$) de l'effet de déméthylcurcumine, et la tétrahydroxycurcumine sur celui de curcumine. Gill Randeep *et al.*,(2011)

Le poivre noir est également trouvé parmi les épices à haut effet protecteur des érythrocytes. Cette constatation a été signalée par Chaudhuri *et al.*, (2007) ayant étudiée l'effet anti hémolytique du poivre contre l'oxydation induite par le H_2O_2 en suggérant que

l'inhibition de l'hémolyse est le résultat de l'interaction compétitive des protéines pourrait être contenues dans l'extrait avec les protéines et les lipides membranaires qui sont la cible d'oxydation.

L'extrait du piment semble à pouvoir anti hémolytique moins important que les épices présidentes. Les études réalisées sur cette épice ont montré que leur composant : la capsaïcine, n'est pas ni toxique, ni mutagène mais une irritation douloureuse de la membrane des muqueuses avec une hémorragie du fond gastrique été détecté chez certains des animaux testés (Saito et Yamamoto, 2020).

Malgré que le cumin n'a pas protégé la membrane des hématies que faiblement selon nos résultats, cette épice est considérée non toxique selon l'étude de Al-snafi (2016)

indiquant que les grains de cumin ne sont pas toxiques pour les rats. Alors que l'administration orale de leur huile essentielle pendant 30 jours chez des rats, à provoquer la diminution à 17,38% du nombre de globules blancs et augmentation à 25,77%, 14,24% et 108,81% de la concentration d'hémoglobine, d'hématocrite et la numération plaquettaire respectivement.

L'effet anti hémolytique de fenouil est exercé inversement avec les concentrations. Cette constatation reste encore à confirmer. Des études *in vivo* ont montré que l'huile essentielle de fenouil contient plusieurs métabolites secondaires bioréactifs, tels que les aldéhydes qui affecte apparemment la stabilité des biomembranes et interagit avec des cibles moléculaires, telles que les protéines et l'ADN, ce qui entraîne une faible cytotoxicité.

D'après nos résultats, on peut ressortir majoritairement que les épices étudiées ont la capacité de protéger les hématies contre l'oxydation induite par des agressant tels que les détergents. Et que ce pouvoir ne dépend pas de la saveur typique des épices. Le cas du curcuma et du cumin, deux épices amères, le premier s'est avéré fortement anti hémolytique mais ce n'est pas le cas pour le deuxième.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

L'objectif globale de notre travail est l'étude comparative, selon la différence de la saveur, du contenu de quelques épices en métabolites secondaires et leurs activités anti hémolytique et anticoagulante.

Huit épices ont été sélectionnées : l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) et le fenouil (*Foeniculum officinale Mill.*) caractérisés par une saveur douce et aromatique, la cannelle (*Cinnamomum cassia L.*) et le clou de girole (*Syzygium aromaticum*) sont des épices chaudes, le cumin (*Cuminum cyminum L.*) et le curcuma (*Curcuma longa L.*) connus par leur amertume et deux épices piquante, il s'agit de poivre noire (*Piper nigrum L.*) et de piment (*Capsicum annuum*).

Le meilleur rendement d'extraction, effectué par macération, s'est révélé chez la cannelle alors que le curcuma a enregistré le taux le plus faible.

Le criblage phytochimique des extraits bruts révèle la présence des polyphénols dans toutes les épices à l'exception du piment, le curcuma en est en abondance. Les saponosides sont fortement présent dans la cannelle, le poivre, le curcuma et le piment mais l'anis vert en est dépourvu. Les flavonoïdes sont absents dans le piment. Alors que les anthocyanes ne sont identifiés que dans le cumin, le curcuma, la cannelle et le clou de girofle. Les terpénoïdes sont présents dans toutes les épices à l'exception de piment et de l'anis vert, sont en abondance dans la cannelle, le clou de girofle et le cumin. Ce screening n'a pas révélé une étroite ressemblance en métabolites selon la saveur des épices.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes montre la richesse de la cannelle en ces métabolites. Les épices les moins dotées en ces métabolites étant le curcuma et le poivre noir en polyphénols, l'anis vert, le poivre et le piment en flavonoïdes. Au sein de chaque binaire d'épices, on a constaté des teneurs très distinctes entre les épices chaudes et les épices amères en polyphénols. Et entre les épices chaudes et les épices douces en flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité anti coagulante par la détermination de taux de prothrombine (TP) qui concerne la voie exogène, montre que le poivre noir, la cannelle et le fenouil ont fortement allongé le temps de la coagulation du sang. Cependant, l'inverse est

constaté pour l'extrait du curcuma. Ce test a révélé des effets similaires entre les épices constitutives des binaires d'épices chaudes, douces et piquante.

Le pouvoir protecteur des hématies contre l'oxydation induite par le triton X-100 est trouvé fort pour le curcuma, le clou de girofle et la cannelle et faible chez le cumin et l'anis vert. Comme on a remarqué que ce pouvoir ne dépend pas forcément de la saveur typique des épices. Ceci est très claire entre le curcuma et le cumin, deux épices amères, le premier s'est avéré fortement anti hémolytique mais ce n'est pas le cas pour le deuxième.

Perspective

Cette étude constitue une contribution à l'étude des épices selon leur type déterminé essentiellement suivant la différence de la saveur, qui nécessite encore d'approfondir et de confirmer les résultats obtenus. Et ceci par

La séparation et la caractérisation des différentes substances présentes dans les extraits bruts.

Evaluation des activités anti hémolytique et anticoagulante des composés séparés

Evaluation de l'activité hémolytique afin de mettre en exergue leur relation l'activité anti hémolytique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Ajebli M., Zair T., Eddouks M. Étude ethnobotanique, phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des fruits de *Pimpinella anisum* de diverses zones de culture au Maroc Ethnobotanical Survey, Phytochemical Study, and Study of the Antibacterial Activity of *Pimpinella anisum* Fruits from Different Cultural Areas in Morocco ,2017.

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

AKBAR A., IMRAN A., SAMIULLAH ., NAQEEB U., AHMAD KHAN S., ZIAUR R., SEED UR R., Functional, antioxidant, antimicrobial potential and food safety applications of *curcuma longa* and *cuminum cyminum* ,pak. *J. Bot.*, 51(3): 1129-1135, 2019.

ALIX L-D., 2012., Les épices c'est malin, cannelle, clou de girofle, poivre... Leurs bienfaits et toutes leurs utilisations méconnues pour la santé, la beauté et la maison. Ed LEDUC. Paris. P9-37.

Amina B., Nadia A.,(2016) Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. (2016), 43: 304-305.

ASMA, SAADI., "Etude microbiologique de quelques épices commercialisées à Guelma." (2020). .Mémoire De Fin De Cycle. Université 8 MAI 1945 GUELMA.

ATHAMENA S., (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation De L'activité Biologique .Mémoire De Fin De Cycle. Université El-Hadj Lakhdar-Batna.

Athukorala Y., Lee K., Kim S., Jeon YJ. Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology* 2007; 98:1711–1716.

Barocelli E., (2007). Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis.

Barbelet S. Le giroflier: historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Diss. Université de Lorraine, 2015

Bekara A., Ait Hamadouche N., Khaled K., Sadi N., Aoues A. Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. 2016.

Benzeggouta N., (2015). Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Mentouri- Constantine. P-46, 49

Bimal D. Study of secondary metabolite constituents and curcumin contents of six different species of genus *Curcuma* .*Journal of Medicinal Plants Studies* 2015; 3(5): 116-119 *Biomaterials*. 30 (1):1857-1869.

- Boisseau M., (1996).** Données actuelles sur l'Hémostase. *Phlébologie*. 42(2): 175-186.
- Boukhatem F., (2016).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux épices : *Syzygium Aromaticum* et *Illicium Verum*. Mémoire De Fin De Cycle. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- BOUKRI N., (2014).** Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. ». Thèse de doctorat, Université KASDI MERBAH Ouargla.
- Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales. Ed LAVOISIER. Paris. P307.
- Brzozowska J., Hanower P., (1976).** Recherches sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annales de l'université d'Abijan, série C (Science)*, tome XII: 65 – 80
- Caen J., Lrrieu MJ, Samama M.** L'hémostase : méthodes d'exploration et diagnostic pratique (2ème Ed), Expansion Scientifique Française (Paris) 1975; pp : 15-20.
- Caen J., Lrrieu M., Samama M., (1975).** L'Hémostase: Méthodes d'exploration et diagnostic pratique. 1ère Edition Toray. Expansion Scientifique Française (Paris). p.15-20.
- Caquet R.** 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation (9ème Ed), Masson (Paris) 2004; pp:388-389.
- Carole G., 2011.** Mes petites recettes magiques au super épices, cannelle, curcuma, muscade. Anticancer, protection cardiaque, mineur...Ed LEDUC. Paris. P17,18.
- Cervantes-Hernández F., Alcalá-González P., Octavio M., José Ordaz-Ortiz J.** Placenta, Pericarp, and Seeds of Tabasco Chili Pepper Fruits Show a Contrasting Diversity of Bioactive Metabolites 2019.
- Chairman K., Jayamala M., Vijila Christy R., Ranjit Singh Aja.** Compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105 : 940–949.
- Chaouche T., Haddouchi F., Ksouri R.,(2013)** . In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Phytotherapy* 11:244–9
- DEBBACHE K., GUENNICH A.,(2018)** . Evaluation de l'activité antioxydante et anticoagulante des polyphénols du *Curcuma longa* L. Mémoire de fin de cycle. Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila.
- Detry., Pauline.** "Etude biochimique des fractions lipidiques de graines de la famille des apiacées obtenues par différentes méthodes d'extraction." (2017).
- Djiwonou., Appl J., Biosci.** Étude phytochimique et évaluation du potentiel antioxydant de deux cultivars de *Piper nigrum* L. cultivés en Côte d'Ivoire.(2019) *Journal of Applied Biosciences* 144: 14747 – 14754

DJOUDE T., BABOURI A.,(2017). Enrichissement d'une margarine de table Cevital Spa avec des extraits de graines d'épices (anis vert, fenouil et sésame). Mémoire De Fin De Cycle. Université A. MIRA – Bejaia.

Droniou-C., 2012. Les épices .les symposiarques. pp 1-6.

Ekoumou C.,(2003).Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite.Thèse de Doctorat. Université de Bamako,Mali. p. 36.

Etame L., Appl J., Biosci. Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin de palme des rhizomes de *Curcuma longa* Linn.(2018),132: 13452 – 13460.

Fitrilia T., Bintang M., Safithri M. Phytochemical screening and antioxidant activity of clove mistle to eleaf extracts (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) , Vol 5, Issue 8 (2015), PP. 13-18

ANNOU G. Thèse doctorat « activités biologiques des épices constitutives d'un mélange ras el hanout » utilise par les habitants de Ouargla »,2017/2018.

GHILANI H., RAMDANE S., (2016). Impact du traitement thermique sur le contenu de quelques épices en métabolites secondaires. .Mémoire de fin de cycle. Université KASDI MERBAH Ouargla.

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

Gresele P., Corona C., Alberti P., Nenci G. Picotamide protects mice from death in a pulmonary embolism model by a mechanism independent from thromboxane suppression. *Thromb Haemost* 1990;64:80–6.

Harborne JB., 1998. Phytochemical methods.A guide to modern techniques of plants analysis.Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). 203-214.

Harif M.,(2007). Hémostase de la physiologie à la pathologie.1 ère Edition *Casablanca*, Maroc. p.229.

Heck A., DeWitt B., Lukes A. Potential interactions between alternative therapies and warfarin. *Am J Health Syst Pharm*. 2000 Jul 1; 57(13):1221-7.

Hinneburg I., Damien Dormann H.J., Hiltunen, R., 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry* 97, 122-129.

Hussein., Nehia N., Quot. Antihaemolytic and antimicrobial activity of three types of local plants. *Biochem. Cell. Arch* 18 (2019): 1721-1726.

Kedia A., Akash. "Antifungal and antiaflatoxic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities." *International journal of food microbiology* 168 (2014): 1-7.

KOUASSI K. Evaluation de la connaissance et utilisation des variétés de piment (*Capsicum*) cultivées en Côte d'Ivoire. . 6(1): 175-185, February 2012.

Kouassi Kouassi C., YésséNanga Z., Joseph Lathro S., Akaab S., Koffi-Nevry R. Bioactive compounds and some vitamins from varieties of pepper (capsicum) grown in côte d'ivoire , Pure Appl. Bio., 1(2): 40-47, Sept- 2012.

Kumar U., Kumar B., Bhandari A., Kumar Y., Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom, 2010; vol. 1 (12): 138-147.

Mallik S., Sharangi A., Sarkar T. 2020. Phytochemicals of Coriander, Cumin, Fenugreek, Fennel and Black Cumin: A Preliminary Study. *National Academy Science Letters*, **43** :477-480.

Manallah A., 2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive OleaeuropaeaL.thèse doctorat.Université Ferhat Abbas – sétif p17.

Merghache D., Boucherit-Atmani Z., Boucherit K. Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*) , Aromathérapie expérimentale, 2012

Mohamad., Ragaa H. "The role of *Curcuma longa* against doxorubicin (adriamycin)-induced toxicity in rats." *Journal of medicinal food* 12.2 (2009): 394-402

Mohsen S., Ammar M., (2009) .Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.*112: 595-598.

Navellier P., Jolivet H., 1965. Epices, aromates, herbes et condiments. Modificateurs des caractères organoleptiques des denrées. *Annale de la nutrition et de l'alimentation*, 19 (5), 449-480.

Nilanjana D., Purba M., AjoyKumar Gh., (2013). Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of the Rhizomes of *curcuma longa* Linn.

Oulbesir H., Baba Aissa A., Badaoui S., Bouyahiaoui H., Ait Slimane- Ait Kaki S., Mohammedi A. Comparative study of the toxicity of phenolic compounds of coriander (*Coriandrum sativum*) and false fennel (*Aneth graveolens*) on *Galleriamellonella* (Lepidoptera, Pyralidae), 2018 ,3:1-7.

Opara E. I., Chohan M., 2014. Culinary Herbs and Spices: Their Bioactive Properties, the Contribution of Polyphenols and the Challenges in Deducing Their True Health Benefits.*Int. J. Mol. Sci.* 15(10), 19183-19202.

Pasquier M., Dami F., Yersin, B., (2013). Fruits et légumes peuvent-ils être dangereux. *Rev. Med. Suisse*, 1483-7.*Products.*63(12):1035-1042.

Raghavan S., 2007. Handbook of spices, seasonings, and flavorings. 2nd Ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.

Ramya B., Ganesh P. Phytochemical Analysis and Comparative Effect of *Cinnamomum zeylanicum*, *Piper nigrum* and *Pimpinella anisum* with Selected Antibiotics and Its Antibacterial Activity against *Enterobacteriaceae* Family. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 2012; 3(4):914- 917.

RanajitKumar S., Shafiqur R., Afandi A. Bioactive compounds in chilli peppers (*Capsicum annum L.*) at various ripening (green, yellow and red) stages, *Annals of Biological Research*, 2013, 4 (8):27-34.

Redhead., 1990. Utilisation des aliments tropicaux : sucres, épices et stimulants, organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. P21.

REGINE H. Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drepanocytose : crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge. these de doctorat, université des antilles et de la guyane. 185p.

RICHARD H., 1987. épices et herbes aromatiques. E.N.S.I.A.-1. avenue des olympiades-91744VMASSY Cedex. pp 6-9.

ROUBA L., 2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols des graines de *Nigella sativa L.* 2011- universite ferhat abbas-setif faculte des sciences de la nature et de la magister en biochimie.

Schved M., (2007). Physiologie de l'hémostase MB7Hématologie. *Journal of Natural*.

Shobha R., Rajeshwari C., Andallu B. Anti-Peroxidative and Anti Diabetic Activities of Aniseeds (*Pimpinella anisum L*) and Identification of Bioactive Compounds. **2**:209-215.

Shojaii., Asie., Mehri Abdollahi F., Quot. Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*." *International Scholarly Research Notices* 2012 (2012).

Sofowora A., (1993). Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. Spectrum Books Ltd., Ibadan, Nigeria. 191-289.

Tognolini M., Ballabeni V., Bertoni S., Bruni R., Impicciatore M. *Pharmacological Research*, 56(3), 254–260. doi:10.1016.

Tefiani., Choukri. Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus sp. eu-ciliatus*. Diss. Thèse de Doctorat en sciences de l'université de Mostaganem, 2015.

Vogler A., Siedlecki A.,(2009). Contact activation of blood plasmacoagulation.

Wright., Lewis. *Le poivre, de l'épice au médicament*. Diss. Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2020.

Xavier L., 1996. Epices et aromates .*Magazine* 2004, p 21,128.

Zaiter A., Étude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres super fines. *Agronomie*. Université de Lorraine, 2017. Français






ZenkM H., Juenger M.,2007. Evolution and current status

of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68 :2757-2772

Zubaida Marufee I., Kashmery K., Shagoofa R., Rabab M., Iftekhar Mahmud C., 2016 . Antibacterial and phytochemical screening of pimpinella anisum through optimized extraction procedure asian journal of science and technologie, 7 (11) : 3918-3918.

ANNEXES

Vertus médicinale de quelque épice et leur utilisation

<i>L'épice</i>	Vertus	Utilisation
 <p data-bbox="231 582 502 616"><i>La noix de musarde</i></p>	<p data-bbox="574 353 989 537">Aphrodisiaque, sédatif, digestive, combat les gaz stomacaux, la diarrhée, les nausées et favorise le cycle menstruel,...</p>	<p data-bbox="1021 353 1420 571">Utilisé dans certains plats sucrés et salés, surtout s'ils sont préparés avec du lait et du fromage, les légumes, les sauces et les pâtes, la sauce béchamel</p>
 <p data-bbox="295 884 438 918"><i>Coriandre</i></p>	<p data-bbox="574 660 989 840">Aide à chasser les insomnies, la constipation, les douleurs d'estomac. Digestive et stimulante, aphrodisiaque, antibactérienne, tonique.</p>	<p data-bbox="1021 660 1420 840">Utilisée dans les mélanges d'épices, dans les plats de viande. La graine de coriandre sert à assaisonner des mets de tout genre à base de chou,</p>
 <p data-bbox="295 1243 438 1276"><i>Curcuma</i></p>	<p data-bbox="574 963 989 1142">Diurétique, il prévient les problèmes inflammatoires et aide à réduire les graisses qui encombrent le foie et l'estomac. Soigne les problèmes de peau</p>	<p data-bbox="1021 963 1420 1108">Utilisé dans Moulu Sauces, caris, riz, à titre de colorant et aussi dans les tajine aux légumes et à la viande</p>
 <p data-bbox="295 1646 438 1680"><i>Cannelle</i></p>	<p data-bbox="574 1332 989 1467">Tonique, antiseptique, bactéricide, stimule les systèmes respiratoires, digestifs et circulatoires</p>	<p data-bbox="1021 1332 1420 1512">- Permet de diminuer les quantités de sucre. -Délicieux dans les gâteaux, tartes aux pommes, muffins, dans une tasse de chocolat....etc</p>
 <p data-bbox="271 1982 438 2016"><i>Gingembre</i></p>	<p data-bbox="574 1724 989 1982">Combat les ballonnements, le mal de foie, l'anémie (fer), le mal des transports et les maux de tête, les douleurs rhumatismales, ouvre l'appétit, facilite la digestion et aurait des vertus aphrodisiaques,...</p>	<p data-bbox="1021 1724 1420 1937">Le gingembre est employé comme épice ; c'est un condiment recherché pour la préparation de certaines bières, de pain d'épice, de gâteaux, de liqueurs...</p>



Anis vert



Poivre noir

Stimulante, sédative,
expectorante, carminative

Crudités, salades, potages,
pâtisserie, confiserie, liqueurs

-Digestive, diurétique,
stimulante, antibactérienne,
insecticide, bactéricide,...
-le poivre noir est le plus
piquant

-Utilisé dans les plats de
viande, les grillades, les sauces,
les dressings, le poisson et le
fromage - sont bactéricides ils
sont également excellents pour
la conservation des aliments.



Aspect des filtrats



Spectrophotomètre (SHIMADZU UV-1800)



Agitateur magnétique
(HEATING MAGNETIC SCIENTIFICA)



Balance sensible (SARTORIUS)



Etuve à ventilateur (THERMO SCIENTIFIC)



Quelques réactifs utilisés

GLOSSARIES

Glossaire

Le terme scientifique	Définition
Vermifuge	Propre à provoquer l'expulsion des vers intestinaux.
Carminatif	Qui favorise l'expulsion des gaz intestinaux.
Emménagogue	plantes médicinales qui stimulent le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus et peuvent traiter la dysménorrhée ou l'aménorrhée.
La maladie veineuse thromboembolique	correspond à la formation d'un thrombus qui peut obstruer la circulation sanguine et dans certains cas migrer et provoquer une embolie pulmonaire
Maladie de Willebrand	La maladie de Willebrand est une maladie hémorragique héréditaire due à un défaut génétique de la concentration, structure ou fonction du Facteur Willebrand (VWF), une protéine impliquée dans les mécanismes d'hémostase primaire et de la coagulation
Hémophilie	L'hémophilie est un trouble hémorragique héréditaire qui se traduit par l'incapacité du sang à coaguler correctement. La maladie est liée à un déficit en facteur VIII, une des protéines responsables de la coagulation sanguine.
Antiémétique	contre les vomissements et les nausées
Antispasmodique	Aide à traiter les spasmes musculaires, principalement digestifs et génito-urinaires. Il s'agit de calmer ou de neutraliser des contractions involontaires des muscles
Stomachique	Substance salutaire à l'estomac et qui favorise la digestion.
Dyspepsies	Correspondent à des problèmes de digestion, des sensations inconfortables ressenties au niveau de la partie haute du tube digestif (estomac, oesophage).

Résumé

L'objectif de notre travail vise à montrer le contenu de différentes épices, caractérisées par des saveurs distinctes, en principes actifs et leurs activités anticoagulante et anti hémolytique. Quatre types d'épices ont été sélectionnés, des épices chaudes (cannelle et clou de girofle), amères (curcuma et cumin), douces (anis vert, fenouil) et des épices piquantes (piment et poivre noir). Les extraits obtenus par macération révèlent, par un criblage phytochimique, la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans toutes les épices sauf dans le piment, les tanins dans les épices chaudes, le poivre et l'anis vert ; le clou de girofle, le cumin et l'anis vert sont dépourvus en alcaloïdes ; les terpénoïdes sont présents au niveau de toutes les épices à l'exception de piment et de l'anis vert ; les épices douces et l'anis vert ne renferme pas des anthocyanes. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a exhibé la richesse de la cannelle en ces métabolites (520.62 ± 87.63 mg EAG/gES et 112.6 ± 22.02 mg ER/gES). Les teneurs les plus faibles sont obtenues avec le poivre noir (53.84 ± 16.67 mg EAG/gES) pour les polyphénols et avec l'anis vert (8.51 ± 4.67 mg ER/gES) pour les flavonoïdes. L'évaluation de l'activité anticoagulante fait apparaître que le temps de prothrombine est allongé jusqu'à 75.8s, 86.8s et 71.4s par le poivre noir, la cannelle et le fenouil, cependant, il est réduit jusqu'à 4.7s par le curcuma à la concentration 0.000156mg/ml. Le pouvoir anti hémolytique semble très important pour la cannelle, le clou de girofle, le curcuma et le poivre noir dont les pourcentages d'inhibition sont de 78.2 %, 81.18%, 68.82% et 54.03% respectivement. Mais plus faible pour le cumin (9.76 %) et l'anis vert (5.75 %). L'étude a révélé que deux épices à saveur proche ne possèdent pas forcément ni des teneurs en métabolites ni des activités biologiques identiques.

Mots clés : épices, métabolites secondaires, activité anti hémolytique, activité anticoagulante.

ملخص

الهدف من عملنا هو إظهار محتوى التوابل المختلفة ، التي تتميز بنكهات مميزة ، في المكونات النشطة وأنشطتها المضادة للتخثر ومضادة لانحلال الدم. تم اختيار أربعة أنواع من البهارات ، البهارات الحارة (القرفة والقرنفل) ، المرة (الكرم والكمون) ، الحلوة (اليانسون الأخضر ، الشمر) والتوابل اللاذعة (الفلل الأسود والفلل الحار). تكشف المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق النقع ، عن طريق الفرز الكيميائي النباتي ، عن وجود مادة البوليفينول والفلافونويد في جميع التوابل باستثناء الفلفل الحار والعفص في البهارات الحارة والفلفل واليانسون الأخضر. يفتقر القرنفل والكمون واليانسون الأخضر إلى قلويدات ؛ توجد التربينويدات في جميع البهارات باستثناء الفلفل الحار واليانسون الأخضر ؛ لا تحتوي البهارات الحلوة واليانسون الأخضر على الأنتوسيانين. أظهرت جرعة البوليفينول والفلافونويد ثراء القرفة في هذه المستقلبات (87.63 ± 520.62 مغ معادل حمض غاليك/غ من المستخلص الجاف و 22.02 ± 112.6 مغ معادل الروتين/غ من المستخلص الجاف على الترتيب) ، يتم الحصول على أدنى المستويات مع الفلفل الأسود (16.67 ± 53.84 مغ معادل حمض غاليك / غ من المستخلص الجاف) للبوليفينول واليانسون الأخضر (4.67 ± 8.51 مغ معادل الروتين / غ من المستخلص الجاف) للفلافونويد. يُظهر تقييم النشاط المضاد للتخثر أن زمن البروثرومبين يطول حتى 75.8 ثانية و 86.8 ثانية و 71.4 ثانية بالفلفل الأسود والقرفة والشمر ، ومع ذلك ، يتم تقليله إلى 4.7 ثانية بواسطة الكرم بتركيز 0.000156 مجم / مل. تبدو القوة المضادة لانحلال الدم مهمة جدًا للقرفة والقرنفل والكرم والفلفل الأسود ، حيث تبلغ نسب تثبيطها 78.2% و 81.18% و 68.82% و 54.03% على التوالي. لكنها أقل بالنسبة للكمون 9.76% واليانسون الأخضر 5.75%. وجدت الدراسة أن نوعين من التوابل ذات النكهة المتشابهة لا يحتويان بالضرورة على نفس مستويات الأيض أو الأنشطة البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: التوابل ، المستقلبات الثانوية ، النشاط المضاد للدم ، النشاط المضاد للتخثر.

Abstract

The objective of our work is to increase the content of different spices, characterized by distinct flavors, in active ingredients and their anticoagulant and antihemolytic activities. Four types of spices were selected, hot spices (cinnamon and cloves), bitter (turmeric and cumin), sweet (green anise, fennel) and hot spices (chilli and black pepper). The extracts obtained by maceration reveal, by phytochemical screening, the presence of polyphenols and flavonoids in all spices except in chili, tannins in hot spices, pepper and green anise; cloves, cumin and green anise are devoid of alkaloids; terpenoids are present in all spices except chilli and green anise; sweet spices and green anise do not contain anthocyanins. The dosage of polyphenols and flavonoids showed the richness of cinnamon in these metabolites (520.62 ± 87.63 mg EAG / gES and 112.6 ± 22.02 mg ER / gES). The lowest levels are obtained with black pear (53.84 ± 16.67 mg EAG / gES) for the polyphenols and with green anise (8.51 ± 4.67 mg ER / gES) for the flavonoids. The evaluation of the anticoagulant activity shows that the prothrombin time is lengthened up to 75.8s, 86.8s and 71.4s by black pepper, cinnamon and fennel, however, it is reduced to 4.7s by turmeric at a concentration of 0.000156mg / ml. The antihemolytic power seems very important for cinnamon, cloves, turmeric and black pepper, whose percentages of inhibition are 78.2%, 81.18%, 68.82% and 54.03% respectively. But lower for cumin (9.76%) and green anise (5.75%). The study found that two similar flavored spices do not necessarily have the same metabolite levels or biological activities.

Key words: spices, secondary metabolites, antihemolytic activity, anticoagulant activity.