



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biologie Animale
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie et santé

Intitulé:

**Activités antioxydantes et anticoagulantes des extraits aqueux de
deux plantes médicinales *Matricaria.sp* et *Ginkgo.sp***

Présenté et soutenu par :

Le : 12/09/2021

- KEHILI Khouloud
- KORICHI Chahrazed
- MERRAD Samia

Jury d'évaluation :

Président du jury : AMRANI. Amel.

(Pr - UFM Constantine 1)

Rapporteur : IHOUAL Safia.

(MCB-UFM Constantine 1)

Examineur : ZOUAGHI Youcef.

(MCA-UFM Constantine 1)

**Année universitaire :
2020/2021**

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention d'un grand nombre de personnes. Nous souhaitons ici les en remercier

Nous voudrions tout d'abord remercier notre encadreur madame IHOUAL Safia maitre de conférence(B) à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail, nous vous remercier pour ses conseils pratiques et scientifiques tout au long ce travail.

Nous tenons à présenter notre remerciement aux membres de jury madame AMRANI Amel professeur à l'université Frères Mentouri Constantine1, Dr. ZOUAGHI Youcef maitre de conférence(A) à l'université Frères Mentouri Constantine1 et madame IHOUAL Safia maitre de conférence(B) à l'université des Frères Mentouri Constantine1, qui ont acceptés de juger notre travail.

Nous remercions aussi nos collègues TOUMI Mouaad et DJAFAROU Haythem enseignant vacataire au niveau de l'animalerie de nous avoir aidés dans nos travaux pratiques.

Nous remercions enfin tous ceux ou celles qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A Mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, pour toute leur assistance et leur présence dans ma vie.

Merci d'être toujours là pour moi.

A Mes frères et sœurs pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral.

A Mes chères amies, Khouloud

Chahrazed

Imen

et Djihen

avec lesquelles j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

A Tous mes amis de la promotion.

A Tous mes enseignants durant les années des études.

A Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

SAMIA

Dédicaces

Ma première pensée de remerciement à mes parents, maman c'est ma source d'espoir je n'ai jamais oublié tes aimables paroles pour m'encourager ,et je remercie mon père qui m'a jamais bondonnée ,Mercie papa pour ton soutien et n'oublier jamais mes frères et ma petite sœur que dieu les protège et leur donne le bonheur dans leur vie et je remercie sincèrement et infiniment mon mari qui est fière de moi ,merci beaucoup pour le super mot que j'ai toujours reçu pour me donne la force quand je suis en fatigue

Je remercie tous mes professeurs qui m'ont enseigné depuis le début de ma carrière universitaire

Mercie à mes deux proches amies Chahrazed et Samia pour votre effort que dieu vous réussir dans votre vie

Merci à ma chère amie Meriem qui je serai toujours heureuse avec elle

KHOULOU

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon très cher père Azzedine :

A mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur. Celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Que Dieu vous procure bonne santé et longue vie.

A ma très chère mère Souhaila :

Affable, honorable, aimable, tu représentés pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Dieu .le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes très chères sœurs Fatima et Darine :

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon très cher petit frère Moncef :

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mes binôme Khouloud et Samia avec qui j'ai partagé mon travail.

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

CHAHRAZED

Résumé

Notre étude consiste à évaluer l'activité anti oxydante et anti coagulante des extraits aqueux des deux plantes médicinales *Ginkgo .sp* et *Matricaria .sp*, en faisant l'ensemble de tests de mise en évidence qui révèlent la présence de substance antioxydantes ; parmi lesquels flavonoïdes, sponosides, tanins et composés réducteurs dans les deux extraits, mais les alcaloïdes sont en faibles quantités dans l'extrait de *Ginkgo. sp* par rapport à celle du *Matricaria. sp* et aussi l'analyse qualitative in vitro pour étudier le pouvoir anti oxydant via les tests du piégeage des radicaux libres ,la première méthode de piégeage du radical hydroxyle qui révèle la capacité des deux extraits à piéger et éliminer le radical hydroxyle avec un pourcentage d'inhibition 43,55 % pour *Marticaria .sp* et 34,72% pour *Ginkgo. sp*, puis la méthode du pouvoir réducteur dans laquelle IC₅₀ des deux extraits est supérieur à celle de Vit C et donc ils ont un pouvoir réducteur légèrement inférieur à celle de Vit C. Ensuite la méthode de DPPH a montré que *Ginkgo. sp* possède IC₅₀ inférieur à celle de quercetine et il a un fort pouvoir réducteur, mais *Matricaria . sp* possède IC₅₀ supérieur à celle de quercetine et elle a un faible pouvoir réducteur, et le dernier test d'activité anti oxydante est le test d'inhibition de la peroxydation lipidique en utilisant le jaune d'œuf et l'homogénat de foie .Les résultats représentent un fort taux d'inhibition de la peroxydation pour l'extrait du *Matricaria . sp* qui a un pourcentage d'inhibition égale 68,49% dans la réaction de jaune d'œuf et un pourcentage d'inhibition égale 30,21% dans la réaction d'homogénat de foie et aussi L'extrait de *Ginkgo. sp* a donné des valeurs relativement proches à celle de *Matricaria .sp* qui a donné un pourcentage d'inhibition égale 48,85%dans la réaction de jaune d'œuf et un pourcentage d'inhibition égale 44,49% .D'autre part on a étudié l'activité anticoagulante en faisant les test de coagulations suivantes TP, TCK, Fibrinogène de sérum des rats traités précédemment par les deux extrais des plantes utilisées et l'Aspégic, les résultats de TP des rats traités avec *Matricaria . sp*, *Ginkgo. sp* et Aspégic ont un taux élevé par rapport au témoin, alors que les résultats de TCK révèlent que *Matricaria.sp*, *Ginkgo. sp* et Aspégic possèdent une activité anticoagulante à la dose de 100 mg/ml/kg et ils ont capable d'allongé le TCK .Enfin, les valeurs de FIB sont proches l'un de l'autre est ont la capacité a allongé le taux de fibrinogène par rapport au témoin.

Mots clés : *Ginkgo.sp*, *Matricaria. sp*, activité antioxydante, activité anticoagulane, peroxydation lipidique, pouvoir réducteur, Diphénylpicrylhydrazyle, radicale hydroxyle, Fibrinogène, Temps de Céphaline Kaolin, Taux de prothrombine.

Abstract

Our study consists of evaluating the antioxidant and anticoagulant activity of aqueous extracts obtained from these two medicinal plants *Ginkgo.sp* and *Matricaria .sp*, by carrying out all of the tests which reveal the presence of antioxidant substances : including flavonoids, saponoides, tanins and reducing compounds in both extracts, but alkaloids are in low amounts in *Ginkgo.sp* compared to that of *Marticaria .sp*. Also the qualitative *in vitro* analysis to study the antioxidant power via the free radical scavenging tests, the first hydroxyl radical scavenging method which reveals the ability of the two extracts to scavenge and eliminate the hydroxyl radical with a percentage inhibition of 43,55% for *Matricaria .sp* and 34,72% for *Ginkgo.sp*, then the reducing power method in which the IC50% of the two extracts is greater than of Vit C and therefore they have a slightly lower reducing power than Vit C. Then the DPPH method showed that *Ginkgo.sp* has IC50% lower than that of quercetin and it has a strong reducing power, but *Matricaria .sp* has IC50% higher than that of quercetin and it has low reducing power, and the last test of antioxidant activity is the lipid peroxydation inhibition test using egg yolk and liver homogenate. Results represent a high rate of inhibition of peroxidation for the extract of *Matricaria .sp* which has a percentage inhibition equal to 68.49% in the egg yolk reaction and a percentage inhibition equal to 30.21% in the reaction of liver homogenate and also *Ginkgo.sp* extract gave values relatively close to that of *Marticaria .sp* which gave a percentage of inhibition equal to 48.85% in the egg yolk reaction and a percentage of inhibition equal to 44.49%.

The anticoagulant activity was studied by making the following coagulation tests TP, TCK, Fibrinogen of serum of the rats treated previously with the two extracts of the plants used and Aspegic, the results of TP of the rats treated with *Matricaria .sp*, *Ginkgo .sp* and Aspegic have a high level compared to the control, whereas the TCK results reveal that *Matricaria .sp*, *Ginkgo.sp* and Aspegic possess high dose anticoagulant activity and they were able to elongate TCK. Finally, the FIB values are close to each other and have the ability to prolong the fibrinogen level compared to the control.

Keys words : *Ginkgo.sp*, *Matricaria .sp*, antioxidant activity, anticoagulant activity, lipid peroxydation, reducing power, Diphenyl picrylhydrazyl, hydroxyl radical, Fibrinogen, Kaolin cephalin clotting time, Prothrombin.

الملخص

تتمثل دراستنا في تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للتخثر للمستخلصات المائية التي تم الحصول عليها من هذين النباتين الطبيين الجنكة (*Ginkgo.sp*) و البابونج , من خلال اجراء مجموعة من الاختبارات التي تكشف عن وجود مواد مضادة للأكسدة من بينها الفلافونويدات, السبونوزيدات, Composés réducteurs, tanines, في كلا المستخلصين , لكن الفلويديات بكميات منخفضة في مستخلص الجنكة مقارنة بمستخلص البابونج وأيضا التحليل النوعي لدراسة النشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبارات اقتناص الجذور الحرة. اول طريقة هي قياس قدرة المستخلص النباتي على الاقتناص والقضاء على الجذر الحر الهيدروكسيل HO[•] فكانت النتيجة بنسبة تثبيط 43.55 % لنبات البابونج نسبة تثبيط تساوي 34.72 % لنبات الجنكة , ثم تحليل reducing power حيث يكون IC₅₀ لكل المستخلصين ذات قيمة عالية من IC₅₀ ل VitC وبالتالي فان لديهم قوة اختزال اقل قليلا من VitC . أظهرت طريقة DPPH أن الجنكة لديها IC₅₀ أقل من IC₅₀ الكيرسيتين ولها قوة اختزال قوية لكن البابونج لديه IC₅₀ ذات قيمة اكبر من الكيرستين وله قوة اختزال ضعيفة , و اخر اختبار للنشاط المضاد للأكسدة هو اختبار تثبيط بيروكسيد الدهون باستخدام صفار البيض والمجنس الكبدي , تمثل النتائج نسب عالية من تثبيط الاكسدة الليبيدية حيث ان مستخلص البابونج له نسبة تثبيط الاكسدة الليبيدية تساوي 68.49% في تفاعل صفار البيض ونسبة 30.21% في تفاعل المجنس الكبدي اما مستخلص الجنكة أعطى قيم قريبة نسبيا من البابونج حيث كانت نسبة التثبيط 48.85% في تفاعل صفار البيض و بنسبة 44.49% في تفاعل المجنس الكبدي .

ومن ناحية اخرى تمت دراسة التأثير المضاد للتخثر من خلال اجراء اختبارات التخثر التالية TP, TCK, Fibrinogène لمصل فئران معالجة بمستخلصين من النباتات و Aspégic حيث كانت نتائج اختبار TP ذات مستويات عالية في كل المجموعات مقارنة بالمجموعة الشاهدة بينما تظهر نتائج TCK ان كل من البابونج والجنكة و Aspégic يمتلكان نشاط مضاد للتجلط و قدرة على اطالة TCK . وأخيرا تكون قيم Fibrinogène قريبة من بعضها البعض حيث ان مستخلص الجنكة , البابونج و Aspégic يعملون على اطالة مستوى الفيبرينوجين مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

الكلمات المفتاحية: الجنكة ,البابونج ,النشاط المضاد للأكسدة ,النشاط المضاد للتخثر , أكسدة ليبيدية, القوة الارجاعية, Diphénylpicrylhydrazyle جذر الهيدروكسيل , معدل البروثرومبين, فيبرينوجين, Temps de Céphaline Kaolin.

SOMMAIRE

Introduction	1
Revue bibliographique	
Chapitre I : Stress oxydatif	
1. Rappel physiologique sur les radicaux libres.....	4
2. Radicaux libres.....	4
2.1. Principales sources des radicaux libres.....	5
2.2. Principales espèces réactives de l'oxygène.....	5
3. Stress oxydatif.....	7
3.1. Conséquences du stress oxydatif.....	7
3.1.1. Altération des protéines.....	7
3.1.2. Altération des membranes lipidiques.....	8
3.1.3. Altérations de l'ADN.....	8
3.2. Effet de stress oxydatif sur la santé.....	8
4. Antioxydants.....	9
4.1. Mécanisme d'action des antioxydants.....	9
4.2. Classification des antioxydants.....	10
- Superoxyde dismutase (SOD).....	10
- Catalase (CAT).....	10
- Glutathion peroxydase (GPX) et glutathion réductase (GR).....	10
- Glutathion.....	11
- Proline.....	11
- Vitamine E (Tocophérol).....	12
- Polyphénols.....	13
- Flavonoïdes.....	13
- Caroténoïdes.....	14
- Alcaloïdes.....	14
Chapitre II : Activité anticoagulante	
1. Introduction.....	16
1.1. Hémostase primaire.....	16
1.2. Hémostase secondaire.....	17

1.3.Fibrinolyse.....	18
2. Inhibiteurs de la coagulation.....	19
2.1. Antithrombine III.....	19
2.2. Protéine C et la protéine S	20
3. Exploration de l'hémostase.....	20
3.1 Temps de prothrombine (TP).....	20
3.2 Temps de céphaline-Kaolin (TCK).....	20
3.3 Fibrinogène.....	20
3.4 D-dimères.....	20
3.5 Protéine C (réactive CRP).....	21
4 Anticoagulants.....	21
4.1 Anticoagulants naturels.....	21
4.2 Anticoagulants oraux	

Chapitre III : Plantes médicinales

1. Généralité.....	25
2. <i>Ginkgo.sp</i>	28
2.1.Historique.....	28
2.2.Description botanique.....	28
2.3.Classification systématique.....	29
2.4.Compositions chimiques.....	29
- Flavonoïdes.....	29
- Composés terpéniques.....	30
- Lactone sesquiterpéniques.....	30
- Constituants secondaires.....	31
2.5. Utilisation traditionnelle.....	31
2.6. Propriétés pharmacologiques.....	31
- Effet vasorégulateur.....	31
- Effet antiplaquettaire.....	32
- Effet protecteur des fonctions neuronales.....	32
2.7. Activités biologiques de <i>Ginkgo.sp</i>	32
3. <i>Matricaria .sp</i>	34
3.1.Synonymie taxonomique.....	34
3.2.Situation botanique.....	34

3.3. Origine et culture.....	34
3.4. Description botanique.....	35
3.5. Compositions chimiques.....	35
- Flavonoïdes.....	35
- Mucilages.....	35
- Huiles essentielles.....	35
- Autres composants.....	36
3.6. Activités pharmacologiques.....	36
3.7. Utilisation traditionnelle.....	38
3.8. Effets indésirables et interactions médicamenteuses.....	38

Chapitres IV : Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal.....	40
1.2. Matériel animal.....	40
1.3. Réactifs chimiques.....	40
1.4. Appareils utilisés.....	40

2. Méthodes :

2.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	41
2.2. Tests de mise en évidence.....	41
1. Mise en évidence de tanins.....	41
2. Mise en évidence des saponosides.....	41
3. Mise en évidence des flavonoïdes.....	41
4. Mise en évidence des composés réducteurs.....	41
5. Mise en évidence des alcaloïdes.....	42
2.3 Dosages des flavonoïdes.....	42
A. Activité antioxydante.....	42
1. Inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode de TBARS.....	42
2. Piégeage du radical hydroxyle.....	43
3. Test du pouvoir réducteur (Reducing power).....	44
4. Méthode de DPPH (effet scavenger).....	44
2.4 Traitement des animaux.....	45
2.5 Prélèvement du sang.....	45
B. Activité anticoagulante.....	45

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Rendement des extraits.....	47
2. Tests de mise en évidence.....	47
3. Dosages des flavonoïdes.....	48
A. Activité antioxydante.....	49
1. Inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode de TBARS.....	49
2. Piégeage du radical hydroxyle.....	50
3. Test du pouvoir réducteur (Reducing power).....	51
4. Effet scavenger du radical de DPPH.....	52
B. Activité anticoagulante.....	53
1. Temps du céphaline-Kaolin (TCK).....	53
2. Taux de prothrombine (TP).....	54
3. Fibrinogène (FIB).....	55
Conclusion	58

Liste des figures

Figure 1 : le déroulement des étapes de coagulation.....	19
Figure 2 : mécanisme d'action des anti-vitamines K et des héparines.....	23
Figure 3 : feuilles de <i>Ginkgo.sp</i>	29
Figure 4 : structure chimique des flavonoïdes.....	30
Figure 5 : Structure chimique du diterpènes (Ginkgolides).....	30
Figure 6 : structure chimique de la lactone sesquiterpénique.....	31
Figure 7 : la quantité des flavonoïdes en mg EQ/g d'extrait.....	48
Figure 8 : pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique du jaune d'œuf.....	49
Figure 9 : pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique du foie.....	49
Figure 10 : piégeage du radical hydroxyle des deux extraits et du vit C.....	50
Figure 11 : pouvoir réducteur de deux extraits et du vit C	51
Figure 12 : la concentration inhibitrice à 50% du radical DPPH de deux extraits et de quercetine.....	52
Figure 13 : le temps de coagulation (TCK) en présence de deux extraits de l'Aspégic et dans le témoin.....	53
Figure 14 : le taux de prothrombine des extraits, de l'Aspégic et de témoin.....	54
Figure 15 : la quantité de fibrinogène en présence des extraits, de l'Aspégic et de témoin.....	55

Liste des tableaux

Tableau 1 : les différentes sources des radicaux libre.....	5
Tableau 2 : les principales espèces de l'oxygène.....	6
Tableau 3 : le stress oxydatif et les pathologies.....	9
Tableau 4 : fonctions de quelques antioxydants de l'alimentation.....	12
Tableau 5 : certaines plantes médicinales agissent comme anticoagulant.....	22
Tableau 6 : les différentes formes galéniques de phytothérapie.....	27
Tableau 7 : classification de l'espèce <i>Ginkgo.sp</i>	29
Tableau 8 : les différentes activités pharmacologiques de la <i>Matricaria .sp</i>	37
Tableau 9 : rendement d'extraction de deux plantes.....	47
Tableau 10 : composition phytochimique des extraits de deux plantes.....	47

Liste des abréviations

ACTH : Adrénocorticotrophine hormone

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

AG : Acide gras

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

BHT : Butylhydroxy toluène

CAT : Catalase

Cm : Centimètre

Cox-1 : Cyclooxygénase-1

CrP : Protéine c.

Cys : Pystéine

DPPH : 2,2-diphényl 1-picylhydrazyl

Fe⁺² : Fer ferreux

Fe⁺³ : Fer ferrique

Flv : Flavonoïdes

FP 3 : Facteur plaquettaire 3.

g : Gramme

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

His : Histidine

I% : Pourcentage d'inhibition

IC50% : Concentration inhibitrice à 50%

IgG : Immunoglobuline G.

IgM : Immunoglobuline M

Kg : Kilogramme

LPO : Peroxydation lipidique

m : Mètre

MAOA : Monoamine oxydase A

MAOB : Monoamine oxydase B

ml : Millilitre

mg/ml : Milligramme par millilitre

MPO : Myéloperoxydase

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NO : Nitric oxide

PAF : facteur d'activation plaquettaire

PAI : Inhibiteur de plasminogène

PG12 : Prostacycline

PH : Potentiel hydrogène

Pro : Proline

RL : Radicaux libres

SD : Standard deviation

SET : Sous-endothélium thrombogène

SOD : Superoxyde dismutase

TBA : Acide thiobabaturique

TBARS : Thiobabaturic acid Reactive Substances

TCA : Acide trichloroacétique

TCK/TCA : Le temps de céphaline kaoline

TP : Taux de prothrombine.

TPA : Activateur du plasminogène

Trp : Tryptophane

TXA₂ : Thromboxane A₂

Tyr : Tyrosine

UV : Ultra-violet

Vc/Vit c : Vitamine C

Vit E : Vitamine E

VK : Vitamine k.

VWF : von willebrand Facteur.

Introduction générale

Introduction générale

La nature est pleine de ressources aux vertus bénéfiques pour l'homme. En plus de son alimentation, il y trouve des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme. **(Rebbas et al., 2012).**

La médecine traditionnelle ou les traitements à base de plantes médicinales étaient développés au monde, elle a fait appel à tous les traitements que la nature pouvait lui offrir. Les formes galéniques les plus diverses ont été employées dans les préparations à base de plantes : cataplasme, extraits aqueux, extraits alcooliques, extraits et macérats huileux, extraits vineux et vinaigrés, tisanes.....etc **(Babuca, 2007).**

Le genre *Matricaria* est introduit par Linné dans Species Plantarum en 1753. Cette publication mentionne principalement trois espèces dans le genre *Matricaria*. Plusieurs effets d'extrait in vivo et in vitro ont été étudiés, l'activité anti-inflammatoire (les flavonoïdes paraissent être les vecteurs principaux de cette activité), les propriétés antiallergiques et l'activité antispasmodiques. Ainsi que, l'effet neuroprotecteur, anticonvulsivant et antioxydante. **(Petitet, 2016).**

Le Ginkgo.sp mentionné pour la première fois dans le plus ancien traité de médecine chinoise de Shennong sous la dynastie de Han au I^{er} siècle. Il a un effet anti-ischémique et anti radicaux libres, un effet antagoniste sur un médiateur impliqué dans les phénomènes inflammatoires et allergiques et une action antiagrégant plaquettaire et il favorise la microcirculation artérielle et veineuse. **(Christian, 2011).**

Les maladies cardiovasculaires sont responsables de nombreux problèmes de santé dans le monde. En effet, ces maladies constituent un ensemble de troubles qui touchent le cœur et la circulation sanguine. Ces maladies constituent la conséquence de la complication pathologique des maladies thrombotiques artérielles et veineuses, c'est la raison pour laquelle plusieurs recherches sont focalisées sur la médecine traditionnelle ou le traitement à base de plantes médicinales dans le traitement de ces maladies. **(Alexandre et al., 2018).**

Le stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable un développement de pathologie diverses telles que le cancer, les accidents

Introduction générale

cardiovasculaires, l'ostéoporose, les maladies inflammatoires, l'athérosclérose.....etc
(Defraigne; Pincamail, 2008).

L'objectif de notre étude consiste à étudier l'activité antioxydante et anticoagulante des extraits de deux plantes : *Matricaria .sp* et *Ginkgo.sp in vitro* et *in vivo*.

Mots clés : médecine traditionnelle, plantes médicinales, *Matricaria*, *Ginkgo.sp*, maladies thrombotiques, stress oxydant.

Stress oxydant

1. Rappel physiologique sur les radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont inévitablement produits lors des réactions physiologiques normales. La concentration des RL est déterminée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par divers composés et enzymes antioxydants. Cet état d'équilibre est la condition clé pour maintenir la fonction cellulaire et tissulaire normale. **(Valéry et al., 2006).**

Elles participent au fonctionnement de certains enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, et au fonctionnement de certains neurones. **(Filane ; Toumi, 2012).**

2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. **(Valéry et al., 2006).**

Les radicaux libres sont des molécules contenant de l'oxygène et qui sont produits lors du métabolisme physiologique et dans certains cas pathologiques. Leur durée de vie est très courte allant de quelques millisecondes à nanosecondes, ils peuvent entraîner des lésions tissulaires en captant des électrons d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule originale dans un état instable. **(Filane ; Toumi, 2012).**

L'oxygène moléculaire (dioxygène) possède une configuration unique en électrons et est en lui-même un radical. L'addition d'un électron au dioxygène entraîne la formation d'un radical anion superoxyde considéré comme le DRO « primaire ». Il peut ensuite réagir avec d'autres molécules pour former des DRO « secondaires » qui sont plus agressifs. **(Filane ; Toumi, 2012).**

Stress oxydant

2.1. Principales sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont nécessaires à la vie mais ils sont aussi le fléau de notre existence, ils ont plusieurs origines aussi bien à l'intérieur de l'organisme qu'à l'extérieur. (**Haleng et al., 2007**). (Tableau 1).

Tableau 1 : les différentes sources des radicaux libres (**Haleng et al., 2007**).

Endogènes	Exogènes
<ul style="list-style-type: none">- Réactions immunologiques.- Fuite des électrons.- Phagocytose.- Métabolisme humain normal (chaîne respiratoire mitochondriale, cytochromes P450, NADPH oxydase, myéloperoxydase (MPO), NO oxydase, xanthine oxydase).	<ul style="list-style-type: none">- Radiations ionisantes.- Rayonnements UV.- Drogues, médicaments.- Polluants, pesticides.- Tabac.

2.2. Principales espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène est nécessaire de la vie aérobie, mais son métabolisme peut conduire à la production des RL, et lorsqu'ils ne sont pas contrôlés ceux-ci peuvent attaquer les molécules biologiques cellulaires. (**Lori et al., 2001**). Le tableau suivant présente les principales espèces réactives de l'oxygène.

Tableau 2 : Les principales espèces réactives de l'oxygène : (Monique et al., 2003).

Le radical superoxyde	$O_2\cdot$
Le peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Le radical hydroxyle	$HO\cdot$
Oxygène singulet	1O_2
Monoxyde d'azote	$NO\cdot$
Nitroxyde	$NOO\cdot$
Peroxynitrite	$ONOO\cdot$
Peroxyl (radical lipidique)	$ROO\cdot$
Aloxyl (radical lipidique)	$RO\cdot$

- L'anion superoxyde

La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente conduisant à la production d'eau, cette réaction est catalysée par la cytochrome oxydase de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette chaîne de transport peut laisser fuir une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 2% de l'oxygène subit une réduction conduisant à la formation du radical superoxyde au niveau du coenzyme (Q). Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de la concentration assez basse par des enzymes appelées superoxyde dismutases (SOD). (Monique et al., 2003).

- Le peroxyde d'hydrogène

L'eau oxygénée est un intermédiaire réduit de l'oxygène et sa concentration est régulée par des enzymes telles que la catalase. Le peroxyde d'hydrogène ainsi formée n'est pas un radical libre, mais une molécule, sa production peut également résulter de la réduction biélectronique de l'oxygène en présence d'oxydases. La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle ($HO\cdot$). (Monique et al., 2003).

- Le radical hydroxyle

Le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$) et l'anion basique (HO^-) sont tous deux formés au cours de la réaction de « Fenton », à partir de l'eau oxygénée et en présence de cations métalliques (métaux de transition), tels que Fe^{+2} et Cu^+ . Les radicaux hydroxyles sont les plus ERO les plus dommageables du stress oxydant, ils attaquent tous les matériaux biologiques (ADN, protéines, lipides). Ils réagissent avec les bases d'ADN en s'additionnant sur les doubles liaisons, et peuvent également réagir avec les AG polyinsaturés des phospholipides membranaires et des lipoprotéines, de même les acides aminés sont très sensibles à l'attaques des radicaux hydroxyles. (**Monique et al., 2003**).

3. Stress oxydant

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des radicaux libres oxygénés (ROS). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines : déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire et exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. . (**Neffati ; Khatteli, 2013**).

La résultante de ce phénomène est un surcharge intra et extracellulaire de diverses formes agressive de l'oxygène responsable de l'oxydation des composantes de la cellule entraînant des lésions moléculaires, cellulaires et tissulaires. (**Neffati ; Khatteli, 2013**).

3.1. Conséquences du stress oxydant

Les RL sont responsables, d'une manière directe ou indirecte, de nombreux dommages oxydatifs au niveau moléculaire pouvant affecter considérablement les mécanismes. (**Monique et al., 2003**).

3.1.1 Altération des protéines

Les protéines sont formées des acides animés qui peuvent réagir avec les RL. Les acides animés les plus réactifs sont : Histidine, Cystéine, Proline, Tryptophane et la Tyrosine. (**Haleng et al., 2007**).

Lorsqu'une protéine possède une fonction enzymatique, les RL sont susceptibles d'inactiver, tout au moins en partant du site actif. **(Monique et al., 2003)**.

3.1.2. Altération des membranes lipidiques

In vivo, la peroxydation lipidique est un phénomène également très important. Les membranes des cellules sont riches en acides gras polyinsaturés (AGPI), et la lipoperoxydation des membranes va altérer leur fonctionnalité (modification de leur perméabilité, de leur fluidité, perte d'enzymes.....). La peroxydation lipidique des AGPI est une réaction en chaîne radicalaire qui se déroule en trois étapes : initiation, propagation, terminaison. **(Josiane; Pierre, 2006)**.

3.1.3. Altération de l'ADN

Les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN ainsi que les désoxyriboses peuvent être la cible des RL notamment le radical hydroxyle HO·. **(Haleng et al ; 2007)**.

Il existe cinq principales de dommages oxydatifs médiés par le radical hydroxyle peuvent être générées :

- Les bases oxydées.
- Les adduits intra-caténaux.
- Les sites abasiques.
- Des cassures de brins.
- Des pontages ADN/Protéines. **(Monique et al., 2003)**.

3.2. Effet du stress oxydatif sur la santé

Le stress oxydatif est incriminé comme cause ou conséquence de nombreuses pathologies. (Tableau3).

Tableau 3 : le stress oxydatif et les pathologies (Aliouat ; Boulkelia, 2014).

Organe	Les dommages causés par les RL
Cœur	Infarctus cardiomyopathie
Peau	Brûlures, vieillissement (Rides)
Cerveau	Parkinson, Alzheimer
Poumon	Asthme, détresse respiratoire, emphysème
Rein	Transplantation
Intestin	Pancréatite, Ulcère
Œil	Cataracte, Rétinopathie
Articulation	Arthrite rhumatoïde
Vaisseau	Athérosclérose, hypertension
Erythrocytes	Malaria, anémie de Franconie

4. Antioxydants

Dans leur définition du terme, Hlliwel et Gutteridge (1989), déclarent qu'un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celle d'une substance oxydable, retarde ou inhibe considérablement l'oxydation de cette substance. L'antioxydant est une première ligne de défense contre les espèces réactives de l'oxygène est bien entendu la protection contre leur formations. Cette définition comprend des composés de nature enzymatique et non enzymatique. (Sies, 1997).

4.1. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants de faible poids moléculaire ont un mode ou une synergie d'action complexe. En effet, des antioxydants comme la vitamine C ou E se transforment eux-mêmes en radicaux libres lors de la neutralisation de certains dérivés toxiques de l'oxygène. Ainsi, la vitamine E seule peut dans certaines conditions, induire la peroxydation d'acides gras ou de lipoprotéines, alors que, normalement, elle prévient l'oxydation de ces mêmes lipides ; ce phénomène apparemment paradoxal est lié à la formation du radical tocophéryl. (Defraigne ; Pincamail, 2008).

Dans le cas de glutathion (GSH), le mécanisme d'action soit différent. Il joue un rôle unique et essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants de faible taille (vitamine C, E, polyphénols). (Defraigne ; Pincamail, 2008).

4.2. Classification des antioxydants

4.4.1 Antioxydants de l'organisme

○ **Enzymatiques**

- **Super oxyde dismutase (SOD)**

La SOD catalyse la dismutation $\text{SOD } \text{O}_2^{\cdot -}$ en dioxygène et H_2O_2 selon la formule :



Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La SOD1 ou cytosolique, et la SOD3 ou extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que SOD2 ou mitochondriale, utilise le manganèse. (Valéry et al., 2006).

- **Catalase (CAT)**

Les catalases sont des enzymes tétramères, contenant de l'hème, elles catalysent la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 selon la formule :



La catalase a l'un des taux de renouvellement les plus élevées pour toutes les enzymes, une molécule de CAT peut convertir 6 millions de molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 par minute. (Gill ; Tuteja, 2010).

- **Glutathion peroxydase (GP_x) et réductase (GR)**

La GP_x est présente dans les liquides extracellulaires (sang), dans les cellules au niveau du cytoplasme et dans les membranes. Leur rôle principal est d'assurer la réduction du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de la réaction, deux molécules de glutathion (GSH) oxydées en glutathion disulfure (GSSG), dans chacune de ces réaction, une molécule de glutathion oxydée et obtenue, pour perdurer cette réaction, il doit y avoir

Stress oxydant

un taux constant de (GSH), ce qui est rendu possible la glutathion réductase (GR), qui catalyse la réduction du (GSSG) en (GSH), à l'aide d'un cofacteur sous forme réduite qui est le (NADPH, H⁺). (Aliouat ; Boulkelia, 2014)



- **Non enzymatique**

- **Glutathion**

La glutathion est un tripeptide (glycine-cystéine-acide glutamique) et l'un des métabolites qui est considérée comme le plus important défense intracellulaire contre les dommages oxydatifs induits par les ROS. La glutathion joue un rôle dans des plusieurs processus : la régulation du transport du sulfate, la conjugaison de métabolites et la détoxification des xénobiotiques. (Gill ; Tuteja, 2010).

- **Proline**

La proline peut être considérée comme un antioxydant non enzymatique, elle peut atténuer les effets néfastes des ROS. La Pro a été proposée pour agir comme un osmoprotecteur, un stabilisateur de protéines, un chélateur de métal et un inhibiteur de LPO. (Gill ; Tuteja, 2010).

4.4.2 **Antioxydants de l'alimentation**

Les antioxydants dont nous avons besoin se trouvent essentiellement dans les aliments que nous consommons. Le tableau suivant présent les fonctions de certains antioxydants de l'alimentation.

Stress oxydant

Tableau 4 : Fonctions de quelques antioxydants de l'alimentation. (Haleng et al., 2007).

L'antioxydant	Source	Fonction
Vitamine C	Fruits, légumes...	-Réagit avec les RL dans le sang et à l'intérieur de la cellule. -Régénère le Vitamine E.
Vitamine E	Blé, noix, amande...	-Réagit avec les RL dans les milieux gras. -Protège les membranes plasmiques.
Caroténoïdes	Carottes, tomates...	- Réagit avec les RL dans les milieux gras.
Polyphénols	Fruits, légumes...	- Réagit avec les RL dans les milieux gras ou aqueux.
Terpines	Epices	-Neutralise les RL.
Oligoéléments : sélénium, zinc, manganèse, cuivre	Viandes, végétaux	-cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydante.

- Vitamine E (tocophérols)

La vitamine E est un antioxydant liposoluble, elle est considérée comme un antioxydant majeur dans les biomembranes, où elle joue à la fois des fonctions antioxydantes et non antioxydantes. Les tocophérols sont localisés dans les plantes dans les membranes thylakoïdes des chloroplastes. La forme α -tocophérol a l'activité antioxydante la plus élevée parmi les autres formes de vitamine, grâce à la présence de trois groupes méthyl dans sa structure moléculaire. (Gill ; Tuteja, 2010).

Elle se fixe les RL organiques qui peuvent provenir de l'oxydation des lipides et participe à diminuer la propagation de réaction de peroxydation lipidique. (Gill ; Tuteja, 2010).

La forme non radicalaire de la vitamine E régénérée par la vitamine C, elle réduit le radical α -tocophérol pour permettre une bonne efficacité du vit E. (**Mates ; pery-Gomez, 1999**).

- Polyphénols

Les polyphénols ou les composés phénoliques regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en dizaine de classes chimiques. Les éventuels bénéfiques que pourraient apporter à la santé humaine les polyphénols intéressent deux domaines : les phytothérapies et l'hygiène alimentaire. Les composés à fonction phénolique présentent une activité antioxydante. Elles sont depuis exploitées dans l'industrie agroalimentaire en tant que conservateur pour empêcher le rancissement des matières grasses (l'auto-oxydation lipidique). (**Hannebelle et al., 2004**).

- Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge, de différents organes végétaux et ils sont retrouvés également de plusieurs plantes médicinales. Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone. (**Ghedira, 2005**).

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les RL ($\text{HO}\cdot$, $\text{O}_2^{\cdot-}$) et les radicaux peroxylipidiques, grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production du RL. (**Ghedira, 2005**).



- Caroténoïdes

La principale source de caroténoïdes est les fruits et les légumes, ils sont localisés à l'intérieur de la cellule végétale sous forme cristalline ou associés à des protéines au niveau des chloroplastes. **(Patrick., 2018).**

Les caroténoïdes ont le potentiel d'agir comme précurseurs de la vitamine A, et aussi, ils sont des antioxydants qui piègent les RL. **(Jacynthe et al., 2018).**

- Alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un groupe important de part leurs nombreux avantages biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutique et alimentaires. Les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques azotés et basiques, qui dérivent des acides aminés. Ils ont une activité antioxydante, antiplasmodiale, antispasmodique, anticancéreuse. Ils ont également des effets laxatifs et analgésiques. **(Yinyang et al., 2014).** Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées, et d'autres ont une action directe sur le corps : activité sédatrice et des effets sur les troubles nerveux.

Activité anticoagulante

1. Introduction

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes qui concourent à maintenir la fluidité sanguine à l'intérieur du vaisseau (arrêter les hémorragies et empêcher les thromboses). (Shved, 2007).

On distingue trois étapes : (Figure2)

- L'hémostase primaire ferme la brèche vasculaire par un 'thrombus blanc ' (clou plaquettaire).
- La coagulation consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges.
- La fibrinolyse, permet la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension. (Shved, 2007).

1.1 Hémostase primaire

L'hémostase primaire comporte deux temps principaux : la phase vasculaire et la phase plaquettaire :

- Phase vasculaire

Dès qu'il y a une brèche vasculaire, la première réaction de l'organisme est une vasoconstriction localisée qui peut soit arrêter les hémorragies soit au moins réduire le flux sanguin. (Denis ; Wager, 2007)

- Phase plaquettaire

Les plaquettes, dès leur sortie du vaisseau adhèrent à la structure sous endothéliale mise à nu par la brèche vasculaire.

L'adhésion se produit en grande partie par la GP Ib qui se colle au sous-endothélium grâce au facteur de willebrand qui sert de ciment. Une première couche monocellulaire des plaquettes se constitue ainsi.

Les plaquettes adhérentes s'activent et recrutent d'autres plaquettes circulantes.

L'adhésion provoque l'activation des plaquettes. (Denis ; Wager, 2007)

L'activation des plaquettes se traduit également par les libérations des contenus des granules denses et des granules alpha dont l'adénosine di phosphate, inducteur de

l'agrégation plaquettaire et synthèse de thromboxane puissant agrège plaquettaire et surtout exposition de récepteur membranaire glycoprotéine (GP IIbIIIa). Les GP IIbIII) de surface, lors de l'activation subissent une modification conformationnelle qui leur permet de fixer le fibrinogène en présence du calcium. L'agrégation plaquettaire se fait ainsi grâce au fibrinogène qui établit des ponts entre les plaquettes, créant un premier thrombus, cette agrégation est réversible. **(Denis ;Wager , 2007)**

1.2 Hémostase secondaire

La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme centrale permettant de transformer le fibrinogène en fibrine est la thrombine .le processus de formation de la thrombine est complexe avec une série d'activation enzymatique qui surviennent à la surface des phospholipides membranaires des plaquettes, cellules endothéliales ou monocytes. La cascade de coagulation est constituée de deux voies qui mènent à la formation de fibrine. Ces deux voies sont la voie extrinsèque et la voie intrinsèque. Les deux voies sont des séries de réactions dans lesquelles un zymogène de série protéase et son cofacteur glycoprotéique sont activés pour ensuite catalyser la prochaine réaction. **(Hoffman et al., 1998)**

Les facteurs de coagulation sont généralement des sérines protéase (enzyme), le facteur VIII et le facteur V sont des glycoprotéines, et le facteur XIII est une transglutaminase. Les sérines protéase clivent d'autres protéines spécifiques de sérine. **(Hoffman et al., 1998)**

La cascade de coagulation est divisée en trois voies :

- Voie extrinsèque

Le rôle principal de cette voie est de générer rapidement une grande quantité de thrombine. Le facteur VIIIa circule dans des quantités plus importantes que les autres facteurs activés. **(Hoffman et al., 1998)**

L'intégrité de la paroi des vaisseaux sanguins compromise, le facteur VII quitte la circulation et entre en contact avec le facteur tissulaire exprimé par les fibroblastes du stroma et les leucocytes .Il y a formation du complexe activé TF-FVIIa. **(Hoffman et al., 1998)**

Activité anticoagulante

Le FT-FVIIa catalyse l'activation du facteur IX et du facteur X. (**Hoffman et al., 1998**)

Le facteur VII et lui-même activé par la thrombine, par le facteur XIa, XII et Xa.

L'activation du facteur Xa par le TF-FVIIa est inhibée par inhibiteur de la voie du facteur tissulaire TFPI.

Le facteur Xa et son cofacteur Va forment le complexe prothrombinase, qui active la prothrombine en thrombine. (**Mam et al., 2003**)

La thrombine active alors d'autres facteurs : le facteur (V, VIII et XI).

Le facteur VIIIa est le cofacteur du facteur IX a, et leur complexe active le facteur X, puis le cercle recommence.

- Voie intrinsèque

Cette voie se fait par contact du sang avec les structures sous-endothéliales, fait intervenir le kininogène de haut poids moléculaire (kHPM), la prékallicroïne et le facteur XII. Ce dernier activé, va lui-même activer le facteur IX en présence de Ca^{++} , en présence de XI a et IX a il se forme alors un premier complexe à la surface de la membrane plaquettaire. (**Christian, 2011**)

- Voie commune

Le facteur Xa adsorbé à la surface des phospholipides d'origine tissulaire et plaquettaire Va, constitue la prothrombinase. (**Christian, 2011**)

1.3 Fibrinolyse

Est le processus physiologique qui tend à éliminer les dépôts fibrineux, l'enzyme clé est la plasmine qui dégrade la fibrine en produits dérivés. Le plasminogène synthétisé par le foie :

Les activateurs de fibrinolyse : le facteur XIIa, le t-PA, Rt- PA, u-PA, sk.

Les inhibiteurs de fibrinolyse : les antiplasmines : alpha 2 – macroglobuline. (**Christian, 2011**)

Activité anticoagulante

La dégradation de la fibrine et du fibrinogène par la plasmine représente une étape importante que l'on explore chez les patients, les produits libérés : PDF, D-dimères : antiagrégants plaquettaires (un exemple de rétroaction, une activité anti-thrombique).

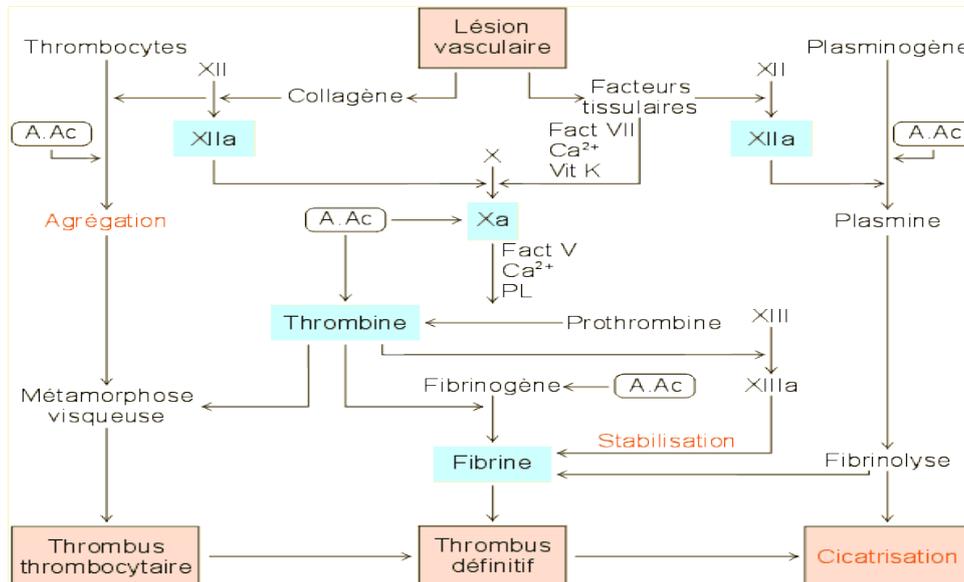


Figure 1 : le déroulement des étapes de coagulation.

2. Inhibiteurs de la coagulation

Le processus de la coagulation est actif en permanence dans l'organisme.
(Tendance à la coagulation)

Les systèmes des inhibiteurs :

2.1 Antithrombine III

Inhibe la plupart des enzymes d'origine zymo-géniques, en particulier les facteurs (X) a et le (IIa), la cinétique de son action est accélérée par l'héparine, lui valant le nom de cofacteur de l'héparine. (Beeler et al., 1979).

2.2 Protéine C et Protéine S

Ce sont d'origine hépatique (vit K). Un système inhibiteur fondamental géré par la thrombine : active d'une part les facteurs (VIII) et (V) tout en activant le processus d'inhibition des mêmes facteurs. (Esmonc, 2003).

3. Exploration de l'hémostase

3.1 Temps de prothrombine TP

Est un examen biologique utilisé pour évaluer la coagulation sanguine. Il explore la voie extrinsèque implique les facteurs de coagulation.

3.2 Temps de céphaline kaolin TCK

Il s'agit de la mesure d'un temps. Mais suivant l'activateur de la céphaline, le test sera plus au moins sensible à telles anomalies. Ainsi, un activateur comme le kaoline rend le teste sensible aux déficits en facteurs des coagulations. Donc un allongement du temps de céphaline kaoline signe un déficit en facteur.

3.3 Fibrinogène

Fibrinogène ou facteur I de coagulation est une protéine contenue dans le plasma et qui intervient dans la coagulation.

En cas d'augmentation on peut soupçonner de nombreuses pathologies telles qu'une infection, une maladie inflammatoire ou cancer.

En cas de diminution, on peut soupçonne une insuffisance hépatique puisqu'une grande partie de sa synthèse provient du foie.

3.4 D-dimères

Résultant de la dégradation de la fibrine des caillots. Leur présence à un taux élevé dans le sang signe d'existence d'une activation de la coagulation et de la formation de caillots ou thrombus.

3.5 Protéine C : (réactive CRP)

La CRP est souvent prescrite chez les patients présentant des maladies inflammatoires, ou des maladies inflammatoires du tube digestif. La CRP est également utilisée lors de la surveillance des patients après des interventions chirurgicales ou autres ...ETC. La CRP est considérée comme un bon marqueur de l'infection et de l'inflammation.

Son augmentation est un signe d'alerte pour les médecins qui adaptent alors la surveillance et le traitement de leurs patients.

La diminution indique que l'état s'améliore et que l'inflammation diminue.

4. Anticoagulants

Ils font partir des médicaments antithrombotiques qui créés dans le but de prévenir ou limiter la formation ou l'extension d'un thrombus. Les anticoagulants agissent de manière différente suivant leur cible, on distingue trois types :

- les anticoagulants agissant directement sur la coagulation mais en ciblent la formation de thrombine.
- Les anticoagulants agissant directement sur la coagulation mais en ciblent la formation de prothrombine.
- les anticoagulants oraux directs agissant directement sur certains facteurs de la coagulation. (**Roue, 2017**).

4.1 Anticoagulants naturels

Les plantes médicinales qui possèdent des propriétés anticoagulantes peuvent influencer directement sur l'hémostase et/ou modifier l'action des antithrombotiques. De nombreuses plantes possèdent un effet antiagrégant plaquettaire (par l'inhibition des cyclo-oxygénase, modification des taux de prostaglandine, inhibition de PAF...etc), des propriétés fibrinolytiques ou inhibitrices de la thrombine. (**Christian, 2011**)

Activité anticoagulante

Tableau 5: Certaines plantes médicinales qui agissent comme anticoagulants
(Muhammad ; Abid, 2017)

Plantes	Famille	Origine	Mécanisme d'action
<i>Careya arborea</i>	Lecythidacées	Sous-continent indien	-Prolonger le temps de prothrombine en diminuant les facteurs de coagulation.
<i>Gloriosa superba</i>	Lilacées	Afrique du sud	-Réduire la formation de caillot de fibrine.
<i>Jatropha forficata</i>	Eurphorbiacées	Amérique	-Prolonger le temps de coagulation.
<i>Porana volubilis</i>	Convolvulacées	Sibérie	-Améliorer l'inhibition de thrombine.
<i>Synclisia scabrida</i>	Menispermacées	Europe	-Prolonger le temps de prothrombine.
<i>Allium sativum</i>	Gracilariacées	Afrique du sud	-Diminuer le TXB dans le sérum.
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberacées	Asie du sud	-Inhiber la formation des caillots.

4.2 Anticoagulants oraux

Ce sont des produits de synthèses chimiques dérivés de la coumarine et ont des cibles spécifiques. (Myers ; Lyden, 2019).

- Héparine

Les héparines sont constituées d'une structure penta saccharidique associée à une chaîne penta saccharidique dont la longueur varie en fonction des héparines. (Roue, 2017). L'héparine est dérivée en deux classes : l'héparine non fractionnée (HNF) et l'héparine fractionnée ou HBPM. (Myers ; Lyden, 2019).

Les HNF ont une action d'inactivation à la fois du facteur II et anti X, alors que les HBPM ont une action essentiellement anti X. (Roue, 2017).

Activité anticoagulante

- Anti vitamines K (AVK)

Les facteurs vitamine K-dépendants (II, VII, X, IX, PC et PS) deviennent actifs dans le foie grâce à l'activité d'une carboxylase qui les rend efficaces pour agir sur la cascade de la coagulation. Cette enzyme a pour cofacteur la vitamine K réduite. Les AVK donc inhibent l'action de cette enzyme. (Roue, 2017).

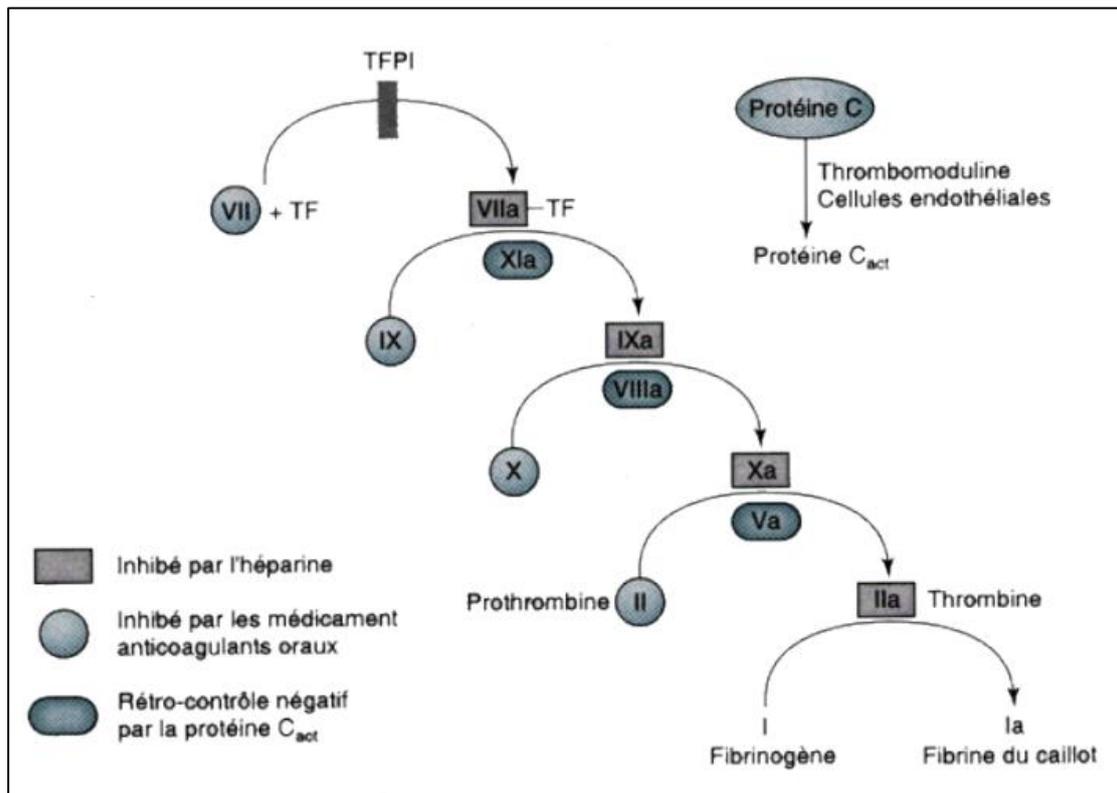


Figure 2 : mécanisme d'action des AVK et des héparines. (Roue, 2017).

Plantes médicinales

1. Généralité

Malgré la technologie moderne et le développement dans le domaine de la médecine, nombreuses personnes utilisent encore des herbes médicinales et les traitent avec elles. L'utilisation de ces plantes à des fins thérapeutiques et leur pouvoir thérapeutiques était connue par nos ancêtres et nous parents de façon empirique. **(Djebbari et al., 2013)**

La plante a toujours joué un rôle de premier plan dans l'alimentation, l'équilibre énergétique, le renforcement du système immunitaire, la prévention et le traitement des maladies de chaque espèce **(Gbodossou, 2012)**.

Les plantes médicinales sont les sources principales des principes actifs utilisés dans le domaine pharmacocinétique pour la production des médicaments et sont impliqués dans les différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles des extraits, solutions aqueuses ou organiques ou même telle qu'elles sont. **(Kalla, 2012)**

1.1 Phytothérapie

Etymologiquement, le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont « phuton » et « therapeia » et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque. La phytothérapie est donc une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologique au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plante. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichie au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle », qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui perpétuent les usages de leurs ancêtres. **(Limonier, 2018)**

1.2 Pharmacopée

La pharmacopée est un recueil, à caractère réglementaire, des matières premières (d'origine végétale, animale et chimique) susceptibles d'entrer dans la composition des médicaments (principes actifs et excipients). La pharmacopée rassemble l'ensemble des monographies permettant de contrôler la qualité d'une matière première. La pharmacopée est un ouvrage réglementaire permettant de définir : les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la composition des médicaments. Les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer le contrôle (**Limonier, 2018**)

Plantes médicinales

- Différentes formes galéniques de phytothérapie

Il existe plusieurs formes (tableau 6)

Tableau 6 : Les différentes formes galéniques de phytothérapie. (Limonier, 2018)

Présentation	Formes galéniques
Formes solides	<ul style="list-style-type: none">◆ Gélules◆ Comprimés
Formes liquides	<ul style="list-style-type: none">◆ Extraits fluides◆ Teintures, alcoolatures, alcoolates◆ Teinture mère◆ SIPF (Suspensions Intégrales de Plantes Fraiches)◆ Macérats glycélinés◆ Digestés huileux et huiles infusées◆ Sirop, eau distillée, élixirs floraux◆ Huiles essentielles
Formes destinées à l'usage externe	<ul style="list-style-type: none">◆ Pommades◆ Liniments◆ Gel◆ Décoction, tisane◆ Huile essentielle

2. *Ginkgo.sp*

2.1 Historique

Le *Ginkgo.sp* est un arbre originaire de la Chine, où il existe depuis des milliers d'années, et un des arbres les plus anciens de la planète. (Line, 2001)

Le *Ginkgo.sp* appartient à la famille des Ginkgoaceae (Coniferophytina autrefois gymnospermes) qui est proche des arbres à épines. Il s'agit d'une plante qui a traversé les âges en particulier en Extrême-Orient septentrional. Des Ginkgoaceae étaient répandues du Groenland jusqu'en Italie au Mésozoïque (-150 millions d'années). L'aire glaciaire l'a fait disparaître en Europe. Arbre originaire de Chine, c'est surtout en Corée et au Japon qu'il a connu un développement ornemental important (temples). C'est le médecin de la compagnie des Indes hollandaises, E. Kampher qui réintroduisit le premier Ginkgo en Europe. (Ghedira et al., 2012)

2.2 Description botanique

Seul représentant de la famille des Ginkgoaceae, *Ginkgo.sp* est un grand arbre dioïque pouvant atteindre 30 à 40 m de haut. Il est le seul survivant d'un ordre qui fut largement représenté jusqu'à la fin de l'ère tertiaire. Il est caractérisé par des organes reproducteurs particuliers : les fleurs sont unisexuées. Les fleurs mâles forment des chatons, les femelles sont réduites à un ou deux ovules orthotropes nus. Les ovules sont géminés, sur des rameaux courts en éperon, portés par un long pédicelle. Le fruit est une « drupe » à aspect de prune jaune dont les téguments, en se décomposant, dégagent une odeur désagréable d'acides propionique et butyrique. La feuille comprend un pétiole de 4 à 9 cm et un limbe en éventail, habituellement bilobé, de couleur vert foncé à vert jaunâtre, d'aspect strié très caractéristique. La nervation est dichotomique : les deux nervures parcourant le pétiole se ramifient dans le limbe en deux branches égales. Les graines sont souvent solitaires à l'extrémité de la radicule, de 2.5 cm de diamètre environ, à enveloppe externe charnue à odeur nauséabonde et à enveloppe interne indurée. (Ghedira et al., 2012)



Figure 3 : Feuilles de *Ginkgo.sp* (Ghedira et al., 2012).

2.3 Classification systématique

Tableau 7 : Classification de l'espèce *Ginkgo.sp* (K. Ghedira et al., 2012)

Règne	Plantae (végétale)
Division	Tracheophyta (plantes vasculaires)
Subdivision	Spermatophytina (phanérogames)
Infra division	Gymnospermae
Classe	Ginkgoopsida
Ordre	Ginkgoales
Famille	Ginkgoaceae
Genre	<i>Ginkgo.</i>
Espèce	<i>Ginkgo sp.</i>

2.4 Composition chimique

2.4. Flavonoïdes

Les feuilles de *Ginkgo.sp* contiennent une vingtaine d'hétérosides de flavonols ainsi que des flavones dimérique .Leur teneur est variable suivant les feuilles et suivant la période de l'année. Les flavonoides possèdent des vertus antioxydantes en piégeant les radicaux libres (radical hydroxyle, superoxide, peroxy) et en diminuant la peroxydation lipidique (Figure 4). (Mingeon, 2014)

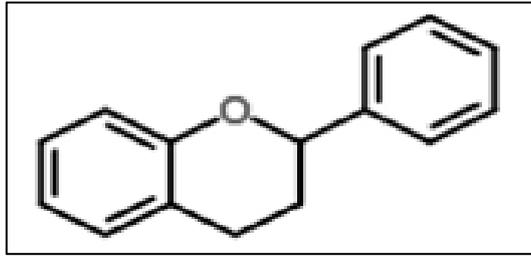
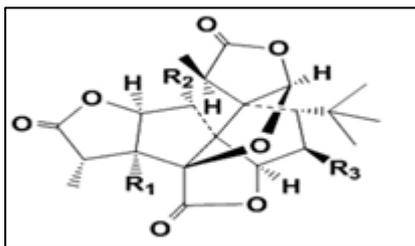


Figure 4: structure chimique des flavonoïdes (Mingeon, 2014)

2.4.2 Composés terpéniques

Le ginkgolide B est un puissant inhibiteur du PAF (Platet Activating Factor), médiateur impliqué dans nombreux processus tels que l'agrégation plaquettaire, la formation de thrombus ou encore l'allergie. Les ginkgolides exercent également une activité anti-inflammatoire (Figure 5). (Mingeon, 2014)



	R1	R2	R3
Ginkgolides A	OH	H	H
Ginkgolides B	OH	OH	H
Ginkgolides C	OH	OH	H

Figure 5 : Structure chimique du diterpènes (Ginkgolides). (Mingeon, 2014)

2.4.3 Lactone sesquiterpénique

Ils sont attribués aux bilobalides des vertus protectrices sur les fonctions neuronales notamment grâce à leur capacité à réduire l'œdème cérébrale. D'autre part, les bilobalides limitent la formation de thrombus ce qui contribue à une protection contre l'hypoxie cérébrale. (Figure 6). (Mingeon, 2014)

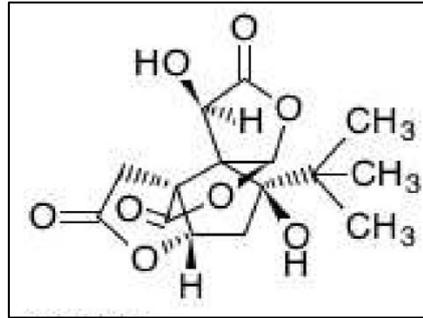


Figure 6 : Structure chimique de la lactone sesquiterpénique (bilobalides). (Mingeon, 2014)

2.4.4. Constituants secondaires

Stérols, alcools et cétones aliphatiques, sucres simples, polysaccharides, caroténoïdes (β et γ -carotènes), acides aminés, acide benzoïque. (Mingeon, 2014)

2.5. Utilisation traditionnelle

La médecine traditionnelle chinoise emploie la graine comme expectorant et sédatif. Elle serait aussi vermifuge, digestive et antagoniste de l'alcool. L'extrait fluide de la semence est réputé tuberculostatique et antibiotique. Les noyaux des fruits du *Ginkgo.sp* à odeur très désagréable activent la digestion. (Ghedira et al., 2012)

2.6. Propriétés pharmacologiques

2.6.1. Effet vasorégulateur

Le *Ginkgo.sp* contribue à augmenter le débit sanguin, et ses effets ont été étudiés chez des patients atteints de maladie vasculaire périphérique. (Line, 2001)

Les extraits de *Ginkgo.sp* sont présentés comme étant vasorégulateurs, C'est-à-dire qu'ils induisent à la fois une vasodilatation des artérioles et une vasoconstriction veineuse. D'autre part, ils renforcent la résistance capillaire. Les extraits de *Ginkgo.sp* ont également montré un intérêt dans le traitement symptomatique de la claudication intermittente dans les AOMI de stade II. (Mingeon, 2014)

2.6.2. Effet anti-plaquettaire

Le *Ginkgo.sp* exercerait également une activité antiplaquettaire. Compte tenu de cette gamme d'effets bénéfiques, ils sont utilisés le ginkgo pour soulager diverses affections, notamment l'insuffisance cérébrale, les acouphènes, le vertige, la claudication et la démence. (Line, 2001)

Les extraits de feuilles de *Ginkgo.sp* présenteraient un intérêt dans l'insuffisance circulatoire cérébrale aigue ou chronique. En augmentant la circulation cérébrale. (Mingeon, 2014)

2.6.3. Effet protecteur des fonctions neuronales

Ginkgo.sp responsable d'une réduction de la mort cellulaire neuronale induite par la substance β -amyloïde (substance néfaste pour le système nerveux central). Il protège également contre la toxicité neuronale induite par l' H_2O_2 ou par l'accumulation d'espèce réactive de l'oxygène.

Le bilobalide réduit l'œdème et l'aire infarctique du tissu cérébrale. Il protège contre l'hypoxie par la destruction des phospholipides et par l'activation de la phosphorylase A_2 induite par le N-méthyle-D-aspartate (NMDA). Il est aussi responsable d'une augmentation de l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique. Les ginkgolides contribuent à la protection contre l'hypoxie cérébrale en limitant la formation de thrombose et en améliorant la rhéologie dans les compartiments lésés. Ils exercent un effet d'activation des astrocytes. Par ailleurs ils font améliorer la plasticité et l'excitabilité des synapses et inhibent la synthèse protéique liée au 18 kDa récepteur mitochondrial de type périphérique aux benzodiazépines et la synthèse de corticostérone liée à la stimulation par l'ACTH.

L'extrait aqueux de feuilles de *Ginkgo.sp* inhiberait les monoamines oxydases (MAO A et B). (Ghedira et al., 2012)

2.7. Activités biologiques de *Ginkgo.sp*

Asim et al., 1999 ont montré que l'extrait éthanolique de *Ginkgo.sp* a inhibé l'agrégation plaquettaire dans le plasma riche en plaquettes, dans les plaquettes qui sont filtrées sur le gel et dans le sang total d'une manière dose-dépendante induit par l'ADP et le collagène, ainsi ils ont réduit la production de TXA2 induite par le

collagène et l'ADP dans le plasma riche en plaquettes. De plus, les faibles concentrations d'extrait de *Ginkgo.sp* ont inhibé l'agrégation du sang total induite par l'ADP par rapport à celles utilisées pour le plasma riche en plaquettes ou les plaquettes filtrées sur le gel. Cependant, aucune corrélation n'a été observée entre l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et la diminution de la synthèse de TXA₂. L'incubation du plasma riche en plaquette avec l'extrait de *Ginkgo.sp* a augmenté les niveaux d'AMPc aux niveaux des plaquettes, ce qui est connu pour inhiber l'activation des plaquettes en abaissant les niveaux intracellulaire de Ca²⁺. Comme résultat L'extrait de *Ginkgo.sp* a inhibé l'agrégation plaquettaire, à la fois dans le plasma riche en plaquettes et le sang total, et peut donc être potentiellement utilisé comme agent thérapeutique antiplaquettaire oral.

Oyama et al., 1996 ont montré que l'extrait de *Ginkgo.sp* est un agent potentiel pour protéger les neurones soumis à un stress oxydatif induit par le peroxyde d'hydrogène.

3. Matricaria

3.1 Synonymie taxonomique

- *Matricaria patens* Gilib.
- *Chamomilla chamomilla* (L.) Rydb.
- *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert.
- *Matricaria chamomilla* L.
- *Matricaria suaveolens* L. (Ghedira et al., 2009).

3.2 Situation botanique de l'espèce

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Famille : *Asteraceae*
- Tribu : *Anthemideae*
- Genre : *Matricaria*
- Espèce : *Matricaria .sp* (Ghedira et al., 2009).

3.3 Origine et culture

Dénommée « camomille allemande » en raison de l'intérêt que lui portent les populations d'Europe centrale où elle est abondante, elle croît également en Europe du Sud en Turquie et couvre d'importantes étendues dans presque toute l'Europe, l'Amérique du Nord et l'Australie. La drogue provient de cultures notamment en France, en Argentine, en Egypte, en Bulgarie, en Hongrie et dans une moindre mesure en Espagne, en ex-Tchécoslovaquie et en Allemagne. (Goetz et al., 2012).

La camomille allemande tolère de nombreux types de sols, mais elle préfère un sol sablonneux et bien drainé, avec un pH de 7,0 à 7,5 et beaucoup de soleil. Elle ne nécessite pas de grandes quantités d'engrais mais selon les résultats des tests de sol, il faut ajouter de petites quantités d'azote, de phosphore et de potassium avant la mise en terre. (Goetz et al., 2012).

3.4 Description botanique

Les matricaires sont des plantes annuelles mesurant de quelques cm à 1m de hauteur. La tige est souvent dressée rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles sont très divisées, en lanières. Les fleurs tubulaires sont jaunes et situées au centre et les fleurs ligulées sont blanches et situées à la circonférence du capitule. Souvent très odorantes, les fleurs sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Les fruits est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué. **(Petitet, 2016).**

3.5 Composants chimiques de la plante

3.5.1 Flavonoïdes

Représentent 8% de la plante séchée. Plus de 30 composés ont été identifiés, parmi lesquels des flavones comme des glucosides de l'apigénine, et des flavonols comme la quercétine ou l'isorhamnéthine glycosylées. **(Petitet, 2016).**

3.5.2 Mucilages

Représentent 3 à 10 % de la plante séchée. Formés de polysaccharides issus de la polymérisation du rhamnose et du galactose (rhamnogalacturonane) et des polymères de fructose de type inuline. **(Petitet., 2016).**

3.5.3 Huiles essentielles

Représentent 0,24 à 2 % de la plante séchée. Les capitules les floraux sont les plus riches et le rendement est de 4 ml par kg de fleurs. L'huile est de couleur bleu foncée du fait de la présence de chamazulène qui n'est pas présent naturellement mais formé lors de la distillation à partir de la matricine. Les produits majoritaires dans l'huile essentielle sont l'alpha-bisabolol et ses oxydes A et B et l'oxyde d'alpha-bisabolone et d'autres composés d'importance seront les siro-ethers et du bêta-farnésène. **(Petitet, 2016).**

3.5.4 Autres composants

Choline (0,3%), Coumarines (0,1) et tannins (< 1%) et des acides phénols comme l'acide caféique et l'acide chlorogénique qui sont également retrouvés ainsi que des lactones sesquiterpéniques comme la matricine et la matricarine. Parmi les coumarines d'intérêt ont été identifiées : l'ombelliférone (hydroxy-7-coumarine) et son dérivé, la herniarine (méthoxy-7-coumarine), l'esculétol et le scopolétol. (**Petit, 2016**).

3.6 Activité pharmacologique

Tableau 8 : les différentes activités pharmacologiques de la *Matricaria .sp* (**Goetz et al., 2012**)

Activité	Mode d'activité	Principes actifs
Activité antispasmodique	-Effet carminatif, effet gastrique et intestinal, effet sur les spasmes utérins, effet anti diarrhéique	-Flavonoïdes, l'alpha-bisabolol
Activité anti-inflammatoire	-Effet anxiolytique et antiépileptique, effet hypnotique léger, effet antalgique	-Flavones, apigénine, lutéoline, flavones (inhibition de la phospholipase A, de la cyclo-oxygénase)
Activité antiallergique		-Extrait acétate d'éthyle, huile essentielle
Activité sédatrice	-Inflammations rhinopharyngées, bronchiques et stomatologiques, inhibition des prostaglandines, leucotriènes, histamine, inhibition des superoxydes, fixateur des RL	- Apigénine
Activité antimicrobienne	-Antiseptique, bactéricide	-Coumarines
Augmentation du passage transcutané de molécules		- Alpha-bisabolol
Élimination urinaire des substances liées à un effet sédatif	-Augmentation de l'excrétion urinaire de l'hippurate et de la glycine, et une réduction de la créatinurie	-L'infusion préparée de fleurs de camomille
Inhibition du Cyt P450	- Inhibition d'enzymes du Cytochrome P450	-Chamazulène

3.7 Utilisation traditionnelle

Elle est en effet très cultivée en Europe, en Asie et dans le continent Nord-Américain. Les indications les plus connues de la *Matricaria .sp* :

- Les troubles digestifs (dyspepsie) : paresse d'estomac, ballonnements, digestion difficile.
- Fièvre, névralgies, courbatures grippales, migraines.
- Inflammations, irritations, conjonctivites....

3.8 Effets indésirables et interactions médicamenteuses

Les réactions d'hypersensibilité à la camomille allemande sont très rares. Des réactions croisées peuvent se produire chez des personnes allergiques à ses composants. La *Matricaria .sp* est susceptible d'engendrer des hémorragies multiples, associée à la warfarine, elle interfère également avec la cyclosporine chez les patients ayant subi une transplantation rénale, et malgré l'absence de démonstration de toxicité chez la femme enceinte, il est conseillé de ne pas l'utiliser pendant la grossesse. (Goetz et al., 2012).

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

La *Matricaria .sp* : le récolte de la *Matricaria .sp* a lieu lorsque les fleurs fraîchement ouvertes, mais bien écloses quand même pour distinguer toutes les parties de la fleur. On fait sécher les fleurs en les étalent sur une surface plane, au sec et dans un lieu bien aéré.

Il se multiplie par semis, boutures ou marcottes. On récolte les feuilles durant tout l'été avant qu'elles jaunissent et on les sèche dans des endroits secs et aérés. Cette plante a été obtenue de l'herboriste.

1.2. Matériel animal

Les 16 rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats femelles adultes de souche Albinos wistar, pesant entre 150 et 200. Issus par élevage au niveau de l'animalerie de l'université Frères Mentouri de Constantine, les rats sont logés en 4 cages métaboliques, dans chaque cage regroupée 4 rats.

1.3. Réactifs chimique

Acide sulfurique (H₂SO₄), acide chlorhydrique (HCl), acide acétique, acide salicylique, l'eau hydrogéné, chloroform, méthanol, éthanol, butanol, potassium ferricyanide, solution de phosphate buffer, I₂, K₂HPO₄, KH₂PO₄, SDS, FeCl₃, AlCl₃, KI, FeSO₄, TCA, TBA, DPPH (1,1-diphényl-2-hydrazyl), l'eau distillé, vit C.

1.4. Appareils utilisés

Spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (PERKINELMER), bain Marie (MOMMERT), étuve Universelle de 5 à 220 °C avec ventilation (MOMMERT), agitateur magnétique (AGIMATIC-N), vortex (TECHNOKARTELL), balance, PH mètre (IKA- WERKE), centrifugeuse (SIGMA 2-16 KL), micro pipette.

2. Méthodes

2.1. Préparation de l'extrait aqueux

On a utilisé la partie aérienne de *Ginkgo.sp* et de *Matricaria .sp*, ils sont nettoyées et séchées à température ambiante, ensuite, broyées à l'aide d'un broyeur manuel. 50 g de la poudre de la plante avec 500 ml d'eau distillée mettent sur un agitateur pendant 30 minutes, puis, filtrés à l'aide de coton et de papiers filtres. On les mettre dans l'étuve jusqu'à obtenir d'extraits aqueux secs.

2.2. Tests de mise en évidence

- Mise en évidence des tanins

La présence de tanins est mise en évidence en ajoutant 1ml de chaque extrait et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1 %. L'apparition d'une coloration bleu-noire indique la présence des tanins. (Hamid et al., 2018).

- Mise en évidence des saponosides

Test 1 : dans un tube à essai, introduire 5ml de la solution à tester (les extraits), ajouter le volume de 10ml de l'eau distillée. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur de tube et laisser reposer 15min. la production de la mousse indique la présence des saponosides. (Hamid et al., 2018).

Test 2 : 5ml de l'extrait mélangés avec 2ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marron de la couche d'interface indique la présence des tris hétérosidiques.

- Mise en évidence des flavonoïdes

5ml d'extrait mélangés avec quelques gouttes d' $AlCl_3$ (1%). L'apparition d'une coloration jaune indique la présence de flavonoïdes.

- Mise en évidence des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-kiliani. 1ml de l'extrait avec 5ml d'acide acétique contenant des traces de $FeCl_3$ et 5ml d'acide sulfurique contenant des traces de $FeCl_3$.

Matériels et méthodes

La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun-rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

- Mise en évidence des alcaloïdes sels

Pour réaliser le test, un volume de 1ml de chaque extrait mélangé avec 1ml de réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée). La formation d'un précipité brun, indique la présence des alcaloïdes (**Trease ; Evans, 1989**).

2.3. Dosages des flavonoïdes

1ml de l'extrait mélangé avec 1ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol), incubation pendant 10 min. On mesure l'absorbance à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercitrine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes exprimé en milligramme équivalent de quercitrine par gramme du poids d'extrait. (**Dewanto et al., 2002**).

A. Activité antioxydante

1. Inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode de TBARS

Selon la méthode de **Choi et al (2002)** avec quelques modifications.

Test 1 : dosage de l'acide thioborbutrique-substances réactives (TBARS), pour déterminer l'inhibition de la peroxydation lipidique, en utilisant l'homogénat du foie des rats comme une source riche en lipides.

Préparation d'homogénat : un rapport de 1g de tissu (foie) dans 1ml de la solution KCl (1,15%). Ce mélange est broyé puis, centrifugé pendant 10min.

1ml d'extrait à différentes concentrations mélangé avec 1ml d'homogénat de foie et 0,2 ml FeSO₄ (9mmol/L) et de l'eau distillée à 2,5 ml (utiliser comme contrôle), 0,5 de H₂O₂ (60mmol/L). Et après incubation à 37°C pendant 60 min, 1ml de TCA (20%) et 1ml d'une solution de TBA (0,7%) ajoutés pour arrêter la réaction.

Matériels et méthodes

Le mélange résultant chauffé à 95 °C pendant 15 min, puis centrifugé à 5000 tours pendant 10min. On mesure l'absorbance de la surnageant à 532nm.

L'effet d'inhibition de la peroxydation lipidique a été calculé comme suit :

$$\text{Inhibition rate \%} = (\text{Do control} - \text{Do sample} / \text{Do control}) \times 100 \%$$

Do control : est l'absorbance du contrôle (eau distillée)

Do sample : est l'absorbance de l'échantillon

Test 2 : basé sur la réaction de jaune d'œuf et l'acide thiobarbiturique. Il a utilisé pour mesurer la capacité antioxydante potentielle d'extrait (de chaque plante). L'homogénat de jaune d'œuf composé à une concentration de 10 % dans le KCl (1,15%). Cette homogénéisation se fait pendant 3min. 0,5ml l'homogénat à 10% avec 50µl de FeSO₄. Ce mélange incubé avec des concentrations des deux extraits solubilisés dans le méthanol à 37 °C pendant 1h .

Après incubation, on ajoute 1,5 ml d'acide acétique de 20% (PH= 3,5) et 1,5 ml de 0,8% de 2-thiobarbituric acide (TBA) à 1,1% de dodécylsulfate de sodium (SDS). Le mélange chauffé à 95°C pendant 1h. Après refroidissement, on ajoute 5ml de butanol à chaque tube, agité et centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. l'absorbance du surnageant mesurée à 532nm.

L'inhibition de la peroxydation lipidique (I%) est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$I\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

2. Piégeage du radical hydroxyle

Cette méthode basée sur la capacité des substances à piéger le radical hydroxyle, selon la méthode de Zhong et al ;(2010) avec peu de modification. 1ml de (9 mM FeSO₄) mélangé avec 1ml de 0,3% H₂O₂, 0,5ml de 9mM acide salicylique acide-éthanol solution et 1ml de l'extrait a différentes concentrations. Après incubation de 60 min à 37C° la lecture effectuée à une longueur d'onde de 510 nm. L'effet scavenger du radical hydroxyle est calculé selon l'équation suivante :

Pourcentage d'inhibition OH[•] = (Abs_{control}-Abs_{extrait})/Abs_{control}X100. Ensuite, on est calculé la concentration inhibitrice d'OH[•] d'extrait à partir de l'équation qui détermine

le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle est exprimée en mg/ml et comparé avec celle de l'acide ascorbique. (Ihoual, 2018).

3. Test du pouvoir réducteur (Reducing power)

Ce test permet d'étudier le pouvoir réducteur de l'extrait et il est principalement basé sur la capacité de l'extrait à transférer un électron selon cette réaction : Fe^{3+} -ferricyanide + Extrait \longrightarrow Fe^{2+} -ferricyanide + Extrait et l'apparition de la couleur bleue. L'absorbance mesuré en 700 nm.

On a utilisé la méthode d'Oyaizu. (1986) avec quelques modifications pour mesurer le pouvoir réducteur. Le mélange contient 2,5 ml d'une solution de phosphate buffer (0,2M pH=6,6), 2,5 ml de 1% de potassium ferricyanide et 2,5 ml des différentes concentrations des extraits. Après incubation de 20 minutes dans un bain marie à 50 C°, puis on a ajouté 2,5 ml d'une solution aqueuse de TCA 10% au milieu réactionnelle .Après agitation et centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes, on a ajouté 1,25 de l'eau et 250 μ l de 0,1% FeCl_3 à 1,25 ml de surnageant. La Vit C a utilisé comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en concentration IC50 qui se traduit par la concentration d'antioxydant utilisé pour obtenir une absorbance de 0,5. L'absorbance est déterminée à 700 nm. Les résultats sont comparés avec l'acide ascorbique (Ihoual, 2018).

4. Méthode de DPPH (effet scavenger)

Le but de ce test est de déterminer la capacité anti-oxydante des extraits qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radicale de couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote qui se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune en présence d'un antioxydant. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm pour déterminer le potentiel antioxydant des extraits des plantes utilisées. (Manallah, 2012).

Dans un milieu réactionnel, on a mélangé 50 μ l de chacune des différentes concentrations des extraits utilisés, puis on a incubé avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0,004% pendant 30 minutes, les absorbances sont comparées par rapport à celles obtenues pour le quercetine pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I%) du radical DPPH par les extraits utilisés

est calculé comme suit : $I \% = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$.

A_C : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif) .

A_E : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon) (Ihoual, 2018).

2.4. Traitement des animaux

Les rats sont divisés en 4 groupes de 4 rats, qui sont gardés dans les mêmes conditions. Le traitement a duré 8 jours.

- Groupes des animaux

Groupe 1 : traiter par l'extrait de la *Matricaria .sp* par gavage gastrique, chaque rat reçoit la concentration de 100mg/ml à la raison de 10ml/kg/jr du corps corporel d'animal d'extrait pendant 8 jours.

Groupe 2 : traiter par l'extrait du *Ginkgo.sp* par gavage gastrique, chaque rat reçoit la concentration de 10ml/kg/jr d'extrait pendant 8 jours.

Groupe 3 : traiter par l'Aspégic par gavage gastrique, chaque rat reçoit la concentration de 10ml/kg/jr d'Aspégic (0,1g/ml) pendant 8 jours.

Groupe 4 : témoin, chaque rat reçoit la concentration de 100mg/ml à la raison de 10ml/kg/jr du corps corporel d'animal d'extrait pendant 8 jours.

Prélèvement sanguin

Le sang est prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital et mis dans des tubes contenant de citrate de sodium (0,109M) pour prévenir la coagulation, puis centrifugé les tubes à 3000rpm pendant 10min et récupéré le plasma à l'aide d'une micropipette et l'a placé dans des épindorfs.

B. Activité anticoagulante

L'activité anticoagulante de deux extraits aqueux a été évaluée *in vitro* à l'aide de trois tests : le temps du céphaline-Kaolin (TCK), le taux de prothrombine (TP) et la Fibrinogène (FIB).

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

1. Rendement des extraits

Les rendements d'extraction de deux plantes étudiés sont reportés dans le tableau (9). De ces résultats nous constatons que l'extrait aqueux du *Ginkgo.sp* donne les meilleurs rendements par rapport l'extrait aqueux de la *Matricaria .sp*.

Tableau 9 : Rendement d'extraction de deux plantes.

Les extraits	Le poids des extraits après séchage en (g)	Le rendement en (%)
<i>Matricaria .sp</i>	1,7	3,4
<i>Ginkgo.sp</i>	2,6	5,2

2. Tests de mise en évidence

Les résultats de la composition phytochimique des extraits sont présentés dans le tableau (10).

Tableau 10 : composition phytochimique des extraits de deux plantes

Composés	L'extrait du <i>Ginkgo.sp</i>	L'extrait de la <i>Matricaria .sp</i>
Tanins	+++	+++
Flavonoïdes	+++	+++
sponosides	Test 1 : +++	++
	Test 2 : +++	+++
Composés réducteurs	++	+++
Alcaloïdes sels	+- -	+++

+++ : très abondant ++ : présent modéré +- - : faible

Résultats et discussion

D'après les résultats de la composition phytochimique de deux extraits obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que l'extrait de deux plantes très riche en tanins, flavonoïdes, sponosides et des composés réducteurs, les résultats indiquent aussi que l'extrait de la *Matricaria .sp* riche en alcaloïdes contrairement à l'extrait du *Ginkgo.sp*.

3. Dosages des flavonoïdes

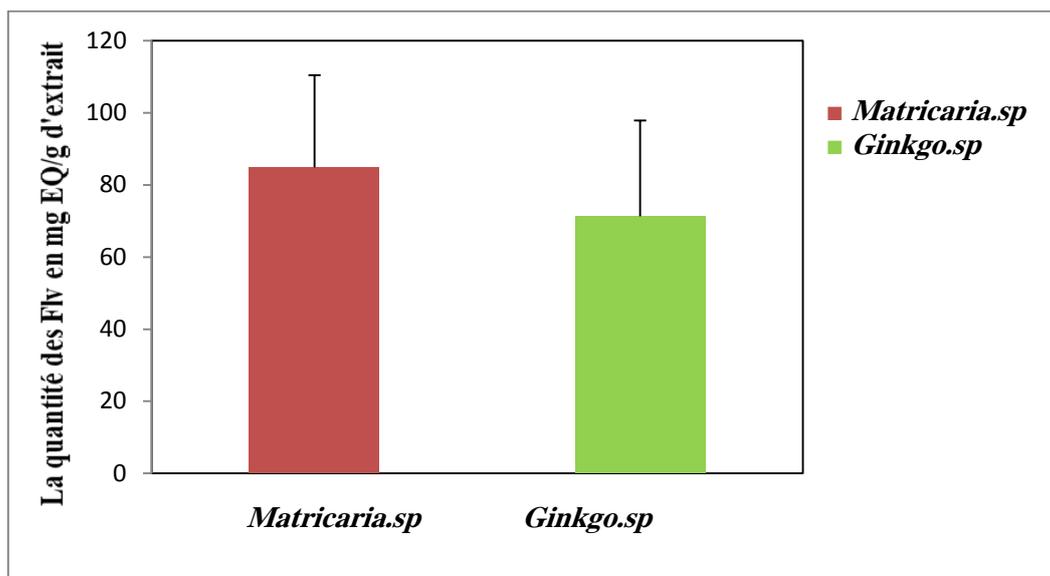


Figure 7 : La quantité des flavonoïdes en mg EQ/g d'extrait.

La figure (7) ci-dessus, représente la quantité des flavonoïdes en mg EQ/g d'extrait. D'après ces résultats, l'extrait de chaque plante contient des flavonoïdes mais avec différentes quantités.

L'extrait de la *Ginkgo .sp* représente la plus basse teneur (71,32 mg EQ/g extrait \pm 56,5) par rapport l'extrait du *Matricaria.sp* qui représente la plus élevée teneur (84,84375 mg EQ/g extrait \pm 26,57).

Nos résultats montrent que les effets antioxydants sont directement proportionnels à la concentration des flavonoïdes dans l'extrait végétal. Ces résultats concordent positivement avec les résultats de **Park et ses collaborateurs (2017)**, qui ont étudié l'activité antioxydante de la *Matricaria .sp*.

A. Activité antioxydante

1. Inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode de TBARS

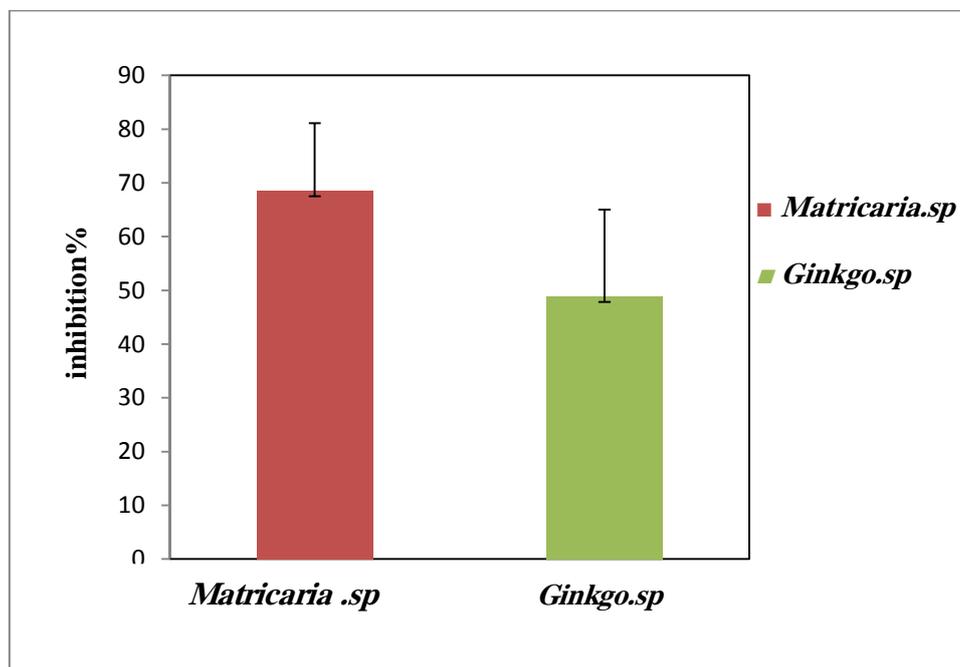


Figure 8 : pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique du jaune d'œuf.

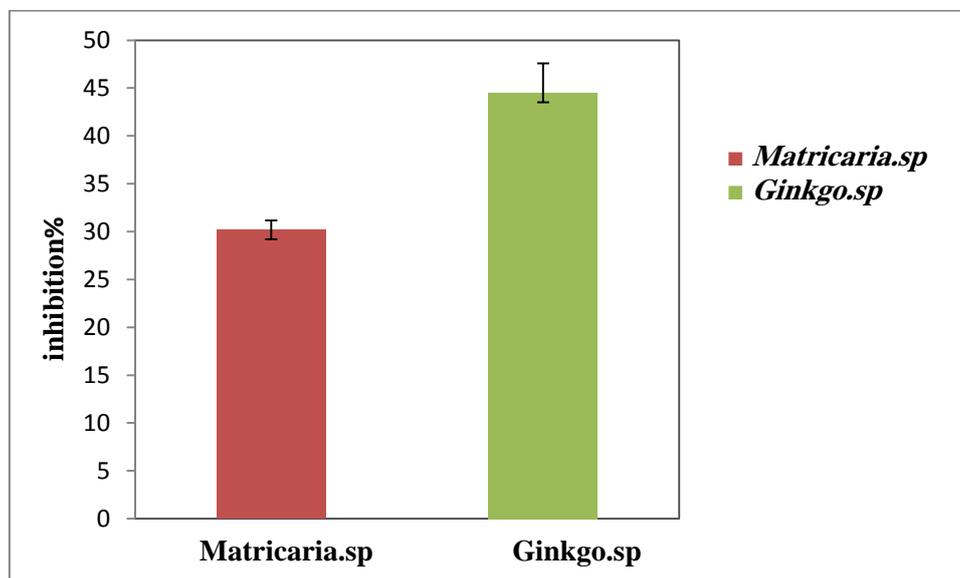


Figure 9 : pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique d'homogénat de foie.

L'extrait de *Ginkgo.sp* a donné des valeurs relativement proches à ceux de *Matricaria .sp* qui a donné un pourcentage d'inhibition égale ($48,85 \pm 16,15\%$) dans la réaction de jaune d'œuf et un pourcentage d'inhibition égale ($44,49 \pm 12,85\%$) dans la

Résultats et discussion

réaction d'homogénat de foie, cela indique que cette plante capable a diminué la peroxydation lipidique et également à un effet anti oxydant .

Kose et al (1995) montrent que l'extrait de *Ginkgo.sp* a diminué la peroxydation lipidique dans la suspension d'érythrocytes humains sains induite par le peroxyde hydrogène par rapport autre anti oxydants hydrosolubles et liposolubles.

Les résultats représentent un fort taux d'inhibition de la peroxydation dans laquelle *Matricaria .sp* à un pourcentage d'inhibition égale ($68,49 \pm 12,62\%$) dans la réaction de jaune d'œuf et un pourcentage d'inhibition égale ($30,21 \pm 0,96\%$) dans la réaction d'homogénat de foie et ces résultats sont en accord avec les résultats d'**Aksoy ; Baysu Sozibilir (2012)** qui ont évalué la peroxydation lipidique induit par CCl4 dans le foie des rats, ils ont montrés que l'extrait de *Matricaria .sp* a un rôle protecteur contre la peroxydation lipidique causés par CCl4.

2. Piégeage du radical hydroxyle

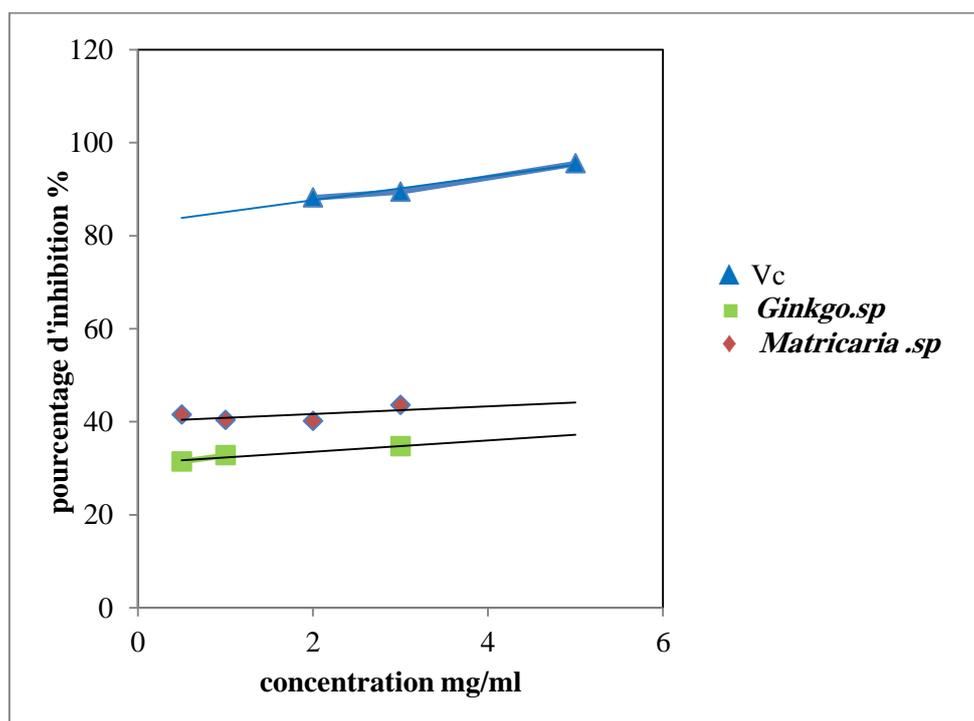


Figure 10 : piégeage du radical hydroxyle des deux extraits et de Vc.

Les résultats obtenus de ce test (Figure 10) montre que les deux extraits ont une forte capacité pour piéger le radical hydroxyle, car les deux courbes sont proportionnelles à la concentration. L'extrait de *Matricaria .sp* a un pouvoir

Résultats et discussion

d'inhibition égale 43,55% par une dose de 3mg/ml, tandis que, l'extrait de *Ginkgo.sp* a un pouvoir d'inhibition égale 34,72 % par une dose 3mg/ml. Mais le pouvoir réducteur des deux extraits est inférieur à celle de Vit C.

Notre étude similaire à l'étude de **Ni et al (1996)** qui ont confirmé l'activité anti radicalaire de *Ginkgo.sp*.

L'étude de **Hilgemann et al (2009)** ont évalué l'activité des extraits de *Cymbopogon citratus*, *Psidium guajava L.*, *Achyrocline satureoides*, *Baccharis genistelloides* et *Matricaria chamomilla*. Le pouvoir inhibiteur du radical hydroxyle est en accord avec notre résultat de la plante *Matricaria .sp*.

3. Test de pouvoir réducteur (reducing power)

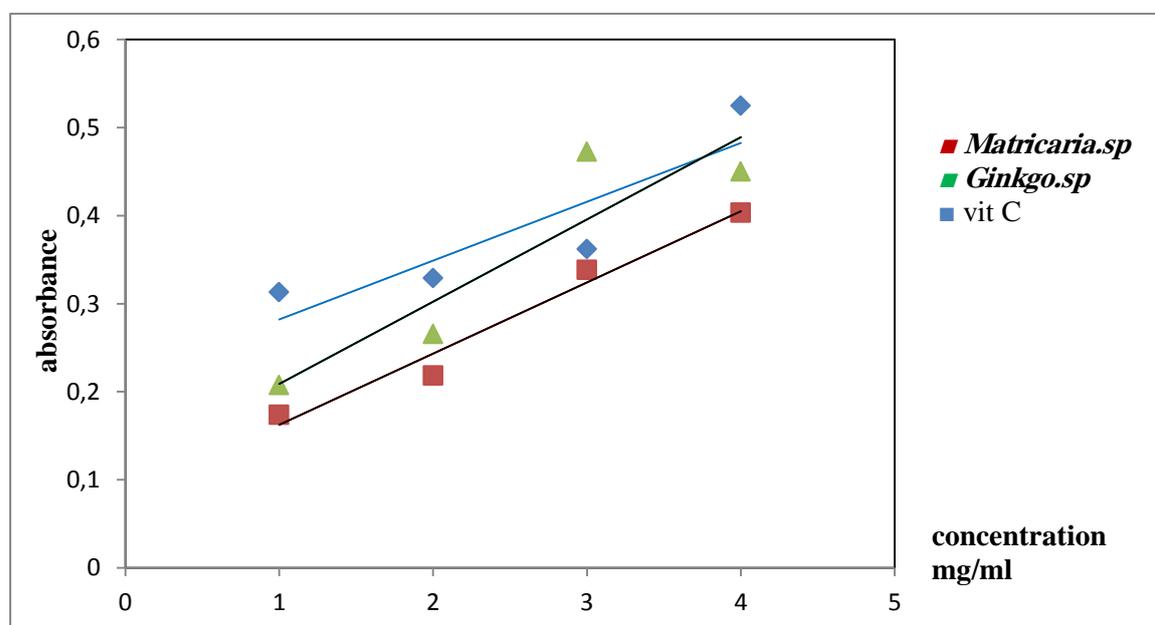


Figure 11 : Pouvoir réducteur de deux extraits aqueux et la vit C.

La figure (11) représente les résultats de ce test sur les deux extraits aqueux.

D'après ces résultats, nous remarquons qu'à une concentration de 1mg/ml, les deux extraits et la vit C présentent des absorbances de 0,174, 0,207, 0,313 pour l'extrait de *Matricaria.sp* et l'extrait de *Ginkgo.sp* et la vit C respectivement.

Lorsque on augmente la concentration, les absorbances augmentent, à une concentration finale 4mg/ml l'extrait de *Matricaria.sp* présente une absorbance de 0,4035, l'extrait de *Ginkgo.sp* 0,45 et la vit C 0,525.

Résultats et discussion

Nous pouvons noter que l'extrait de *Ginkgo.sp* a présenté le plus activité pour réduire le fer par rapport à l'extrait de *Matricaria.sp*, mais nettement inférieur à celle de la vitamine C.

Le pourcentage d'inhibition de pouvoir réducteur est directement proportionnel à la concentration de l'extrait de la *Matricaria .sp* au milieu réactionnel. Ces résultats concordent positivement avec les résultats de **Park et ses collaborateurs (2017)**.

4. Effet scavenger du radical DPPH

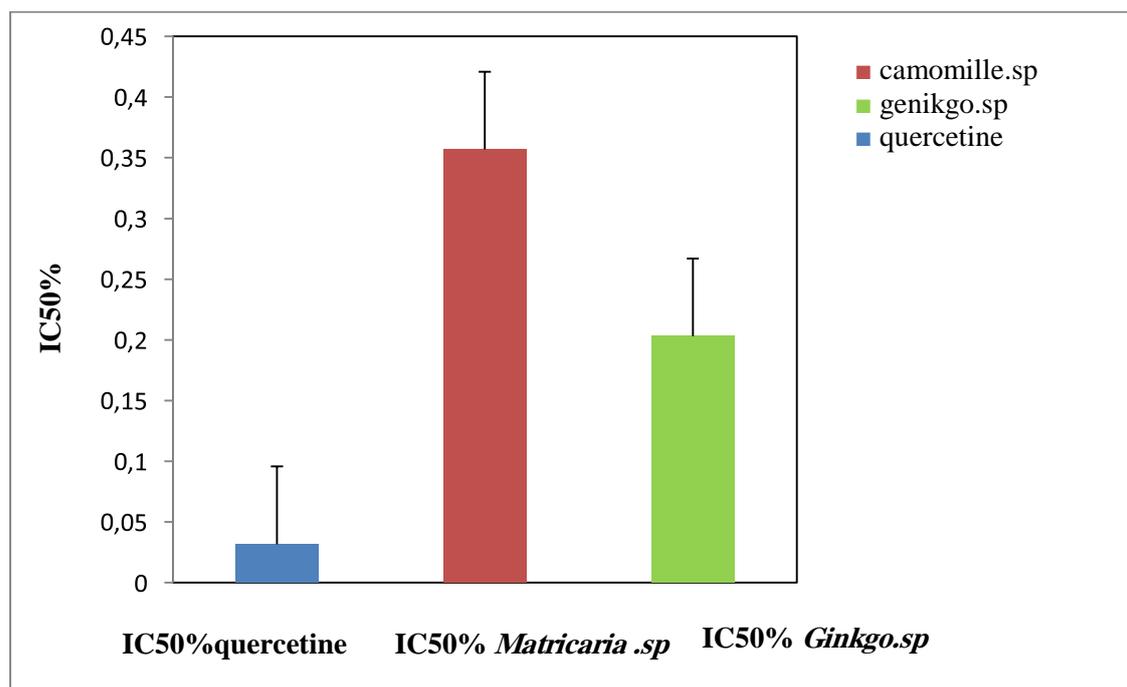


Figure 12 : la concentration inhibitrice à 50% du radical DPPH \cdot de deux extraits et de quercetine.

Nos résultats (figure 12), montrent que les deux extraits et la quercetine possèdent une activité anti radicalaire. On a déterminé la concentration inhibitrice à 50% pour évaluer le pouvoir des deux extraits et la quercetine de piéger le radical DPPH \cdot .

Ces résultats sont similaires à ceux de **Mohamed Hussein et de ses collaborateurs (2012)**, qui ont étudiés l'activité antioxydante de la *Matricaria .sp* et qu'ils ont montré que l'extrait éthanoïque et méthanoïque de cette plante possède un effet de piégeage du radical DPPH \cdot .

Résultats et discussion

La quercétine possède un effet antioxydante le plus élevé avec une faible IC50% ($0,0318 \pm SD$), ensuite l'extrait de la *Ginkgo.sp* avec IC50% ($0,203 \pm SD$), puis l'extrait de la *Matricaria .sp* qui a la concentration inhibitrice 50% la plus élevée ($0,357 \pm SD$) donc l'effet anti radicalaire le plus faible.

B. Activité anticoagulante

1. Temps du céphaline-Kaolin (TCK)

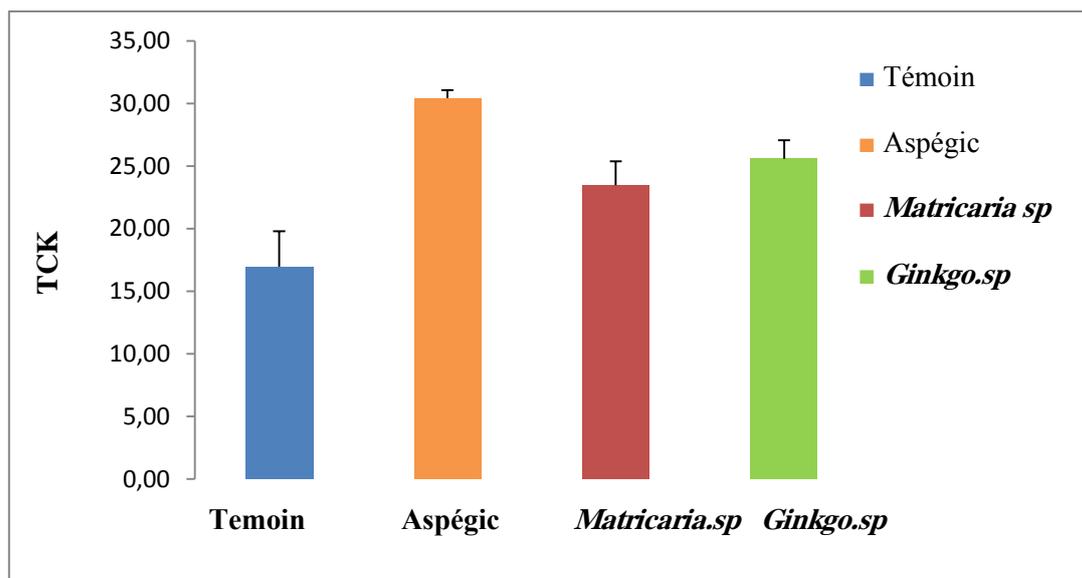


Figure 13: le temps de coagulation (TCK) en présence de deux extraits, de l'Aspégic et dans le témoin.

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus (figure 13) révèlent que les deux extraits des *Matricaria.sp* et *Ginkgo .sp* possèdent une activité anticoagulante et ils sont capables d'allonger le TCK.

Les deux extraits aqueux capables d'exercer un effet anticoagulant sur la voie endogène de la coagulation, estimé par un TCK de 26s pour l'extrait de *Ginkgo.sp* et de 24s pour l'extrait de *Matricaria.sp*.

Guglielmono et al (2002) ont rapporté que l'activité anticoagulante des flavonoïdes peut être due à leur action de la voie endogène de la coagulation.

2. Taux de prothrombine (TP)

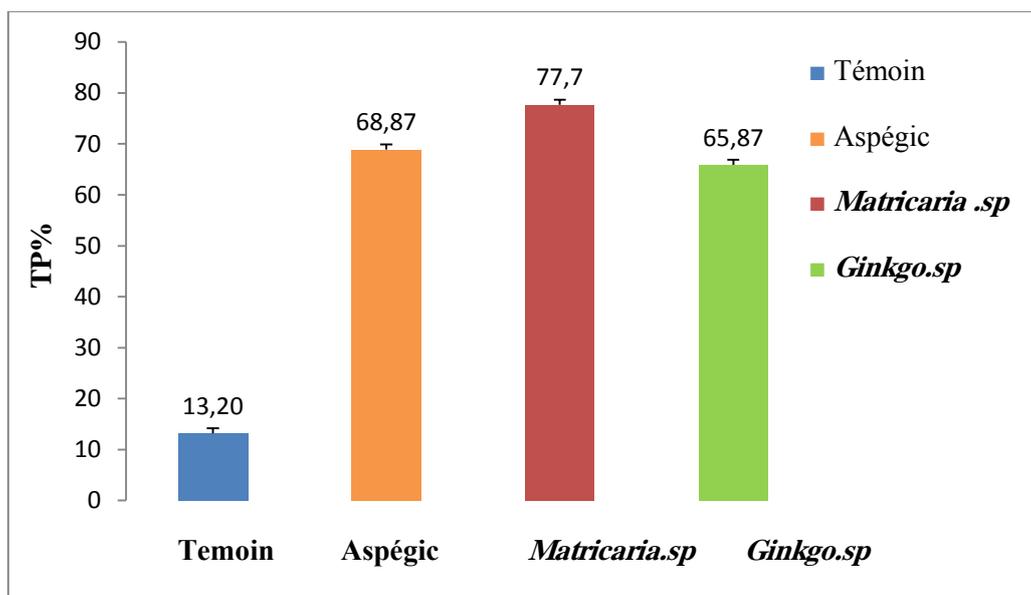


Figure 14 : le taux de prothrombine des extraits, de l'Aspégic et de témoin.

D'après la figure 14 : on note que le test donnant des TP également à 13,20% pour le témoin et 68,32% pour l'Aspégic, 77,2% pour le *Matricaria.sp* et 65,87% pour le *Ginkgo.sp*

Ces résultats de l'activité anticoagulante obtenus révèlent que les deux extraits possèdent une activité anticoagulante et les deux extraits aqueux capables d'allonger le taux de prothrombine par rapport au témoin.

3. Fibrinogène (FIB)

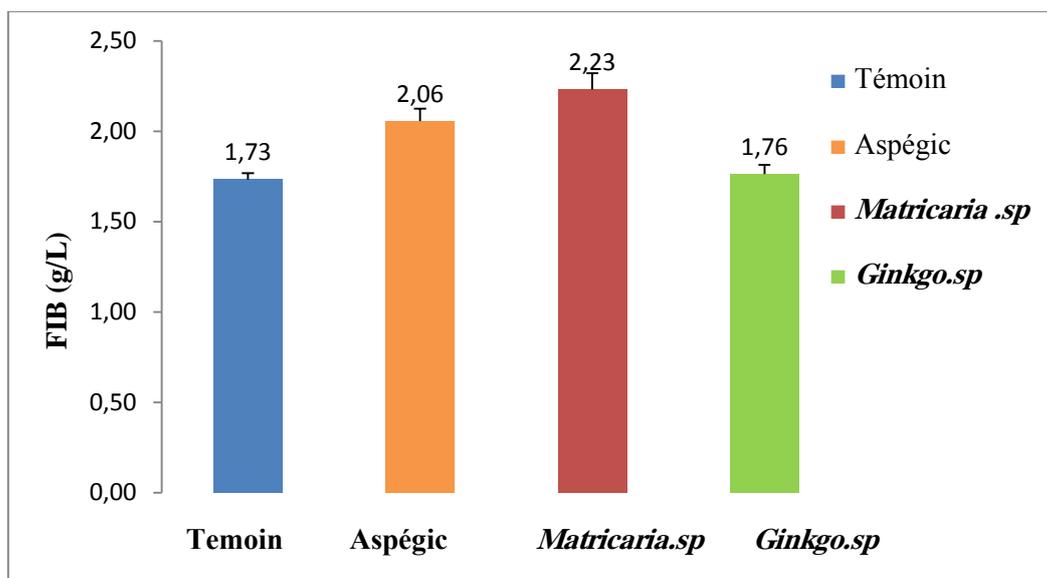


Figure 15 : la quantité de fibrinogène en présence des extraits, de l'Aspégic et dans le témoin.

Les résultats (figure15) de la présente étude montrent que les deux extraits capables d'allonger le fibrinogène par rapport au témoin 1,73% avec des valeurs de 2.23% pour la *Matricaria.sp* et 1.76% pour le *Ginkgo.sp*.

Les résultats obtenus dans ce travail confirment l'importance et l'effet anticoagulants des espèces *Matricaria.sp* et *Ginkgo.sp*, donc ces plantes sont considérées comme une source naturelle de composés anticoagulants d'importance élevée.

Les résultats de ces trois tests de l'activité anticoagulante de la *Matricaria.sp* et le *Ginkgo.sp* concordent positivement avec les résultats de :

1. **Asim et al (1999)** montre que l'extrait de *Ginkgo.sp* a inhibé l'agrégation plaquettaire dans le plasma riche en plaquettes, dans les plaquettes filtrées sur le gel et dans le sang total.
2. **Pierre et ses collaborateurs (2005)** qui ont rapporté la *Matricaria.sp* comme l'une des trois seules plante (l'ortie et la luzerne) sur 28 extraits aqueux testés à présenter une activité antiplaquettaire significative *in vitro*. La *Matrcaria.sp* a inhibé l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP (60%) et le collagène

Résultats et discussion

(84%), ainsi que l'agrégation du sang total induite par le collagène (30%) par rapport aux témoins.

- 3. Chua ; Koh (2006)** qui ont démontré que l'extrait de *Ginkgo.sp* inhibe l'agrégation plaquettaire en augmentant les concentrations de thrombotiques dérivés de l'endothélium. *Ginkgo.sp* isolé de la fraction terpénique de l'extrait démontre une inhibition de PAF.

Conclusion

Conclusion

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de deux activités biologiques des deux plantes. Le contenu ou la teneur en flavonoïdes. Ainsi que l'estimation in vitro des activités antioxydantes et anticoagulantes des extraits de *Matricaria.sp* et *Ginkgo .sp* . Ce couple d'activité biologique a été choisi pour étudier une hypothèse qui explique l'effet antithrombogène et anti radicalaire de ces molécules et leur rôle principal dans la prévention et le traitement des rats sous condition d'essai susmentionné et ses complications graves qui menacent la santé des rats.

La description des extraits montre des différences entre les deux variétés étudiées de point de vue morphologique, pondéral, ainsi que le taux de rendement. Ces différences sont la conséquence du patrimoine génétique et par le site géographique.

La caractérisation quantitative des extraits a révélé un contenu riche par les flavonoïdes, le teneur des flavonoïdes élevés pour un extrait de *Matricaria.sp* de 1,330mg/ml par rapport au *Ginkgo.sp* 0,925mg/ml qui nous amène à dire que le contenu en flavonoïde est faible par rapport des poly phénols pour les deux. Ce résultat indique que les deux extraits apparaissent comme un antioxydant susceptible d'être utilisés contre les radicaux libres.

Une caractérisation qualitative c'est l'activité antioxydante des deux extraits a été évaluée in vitro par le tester de DPPH qui a permis de conclure que les deux extraits présentent une meilleure activité anti radicalaire.

Autre teste in vitro : piégeage du radical hydroxyle, LPO, contre la vitamine C ... sont aussi capables d'inhiber la peroxydation lipidique.

L'activité anticoagulante des extraits a été évalué in vivo en utilisant les tests du temps de céphaline Kaoline (TCK) , le temps de prothrombine (TP), fibrinogène , D-Dimère et le protéine C (CRP) , les temps de coagulation obtenue sur un plasma après le traitement des extraits indiquent qu'elle exerce une grande activité anticoagulante sur les deux voies de coagulation . En effet l'extrait de *Ginkgo .sp* et *Matricaria.sp*

Conclusion

sont capables d'allonger le TP, ainsi ils permettent d'allonger le TCK et le fibrinogène.

La *Matricaria.sp* et le *Ginkgo .sp* possèdent des propriétés biologiques parmi laquelle les activités antioxydantes et anticoagulantes étudiées dans ce mémoire donnant des résultats préliminaires et nécessitent des études complémentaires approfondies.

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

1. Alexandre. LB. Nguemo.D., Pierre Marie. M., Elysée. B. Etude ethnobotanique et photochimique des médicinales utilisées dans le traitement dans des maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2018 ; **12(1)** : 203-216.
2. Aliouat. A., Boulkelia. N. Activité antioxydante des extraits des graines de la plante *Nigella sativa* L. Thèse en master en Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2014.
3. Babulka. P. Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie*. 2007 ; **5** : 137-145.
4. Beeler. D., Rosen berg. R., Jordan. R. Fraction of low molecular weight heparin species and their interaction with antithrombin. *J. Biol.* 1979 ; **254** : 2902-13 .
5. Caquet. R .250. Examens laboratoire : prescription et interprétation (9 em ed) Masson (Paris). 2004 ; **pp** : 388-389.
6. Choi.C.W., Kim. S. C., Hwang. S.S., Choi. B. K., Ahn. H. J., Lee. M. Z., Park., Kim. S.K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plant and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*. 2002 ; **163** : 1161-1168.
7. Christian. N. Les interactions entre les antithrombotiques et les plantes médicinales. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Henri Poinaré, NANCY 1. France. 2011. 137p.
8. Chua. T.K., Koh. H.L. Medicinal Plants as Potentiel Sources of Lead Compounds with Anti-Platelet and Anti-Coagulant Activities. *Medicinal Chemistry*. 2006 ; **6** : 611-624.
9. Defraigne. J. O., Pincemail. J. Stress oxydant et antioxydants. Mythes et réalités. 2008 ; **63**: 10-19.
10. Denis. C. V., wagner. D. D. Platelets adhésion receptors and thier ligands in mouse modeles of thrombosis arterioscher. *Thromb Vasc Biol*. 2007 ; **27** : 728-739.

Références bibliographiques

11. Diane. L., Jeffrey. B.B., A Review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of Chamomile Tea (*Matricaria recutita L.*). PHYTOTHERAPY RESEARCH. 2006 ; **20** : 519-530.
12. Djebbari. R., Fedjidji. K., Sekhri. M. Thé vert, maladies cardiovasculaires et stress oxydatif, Thèse en master d'université Mentouri Constantine. Algérie. 2013.
13. Esmonc. C.T .The protein C pathway chest. 2003 ; **124** : 26- 32.
14. Esmon.C.T. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. J.Biol Chem. 1989 ; **264** : 43-47.
15. Eun-hye. P., Won-Young. B., Su-Jin. E., Kee-tæ. K., Hyun-Dong. P. Improved antioxidative and cytotoxic activities of chamomile (*Matricaria chamomilla*) florets fermented by *Lactobacillus plantarum* KCCM 1163P*. J Zhejiang Uni-Sci B (Biomed & Biotechnol). 2017 ; **18(2)** : 152-160.
16. Filane. E., Toumi. H. Rôle des dérivés réactifs de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux. Revue de rhumatisme. 2012 ; **79** : 387-392.
17. Gbodossou. E. La santé par les plantes Tome 1. Edition Diasporas Noires. 2012. p 5.
18. Ghedira. K., Goetz. P., Le jeune.R. *Ginkgo biloba* (Ginkgoaceae): ginkgo. Phytothérapie. 2012; 194-201.
19. Ghedira. K., Goetz. P., Le jeune. R. *Matricaria recutita L.* Rauschert (*Asteraceae*) : camomille allemande ; matricaire. Phytothérapie. 2009 ; **32** : 316-322.
20. Ghedira. K. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. 2005 ; **4** : 162-169.
21. Goetz. P., Ghedira. K. [Collection phytothérapie pratique] Phytothérapie anti-infectieuse II. *Matricaria recutita*, Rauschert (*Asteraceae*) : camomille allemande, matricaire. Phytothérapie anti-infectieuse. 2012.
22. Guglielmone. H. A., Agnese. A. M., Nunez. M., Susana. C., Caberera. J. I. Anticoagulant effect and action mechanism of sulphated flavonoids from *Flavenia bidentis*. Thrombosis Research. 2002 ; **105** : 183 -188.
23. Haleng. J., Pincemail. J., Defraigne. J.O., Charlier. C., Chapelle. J.P. Le stress oxydant. Rev Med Liege. 2007 ; **62** : **10** : 628-638.

Références bibliographiques

24. Hamid. E., Moncef. B., Assia. B., Hind., T., Rachid., B. Phytochemical screening of medicinal plant : *Mentha spicata* L. American.jiras. 2018 ; 226-233.
25. Hennebelle. T., Sahpaz. S., Bailleul., F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. 2004 ; **1** : 3-6.
26. Hoffeman. M., Momoe. D. M., Roberts. H. R. Activated factor VII activates factors IX and X on the surface of activated platelets : thoughts on the mechanism of action of high -dose activated factors VII. Blood Coagul Firinolysis.1998 ; **9** : 61-S65.
27. Ihoual. S. Effet d'extrait méthanolique de la plante médicinale *Phlomis samia* (الخيطة) sur l'apoptose des cellules cancéreuses HepG2 et MDA MB 468 et sur la cardiotoxicité induite par la Doxorubicine. Thèse de doctorat en Science en Biologie Cellulaire et Moléculaire d'université Mentouri. Constantine. Algérie. 2010.
28. Jacynthe. L., M. Sc., Charles. C., Benoît. L., Simone. L. Les caroténoïdes sériques comme biomarqueurs : une stratégie pour améliorer la validité de l'évaluation alimentaire. Canadian Journal of Dietetic Practice and Research. 2018 ; **Vol 79** : 23-27.
29. Josaine. C., Pierre. C. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydants.2006 ; **13** : 14-29.
30. Kadi. K., Mrah .S., hamli .S., Lekmine.D., Dib. D., Addad. S., Oukeria. Z., gueboudj .I., Hafsaoui . Evaluation of the anticoagulant activity of margins from olivs extraction the Khenchela region. 2020 ; **12(2)** : 634 – 649.
31. Kalla .A. Etude de valorisation des principes actifs de plantes du sud Algérien *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum mudatum*. Thèse de doctorat en sciences d'université : Mentouri Constantine. Algerie.2012.
32. Limonier.A. La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur d la pharmacie, Thèse de doctorat en pharmacie : Faculté de Pharmacie de Marseille. France. 2018.
33. Line. P. Le *ginkgo biloba* et les autres thérapies complémentaires. La revue Canadienne de la maladie d'Alzheimer. 2001 ; 9-11.
34. Lori. A., Kerstin. D., Laran. T., Roland. L., Valeria. C. A fraction of yeast Cu/Zn superoxide dismutase and its metallo-chaperone, CCS, localize to the

Références bibliographiques

- intermembrane space of mitochondria : a physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. 2001 : 1-21.
35. Mam. K. G., Butenas .S., Brummel .K. The dynamics of thrombin formation arteriosler. *Thromb Vasc Biol.* 2003 ; **23** : 17- 25.
36. Manallah. A. Activités antioxydantes et anticoagulantes des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Thèse de Magister en biochimie appliqué d'université : Ferhat Abbas Sétif. Algérie. 2012.
37. Mates. J M., Pery-Gomez. C., Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and humain diseases. *Clin Biochem.* 1999 ; **32** : 595-603.
38. Mingeon. C. La place de la phytothérapie dans la prise en charge de l'insuffisance veineuse : Etude de six plantes médicinales. Thèse de doctorat en pharmacie d'université : Joseph Fourier Faculté de pharmacie. Grenoble.2014.
39. Mohamed Hussein. HR., Mohamed Atef. S., Khaled Abdei-hamed. S., Khaled Ibrahim. K. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil extracts of fennel (*Foeniculum vulgare L.*) and chamomille (*Matricaria chamomilla L.*). *Industrial Crops Products.* 2012.
40. Monique. G A., Dominique. B R., Zohreh. A., Daniel. J. Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. L'activité chimique. 2003 ; 91-95.
41. Muhammad. A., Abid. R. Anticoagulant activity of plant : mini review. *Journal of thrombosis and thrombolysis, A journal for translation, application and therapeutics in thrombosis and vascular science.* 2017 ; **44** : 406-411.
42. Myers. M., lyden. A. A review on the new and old anticoagulants. 2019 volume 38 number 1.
43. Neffati. M., Khatteli. H. Le stress oxydatif et la BPCO : polymorphisme des glutathion-S-transférases et apport de la phytothérapie clinique. 2013 ; **997** : 251-256.
44. Petitet. P. Les matricaires des «camomilles» d'intérêt pour la phyto-aromathérapie. *The Matricaria genus, chamomilles of interest in phyto-aromatherapy.* *Phytothérapie.* 2016 ; **2** : 1-7.
45. Rebbas. K., Boumar. R., Gharzouli. R., Ramdani. M., Djellouli. Y., Alatou. D. Plantes d'intérêt médicinal et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). *Phytotérapie.* 2012 ; **10** :131-142.

Références bibliographiques

46. Roue. E. Accidents hémorragiques sévères sous association de traitement antithrombotiques : Etude épidémiologique rétrospective chez des patients hospitalisés à Longjumeau, Groupe Hospitalier Nord Essonne. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en médecine. Paris : Université Paris Diderot-Paris 7. France. 2017.
47. Serigne. IMD., Alioune. DF., Kady. DB., Abdou. S., Madieye. S., Moussa. S., Amadou. M., William. D., Emmanuel. B. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningü Schumach.* Int. J. Biol. Chem. Sci. 2017 ; **2** : 768-776.
48. Sies. H. Oxidative stress : Oxidantes and antioxydants. Experimental physiology. 1997 ; **82** : 291-295.
49. Valéry. A., Romuald. C., Dragolav. M., Pascal. C., Abderrahim. L. Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxide dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Revue de rhumatisme. 2007 ; **74** : 636-643.
50. Yingang. J., Mpondo Mpondo. E., Tchatat. M., Ndjb. RC., Mvogo Otto. PB., Dibong. SD. Les plantes à alcaloïdes utilisés par les populations de la ville de Douala (Cameron). Journal of Applied Biosciences. 2014 ; **78** : 6600-6619.

Sites Web :

- [i]. [https:// www. Jardinier-malin.fr/camomille.Html](https://www.Jardinier-malin.fr/camomille.Html), Consulté le 03 août 2021.
- [ii]. <http://larodz.chez-alice.fr/plantes/ ginkgo. Html>, Consulté le 03 août 2021.
- [iii]. <http://www.consoglobe.com/bienfaits de la camomille>, Consulté le 16 août 2021.
- [iiii]. <http://www.intechopen.com/chapters/68903>. Consulté le 30 septembre 2021.
- [iiiii]. https://fr.m.wikipedia.org/ wiki/Coagulation_sanguine, Consulté le 30 septembre 2021.

Année universitaire : 2020/2021

Présenté par : KEHILI Khouloud
KORICHI Chahrazed
MERRAD Samia

Activités antioxydante et anticoagulante des extraits aqueux des deux plantes médicinales *Matricaria .sp* et *Ginkgo.sp*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie et santé.

Résumé

Notre étude consiste à évaluer l'activité anti oxydante et anti coagulante des extraits aqueux obtenus à partir de ces deux plantes médicinales *Ginkgo.sp* et *Matricaria .sp*, en faisant l'ensemble de tests de mise en évidence qui révèlent la présence de substance antioxydantes ; parmi lesquels flavonoïdes, sponosides, tanins et composés réducteurs dans les deux extraits, mais les alcaloïdes sont en faibles quantités dans l'extrait de *Ginkgo.sp* par rapport à celle du *Matricaria .sp* et aussi l'analyse qualitative in vitro pour étudier le pouvoir anti oxydant via les tests du piégeage des radicaux libres ,la première méthode de piégeage du radical hydroxyle qui révèle la capacité des deux extraits à piéger et éliminer le radical hydroxyle avec un pourcentage d'inhibition 34,72% pour *Ginkgo.sp* et 43,55% pour *Matricaria.sp*, puis la méthode du pouvoir réducteur dans laquelle IC₅₀ des deux extraits est supérieur à celle de Vit C et donc ils ont un pouvoir réducteur légèrement inférieur à celle de Vit C. Ensuite la méthode de DPPH a montré que *Ginkgo .sp* possède IC₅₀ inférieur à celle de quercetine et il a un fort pouvoir réducteur, mais *Matricaria .sp* possède IC₅₀ supérieur à celle de quercetine et elle a un faible pouvoir réducteur, et le dernier test d'activité anti oxydante est le test d'inhibition de la peroxydation lipidique en utilisant le jaune d'œuf et l'homogénat de foie .Les résultats représentent un fort taux d'inhibition de la peroxydation pour l'extrait de *Ginkgo.sp* qui a donné un pourcentage d'inhibition égale 48,85%dans la réaction de jaune d'œuf et un pourcentage d'inhibition égale 44,49%dans la réaction d'homogénat de foie, aussi l'extrait du *Matricaria .sp* qui a donné des valeurs proches à celle de *Ginkgo.sp*, qui a un pourcentage d'inhibition égale 68,49% dans la réaction de jaune d'œuf et un pourcentage d'inhibition égale 30,21% dans la réaction d'homogénat de foie. D'autre part on a étudié l'activité anticoagulante en faisant les tests de coagulations suivantes TP, TCK, Fibrinogène de sérum des rats traités précédemment par les deux extrais aqueux des plantes utilisées et l'Aspégic, les résultats de TP des rats traités avec *Ginkgo.sp*, *Matricaria.sp* et Aspégic ont un taux élevé par rapport au témoin, alors que les résultats de TCK révèlent que *Ginkgo.sp*, *Matricaria.sp* et Aspégic possèdent une activité anticoagulante à la dose de 100 mg/ml/kg et ils ont capable d'allongé le TCK .Enfin, les valeurs de FIB sont proches l'un de l'autre est ont la capacité a allongé le taux de fibrinogène par rapport au témoin.

Mots clés : *Ginkgo.sp*, *Matricaria. sp*, activité antioxydante, activité anticoagulane, peroxydation lipidique, pouvoir réducteur, Diphénylpicrylhydrazyle, radicale hydroxyle, Fibrinogène, Temps de Céphaline Kaolin, Taux de prothrombine.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie et Environnement.

Jury d'évaluation :

Président du jury : AMRANI. A. (Professeur à UFM Constantine 1).
Rapporteur : IHOUAL.S. (Maitre à conférence B UFM Constantine 1).
Examineur : ZOUAGHI .Y. (Maitre à conférence A UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 12/09/2021