

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abbes Laghrour Khenchela

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master  
Académique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

**Thème**

**Exploration phytochimique et évaluation *in vitro*  
des activités antihémolytique et anticoagulante de  
la plante locale «*Capparis spinosa L*»**

Présenté Par :

- Mordjane Roumaissa
- Riah Soumia
- Ouannassi Fatiha

**Jury de soutenance :**

**Président :** Dr. Zeraib Azzeddine

(M.C.B) Université Abbes Laghrour – Khenchela

**Encadreur :** Dr. Douaouya Lilia

(M.C.B) Université Abbes Laghrour – Khenchela

**Examinatrice :** Dr. Djemil Randa

(M.C.B) Université Abbes Laghrour – Khenchela

**Année universitaire : 2020 - 2021**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# Remerciements

*En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force nécessaire et la patience qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail ;*

*Nous tenons à remercier vivement :*

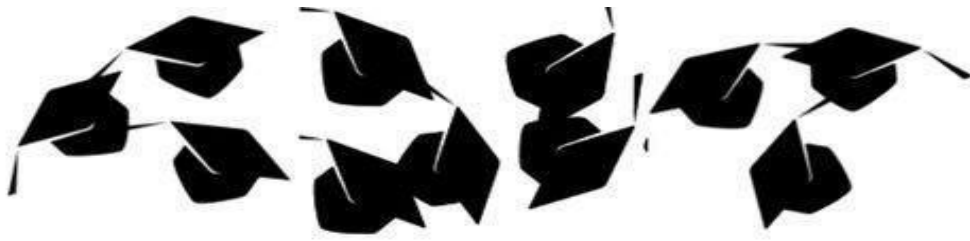
*Dr. ZERIAB A. pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*Dr. DJEMIL R. qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Dr. DOUAOUYA. L. d'avoir accepté de nous encadrer, ça sera pas suffisant pour exprimer toute nos reconnaissances pour la confiance et le grand soutien, pour le temps qu'elle nous a consacré toutefois que cela était nécessaire, pour ses conseils précieux qu'elle nous a prodigué tout le long de notre travail, et pour son aide.*

*Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.*

*Enfin nos remerciements sont dressés plus particulièrement à nos familles et nos amies qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années*



## **DEDICACE**

*À mes chers parents Fateh et Cherifa je vous remercie à chaque moment de bonheur dans ma vie, je prie dieu tout puissant de vous prêter une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*Une pensée à mon grand-père qui me manque , je prie dieu tout puissant de le garder dans son vaste paradis.*

*À ma chère sœur et son mari Mourad et leur petit et mon doux sourire Hamada.*

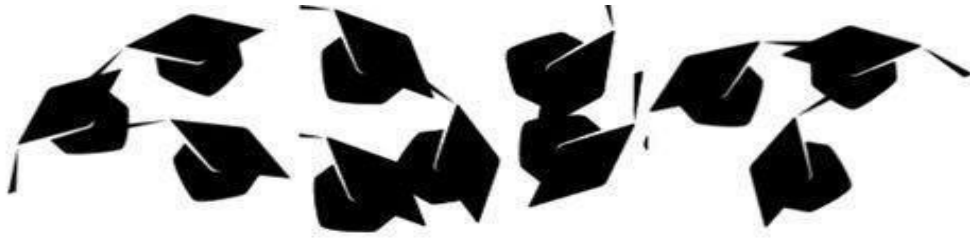
*À mes chers frères qui représentent tous ce qui est beau dans ma vie Hamza et Ali qu'Allah les protèges.*

*À ma belle Samira et son père Noureddine qui m'aide à mon recherche .*

*À toutes mes amies, avec lesquelles ont partagé des bons moments de bonheur et moments les plus difficiles pendant toute la période passée aux études.*

**Mordjane Romaiassa**





## **DEDICACE**

*Je tiens à dédier ce travail : Aux êtres les plus chers à mon cœur dans ce monde , mes parents en hommage à leurs sacrifices . Je leur demande de me pardonner pour tous les soucis que je leur ai causés . Que Allah le repose et le met au paradis . Mon adorable père .*

*A celui qui m'a toujours soutenu au cours de mes études , notamment au cours de mes moments difficiles , à qui j'ai éprouvé un profond respect Ma chère mère .*

*Mon cher frère, Mes sœurs et toute ma famille.*

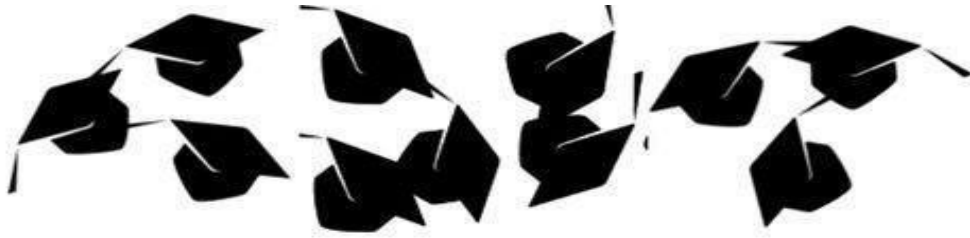
*A mes chères binômes et toute ses familles .*

*A mes chères amies et collègues que j'ai eus la chance d'avoir à mes côtés .*

*Tous mes enseignants , mes collègues de Master .*

**Riah Soumia**





## **DEDICACE**

*Je dédie ce travail A mes parents, Pour vos mains qui ont tant travaillées,*

*Pour votre cœur qui m'a tant donné*

*Ama mère, mon deuxième souffle, qui m'a mis au monde, veillé sur*

*Moi, et qui a su me transmettre ses valeurs et son chaleureux amour*

*Durant toutes ces années qui m'a encouragé et qui a veillé à ce que je*

*Réussisse à mes études, qui m'a permis de donner le meilleur de moi-même et*

*me surpasser. Je t'aime aujourd'hui plus qu'hier mais bien Moins que demain. Que Dieu te  
Garde pour nous.*

*Amon très agréable père, qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est Toujours donné du  
malpour assurer mon bien être. J'espère que je suis à la hauteur de ce qu'il attend de  
moi. Jet'aime papa.*

*A ma deuxième mère qui quoi je fasse je ne rendrai pas ta peur qui dieu te protège*

*A mes chers Brahim et Hamza et à leurs femmes pour son aide précieuse*

*A mes agréables et aimables sœurs Ahlem et Wissam*

*A Les anges de ma vie Sidra et Firas*

*A tous ceux qui nous ont enseigné des connaissances utiles pendant le train d'étudier; aux  
nos profs.*

*A ma proche et chère Romaissa*

*À tous ceux Qui nous ont témoigné*

*A tous qui me connaisse de près ou de loin.*

**Ouannassi fatiha**

## **Résumé**

Dans le but de valoriser les plantes médicinales Algériennes, nous sommes intéressés dans cette étude d'une part, à l'investigation phytochimique des extraits issus d'une de la partie aérienne d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle récoltée de la région de Khenchela (*Capparis spinosa* L), et d'autre part, à la détermination *in vitro* d'éventuels effets antihémolytique et anticoagulant.

Le screening phytochimique réalisé a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes; tanins; alcaloïdes; coumarines et les composés réducteurs. Ainsi, l'étude qualitative par CCM des extraits a révélé une diversité remarquable des composés flavonoïques susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Concernant l'activité antihémolytique, la fraction n-butanolique inhibe significativement l'hémolyse d'une façon plus importante que le contrôle positif avec des pourcentages d'inhibition proches à 100%. De même, les résultats obtenus ont montré un effet protecteur contre la coagulation des hématies (pour la voie exogène ) avec un temps de coagulation de 16,9s contre le contrôle positif à 19,1s.

En conclusion; *Capparis spinosa* L est douée d'une activité antihémolytique et anticoagulante remarquables. De ce fait, il peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications des maladies thrombotiques et cardiovasculaires.

**Mots clés:** anticoagulant, antihémolytique, *Capparis spinosa* L. CCM , Flavonoïdes.

## *Abstract*

With the aim of valorizing the Algerian medicinal plants, we are interested in this study on the one hand, in the phytochemical investigation of the extracts resulting from aerial part of the traditional pharmacopoeia collected from the region of Khenchela (*Capparis spinosa* L), and on the other hand, in the determination *in vitro* of possible antihemolytic and anticoagulant effects.

The phytochemical screening carried out allowed to highlight the presence of flavonoids; tannins; alkaloids; coumarins and reducing compounds. Thus, the qualitative study by Thin Layer chromatography (TLC) of the extracts revealed a remarkable diversity of flavonoid compounds likely to express the sought activities.

Concerning the antihemolytic activity, the n-butanolic fraction significantly inhibits hemolysis in a more important way than the positive control with inhibition percentages close to 100%. Similarly, the results obtained showed a protective effect against the clotting of red blood cells (for the exogenous route) with a clotting time of 16.9s compared to the positive control at 19.1s.

In conclusion; *Capparis spinosa* L. is endowed with a remarkable antihemolytic and anticoagulant activity. Therefore, it can be a natural resource to alleviate the complications of thrombotic and cardiovascular diseases.

**Key words:** anticoagulant, antihemolytic, *Capparis spinosa* L. Thin Layer chromatography (TLC) , Flavonoids.

## ملخص

بهدف تـمـيـن النـبـاتـات الطـبـية في الجـزائر ، اهتمـمنا في هـذه الـدراسة من ناحـية بالوصـف النـوعـي الكـيميائي لمـستخلصات الجـزء العلوي لنبات طبي يستعمل كدواء تقليدي و الذي تم قطفه من منطقة خنشلة و هو نبات الكبار (*Capparis spinosa L*) ، ومن ناحية أخرى بتحديد فعاليته كمضاد لتحلل وتخثر الدم مخبريا.

اتاح الفحص الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه إثبات وجود مركبات الفلافونويد ؛ العفص. قلويدات. كومارينس والمركبات المرجعة. فيما كشفت الدراسة النوعية التي أجريتها بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) للمستخلصات عن تنوع ملحوظ في مركبات الفلافونويد القادرة على التعبير عن الأنشطة البيولوجية المدروسة .

اما فيما يتعلق بالنشاط المضاد لتحلل للدم ، فإن الجزء n- بيوتانوليك ثبط بشكل كبير تحلل الدم بقيم احسن من الشاهد الايجابي مع نسب تثبيط عالية قريبة من 100%. وبالمثل، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تأثيرًا وقائيًا ضد تجلط خلايا الدم الحمراء (للطريق الخارجي) مع وقت تخثر يبلغ 16.9 ثانية مقابل الشاهد الإيجابي ب 19.1 ثانية.

الخلاصة: يتمتع نبات الكبار (*Capparis spinosa L*) بنشاط ملحوظ مضاد لتحلل و لتخثر الدم. لذلك ، يمكن أن يكون مصدرًا طبيعيًا للتخفيف من مضاعفات الجلطات و أمراض القلب والأوعية الدموية.

**الكلمات المفتاحية:** مضاد للتخثر ، مضاد للتحلل ، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة *Capparis spinosa L*، الفلافونويد.

## Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

### *Synthèse bibliographique*

1. <i>Capparis spinosa</i> L .....	3
2. Répartition dans le monde .....	5
2.1. Situation géographique du câprier en Algérie .....	6
3. Usage traditionnel du câprier .....	6
4. Effets biologiques de <i>Capparis spinosa</i> .....	7
5. Composition chimique de la plante .....	9
6. Les métabolites secondaires .....	10
6.1. Les polyphénols .....	10
6.1.1. Les flavonoïdes .....	11
6.1.2. Les tanins .....	11
6.1.3. Les alcaloïdes .....	11
6.1.4. Les saponosides .....	11
6.1.5. Les Coumarines .....	12
7. Les activités biologiques étudiées .....	12
7.1. L'activité antihémolytique .....	12
7.1.1. Généralités sur le sang .....	12

7.1.2. Processus d'hémolyse et les antihémolytiques .....	13
7.1.3. Phytothérapie anti-hémolytique .....	14
7.2. L'activité anticoagulante .....	15
7.2.1. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène .....	15
7.2.2. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène .....	15

## ***Partie expérimentale***

### ***Matériel et méthodes***

I. Matériel .....	16
I.1. Matériel biologique.....	16
I.1.1. Matériel végétal .....	16
I.1.2. Echantillons du sang .....	17
I.2. Les médicaments .....	17
I.3. Réactifs chimiques et instrumentation .....	17
II. Méthodes.....	18
II.1. Etude phytochimique.....	18
II.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique brut.....	18
II.1.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut .....	18
II.1.3. Détermination du rendement d'extraction .....	19
II.1.4. Screening phytochimique .....	21
II.2. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM) ...	22
II.3. Evaluation des activités biologiques <i>in vitro</i> .....	24
II.3.1. Evaluation de l'activité antihémolytique .....	24
II.3.2. Evaluation de l'activité anticoagulante .....	26
II.4. Analyse statistique.....	27

### ***Résultats et discussion***

I. Investigation phytochimique .....	28
I.1. Détermination du rendement d'extraction.....	28
I-2 Screening phytochimique .....	29
I.3. Etude qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM) .....	31
II. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques .....	34
II.1 Evaluation de l'activité antihémolytique .....	34
II.2. Evaluation de l'activité anticoagulante.....	35

<b>II.2.1. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène .....</b>	<b>35</b>
<b>II.2.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène .....</b>	<b>36</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>38</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

**Abs** : absorbance .  
**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium .  
**CaCl<sub>2</sub>** : Chlorure de calcium .  
**CCM** : Chromatographique sur Couche Mince.  
**CCl<sub>4</sub>** : Tétra chlorure de carbone .  
**C27** : Acide mycolipénique.  
**DMSO** : Diméthyl Sulfoxyde.  
**En-B** : Extrait n-Butanolique  
**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-acétique .  
**EMB** : Extrait méthanolique brut.  
**FeCl<sub>3</sub>**: Trichlorure de fer.  
**HCl** : Acide chlorhydrique .  
**HepG<sub>2</sub>** :Ligne cellulaires immortelles du cancer de foie.  
**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide Sulfurique.  
**LDL** : Low Density Lipoprotein.  
**MCF-7** : Ligne de cellules de cancer du sein.  
**MeOH** : Méthanol .  
**NaCl** : chlorure de sodium  
**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Hydrogénophosphate de sodium.  
**NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Dihydrogénophosphate de sodium.  
**ND**: Non déterminé.  
**NF-kappa B** :Nuclear factor.  
**NH<sub>4</sub>OH**: Ammoniaque.  
**PBS** : Tampon Phosphate Saline.  
**Rf** : Rapport frontal.  
**SD** : Standard Déviation.  
**TCK** : Temps de Céphaline Kaolin.  
**TP** : Taux de Prothrombine.  
**TQ** : Temps de Quick.  
**tr** : Tour.  
**UI** : Unité Internationale.  
**UV** : Ultra-Violet.  
**VIH-1** : Humain immunodeficiency virus.  
**% PI** : Pourcentage d’Inhibition.

## Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
<b>01</b>	La plante <i>Capparis spinosa</i> L	<b>4</b>
<b>02</b>	Distribution naturelle du câprier en pays méditerranéens	<b>5</b>
<b>03</b>	Carte géographique de Chechar ( Khenchela ) montrant les lieux de récolte	<b>16</b>
<b>04</b>	Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique brut	<b>18</b>
<b>05</b>	Photo montrant l'extraction liquide – liquide	<b>19</b>
<b>06</b>	Protocole expérimental résumant les différentes étapes du fractionnement des flavonoïdes.	<b>20</b>
<b>07</b>	Photos des Chromatogrammes résultant de l'analyse de la fraction n-butanolique par CCM sur gel de silice à 365 nm	<b>32</b>
<b>08</b>	Photos des Chromatogrammes résultant de l'analyse de la fraction n-butanolique par CCM sur gel de silice à 254 nm .	<b>32</b>
<b>09</b>	Evolution de l'effet antihémolytique de l'En-B en fonction de concentration en comparaison avec un témoin positif.	<b>34</b>
<b>10</b>	Résultat de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène.	<b>36</b>
<b>11</b>	Résultat de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène.	<b>37</b>

## Liste des tableaux

<b>N° du tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Classification de la plante <i>Capparis spinosa L.</i>	<b>4</b>
<b>2</b>	Quelques plantes à activité anti-hémolytique.	<b>14</b>
<b>3</b>	Les coordonnées géographiques du site de récolte	<b>17</b>
<b>4</b>	Systèmes testés pour les analyses de CCM	<b>23</b>
<b>5</b>	Rendement d'extraction de (EMB) et (En-B) de <i>Capparis spinosa L.</i>	<b>28</b>
<b>6</b>	Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait méthanolique brut (EMB) de <i>Capparis spinosa</i> .	<b>29</b>
<b>7</b>	Résultats de CCM de l'En-B	<b>33</b>

# **INTRODUCTION**

# Introduction

---

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité (Iserin, 2001 ; Machiex *et al.*, 2005). Selon l'organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 90% de « la médecine traditionnelle » en Afrique (OMS, 2003).

*«La médecine traditionnelle réunit l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques basées sur les théories, croyances et expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour entretenir la santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, soulager ou soigner des maladies physiques et mentales »(OMS, 2009).*

Par sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara et est auteur de points d'eau. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de la région. Du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs utilisations par les populations locales pour se soigner, certaines plantes se sont imposées dans le monde médicinal (Kholkhal,2014).

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (Hirasa et Takemasa, 1998).

Nombreuses études ont démontré la capacité des composés phénoliques pour protéger les globules rouges contre les stress oxydatifs cette activité s'appelle anti-hémolytique (Valente *et al.*, 2010).

Aussi que les polyphénols jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (Xia *et al.*, 2011).

Durant ces périodes, l'anémie hémolytique reste un problème majeur de santé publique pendant des décennies, malgré des améliorations significatives dans le monde entier de vie, il est

# Introduction

---

répertorié par l’OMS comme l’un des problèmes les plus graves au monde pour lutter cette anémie causée par un hyper-hémolyse, qui est liée au stress oxydatif, la recherche des plantes médicinales ayant des antioxydants naturels reste l’une des meilleures investigations (Zinebi *et al.*, 2017).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. Parmi celles-ci on est intéressé dans la présente étude à la plante de *Capparis spinosa* qui possède plusieurs propriétés biologiques .

C’est dans ce contexte que s’inscrit notre étude dont l’objectif essentiel consiste à explorer la composition chimique en métabolites secondaires et la caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince ainsi que l’évaluation *in vitro* de l’activité anti-hémolytique et anticoagulante de l’extrait n-butanolique du *Capparis spinosa L.* connu en Algérie sous le nom de Kabbar (câprier).

Ce manuscrit s’articule autour de deux parties : Outre l’introduction et la conclusion générale, la première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle, sont abordés des généralités sur la plante sélectionnée, les métabolites secondaires et les activités biologiques étudiées. La deuxième partie est expérimentale divisée en deux chapitres ; le premier présente le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l’extraction, l’identification par CCM et l’évaluation *in vitro* du pouvoir anti-coagulant et anti- hémolytique de notre extrait, le deuxième chapitre expose les résultats obtenus et la discussion.

# ***Synthèse bibliographique***

### 1. *Capparis spinosa* L

Depuis la nuit des temps l'homme utilisait la nature comme source de nourriture et de médicaments. A cet effet, les plantes ont été privilégiées par toutes les civilisations du monde pour développer une pharmacopée traditionnelle en réponse aux maladies qui les touchaient. L'étude des composés d'origine naturelle est toujours porteuse de beaucoup d'espérance pour la recherche de nouveaux médicaments ( Coulerie P.,2012).

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (Hirasa et Takemasa, 1998), nombreuses études ont démontré la capacité des composés phénoliques pour protéger les globules rouges contre les stress oxydatifs cette activité s'appelle anti-hémolytique (Valente *et al.*, 2010). Aussi que les polyphénols jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (Xia *et al.*, 2011).

*Capparis spinosa* L, est une plante de la famille des *Capparidaceae* communément appelée le câprier (El-Kabbar) en Algérie. Le câprier est un arbrisseau de 1m de haut, aux tiges lignifiées à la base, vertes et flexibles plus haut, simples ou parfois ramifiées. Ses feuilles, presque rondes ou ovales, vertes ou glauques, sont alternes, munies à leur base de 2 stipules transformées en épines. Elles ont un court pétiole, un bord entier et une consistance charnue. Ses fleurs ont 4 sépales verts, des pétales blancs, de nombreuses étamines d'un rouge violacé et s'insèrent de façon singulière par un long pédoncule à l'aisselle des feuilles supérieures. Originaire des régions méditerranéennes, le câprier pousse sur les friches et les éboulis, sur les sols secs et caillouteux (Satyanarayana *et al.*, 2008), la classification de cette plantes est comme suit :

## Synthèse bibliographique

**Tableau 1** Classification de la plante *Capparis spinosa* L .

Règne	<i>Planta</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Capparales</i>
Famille	<i>Capparaceae</i>
Espèce	<i>Capparis spinosa</i>

C'est un petit arbuste épineux, prostrné, largement répondu dans le bassin méditerranéen, et dans les milieux sec le long du littoral d'Europe, d'Afrique du nord sur le partout du bassin méditerranéen jusqu'au sud de l'Asie et dans Australie. Le câprier est cultivé pour ses boutons floraux appelés câpres au goût puissant. Il contient plus de 350 espèces utilisées pour différentes fins (alimentation, médecine, ornementation, cosmétique).

Les bourgeons floraux, appelés également câpres, constituent la partie de la plante la plus recherchée pour la consommation humaine. Les fleurs sont de couleur rosâtre, à quatre sépales, 4 pétales et plusieurs étamines groupées en touffes. Le fruit est une baie déhiscente, de 2 à 4 cm de long, de forme ovoïde et d'une couleur verte au début du grossissement et rougeâtre à maturité. (*Satyanarayana et al., 2008*).



**Figure 1** :La plante *Capparis spinosa* L( Ooreka )

### 2. Répartition dans le monde

Le câprier est cultivé dans les pays du bassin méditerranéen. Il est cependant connu également comme plante économique en Australie et il tend à se répandre en Amérique latine. ( Guiseppe Barbera.,1991).

Parmi les pays qui cultivent et produisent le câprier on trouve :l'Italie, l'Espagne, la Tunisie et Le Maroc, considéré comme le principal producteur de câpres dans le bassin méditerranéen. Il exporte la majeure partie de sa production dans des pays européens. La consommation locale étant presque nulle, le câpre n'étant que peu utilisée dans la cuisine traditionnelle. Le mérite d'avoir valorisé dans les années 40, le câprier, alors inutilisé dans une grande partie du pays, semble revenir à un italien de Gènes, Francesco bongiovanni, en 1986, les exportations ont dépassé les 3.000 tonnes. Plus d'un tiers de la production est écoulé sur les marchés italiens ,les quantités exportées en France, aux USA, en Allemagne et en suisse sont, également, importantes ( Guiseppe Barbera ,1991).

En peut aussi trouve le câprier dans tous les pays riverains de la méditerranée. La Grèce, la Turquie ,malte et surtout l'Algérie faisant l'objet occasionnellement le commerce avec l'extérieur. Dans le sud de la France, en particulier en Provence et dans les régions côtières des Alpes maritimes, c'est actuellement une espèce d'une importance économique minime, exploitée ou cultivée de temps en temps pour les besoins des familles des exploitants (Guiseppe Barbera ,1991).



**Figure 2 :** Distribution naturelle du câprier en pays méditerranéen (Loic Rajjou )

### 2.1. Situation géographique du câprier en Algérie

En Algérie, le câprier couvre de vastes surfaces mais de manière éparse. Il a été redécouvert depuis peu de temps par les forestiers qui ont alors engagé l'étude de son développement. Il peut être planté dans les espaces inaptes à l'agriculture, pour la reconstitution végétale des zones où on ne saurait faire pousser des espèces délicates. En effet, le câprier est doté d'un système racinaire très puissant qui mobilise des volumes importants des sous-sol. Cette caractéristique lui confère une forte tolérance à la sécheresse. Il a donc la particularité de se développer sur les sols les plus ingrats et sur de fortes pentes, d'où son intérêt écologique contre l'érosion dans les zones arides et semi-arides. Il est signalé dans les stations les plus xérophiles (Maire, 1965 ; Ozenda, 1983 ; Kadik, 1986).

Lors de la campagne de terrain, deux câpriers phénotypiquement différents peuvent être présents ensemble sur une même station, sans facteur de variation écologique. Des variétés moins épineuses intermédiaires à la variété inermes sont présentes, dont certaines semblent rarement donner des fruits. Les expositions Sud et Sud-est, les sols marneux et schisteux très fragiles, les rochers calcaires concentrent les plus importants peuplements de câpriers. Ils sont également présents sur les pentes argileuses, les terres légères, graveleuses et les sols sablonneux secs. Les tiges, les feuilles et les fruits sont teintés de rouge sur les sols schisteux, couleurs probablement liées aux anthocyanes. Le câprier s'accommode bien des sols les plus mauvais. D'un point de vue climatique, on le rencontre souvent dans les secteurs semi-arides et en second lieu dans le subhumide. Son cycle végétatif et son développement floral exigent un climat sec et chaud (Benseghir-Boukhari et Seridi, 2007).

### 3. Usage traditionnel du câprier

Le câprier est utilisé depuis l'antiquité dans plusieurs pays soit en cuisine, soit en médecine folklorique. En effet, les câpres sont généralement utilisées en cuisine méditerranéenne comme épice, apéritive avec les olives et le fromage ou comme complément à la viande, aux salades, aux pâtes, et à d'autres nourritures. Indépendamment de son utilisation comme condiments, le câprier a été utilisé depuis des siècles dans la phytothérapie traditionnelle, comme antifongique (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999 ; Lemhadri *et al.*, 2007), antileishmaniose (Jacobson et Schlein, 1999 ; Lemhadri *et al.*, 2007), antihépatotoxique (Gadgoli et Mishra, 1999), anti-inflammatoire (Satyanarayana *et al.*, 2008), antihyperlipidémique et hypoglycémiant (Eddouks *et al.*, 2005). Les câpres sont connues dans

différents pays méditerranéens pour leurs propriétés curatives, expectorantes, diurétiques, anti-hypertensives, cataplasmiques et toniques (Satyanarayana *et al.*, 2008).

#### 4. Effets biologiques de *Capparis spinosa*

Le p-méthoxy-benzoïque isolé de la fraction méthanolique, d'extrait aqueux de *Capparis spinosa*, a montré une activité hépato-protectrice (Gadgoli et Mishra, 1999) et une activité antifongique vis-à-vis des dermatophytes (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999). Les feuilles de *Capparis spinosa L* ont été utilisées contre l'arthrite au lieu de l'écorce de racine (Stickel *et al.*, 2000 ; Kloutusos *et al.*, 2001).

L'extrait méthanolique du bourgeon floral protège les phospholipides des membranes cellulaires contre la peroxydation induite par l'exposition aux rayons UV et apporte une protection significative contre des érythèmes cutanées chez l'homme. Bonina et ses collègues (2002) ont montré un effet hypoglycémiant à 20 mg/kg de l'extrait aqueux. Cette activité pharmacologique est indépendante de la sécrétion d'insuline. (Yaniv *et al.*, 1987 ; Eddouks *et al.*, 2004).

Une autre étude a montré que l'extrait aqueux de *Capparis spinosa* à 20 mg/kg présente une activité puissante sur la diminution des triglycérides et le cholestérol plasmatiques dans chez les rats diabétiques et normaux (Eddouks *et al.*, 2005).

Dans une étude sur des cochons d'Inde, la prise d'extrait de *Capparis spinosa*, administré par voie orale, a protégé les animaux contre le bronchospasme induit par la libération d'histamine. Cet effet a été confirmé chez des sujets volontaires : l'application d'extrait de *Capparis spinosa* sur la peau une heure avant celle d'histamine a inhibé l'érythème cutané induit par histamine (Trombetta *et al.*, 2005).

L'effet protecteur de l'extrait méthanolique du bourgeon floral des câpres, était probablement due à un mécanisme indirect (inhibition de la libération de médiateurs à partir des mastocytes ou la production de métabolites de l'acide arachidonique (Trombetta *et al.*, 2005). La câpre est connue en région méditerranéenne pour son emploi dans l'hypertension, dans le traitement des pathologies liées aux lipides sériques et pour ses effets diurétiques (Zeggwagh *et al.*, 2007). L'extrait de câpre est en effet capable de s'opposer aux effets de l'IL-1 bêta, et ce plus fortement que l'indométacine.

## Synthèse bibliographique

---

L'effet anti-inflammatoire au niveau des chondrocytes de *Capparis spinosa L*, mérite une attention particulière. Cette plante contient des flavonoïdes comme le kaempférol et les dérivés de la quercétine, ainsi que des acides hydrocinnamiques qui sont connus pour leurs effets anti-inflammatoires et antioxydants (Panico *et al.*, 2005).

L'extrait éthanolique d'écorce de racine a révélé des effets hépato-protecteurs dose dépendants contre des lésions provoquées par le CCl<sub>4</sub> (Aghel *et al.*, 2007). L'extrait aqueux des fruits a montré un effet diurétique accompagné d'une augmentation de la concentration de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl dans les excréments urinaires du rat (Zeggwagh *et al.*, 2007). L'administration de doses répétées par voie orale des extraits aqueux de *Capparis spinosa* a évoqué un puissant effet antihyperglycémiant et anti-obésité (Lemhadri *et al.*, 2007).

L'extrait méthanolique du bourgeon floral de *Capparis spinosa* peut être utile dans le traitement d'infections à Herpès simplex de type II chez les patients immunodéprimés puisqu'il est doté de propriétés antivirales et immuno-modulatrices (Arena *et al.*, 2008). *Capparis spinosa* possède d'autres activités : anti-Leishmania (Jacobson et Schlein, 1999), antimicrobienne (Mahasneh, 2002) et inhibitrices de la prolifération des fibroblastes et la production du collagène type 1 dans la sclérose systémique progressive (Cao *et al.*, 2008). Une protéine purifiée des grains de *Capparis spinosa*, possède un effet anti-proliférateur des cellules HepG2 (hépatome), des cellules HT29 (cancer du colon) et des MCF-7 (cancer du sein), (Lam et Ng 2008).

Un effet antifongique inhibiteur de la transcriptase reverse de HIV-1 a été trouvé par Lam et Ng (2008). Matsuyama et ces collègues. (2009) ont rapporté que l'extrait de feuilles de *Capparis spinosa* peut stimuler la mélanogénèse d'une manière dose-dépendante sans cytotoxicité en augmentant l'expression de la protéine tyrosinase, soit le potentiel d'être utilisé comme un agent de bronzage ou pour le traitement de la dépigmentation de cheveux.

Sultan et Çelik (2009) ont évalué les effets génotoxiques et antimutagènes du boutons de fleurs sur les cellules L de méristèmes de pointe de racine d'*Allium cepa*. Un retard de croissance, une diminution significative de l'indice et des aberrations chromosomiques ont été observées dans la mitose des cellules. Ces effets sont dose dépendants. Les résultats de cette étude suggèrent que les extraits aqueux du bourgeon n'est pas génotoxique. Cependant, l'étude révèle que l'extrait aqueux de *Capparis* a un potentiel antimutagène contre les aberrations chromosomiques induites (Sultan et Çelik 2009). Enfin, Zhou *et al.* (2011) ont

montré un effet inhibiteur du NF-kappa B par un biflavonoïde extrait des fruits de *Capparis spinosa*.

### 5. Composition chimique de la plante

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *Capparis spinosa* comporte une amalgame de composés actifs dans ses diverses parties.

Les polyphénols et les flavonoïdes sont également présent dans le câprier (Panicoa *et al*, 2005 ; Satyanarayana *et al.*, 2008). Il a été montré que les bourgeons floraux du câprier renferment les flavonoïdes suivants :

la quercétine, la rutine, la quercétine-3-rutinosides, la quercétine-7-O- glucorhamnoside, le kaempférole-3-rutinosides, le kaempférole 3-Orhamnosyl-rutinoside (Inocencio *et al*, 2000, Bonina *et al*, 2002 ; Satyanarayana *et al.*, 2008). La partie aérienne de la plante contient aussi la quercétine 3-O-glucoside, la quercétine 3-Oglucoside-7-O- rhamnoside, la quercetine 3-O-[6''- $\alpha$ -L-rhamnosyl-6''- $\beta$ -D-glucosyl]- $\beta$ -Dglucoside et la quercétine-7-O-D-glucopyranoside- $\beta$ -L-rhamnopyranoside (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Le câprier est également riche en acides hydroxycinnamiques y compris l'acide caféique, l'acide férulique, acide p-coumarique et l'acide cinnamique (Panicoa *et al*, 2005 ; Satyanarayana *et al.*, 2008). Des composés homologues aux composés polyphénoliques en particulier : le cappaprenole-12, le cappaprenole-13 et le cappaprenole-14 ont été isolés de la plante (Satyanarayana *et al.*, 2008). Les alcaloïdes sont aussi présents dans le câprier, ils sont distribués principalement dans les racines et les graines (Panicoa *et al*, 2005 ; Satyanarayana *et al.*, 2008).

La teneur élevée en alcaloïdes a été trouvée dans les racines de la plante où la stachydrine représente 87,43 % des alcaloïdes totaux. Trois alcaloïdes spermidines (la capparispine, la capparispine-26-O- $\beta$ -Dglucoside et la cadabicine 26-O- $\beta$ -D-glucoside hydrochloride) ont été identifiés dans les racines de la plante (Fu *et al.*, 2008). La cadadicine, un nouvel alcaloïde a été isolé du câprier (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Romeo et ses collaborateurs (2007) ont identifiés environ 145 composés volatiles dans le câprier. Les aldéhydes (22.2%) et les esters (21%) représentent les classes chimiques les plus abondantes dans la plante. Les feuilles du câprier renferment principalement les isothiocyanates, les n-alkanes, les terpenoïdes, les phenyl propanoïdes, les aldéhydes, et les

acides gras. Les principaux composants de cette huile sont le thymol (26.4%), l'isothiocyanate d'isopropyle (11%), les 2-hexenal (10.2%) et l'isothiocyanate butylate (6.3%). Les composés volatils des fruits mûrs et des racines de la plante sont présentés principalement par le méthyle isothiocyanate, l'isopropyle isothiocyanate et le sec-butyl isothiocyanate (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Le glucocapperine (90%) représente le glucosinolate majeure des bourgeons floraux du câprier (Panicoa *et al.*, 2005). D'autres glucosinolates comme la sinigrine, la glucoiberine et la glucocleomine ont été également isolées à partir des graines et des feuilles de la plante. En outre, les mêmes auteurs ont rapporté que les indoles glucosinates comme le glucobrassicine, le neoglucobrassicine et le 4-methoxyglucobrassicine sont présents dans les racines de la plante (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Des triterpénoïdes ( $\alpha$ -amyrin), des stérols, des saponines et des faibles quantités de la vitamine E, de  $\beta$ -carotène et de la vitamine C ont été détectées dans la plante (Tesoriere *et al.*, 2007 ; Satyanarayana *et al.*, 2008).

En plus, les câpres contiennent quelques composés minéraux tels que le sodium, le potassium et le phosphore (Giuffrida *et al.*, 2002 ; Özcan *et Aydın*, 2004). Les grains du câprier contiennent aussi des protéines, des lipides et des fibres (Jiang *et al.*, 2007) .

## 6. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires présentent une infinie variété de substances, dont le rôle dans la plante est encore souvent mal connu. Un grand nombre de ces métabolites secondaire présente des propriétés pharmacologique intéressantes par fois exploitées dans un but thérapeutiques, soit après extraction à partir de la plante, (morphine du pavot, quinine de quinquina...etc) soit directement, on utilise alors la plante ou une préparation simple issue de la plante (poudre, teinture, extrait...etc) (Bénédicté, 2007) .

### 6.1. Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés comme l'indique le nom par la présence des plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits de métabolisme secondaires des plantes. (Tapiero *et al.*, 2002). Les polyphénols prennent une importance

croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, et neuro-dégénératives .

### 6.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres à colorer les fleurs et les fruits en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes, et antivirales (Iserin, 2001) .

### 6.1.2. Les tanins

L'une des conséquences directes de la capacité des tanins à complexer les protéines est l'inactivation des enzymes soit directement, par fixation aux sites actifs, soit indirectement par l'encombrement stérique créé par la fixation des molécules de tanins sur l'enzyme. De nombreux tanins présentent des propriétés antioxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions pro-oxydants (Lim *et al.*, 2007). Grâce à leurs fonctions phénoliques, qui ont un fort caractère nucléophile, les tanins sont d'excellents piègeurs de radicaux libres. Ils s'attaquent à l'ADN et perturbent le processus de réplication, induisant des mutations cancérogènes. Ainsi, des activités antimutagènes et anticancéreux ont été attribuées à certains tanins en raison de leur propriété anti-oxydante (Richelle *et al.*, 2001).

### 6.1.3. Les alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés. On les nomme alors alcaloïdes terpéniques et les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat) (Sabrina, 2003).

### 6.1.4. Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former

des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique. Les génines stéroïdiques possèdent un squelette en C27 et six cycles. Les saponosides stéroïdiques sont rencontrés dans de nombreuses plantes, mais ils sont aussi caractéristiques des étoiles de mer. Certains ont servi pendant un temps à la synthèse des stéroïdes. Ainsi la sarsapogénine, provenant de l'hydrolyse du sarsaparilloside (Clark *et al.*, 1987).

### 6.1.5. Les Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H) -1 pyrannone- . (Hamimed, 2009) .Ces molécules sont des composés aromatiques dérivant de l'acide O-hydroxy Zcinnamique, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide orthocoumarinique. (Mansour *et al.*,2009).

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. (Belfadel, 2013).

## 7. Les activités biologiques étudiées

### 7.1. L'activité antihémolytique

#### 7.1.1. Généralités sur le sang

Le sang est un liquide vital biologique circulant dans les artères et les veines sous l'impulsion du cœur. Un individu normal contient 5 à 7 litres du sang dans son corps. Les valeurs normales du sang sont influencées par un grand nombre de facteurs comme l'âge, le sexe, l'activité physique ou l'alimentation (Mohandas and Chasis, 1993). Il est composé des globules rouges, globules blancs et des plaquettes qui baignent dans un liquide appelé plasma. Les cellules en suspension représentent 45% du volume total, ce qui correspond à l'hématocrite. Leur morphologie peut être étudiée sur un frottis coloré au May Grünwald Giemsa (MGG). Le sang irrigue tous les organes et transporte l'oxygène, les nutriments, les hormones et les anticorps pour défendre l'organisme contre les infections (Dudley *et al.*, 1983) .

Les éléments figurés du sang ont des durées de vie limitées ; il existe un équilibre dynamique entre leur production (l'hématopoïèse et la lymphopoïèse) et leur destruction.

L'hématopoïèse est la production des précurseurs sanguins (prolifération, différenciation et maturation) et se déroule dans les organes hématopoïétiques (moelle osseuse chez l'adulte, foie et rate chez l'embryon). La lymphopoïèse comprend la production des précurseurs lymphoïdes qui se passe au niveau de la moelle osseuse. Elle se termine par la maturation des lymphocytes dans le thymus pour les lymphocytes T et par la prolifération des cellules dans les organes lymphoïdes secondaires (Denis, 1830), Il existe plusieurs types cellulaires :

- **Erythrocytes ou hématies ou globules rouges :**

Sont des cellules matures de la lignée érythrocytaire et ont la forme d'une lentille biconcave. Son diamètre est de 7 $\mu$ m. La forme particulière du globule rouge lui permet d'avoir une plus grande surface par rapport à son volume que la forme sphérique, ce qui favorise les échanges d'oxygène. La durée de vie moyenne des globules rouges est de 120 jours (Kozlova *et al.*, 2013).

- **Les globules blancs ou leucocytes :**

Correspondent à des cellules du système immunitaire. Elles jouent un rôle essentiel dans la lutte contre les infections et les cancers. Il existe 3 classes des globules blancs : Les granulocytes, les monocytes et les lymphocytes (Jondal *et al.*, 1972) .

- **Les plaquettes ou thrombocytes :**

Sont des éléments retrouvés dans la circulation sanguine. Elles sont surtout connues pour leur rôle dans la coagulation du sang, et s'activent en cas de lésion vasculaire afin de stopper une hémorragie, leurs durées de vie est de 8 à 12 jours (Borochoy *et al.*, 1977).

Le plasma est la partie liquide du sang, constitué d'eau, de sels minéraux, de protéines et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogènes constitue le sérum (Gadri *et al.*, 2000) .

### 7.1.2. Processus d'hémolyse et les antihémolytiques

L'hémolyse (hémo: sang ; lyse: perturbation) est un phénomène physiologique irréversible qui aboutit à la rupture de la membrane des hématies provoquant la libération des éléments intra-érythrocytaires dans le plasma notamment l'hémoglobine, Ce phénomène est détecté visuellement en montrant une teinte rose à rouge dans l'échantillon après centrifugation ou en mesurant la densité optique de surnageant (hémoglobine) par

## Synthèse bibliographique

spectrophotométrie (Mezzou *et al.*, 2006). L'hémolyse est manifestée par une augmentation des taux sériques en hémoglobine associée à une augmentation du lactate déshydrogénase (LDH), de phosphate et de la créatine kinase (CK) (Ali *et al.*, 2014), et aussi par une diminution du taux d'haptoglobine et d'hémoglobine glycosylée. L'hémoglobine libérée lors de l'hémolyse est dégradée en bilirubine non conjuguée, ou bien sous forme d'un complexe avec l'haptoglobine qui est éliminée rapidement par le foie (Marchand *et al.*, 1980).

Le traitement des anémies hémolytiques passe inexorablement par le traitement des causes de cette anémie. Il y a presque autant de traitements qu'il y a de causes. Un certain nombre de médicaments anti-hémolytiques, substances qui présentent la capacité à retarder ou à inhiber la lyse des globules rouges, sont disponibles. L'acide folique, un complément de fer, des suppléments de vitamine B et des corticoïdes (Solupred, Célétones, Huppomedrol...). Sous forme des comprimés Lorsque la prise en charge débute et en cas d'anémie particulièrement marquée, des corticoïdes à plus forte dose peuvent être administrés par injection (voie intraveineuse) (Bachhy *et al.*, 2015).

### 7.1.3. Phytothérapie anti-hémolytique :

Plusieurs extraits des plantes ont montré des effets anti-hémolytiques. Le tableau 2 : résume quelques plantes à activité anti-hémolytique :

**Tableau 2** : Quelques plantes à activité anti-hémolytique.

Source	Partie	Test utilisé	Effets	Référence
<i>Pandanous odoros pandanus</i>	Feuille	Hémolyse induite par l'ion ferreux	activité anti - hémolytique 83.25 ± 3.66 % pour 3.125 µg/ml	( <i>Thephinalap et al., 2013</i> )
<i>Acalypha indica Acalyphé</i>	Feuille	Hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		( <i>Kadali et al., 2016</i> )
<i>Mentha Longifolia Menthe</i>	Partie aérienne	Hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Effet antihémolytique IC <sub>50</sub> = 951.4 ± 36 µg/ml.	( <i>Magalhães et al., 2009</i> )
<i>Piber betel Bétel</i>	Feuille	Hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Anti - hémolytique 40.6% pour de 5mg/ml	Chakraborty, and Shah, 2011)

## Synthèse bibliographique

<i>Gymnema sylvestre</i> <i>Gymnéma</i>	Fleur	Hémolyse induite par H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	anti - hémolytique IC <sub>50</sub> = 140±29.83µg/ml	(James and Alewo, 2014)
<i>Brun</i>	Grain	Hémolyse induit par un puissant oxydant l'AAPH (2,2'-Azobis 2-amidinopropane dihydrochloride)	Activité antihémolytique 91.7% à 4mg/ml	(Yuan et al., 2005)

### 7.2. L'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des extraits et de leurs principaux constituants a été évalué *in vitro* vis-à-vis des deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène) sur un pool des plasmas normaux déplaquettés et à l'aide de deux tests chronométrique globaux, le test de temps de céphalin-kaolin et le test de temps de Quick (Rouba Lamia, 2012 ).

#### 7.2.1. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène

L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits vis-à-vis la voie endogène coagulation a été réalisée en utilisant le Le temps de céphaline-kaolin ou le temps de thromboplastine partielle activé, un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs II, V, VIII, IX, X, XI et XII de la voie endogène et la voie commune de la coagulation (Rizzo *et al* .,2008).

#### 7.2.2. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène

L'activité anticoagulante des échantillons et de leurs constituants vis-à-vis la voie exogène de la coagulation a été déterminée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui explore les facteurs II, V, VII et X de a voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation (Rizzo *et al* ., 2008). La technique originale a été décrite par Quick en 1935. Son principe consiste à mesuré le temps de coagulation du plasma citraté en présence d'un excès de thromboplastine calcique (Croizat *et al* ., 1968).

# ***Partie expérimentale***

## Matériel et méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objet l'investigation phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antihémolytique et anticoagulante de l'extrait butanolique de la plante médicinale *Capparis spinosa L.* La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie à l'université Abbes Laghrou - Khenchela- pendant le mois de mai 2021 , l'Hôpital Ahmed Ben Bella –Khenchela et l'EPH Hammouda Amer Ain Fakroun.

### I. Matériel

#### I.1. Matériel biologique

##### I.1.1. Matériel végétal

L'espèce sélectionnée *Capparis spinosa L.* a été récoltée de la région Khirane et El Aamra en Avril 2021 (Khenchela)(**Figure3 et tableau 3**) et identifiée par Dr. Zeraieb Azzeddine, Maître de conférences à la faculté de sciences de la nature et de la vie, à l'université Abbés Laghrou - Khenchela.

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, comporte la partie aérienne de la plante récoltée *Capparis spinosa L* qui a été séché à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil pendant un mois puis pulvérisée au broyeur pour obtenir une poudre fine conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé.



**Figure 3 :** Carte géographique de Chechar ( Khenchela ) montrant les lieux de récolte (Google maps ).

**Tableau 3** : Les coordonnées géographiques du site de récolte .

	Localisation	Altitude	Latitude	Longitude	Bioclimatique
Al-Aamra	Checher-khenchela- Algérie	759 m	34°55'13"N	7°01'49"E	Semi-humide et humide dans les hauts plateau
Khirane	Checher-khenchela- Algérie	620 m	34°59'57"N	6°45'25"E	

### I.1.2. Echantillons du sang

Sept échantillons du sang proviennent des sujets volontaires sains et non-fumeurs par prélèvement veineux au pli du coude; l'un de ces échantillons est collecté dans un tube EDTA et les restes sont prélevés dans des tubes citratés . Ces donneurs ayant certifié n'être sous aucun traitement pendant les derniers 15 jours qui ont précédés le prélèvement.

### I.2. Les médicaments

Comme contrôle positif nous avons utilisé deux types de médicaments pour l'évaluation des activités antihémostatique et anticoagulante :

\*« Lovenox » : est un médicament anticoagulant de concentration 2000 UL pour l'évaluation de l'activité anticoagulante .

\* « Dicynone » : est un médicament antihémostatique de concentration 250 mg pour l'évaluation de l'activité antihémostatique .

### I.3. Réactifs chimiques et instrumentation

Dans nos expériences nous avons utilisé plusieurs réactifs et solvants qui sont: acide acétique, méthanol, éther de pétrole, acétate d'éthyle, toluène, n-butanol, dichlorométhane, chloroforme, acide sulfurique, acide acétique glacial, réactif de Wagner, acide formique, acétone, dichlorométhane, FeCl<sub>3</sub> (2%), HCl (2N), NaOH, NH<sub>4</sub>OH (10%), KI, I<sub>2</sub>, NaCl, AlCl<sub>3</sub> (1%), diméthyl sulfoxyde (DMSO), NaCl, Phosphate buffer saline (PBS), Tp (thromboplastine); TCK (céphaline Kaolin + CaCl<sub>2</sub>).

Parmi l'appareillage utilisé : Spectrophotomètre (Spectrum SP-UV 2005), Chambre d'observation UV « 264/365 nm » (VILBER LOURMAT), Bain Marie (nive bath, MEMMERT), Agitateur magnétique (SCIOLOGEX), Vortex (VELP), Balance analytique (OHAUS), balance (KERN PCB), Réfrigérateurs (Liebherr), Plaque chauffante

(LabTech), Agitateur magnétique (Labtech), centrifugeuses (Rotofix 32 A / DLAB), pH mètre (Kit), rotavapeur (Biolabo-Solea 2) et un coagulomètre.

## II. Méthodes

### II.1. Etude phytochimique

#### II.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique brut

300g de la poudre de la partie aérienne de *Capparis spinosa* L sont mises à macérer dans un mélange méthanol/eau distillée (7:3) pendant 24 heures. L'extrait hydro alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Le méthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite via un rotavapeur à une température de 45 °C (Tadeg *et al.*, 2005). L'extrait obtenu a été conservé à -4°C jusqu'à son utilisation.



**Figure 4** : Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique brut (Mordjan *et al.* , 2021).

#### II.1.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut.

L'extrait méthanolique brut est mélangé avec de l'eau distillée bouillante (500ml) et laissé à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, l'extrait brut est épuisé par des extractions liquide-liquide successives par 3 solvants organiques de polarité croissante (éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol)(**Figure 5**). Les différentes étapes de cette extraction sont résumées dans le protocole expérimental (**Figure 6**).



**Figure 5 :**Photo montrant l'extraction liquide – liquide (Mordjan *et al.*, 2021)

### II.1.3. Détermination du rendement d'extraction

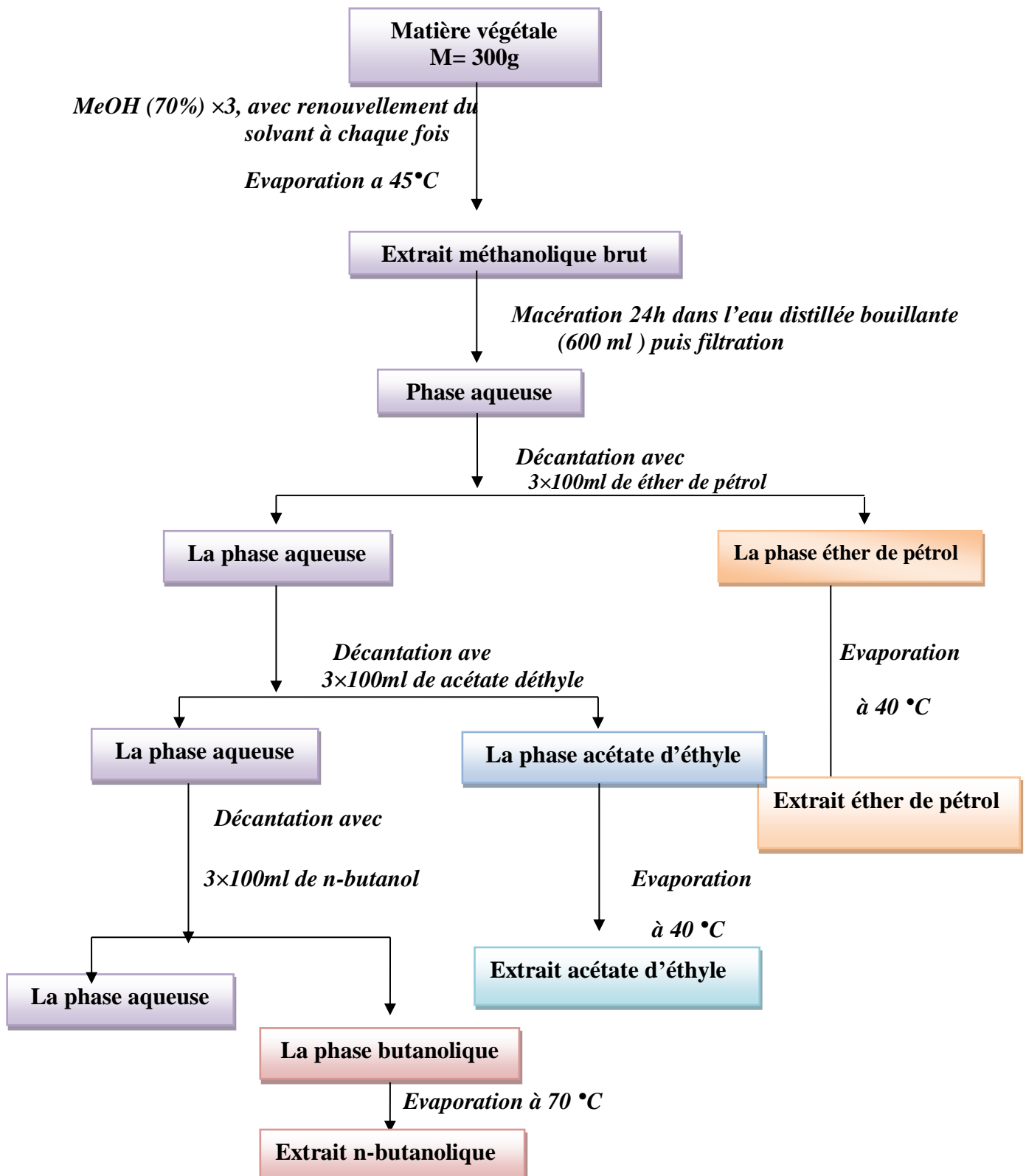
Le résidu ou la poudre obtenus des extraits d'éther du pétrole, d'acétate d'éthyle et de n-butanol sont pesés pour la détermination du rendement selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = (P_s / P_p) \times 100$$

Où :

**P<sub>s</sub>**: Poids de l'extrait sec en gramme (g)

**P<sub>p</sub>**: Poids de la poudre en gramme (g).



**Figure 6 :** Protocole expérimental résumant les différentes étapes de fractionnement des flavonoïdes.

#### II.1.4. Screening phytochimique

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques. Les tests phytochimiques qualitatifs sont réalisés sur l'extrait méthanolique brut du *Capparis spinosa* et les résultats obtenus ont été évalués comme suit : + : Positif ; - : Négatif ; ND : Non déterminé

- **Recherche des tanins**

2 à 3 gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brut méthanolique. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes et le test est considéré positif s'il y a l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (Akrou, A., 2011).

- **Recherche des saponosides**

**Test 1 :** 5 ml de l'extrait brut méthanolique sont mélangés avec 1 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (Karumi *et al.*, 2004).

**Test 2 :** 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (Edeoga *et al.*, 2005).

- **Recherche des flavonoïdes**

5 ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (Benmehdi, 2001).

- **Recherche des coumarines**

L'extrait sec est dissous dans l'eau distillée par chauffage, après refroidissement, la solution obtenue est répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% dans le 2ème tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (Ciulei, 1989; Wagner et Bladt, 1996).

- **Recherche des composés réducteurs**

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5 ml d'acide acétique contenant des quelque fragment de  $\text{FeCl}_3$  et 5 ml d'acide sulfurique contenant des fragments de  $\text{FeCl}_3$  sont ajoutés à 1 ml de l'extrait. La présence des composés réducteurs est confirmé par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (Yrjönen,2004 ).

- **Recherche des alcaloïdes**

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels 5 ml d'HCl (2N) sont ajoutés à l'extrait et chauffer dans un bain marie. Après la filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I<sub>2</sub> solubilisé dans 1 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels (Mohammedi,2006 ).

## **II.2. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM)**

- **Principe**

Cette méthode repose sur la séparation des différents composants de l'extrait en fonction de leur mobilité dans la phase mobile, qui est généralement un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et de leur affinité. La phase stationnaire peut être du gel de silice ou du gel de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier les produits, mais elles fournissent des informations (le rapport R<sub>f</sub> positif et la coloration peuvent conduire à des hypothèses structurelles(Wong *et al.*,2006).

- **Protocole de CCM sur gel de silice**

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques gel de silice, sur support rigide en aluminium 20 / 20 cm dont chaque extrait a été déposé à l'aide d'une micropipette (2  $\mu\text{l}$ ) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque.Les plaques sont ensuite placées dans les cuves de développement, à environ 0,5 cm de hauteur dans lesquelles se trouve la phase mobile.

Différents systèmes de solvants ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations (**Tableau 4**). Pour notre extrait, 11 systèmes de solvants ont été essayés dont 3 systèmes ont été réussis :

**Tableau 4:** représente les systèmes essayés pour les analyses de CCM .

<b>Système</b>	<b>Système solvants</b>	<b>Pourcentages</b>
<b>Systèmes essayés</b>	Acétate d'éthyle/Acide formique /Acide acétique/ Eau distillé	(100/11/11/26)
	Butanol/acide acétique/eau distillée	(4/1/5)
	Acétone/eau distillée	(5/5)
	Butanol/acide acétique/eau distillée	(2/3/5)
	Acétate d'éthyle/acide acétique glaciale/acide formique/eau distillée	(100/11/11)
	Acétone / eau distillée	(5/6)
	Chloroforme / méthanol	(12/8)
	Chloroforme / méthanol/ eau distillée	(0,5 / 12 / 8 )
	Acide acétique /toluène / méthanol	( 3 / 5 / 1 )
	Ehère de pétrole / n-butanol/ acide acétique	( 1 /16/ 32 )
	Dichlorométhane / méthanol	( 86 / 15 )
	<b>Systèmes choisis</b>	Chloroforme / méthanol/ eau distillée
Acide acétique /toluène / méthanol		( 3 / 5 / 1 )
Butanol/acide acétique/eau distillée		(4/1/5)

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 365 nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les Rf.

- **Révélation**

Après développement, les plaques ont été séchées, puis visualisées séparément par une lampe UV à 254 et 365 nm dans une chambre noire. Les rapports frontaux (Rf) des spots issus de la séparation ont été calculés selon le rapport suivant:

$$\mathbf{Rf = d / D}$$

**d:** Distance parcourue par la substance.

**D:** Distance parcourue par le solvant .

Ce facteur permet de mentionner une information préliminaire sur la structure des substances des flavonoïdes. La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité (Zeghad, 2009) :

- Les polyhydroxyflavones ont des faibles valeurs de Rf (0,00-0,25) ;
- Les oligohydroxy et les oligométhoxyflavones ont des valeurs de Rf comprises entre (0,3-0,5) ;
- Les flavanones, les flavonols, méthoxyflavones ont les valeurs les plus élevées de Rf (0,5-0,75).

### **II.3. Evaluation des activités biologiques *in vitro***

#### **II.3.1. Evaluation de l'activité antihémolytique**

L'effet antihémolytique de l'extrait méthanolique brut du *Capparis spinosaa* été réalisé selon la méthode de Yang et ses collègues (Yang *et al.*, 2005):

➤ **Préparation des globules rouges**

5 ml de sang d'une personne saine ont été recueillis dans des tubes traités à l'EDTA, puis centrifugés pendant 5 min à 1000 tr/min.

Le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé trois fois avec du tampon phosphate saline (PBS) (0,2 M et pH 7,4) (Annexe 1) puis remis en suspension dans une solution saline (4 %).

L'opération de lavage a consisté en une série de centrifugation à 1000 tr/min pendant 5 min de la suspension du culot dans le PBS.

Après la dernière centrifugation, 0,4 ml du culot ont été additionné à 9,6 ml de tampon phosphate saline (0,2 M à un pH de 7,4) pour obtenir une solution érythrocytaire d'hématocrite à 4%.

➤ **Préparation de l'extrait**

Différentes concentrations de notre extrait (5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml) ont été préparés dans le PBS.

➤ **Protocole expérimental**

Les différentes étapes de l'essai sont :

- Mettre dans des tubes 1 ml de la solution érythrocytaire préparée avec 0,5 ml de l'EBCS (dilué avec le PBS) à différentes concentration initiales .
- Incuber les tubes à 37 °C pendant 20 min .
- Ajouter 0,5 ml de la solution de NaCl (2 %) dilué avec le PBS au mélange réactionnel
- Centrifuger les tubes à 1000 tr/min pendant 10 min .
- Récupérer le surnageant .
- Lire l'absorbance du surnageant (la fuite d'hémoglobine) de chaque tube à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre .
- L'hémolyse relative à été évalué en comparaison avec l'hémolyse induit par NaCl en absence d'EBCS (contrôle négatif).
- Un médicament antihémolytique (Dicynone 250 mg) dissout dans le tampon PBS et en absence d'EBCS a été utilisé comme contrôle positif
- Chaque série d'expérience a été effectuée en triplicata et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé.

➤ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante (Miki *et al.*, 1987) :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_c - A_{ext} / A_c) \times 100$$

**Ac:** absorbance du control négatif.

**Aext:** absorbance de l'extrait.

### **II.3.2. Evaluation de l'activité anticoagulante**

L'activité anticoagulante de l'EBCS a été évalué *in vitro* vis-à-vis la voie exogène et endogène de la coagulation, et ceci sur un pool des plasmas(Annexe 2) normaux déplaquettés et à l'aide de 2 tests globales et chronométriques, le temps de Quick (TQ) ou nommé également Taux de Prothrombine (TP), et le Temps de Céphaline Kaolin (TCK).

#### ➤ **Préparation de pool plasmatique (standard)**

Le pool plasmatique standard est un mélange de plasma déplaquetté des volontaires sains adultes non traités, dont les TQ et TCK sont normaux et comparables. Le sang de chaque volontaire a été prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur en solution anti-coagulante de citrate de sodium à 3,8% et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 15 min à 2500 tr/min pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.

#### ➤ **Evaluation de l'activité anti coagulante vis-à-vis la voie exogène**

L'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène de la coagulation à été évalué en utilisant un test de coagulation de Quick (TK) ou le temps de prothrombine (TP) qui permet une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (Brummel *et al.*, 2002).

##### **A. Principe de l'essai**

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma pauvre en plaquette en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine). Les facteurs de la voie exogène sont donc activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré. Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'EBCS exerce un effet anticoagulant vis-à-vis cette voie de coagulation.

##### **B. Protocole expérimental**

Effet de l'En-B sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon les étapes suivantes :

10 µl de l'En-B (0,5 mg/ml) préparé dans le DMSO ont été additionné à 90 µl du plasma standard, le mélange a été incubé à 37 °C durant 15 min. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200 µl de thromboplastine pré incubé à 37 °C pendant 15 min. Le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot a été alors mesuré par uncoagulomètre .

➤ **Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène**

Le test du temps de Céphaline Kaolin (TCK) est un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs plasmatiques de voie endogène.

**A. Principe de l'essai**

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma pauvre en plaquette en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium. Le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré. Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'En-B exerce un effet anticoagulant vis-à-vis cette voie de coagulation.

**B. Protocole expérimental**

L'effet de l'En-B sur la voie endogène de la coagulation a été évalué selon les étapes suivantes :

10 µl de l'En-B (0,5 mg/ml) préparé dans le DMSO ont été additionné à 90 µl du plasma pauvre en plaquettes qui est ensuite incubé à 37 °C durant 15 min. Après l'incubation, 100 µl d'une solution de céphaline Kaolin ont été additionnés puis le mélange est réincubé à 37 °C pendant 3 min et la coagulation est alors déclenchée par l'addition de 100 µl d'une solution aqueuse de 0,025 M CaCl<sub>2</sub>.

Le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot a été alors mesuré par coagulomètre.

Un médicament anticoagulant « Lovenox » de concentration 2000 UI dissout dans le DMSO a été utilisé comme contrôle positif.

**II.4. Analyse statistique**

Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne ± l'écart-type.

### Résultats et discussion

Ce travail expérimental, ayant pour objet l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-hémolytique et anti-coagulante de l'extrait n-butanolique issu de la partie aérienne de la plante médicinale «*Capparis spinosa L*» récoltée de Khenchela.

#### I. Investigation phytochimique

##### I.1. Détermination du rendement d'extraction

L'extraction a été préparé à partir de la poudre de la partie aérienne de *Capparis spinosa L* en utilisant la méthode de macération dont le rendement est représenté dans le **tableau 05**.

**Tableau 5** :Rendement d'extraction de (EMB) et (En-B) de *Capparis spinosa L*.

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Abréviation d'extrait	Poids d'extraction en (g)	Rendement en (%)
<i>Capparis spinosa L</i>	300	<b>EMB</b>	65	21.67
		<b>En-B</b>	6.2	2.06

Le matériel végétal utilisé a été extrait à l'aide d'une solution hydro méthanolique pour produire une masse sèche d'extrait brut (EMB) de 65g. Les calculs basés sur le rendement en matière végétale sèche de partie aérienne de la plante où le (**tableau 5**) montre que *Capparis spinosaa* fournit un taux d'environ 21,67 % pour EMB. Dans notre étude, l'extraction a été réalisée par simple macération à une température ambiante, qui est une méthode discontinue dans laquelle le solvant doit être remplacé jusqu'à l'épuisement du matériel végétal (Gazi et al., 2004).

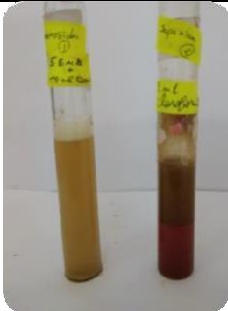

L'extraction des flavonoïdes de *Capparis spinosa L* a été effectuée par les solvants organiques via le fractionnement de l'extrait méthanolique brut; la partition liquide-liquide a permis d'extraire trois fractions : éther de pétrole, acétate d'éthyle et la fraction n-butanolique (**En-B**), cette dernière utilisée pour l'évaluation de son activité biologique. Cette opération de l'extraction a permis d'obtenir un résidu sec (6.2g) qui correspond au rendement de 2.06 %.


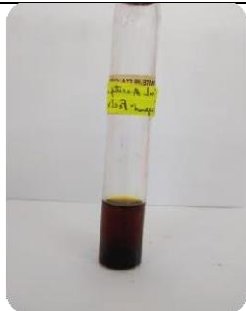


Selon Newman et Markham (1982), Les flavonoïdes que pourraient contenir dans la fraction n-butanol sont les plus polaires (di, tri, et tétra-glycosylés).

### I-2 Screening phytochimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait méthanolique brut à l'aide des réactifs révélateurs spécifiques. Le screening phytochimique permet de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans le tissu végétal dont la détection de ces composés est basée sur des tests de solubilité des composants, des réactions de précipitation et de turbidité, des changements de couleur spécifiques ou une inspection sous lumière ultraviolette.

**Tableau 6:** Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait méthanolique brut (EMB) de *Capparis spinosa*.

Tests phytochimiques		EMB	Observation	
Les saponosides	Test de la mousse	<b>T1</b> : Formation d'une mousse persistante après 15 min		(+)
	chloroforme et l'acide sulfurique concentré	<b>T 2</b> : Apparition d'une couleur rouge-marronne		
Les flavonoïdes	AlCl <sub>3</sub>	Apparition d'une coloration jaune		(+)

<b>Les tanins</b>	FeCl <sub>3</sub>	Apparition d'une coloration bleue noire et un précipité après 3 min		(+)
<b>Les composés réducteurs</b>	Acide sulfurique d'acide acétique FeCl <sub>3</sub>	Apparition de 2 phases: brune- rouge et bleu-verte		(+)
<b>Les alcaloïdes</b>	Wagner	Précipitation		(+)
<b>Les coumarines</b>	NH <sub>4</sub> OH 10%	Présence d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV		(+)

La présence des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique issu de la partie aérienne de la plante est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune intense en contact avec  $\text{AlCl}_3$  (1%). La mise en évidence des tanins est présentée avec une intensité importante d'où sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu-noire. Le test 1 positif des saponosides nous a montré leurs présences par l'apparition d'une mousse, pour le deuxième test la formation d'une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques. Pour les alcaloïdes, l'apparition d'un précipité brun avec le réactif de Wagner, ce révèle sa présence. La fluorescence sous lampe UV à 365nm indique la présence de coumarines. Nos résultats sont en accord avec plusieurs études (Bonina *et al.*, 2002; Tlili *et al.*, 2011; Arrar *et al.*, 2013; Meddour *et al.*, 2013) qui ont montré la richesse de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Capparis spinosa* en polyphénols.

Or, le test de saponosides a été négatif sur ces échantillons, cette différence est due probablement à plusieurs causes telles que : la différence de la partie étudiée de la plante, la localisation géographique, le climat et la génétique...ect .

La présence de ces métabolites permet de justifier l'utilisation de *Capparis spinosa* comme substance hépato-protectrice (Gadgoli et Mishra, 1999), anti-fongique (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999), antioxydante, anti-inflammatoire, antivirale et anti-tumorale.

### I.3. Etude qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est l'une des méthodes habituelles et simples pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal, c'est pourquoi nous avons utilisé cette technique pour l'analyse qualitative du contenu phénolique de notre extrait n-butanolique.

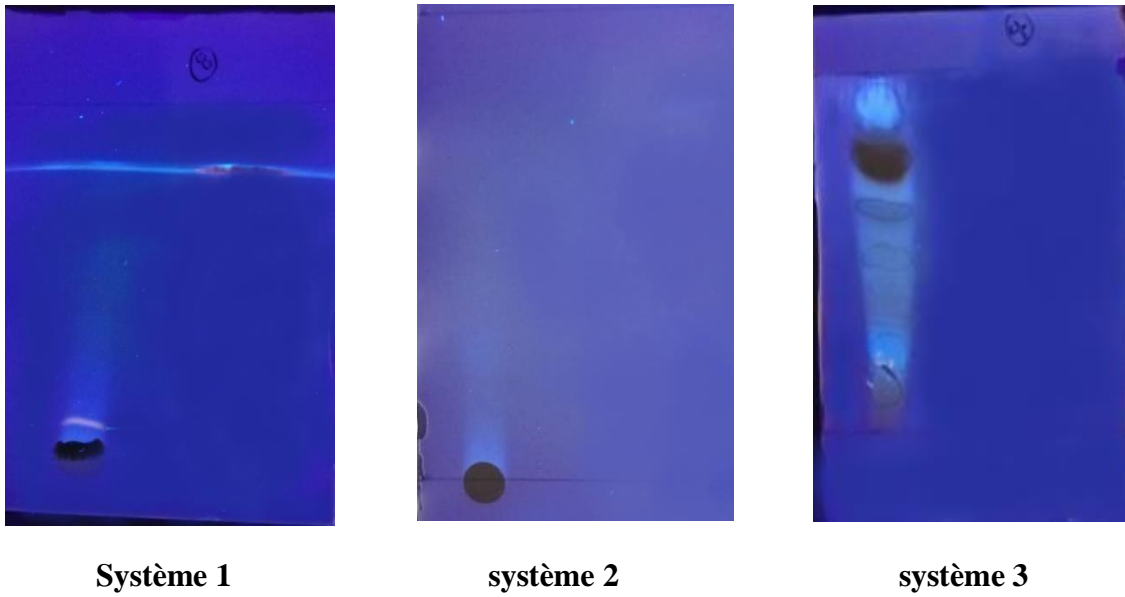
nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince sur support de gel de silice avec 3 des systèmes de solvants suivants:

**Le premier système :** Chloroforme / méthanol / eau distillée (0,5:12:8).

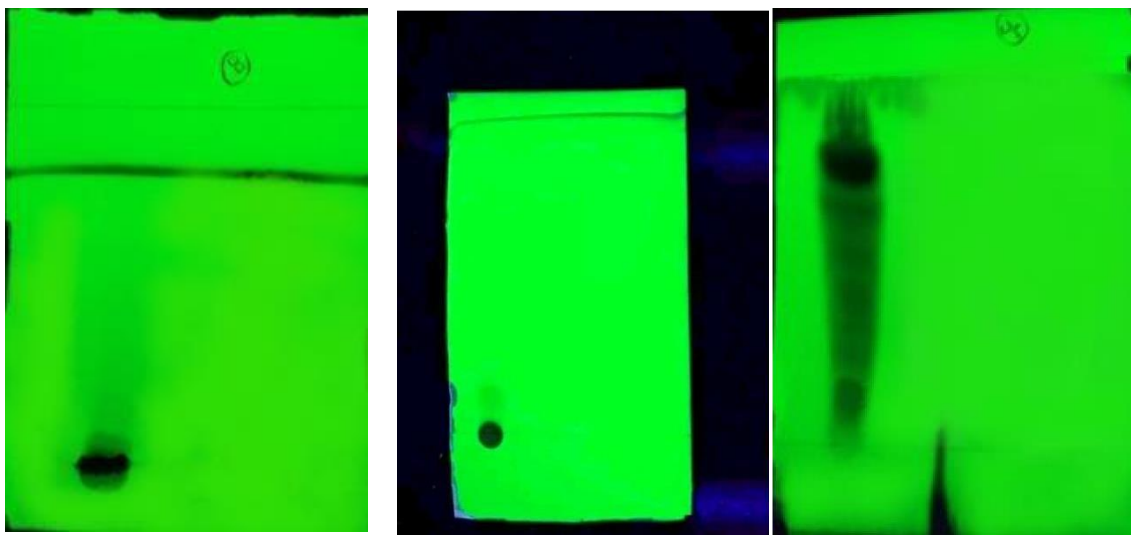
**Le deuxième système :** Acide acétique / toluène / méthanol (3:5:1).

**Le troisième système :** Butanol / acide acétique / eau distillée (4:1:5).

L'identification des composés a été basée sur la comparaison des R<sub>f</sub>s et des couleurs observés sous lampes UV des tâches apparues sur CCM. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 7 et 8 et le **tableau 7**.



**Figure 7 :** Photos des Chromatogrammes résultant de l'analyse de la fraction n-butanolique par CCM sur gel de silice à 365nm



**Figure 8 :** Photos des Chromatogrammes résultant de l'analyse de la fraction n-butanolique par CCM sur gel de silice à 254nm .

**Tableau 7** : Résultats de CCM de l'En-B

Nombre de système solvant	Nombre de spots	Rapport frontal (cm)	Couleur sous UV 365 (nm)	Type de flavonoïde possible
<b>1</b>	1	0.1	Bleu blanc	Flavanol
<b>2</b>	1	0.11	Bleu Fluorescent	Acide phénol Flavanols
<b>3</b>	1 2 3 4 5 6 7 8	0.13 0.21 0.31 0.4 0.5 0.61 0.76 0.93	Marron Bleu Fluorescent Gris Bleu Bleu blanc Bleu Marron Bleu Fluorescent	Acide phénol Flavonols, flavanones, isoflavone, flavanones, acide phénol Acide phénol Acide phénol Anthocyanidine-3 glycosides Acide phénol Flavone méthyle, hydroxy flavanol Flavonols, Acide phénol

Dans le premier système, nous constatons un seul spot pour la fraction n-butanolique, un seul aussi via le deuxième système et huit tâches pour le système 3, dont la distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité :

- Les poly hydroxy flavones ont des faibles valeurs de Rf (0,00-0,25) ;
- Les oligo hydroxy et les oligo méthoxy flavones ont des valeurs de Rf comprises entre (0,3-0,5) ;
- Les flavanones, les flavonols, méthoxy flavones ont les valeurs les plus élevées de Rf (0,5-0,75).

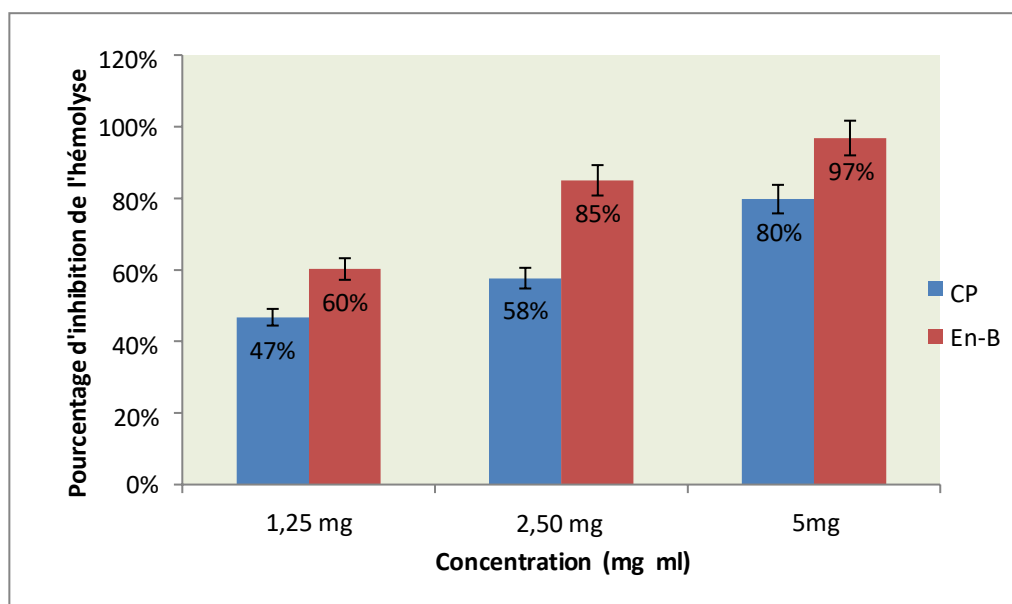
Les valeurs des Rf des différents extraits flavonoïques ont été comparés avec ceux des témoins utilisés et ceux établis par ( Kholkhal .,2014) ; Mamyrbekova-Bekro et ses collègues (2013);Belfadel, (2013) pour les systèmes utilisés .

Ces résultats montrent que la plante de *Capparis spinosa* est riche en constituants chimiques dont l'analyse qualitative de l'extrait n-butanolique par CCM prouve la mise en évidence de plusieurs tâches à des différents couleurs et différents Rf ; la majorité des spots apparaissent en bleu probablement indique la présence de flavonols, flavones, isoflavones, flavanones. Quand la couleur marron indique -Dihydroflavonol, Chalcones, Flavone méthyle. La quantité des composés phénoliques des extraits de cette plante dépend généralement : la saison de culture, la localisation géographique, la durée de conservation et la maturité de la plante...etc.

## II. Evaluation *in vitro* des activités biologiques

### II.1 Evaluation de l'activité antihémolytique

Selon la méthode de Yang ses collaborateurs(2005), l'analyse *in vitro* de l'activité antihémolytique de l'extrait butanolique de *Capparis spinosa L* a été réalisé et les résultats relatifs obtenus sont représentés dans la **figure 09**.



**Figure09:** Evolution de l'effet antihémolytique de l'En-B en fonction de la concentration en comparaison avec un témoin positif.

Selon la figure on observe que l'En-B a une activité antihémolytique plus forte que le contrôle positif (qu'elle que soit la concentration) où nous avons enregistré des pourcentages

d'inhibition très élevés proche à 100% à toutes les concentrations étudiées par rapport au contrôle positif, donc ces résultats montrent que l'extrait a présenté un effet inhibiteur d'hémolyse très efficace et remarquable.

L'activité antihémolytique pourrait être attribuée aux flavonoïdes qui possèdent une activité antioxydante importante selon l'étude de Zhang (1997), les résultats de la recherche de Asgary ses collègues (2005) ont montré une inhibition de l'hémolyse en présence de kaempférol, quercétine, morine et rutine, comme elle peut être due aux tanins.

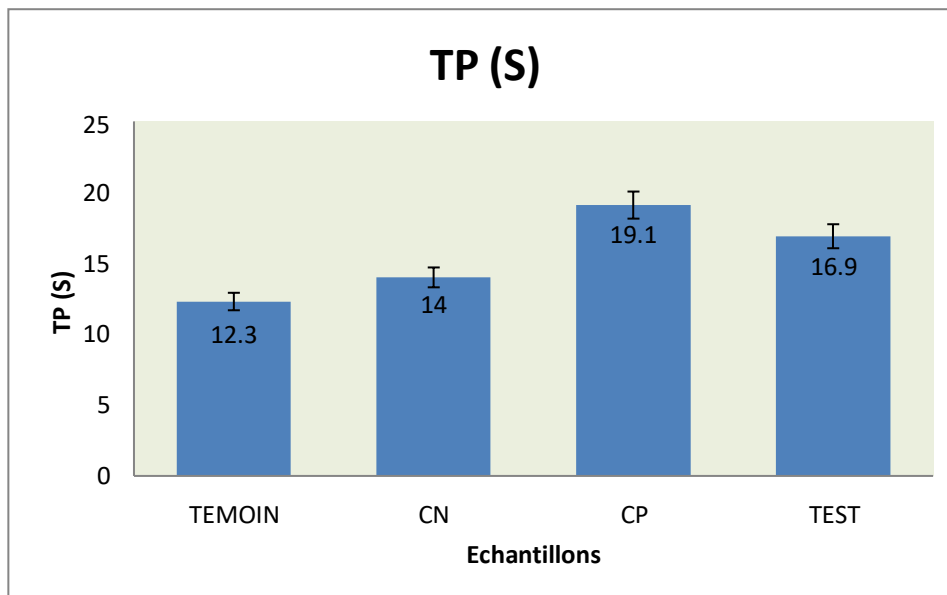
Puisque notre plante est riche en flavonoïdes, les résultats obtenus sont en accord avec les études antérieures (Zhang *et al.*, 1997; Asgary *et al.*, 2005; Tabsa. Hayat, 2018) où les extraits issus des plusieurs plantes médicinales étudiées (riche en flavonoïdes) ont représenté des effets protectifs contre l'hémolyse des hématies humains, ce qui justifie l'utilisation en médecine traditionnelle de ces plantes contre certaines troubles d'hémolyse.

### II.2. Evaluation de l'activité anticoagulante

La capacité anticoagulante de l'extrait n-butonique a été évaluée *in vitro* pour les voies exogène et endogène en utilisant deux tests de synchronisation (TP et TCK). Un Temps de coagulation plus long par rapport au contrôle négatif affirme l'activité anticoagulante de l'échantillon testé (Tlili, 2015).

#### II.2.1. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène

L'activité anticoagulante des échantillons et de leurs constituants vis-à-vis la voie exogène de la coagulation a été déterminée en utilisant un test de coagulation appelé le Temps de Quick ou le Taux de Prothrombine (TP), qui est un test qui explore les facteurs II, V, VII et X de la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation (Rizzo *et al.*, 2008). Les résultats sont illustrés dans la **figure 10**.

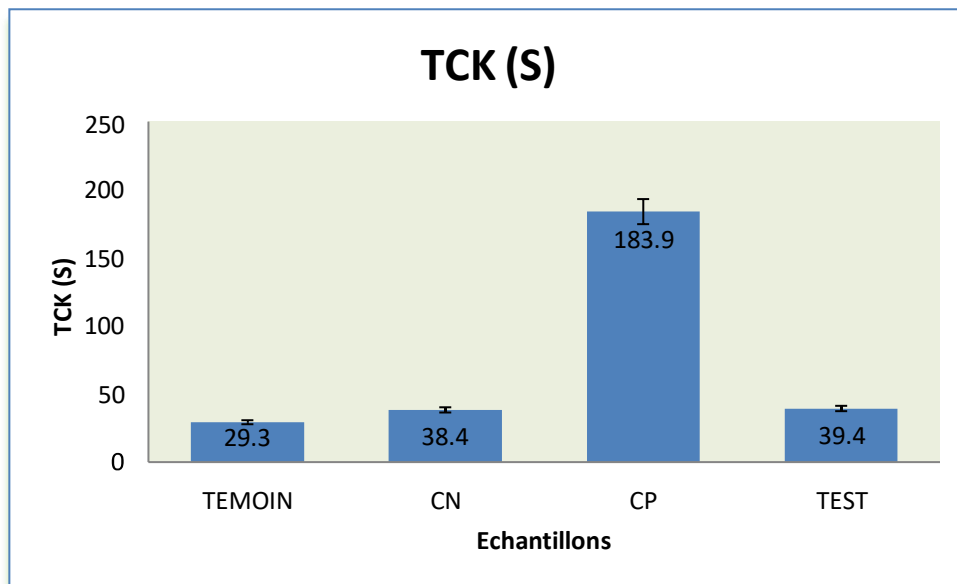


**Figure10** : Résultat de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène.

La figure 10 présente les résultats de l'activité anticoagulante où nous avons noté que l'En-B donne un TP égal à 16,9s proche à celui du contrôle positif avec 19,1s. Donc, notre extrait testé a une activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène.

### II.2.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène

L'évaluation de l'activité anticoagulante de l'extrait vis-à-vis la voie endogène de coagulation a été réalisé en utilisant le temps de Céphaline-Kaolin ou le temps de thromboplastine partielle activé, un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs II, V, VIII, IX, X, XI et XII de la voie endogène et la voie commune de la coagulation (Rizzo *et al* .,2008). Les résultats de notre étude sont représentés dans **la figure 11**.



**Figure11** :. Résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène.

A partir de la figure ci-dessous, on trouve que la fraction n-butanolique issue de *Capparis spinosa L* donne un TCK égale à 39,4s proche à celui du contrôle négatif avec 38,4s et du témoin 29,3s ce qui traduit que l'extrait testé n'a pas une activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène.

L'évaluation de l'effet anticoagulant de l'En-B à l'aide des deux tests (TP, TCK) a montré que cet extrait a une importante activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène par rapport au contrôle positif. Par contre la voie endogène qui est très faible à la comparaison au contrôle positif. Ce dernier appartient au groupe des héparines exactement les Héparines de Bas Poids Moléculaire (HBPM) qui forment un complexe avec l'anticoagulant physiologique l'antithrombine III qui inhibe particulièrement le facteur Xa et à moindre degré la thrombine (Manallah, 2012).

L'activité anticoagulante de *Capparis spinosa L* est due à sa richesse aux flavonoïdes; ces derniers participent à la prévention des maladies cardiovasculaires; ils inhibent l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, améliorent le fonctionnement de l'endothélium de la couche cellulaire et assure le bon fonctionnement du système vasculaire en réduisant les risques d'athérosclérose. De plus, les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (Manallah., 2012).

## ***Conclusion et perspectives***

## Conclusion et perspectives

Depuis l'antiquité, l'utilisation des plantes médicinales était très vaste, ces dernières ont la capacité de stocker les métabolites secondaires qui ont un effet physiologique sur le corps humain, lui permettant de soutenir sa défense, traiter certaines maladies, inhiber la croissance de certaines et protéger des autres. *Capparis spinosa L* (le câprier) est l'une de ces plantes, utilisée depuis longtemps à des fins thérapeutiques, mais les études phytochimiques de cette plante restent jusqu'à présent insuffisantes. Dans ce contexte s'inscrit ce travail qui avait pour objectif l'investigation phytochimique et l'exploration *in vitro* d'éventuel effet antihémodolytique et anticoagulant des extraits issus de la partie aérienne de *Capparis spinosa L* récoltée de la région de Khenchela.

D'après les résultats des tests phytochimique, nous avons trouvé que notre plante est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes; tanins; alcaloïdes; coumarines et les composés réducteurs. L'étude qualitative de la composition chimique de la fractions n-butanolique par CCM comme un moyen d'analyse a permis de mettre en évidence la présence de flavanol comme un composé majoritaire et des autres principes actifs: dihydroflavonol, chalcones et le flavone méthyl, susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Quant à l'activité antihémodolytique, la fraction n-butanolique a révélé un pouvoir antihémodolytique important et qui est plus fort que le contrôle positif (Dycinone), ce qui permet d'entrer dans une préparation thérapeutique qui sert à la guérison des maladies hémolytiques et son utilité contre les complications des maladies thrombotiques.

Or, l'étude *in vitro* de l'effet anticoagulant sur les deux voies de coagulation a été démontré que son effet est plus important sur la voie exogène que la voie endogène.

Par ailleurs, les résultats de cette étude reste préliminaire et ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, donc, de nombreuses perspectives expérimentales écoulent de cette recherche.

En fait, des études plus approfondies nécessaires concluant plusieurs points à savoir:

- Caractérisation quantitative, isolement et identification des flavonoïdes par des méthodes de séparation plus performantes (CLHP, CL/SM, CG/SM...).
- Evaluer et tester ces molécules actives pour d'autres propriétés biologiques *in vivo* Dans le cadre d'application pharmacologique et industrielle notamment l'effet antihémodolytique.

**Références bibliographiques**

**Aghel N, Rashidi I and Mombeini A** (2007). Hepatoprotective Activity of *Capparis spinosa* Root Bark Against CCl<sub>4</sub> Induced Hepatic Damage in Mice. Iranian J. Pharmaceut. Res. 6(4):285–290.

**Akroum S**(2011). Étude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. 18 p.

**Ali D, É Sacchetto, E Dumontet, D carrer, J Orsonneau, ODelaroche, E Bigotcorbel** (2014). Interférence de l'hémolyse sur le dosage de vingt-deux paramètres biochimiques. Annales de biologie clinique.

**Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI** (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. Mycoses. 42 : 665-672.

**Arena A, Bisignano G, Pavone B, Tomaino A, Bonina FP, Saija A, Cristani M, D'Arrigo M and Trombetta D** (2008). Antiviral and immunomodulatory effect of a lyophilized extract of *Capparis spinosa*L. buds. Phytother Res. 22 (3): 313-317.

**Arrar L, Benzidane N, Krache I, Charef N, Khennouf S, Baghiani A** (2013). Comparison between polyphenol contents and antioxidant activities of different parts of *Capparis spinosa*L. Pharmacogn Commun. 3:70-4.

**Bachy E, Houot R, Dony A** (2015). Hématologie adulte et pédiatrique, OncoHématologie ( Ellipses). 9 : 44-46.

**Belfadel A** (2013). Etude phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale. Mémoire de Master. Option microbiologie moléculaire et cellulaire. Université Abbes LaghrourKhenchela- Algérie. 61 p.

**Benmehdi A** (2001). Identification des principes actifs des extraits des plantes médicinales. Phytochimie. 6: 11-27.

**Bonina F, Puglia C, Ventura D, Aquino R, Tortora S, Sacchi A, Saija A, Tomaino A, Pellegrino ML, De Capraris P** (2002). *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. Journal of Cosmetic Science. 53: 321-335.

**Borochoy H, Zahler P, Wilbrandt W, and Shinitzky M** (1977). The effect of phosphatidylcholine to sphingomyelin mole ratio on the dynamic properties of sheep erythrocyte membrane. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 470 : 382-388.

**Cao YL, Li X and Zheng M** (2008). Effect of *Capparis spinosa* on fibroblast proliferation and type I collagen production in progressive systemic sclerosis. *ZhongguoZhong Yao ZaZhi*. 33(5): 560-563

**Ciulei I** (1982). Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants, Methodology for analysis of vegetable drugs Ed, ministry of Chemical industry, Bucharest. 67p.

**Coulerie P**(2012). Étude phytochimique et pharmacologique de plantes de Nouvelle-Calédonie à potentialités anti-dengue, Thèse de doctorat. Université Nouvelle Calédonie. 20 p.

**Croizat P, Favre-Gilly J, Thouverez J P** (1968) Hémostase et coagulation (techniques usuelles). Ed. Tourelle, Saint-Mandé: 97-118.

**Denis P S** (1830). Recherches expérimentales sur le sang humain, considéré à l'état sain. (Denis). 52: 601-623

**Dudley G A, Staron R S, Murray T F, Hagerman F C, and Luginbuhl A** (1983). Muscle fiber composition and blood ammonia levels after intense exercise in humans. *Journal of applied physiology* .54: 582-586.

**Eddouks M, Lemhadri A and Michel JB** (2004). Caraway and caper: Potential antihyperglycaemic plants in diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 94: 143–148.

**Edeoga H O, Okwu D E, and Mbaebie B O** (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology* : 685-688.

**Fu XP, Wu T, Abdurahim M, Su Z, Hou XL, Aisa HA, Wu H** (2008). New spermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. *Phytochemistry Letters*. 1 : 59-62.

**Gadgoli C and Mishra SH** (1999). Antihepatotoxic activity of p-methoxy benzoic acid from *Capparis spinosa*. *J. Ethnopharmacol*. 66:187–192.

**Gadri R B, Roth J R, Montie T C, Kelly-Wintenberg K, Tsai P P-Y, Helfritsch D J, Feldman P, Sherman D M, Karakaya F, and Chen Z** (2000). Sterilization and plasma processing of room temperature surfaces with a one atmosphere uniform glow discharge plasma. *Surface and Coatings Technology*. 131: 28-541.

**Giuffrida D, Salvo F, Ziino M, Toscano G, Dugo G** (2002). Initial investigation on some chemical constituents of capers (*Capparis spinosa L.*) from the Island of Salina. *Italian Journal of Food Science*. 14 : 25-33.

**Guiseppe Barbera**(1991). programme de recherche agrimed le câprier (*Capparis spinosa L.*), Commission des Communautés européennes.

**Hamimed S** (2009). Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacycluspyrethrum L*, mémoire de magister, Université de Mentouri, Constantine. 138p .

**Hirasa K, Takemasa M** (1998). Spice science and technology. Ed. Marcel Dekker. New York.232p.

**Iserin P** (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Dorling Kindersiey Limited, Londres. 334 p.

**Iserin P** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF. 2ème Ed. Vol. 14. Paris. 335p.

**Jacobson RL, Schlein Y** (1999). Lectins and toxins in the plant diet of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) can kill *Leishmania major* promastigotes in the sandfly and in culture. *Annals of tropical medicine and parasitology*.93: 351-356.

**Jiang H-E, Li X, Ferguson DK, Wang Y-F, Liu C-J, Li C-S** (2007). The discovery of *Capparis spinosa L.* (*Capparidaceae*) in the Yanghai Tombs (2800 years b.p.), NW China, and its medicinal implications. *Journal of Ethnopharmacology*. 113 : 409-420.

**Jondal M, Holm G, and Wigzell H** (1972). Surface markers on human T and B lymphocytes: I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells. *Journal of Experimental Medicine*. 136 : 207-215.

**Karnouf N** (2009). Effet des extraits de *Capparis spinosa L.* sur la dégranulation et le chimiotactisme des neutrophiles humains. Mémoire de magister. Université de Farhat Abbas ; Sétif. 2010. 99p.

**Karumi Y, Onyeyili P, Ogugbuaja V** (2004). Identification of active principles of *M.balsamina* (Balsam Apple) leafextract. *J Med Sci*. 4(3):179-182.

**Kholkhal Fatima** ( 2014) Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus sspcoloratus* et *ssp euciliatus*.Université Abou Bakr- Telemcen-Algérie .

**Kloutsos G, Balatsouras D G, Kaberos AC, Kandiloros D, Ferekidis E, and Economou C** (2001). Upper airway edema resulting from use of *Ecballium elaterium*. *The Laryngoscope*. 111 : 1652-1655.

**Kozlova E K, Chernysh A M., Moroz V V, and Kuzovlev A N** (2013). Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron* .44 : 218-227.

**Lemhadri A, Eddouks M, Sulpice T and Burcelin R** (2007). Anti-hyperglycaemic and antiobesity effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* aqueous extracts in HFD mice. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2(3): 106–110.

**Lim YY, Lim TT and Tee JJ** (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* .103: 1003-1008.

**Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C** (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses Polytechnologiques et Universitaires Romandes. 4-5.

**Mahasneh AM** (2002). Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytother Res.* 16: 751–753.

**Manallah A** (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Mémoire de Magister. Option biochimie appliquée. Université Farhet Abbes-Sétif-Algérie. 1.15.20.29.30.77. 86 p.

**Mansour R, Zegers-Hochschild F, Adamson G D, de Mouzon J, Ishihara O, Nygren K, and Van der Poel S** (2009). The international committee for monitoring assisted reproductive technology (ICMART) and the world health organization (WHO) revised glossary on ART terminology. *Human Reproduction.* 343p.

**Marchand A, R S, Galen, F, V, Lente** (1980). "The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease." *Jama* 243(19): 1909-1911.

**Meddour A, Yahia M, Benkiki N, Ayachi A** (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur de *Capparis spinosa L.* *Lebanese Science Journal.* 14 : 49-60.

**Mezzou H, Khelifa A B , Neffati F, Douki W, Ben Amor A, Najjar M F** (2006). "Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique." *Revue Francophone des Laboratoires* . 2006 (386): 59-64.

**Mohammedi Z** (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 105p

**Mohandas N, and Chasis J** (1993). Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *In Seminars in hematology.* 171-192.

**OMS (Organisation Mondiale de la Santé)** (2003). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. 31- 35.

**Özcan M, Aydın C** (2004). Physico-mechanical Properties and Chemical Analysis of Raw and Brined *Caperberries*. Biosystems Engineering. 89 : 521–524.

**Panico AM ,Cardile TV, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G** (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. Life sciences. 77: 2479-2488.

**Richelle M, Tavazzi I and Offord E** (2001). Comparison of the antioxidant activity of commonly beverages (coffee, cacao, and tea) prepared per cup serving. J.Agric. Food Chem. 49: 3438-3442.

**Rizzo F, Papasouliotis K, Crawford E, Dodkin S, Cue S** (2008) Measurement of prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) on canine citrated plasma samples following different storage conditions. Research in Veterinary Science. 85: 166-170.

**Romeo V, Ziino M, Giuffrida D, Conduro C, Verzera A** (2007). Flavour profile of capers (*Capparis spinosa L*) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC–MS. Food Chemistry. 101 : 1272-1278.

**Satyanarayana T, Mathews AA, Vijetha P** (2008). phytochemical and pharmacological Review of Some Indian *Capparis Species*. Pharmacognosy Reviews. 2 : 36-45.

**Sultan AÖ and Çelik TA** (2009). Genotoxic and antimutagenic effects of *Capparis spinosa L*. on the *Allium cepa L*. root tip meristem cells. Caryologia. 62 (2): 114-123.

**Tapiero H, Tew K D, Nguyen B G and Mathé, G** (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? Biomed.pharmacother. 56: 200-207.

**Tlili ML** (2015). Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Saharaseptentrional). Mémoire de magister en biologie biochimie et analyse de bioproduits. Université Kasdi Merbah – Ouargla. 27-82

**Tlili N, Elfalleh W, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S, Nasri N** (2011). The caper (*Capparis spinosa L*): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. Fitoterapia. 82: 93-101.

**Trabsa Hayat** (2018) activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : *Sedum sediforme* et *Lycium arabicum*.

**Trombetta D, Occhiuto F, Perri D, Puglia C, Santagati NA, De Pasquale A, Saija A and Bonina F** (2005). Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa L*. flowering buds. Phytother Res.19(1): 29-33.

**Valente M J, Baltazar A F, Henrique R, Estevinho L and Carvalho M** (2010). Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro, *Food Chem Toxicol.* 49: 86–92.

**Wong C C, Li H B, Cheng K W, and Chen F** (2006). Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. -12 :120-130.

**Xia E Q, Deng G F, Guo Y J and Li H B** (2011). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences.* 11(2): 622 -646.

**Yang X, Li J, Li X, She R and Pei Y** (2005). Isolation and characterization of a novel thermostable non-specific lipid transfer protein like antimicrobial protein from motherwort (*Leonurus japonicus Houtt*) seeds. *Peptides.* 27 : 3122 p.

**Yaniv Z, Dafni A, Friedman J and Palexitch D** (1987). Plants Used For The Treatment Of Diabetes In Israel. *Journal Of Ethnopharmacology.* 19: 145-151.

**Yrjönen T** (2004). Extraction and planar chromatographic separation techniques in the analysis of natural products. *Dissertationes, Biocentri Viikki Universitatis Helsinkiensis.* 32-64 .

**Zeggwagh NA, Michel JB, Sulpice T and Eddouks M** (2007). Cardiovascular Effect of *Caparis spinosa* Aqueous Extract in Rats. Part II: Furosemide-like Effect of *Caparis Spinosa* Aqueous Extract in Normal Rats. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2(3): 130–134.

**Zeghad N** (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri-Constantine. 26.28. 84 .

**Zhou HF, Xie C, Jian R, Kang J, Li Y, Zhuang CL, Yang F, Zhang LL, Lai L, Wu T and Wu X** (2011). Biflavonoids from Caper (*Caparis Spinosa L*) Fruits and Their Effects in Inhibiting NF-kappa B .

## Annexe 1

**La solution tampon phosphate (PBS)** est une solution isotonique et non toxique utilisée couramment en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate dipotassique et de chlorure de potassium. Il est utilisé pour lavage ou dilution des cellules. Pour la préparation de PBS à pH égale à 7.2 on a besoin de :

- 13.21g/L de la base  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .
- 20.29g/L de l'acide  $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ .
- 80g/L de NaCl.
- 2g/L de KCl.

Dissoudre les composants dans 100ml de l'eau distillée avec l'agitation jusqu'il s'homogénéise par un agitateur et conservé à 4°C dans des fioles au réfrigérateur, jusqu'au moment de l'utilisation. Il ne faut pas congeler, surchauffer, conditionner dans des fioles présentant une fissure ...etc. Pour faciliter la préparation, il y a des comprimés commerciaux de tampon PBS qui donnent une solution PBS prête à l'emploi après leur dissolution dans une certaine quantité d'eau .

## Annexe 2

**La préparation d'un pool plasmatique** se fait à partir de six prélèvements de personnes volontaires et sains qui ne prennent aucun médicament. Les prélèvements sont réalisés entre 7 h et 11 h du matin dans des tubes citrates (il est préférable d'éviter le café et le tabac dans l'heure qui précède le prélèvement). Nous centrifugeons les tubes pendant 15 min à 2500 tour/min pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes .

Ensuite, on prend 200  $\mu\text{L}$  de plasma de chaque échantillon et on les met dans un tube sec, pour obtenir un mélange de plasma prêt à l'emploi (soit pour le TP ou TCK).

**Nom et prénom**

Mordjane Roumaïssa  
Riah Soumia  
Ouannassi Fatiha

**Master Académique en : Biochimie Appliquée**

**Exploration phytochimique et évaluation *in vitro* des activités antihémolytique et anticoagulante d'une plante médicinale locale «*Capparis spinosa L*»**

**Résumé**

Dans le but de valoriser les plantes médicinales Algériennes, nous sommes intéressés dans cette étude d'une part, à l'investigation phytochimique des extraits issus d'une de la partie aérienne d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle récoltée de la région de Khenchela (*Capparis spinosa L*), et d'autre part, à la détermination *in vitro* d'éventuels effets antihémolytique et anticoagulant.

Le screening phytochimique réalisé a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes; tanins; alcaloïdes; coumarines et les composés réducteurs. Ainsi, l'étude qualitative par CCM des extraits a révélé une diversité remarquable des composés flavonoïques susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Concernant l'activité antihémolytique, la fraction n-butanolique inhibe significativement l'hémolyse d'une façon plus importante que le contrôle positif avec des pourcentages d'inhibition proches à 100%. De même, les résultats obtenus ont montré un effet protecteur contre la coagulation des hématies (pour la voie exogène ) avec un temps de coagulation de 16,9s contre le contrôle positif à 19,1s.

En conclusion; *Capparis spinosa L*. est douée d'une activité antihémolytique et anticoagulante remarquables. De ce fait, il peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications des maladies thrombotiques et cardiovasculaires.

**Mots clés:** anticoagulant, antihémolytique, *Capparis spinosa L*. CCM , Flavonoïdes.