

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND ANTICOAGULANT ACTIVITIES OF *Linum usitatissimum* L. EXTRACTS

S. Boukeria^{1,2*}, S. R. Mnasri³, K. Kadi⁴, A. Benbott^{1,5}, H. Bougueria^{2,6}, K. Biri²,
W. Lazbbache²

¹Laboratory of natural sciences and materials, University of Mila, Algeria

²Department of NSL, University of Mila, Algeria

³National Bank of Genes, rue Yasser Arafet, 1080 Charguia 1. Tunis, Tunisia.

⁴Laboratory of Biotechnology, Water, Environment and Health, University of Abbes Laghrou, Khenchela, Algeria

⁵Faculty of Sciences, Larbi Ben M'hidi University, OEB, Algeria

⁶CHEMS, Department of Chemistry, University of Constantine 1, Constantine, Algeria

Received: 24 March 2020 / Accepted: 29 April 2020 / Published online: 01 May 2020

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the phytochemical constituents and anticoagulant, and antibacterial activities of phenolic extracts obtained from flaxseed. The quantitative estimation of total phenols by the colorimetric method showed that both aqueous and methanolic extracts are low in these compounds. The evaluation of the antibacterial activity of polyphenols was carried out by the disc method by determining the minimum inhibitory concentration (MIC). The results showed that no antibacterial activity with polyphenols was observed; against the five bacteria tested. The anticoagulant activity of polyphenols was also evaluated *in vitro* using the cephaline-kaolin (TCK) and Quick time (TQ) tests. The coagulation times obtained on normal plasma indicate that they have moderate activity on both coagulation pathways.

Key words: *Linum usitatissimum* L., anticoagulant activity, polyphenol, TCK, TQ.

Author Correspondence, e-mail: boukeriasabah@gmail.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i2.10>



1. INTRODUCTION

Les plantes ont toujours constitué une source majeure pour les médicaments grâce à leur richesse en ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal [1].

Parmi les milliers de molécules produites par ce métabolisme, l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus...) et de corriger ses troubles métaboliques, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les lignanes, les terpènes, et les polyphénols.

Les polyphénols présentent le groupe de métabolites secondaires le plus important à cause de leurs structures chimiques diversifiées. Elles possèdent des propriétés antioxydantes, anticoagulantes, antimicrobiennes, hépato-protectrices, gastro-protecteur et anticancéreuses...etc [2]. Le lin est considérablement employé dans le quotidien de la santé publique et énormément introduit en nutrition animale. Il n'est pas un nouvel aliment, il est un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux et précieux en raison de ses propriétés de guérison qui ont fait de lui une plante millénaire aux vertus médicinales. Traduites par son nom latin «*Linum usitatissimum*» (lin de tous les usages) [3].

L'objectif global de cette étude est de réaliser une caractérisation biochimique, ainsi que d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne et anticoagulante des extraits phénoliques de *Linum usitatissimum*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude porte sur les graines de lin, *Linum usitatissimum* L. qui s'appellent localement « Zaria'at el ketan », achetées d'un herboriste de Ferdjioua wilaya de Mila.

2.1.1. Préparation de matériel végétal

Les graines de *Linum usitatissimum* L. ont été nettoyées puis broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Le broya est récupéré après tamisage et conservé dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

2.2. Screening phytochimique

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires, un criblage phytochimique est réalisé dans l'extrait préparé.

Les tests de l'analyse réalisés sont basés sur des réactions de précipitation ou de coloration ; en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Tableau 01). Les différents groupes chimiques ont été caractérisés selon les méthodes décrites par Békro *et al.* [4], Kalla [5], Tadros [6], Oloyede [7], Koffi *et al.* [8], Dahou *et al.* [9], Trease et Evans [10], Memelink *et al.* [11], Diallo [12].

Tableau 1. Tests de screening phytochimique, réactifs d'identification et indicateurs

Group chimique	Réactifs d'identification	Indicateur
Polyphénols	-Chlorure ferrique FeCl ₃ (2)	-Coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins foncé
Saponosides	-Indice mousse >1 cm	-Apparition d'un mousse Persistante
Flavonoïdes	-Alcool chlorhydrique	-coloration jaune claire
Anthocyanes	-H ₂ SO ₄ -NH ₄ OH	-Coloration bleu –violacée
Anthra –quinones	-NH ₄ OH	-Anneau rouge
Coumarines	-KOH 10 -HCL 10	- Précipitation rouge brune
Tanins	- Alcool éthylique 5 0 -FeCl ₃ 1	-Coloration verdâtre
Quinones libres	-Ether de pétrole -NaOH 10	- La phase aqueuse vire au jaune ; rouge ou violet
Glucosides	-L'eau distillée -Liqueur de Fehling	-Précipité rouge brique
Alcaloïdes	-Réactif de Wagner -Acide chlorhydrique HCl (10) -Hydroxyde d'ammonium -L'étherdi-éthylique; HCl (2)	-Précipité blanc et brun
Stérols et triterpènes	-Anhydride acétique -Chloroforme -H ₂ SO ₄	-Anneau rouge brunâtre

2.3. Extraction des polyphénols

2.3.1. Préparation de l'extrait méthanolique

Une quantité de 10g de la poudre est macérée dans une solution de méthanol/eau (70 : 30, V/V) sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2 à 3 jours, après filtration, le filtrat obtenu est soumis ensuite à une évaporation par rotavapeur permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur jaune claire, qui est considéré comme étant le résidu sec, qui est ensuite stocké dans des boîtes de Pétries en verre fermés hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

2.3.2. Préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait aqueux, une quantité de 10g de broya de *L. usitatissimum* est macérée dans 100 ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant 24 h à une température ambiante. La solution obtenue est filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est ensuite évaporé à une température de 40 °C pour éliminer l'eau. Le résidu sec obtenu est conservé dans un flacon opaque à basse température jusqu'à leur utilisation.

2.3.3. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu)

En milieu alcalin, les polyphénols réduisent l'acide phosphomolybdique du réactif Folin Ciocalteu, qui se traduit par l'apparition d'une coloration bleue foncée [13]. Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode de réactif Folin Ciocalteu décrite par Skerget et al. [14] et Lafka et al. [15].

Le test de dosage des polyphénols totaux permet de déterminer la concentration en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée à partir des concentrations connues de l'acide gallique (mg/ml) et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g de résidu sec) figure 1.

Pour le dosage des polyphénols, 500 µl de chaque extrait à différentes concentrations ont été ajoutés à 2.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) (1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 9 ml d'eau distillé). Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 15 minutes.

Après 15 min, on ajoute 2 ml de Na₂CO₃ (7,5%) puis on agite le mélange. Le mélange final est incubé pendant 2 heures à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée ensuite à 760 nm contre un blanc (solution sans extrait ajouté) [16].

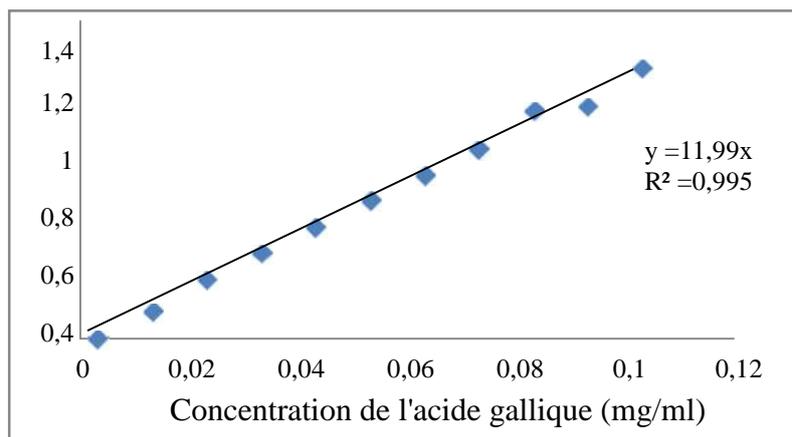


Fig.1. courbe d'étalonnage de l'acide gallique

2.4. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des grains de lin vis-à-vis des cinq espèces bactériennes étudiées a été réalisée *in vitro* selon la méthode de diffusion par disque d'aromatogramme décrite par (Hayes et Markovic, 2002) (tableau 2) [17].

Les antibiotiques utilisés dans ce travail sont : la Gentamicine (CN₁₀) et la Cotrimoxazol (SXT₂₅).

Tableau 2. Liste des espèces bactériennes étudiées

Genre et espèce	Gram	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Enterococcus sp</i>	+	<i>Enterococcaceae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	-	<i>Enterobacteriaceae</i>

2.4.1. Préparation de l'inoculum

Après l'identification des souches bactériennes dans l'appareil Vitec, chaque espèce a été ensemencée en stries sur les milieux gélosés pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24h à 37°C, quelques millilitres de cette culture sont ajoutés dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile, et agité au vortex pendant quelques secondes.

L'opacité de la suspension doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland, pour cela la concentration bactérienne des différentes solutions ou inoculum est évaluée par turbidité est exprimée par la

mesure des densités optiques de 0.08 à 0.10 à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un appareil densitcheck. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit le milieu de culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. Il est à signaler d'une part, que la suspension ajustée devra contenir 10⁸ UFC /ml (unitsformingcolony /ml) et d'autre part, que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne.

2.4.2. Préparation des disques d'aromatogramme

Pour effectuer le test, des disques de 6mm de diamètre de papier Whatmann[®]3 sont mis dans un tube à essai stérile (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage) et déposé à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen sur la gélose précédemment inoculée avec le microorganisme choisi.

Ils sont ensuite imbibés par différentes concentrations d'extraits. Chaque disque contient 10µl d'une seule concentration d'un seul extrait (polyphénol), d'autres disques imprégnés avec 10µl de solvant d'extraction (10µl pour chaque disque et pour chaque souche bactérienne) sont utilisés comme témoins négatifs. La gentamicine (Gn₁₀) et le cotrimoxazol (sxt₂₅) sont utilisés comme témoins positifs. Le test est répété trois fois et les antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C dans l'étuve. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de polyphénol est ainsi déterminé [17,18].

2.5. Activité anticoagulante

Cette activité a été évaluée *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 des deux tests chronométrique globaux, le test de temps de céphalin-kaolin (TCK) et le test de temps de Quick (TQ). Le pool plasmatique déplaquetté est un mélange de plasma déplaquetté de 10 volontaires sains adultes non traités, dont les TQ et TCK sont normaux.

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2% et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.

Le mélange de ces plasmas (plasma standard) est conservé à basse température (-10°C)

jusqu'à son utilisation [19].

2.5.1. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100 µl de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30 µl) préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 100 µl de céphaline-kaolin est additionné au mélange qui est réincubé durant exactement 3 min sous agitation à 37°C.

Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre par ajout de 100 µl de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé [20].

2.5.2. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène (TQ)

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Wang *et al.* [20].

100 µl de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37°C est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés (10, 20, 30 µl), préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 200 µl de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Scening phytochimique

Le Screening phytochimique qualitatif basé sur des réactions colorées ou des précipitations par des réactifs chimiques spécifiques sur les extraits de graines de *L.usitatissimum* a pour but de révéler les différentes familles de substances existantes dans les graines de cette plante étudiée. Les résultats des tests phytochimiques sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3. Résultats de screening phytochimique

Test	Résultat
Polyphénols	+
Saponosides	-
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	-
Anthraquinones	-
Coumarines	±
Tanins	+
Quinones libres	+
Glucosides	+
Alcaloïdes	+
Les stérols et les triterpènes	+

(+) Test positif, (-) Test négatif, (±) Trace.

Les tests phytochimiques effectués sur l'extrait de *L. usitatissimum* révèlent la présence des flavonoïdes, des polyphénols, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes, des tanins, des quinones libres, des glucosides et quelque trace des coumarines ; tandis que les tests de saponines, anthocyanes et anthraquinones sont négatifs.

De même les résultats du screening phytochimique réalisés par ALAchaer [21] ont montré que *L. usitatissimum* contient les flavonoïdes, glucosides, terpénoïdes, alcaloïdes et les phénols et ne contient pas les saponosides, ce qui s'accorde avec nos résultats.

Egalement Javed *et al.* [22] ont trouvé que les graines de lin contiennent des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stérols et des triterpènes.

3.2. Dosage des polyphénols totaux

D'après les résultats du dosage des polyphénols totaux (Tableau 4), il ressort que l'extrait méthanolique présente une teneur plus faible en phénols totaux par rapport à l'extrait aqueux

avec des valeurs moyennes de 0.065 ± 0.0293 mg EAG/g et de 0.178 ± 0.0028 mg EAG/g, respectivement.

Tableau 4. Résultat de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux et méthanolique des graines de lin

Plante	Extrait	Teneur en polyphénols totaux mg EAG/g
<i>Linum usitatissimum</i>	Meth	0.065 ± 0.0293
	Aqu	0.178 ± 0.0028

Selon l'étude réalisée par Acket [23], le dosage des polyphénols dans les grains de lin a donné une teneur estimée à 0.90g/100g de matière sèche (MS), la courbe d'étalonnage utilisée dans cette étude est celle de l'acide férullique. Ces résultats ont permis de dire que la teneur en polyphénols enregistrée dans notre étude (0,178mg/g de MS) est très faible.

De l'autre côté, nos résultat ont révélé une teneur très faible par rapport à celles trouvées par Veliouglu et al, en 1998 (5 mg EAG/g) dans l'extrait hydrométhanolique 80% des graines de lin, et de Anwar et Przybylski [24] (3 mg EAG/g) de polyphénols lorsque l'éthanol éthylique à 80% est utilisé pour l'extraction.

Par ailleurs, la teneur moyenne en polyphénol totaux de l'extrait méthanolique (0.065mg EAG/gdeMS) enregistrée dans notre cas est plus importante que celle trouvée par Alachehar [21] travaillant sur des polyphénols des graines de lin obtenus après extraction par du méthanol, butanol et benzene ou elle a enregistré des teneurs de l'ordre de ($47,01 \pm 5,40$), ($43,33 \pm 2,77$) et ($14,41 \pm 1,3$ μ g) d'équivalent d'acide gallique (EAG/g de MS) respectivement.

Cette variation de la teneur en polyphénols totaux peut être expliquée d'une part par le comportement génétique de la plante, le protocole d'extraction et de quantification et la sélectivité du solvant utilisé [25] ou encore due aux facteurs climatiques et environnementaux [26] et la période de récolte et de conservation [27].

3.3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits des graines de lin a été estimée en termes de diamètre de zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait à tester vis-à-vis de cinq souches

bactériennes testées. L'activité antibactérienne réalisée dans cette étude par la méthode des disques ainsi que par la détermination des CMI (concentration minimale inhibitrice), révèle que les extraits de lin n'avaient aucun effet inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées, ce qui est probablement due à la faible concentration de polyphénols totaux contenue dans les graines de lin, qui ne les contiennent qu'au niveau des téguments [28].

3.4. Activité anticoagulante :

3.4.1. La voie endogène (TCK)

L'évaluation de la capacité anticoagulante des deux extraits de *L. usitatissimum* vis-à-vis de la voie endogène de la coagulation a été réalisée à l'aide du test de temps de céphaline kaolin (TCK) et la voie commune (facteur X, V, II, fibrinogène) de la coagulation avec un temps de coagulation (TCK) allongé par rapport à un témoin de TCK de 28,3S.

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène des deux extraits (méthanolique et aqueux) sont représentés dans la figure 2,

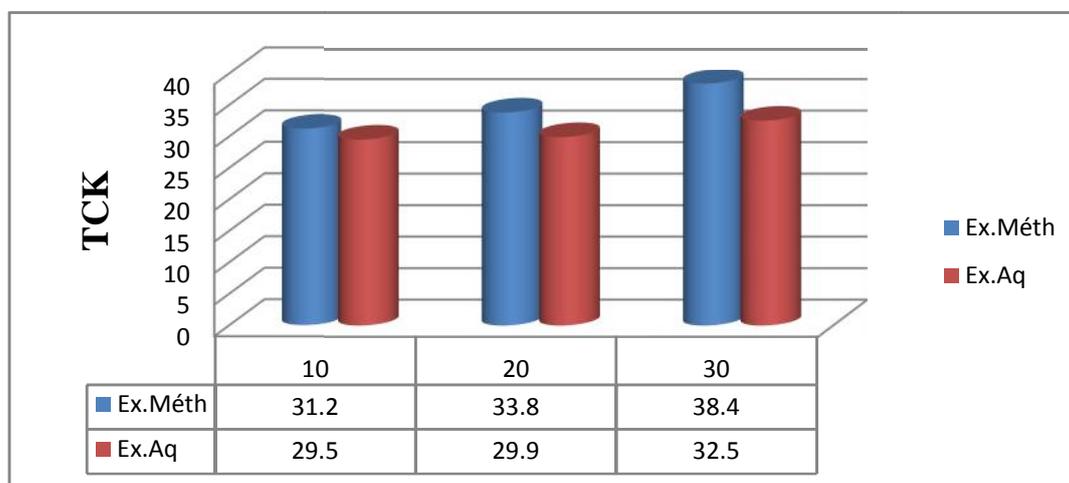


Fig .2. Capacité anticoagulante de l'extraits méthanolique et aqueux de graines de lin vis-à-vis de la voie endogène

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que les deux extraits (méthanolique et aqueux) exercent une activité anticoagulante positivement corrélée avec le volume de l'extrait vis-à-vis de la voie endogène (figure2).

Le volume 10 μ L est capable d'exercer une activité anticoagulante estimée par un TCK de

31,2 S par un allongement de 2,9 S pour l'extrait méthanolique et un TCK de 29,5 S avec allongement de 1,2 S pour l'extrait aqueux.

Alors que le volume 20 μ L des deux extraits méthanolique et aqueux a une activité anticoagulante estimé par un TCK de 33,8 S par un allongement de 5,5 S et un TCK de 29,9 S par un allongement de 1,6 S respectivement.

Le volume 30 μ L des extraits phénoliques de a allongé le temps de coagulation avec des valeurs de l'ordre de 10,1 S avec un TCK de 32,5 S pour l'extrait méthanolique et 4,2 S avec un TCK de 32,5 S pour l'extrait aqueux.

3.4.2. La voie exogène (TQ)

Le TQ normal est compris entre 12 et 14 secondes selon les réactifs utilisés [29] et un allongement par rapport à un témoin de TQ de 13,5S traduit une activité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux des extraits de lin vis-à-vis de la voie extrinsèque de la coagulation.

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène des extraits aqueux et méthanoliques sont représentés dans la figure 3.

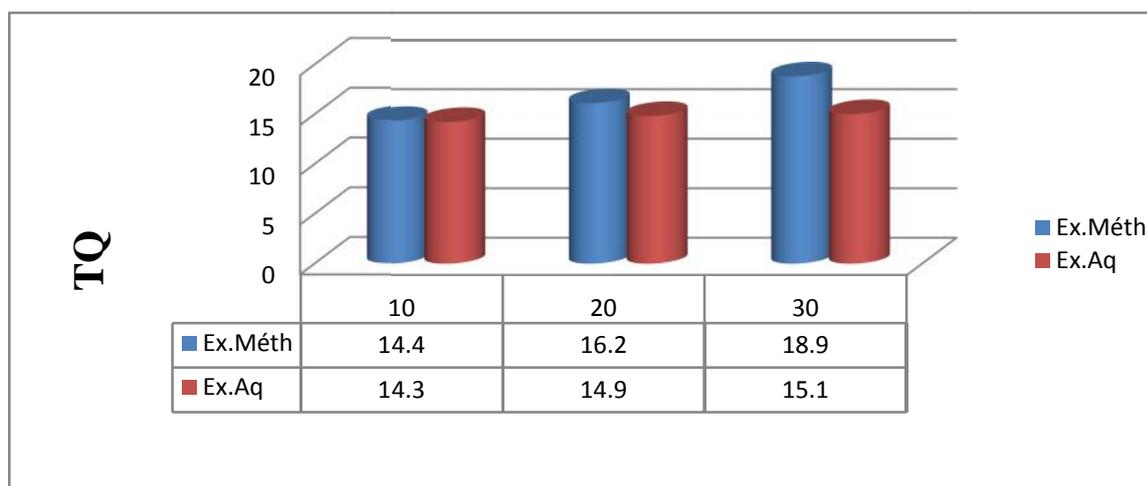


Fig .3. Capacité anticoagulante des extraits de lin vis-à-vis de la voie exogène

Le volume 10 μ L des deux extraits méthanoliques et aqueux est capable d'allonger le temps de quick avec des valeurs d'ordre de (0.9 S et de 0.8 S) avec un TQ de 14.4 S et de 14.3 S respectivement, cela nous a permis de déduire que il n y a pas de différence significative entre le temps de coagulation de témoin et celui des deux extraits.

Le volume 20 µL est capable d'exercer une activité anticoagulante sur la voie exogène de la coagulation, estimée par TQ de 16.2 S avec un allongement de 2.7 S pour l'extrait méthanolique et un TQ de 14.9 S avec un allongement de 1.4 S pour l'extrait aqueux.

Alors que le volume 30 µL des deux extraits présente un TQ de 18.9 S avec allongement de 5.4 S pour l'extrait méthanolique et un TQ de 15,1 S avec allongement de 1.6 S pour l'extrait aqueux (figure 3).

Malgré qu'il existe plusieurs projets de recherche axés sur l'activité anticoagulante de divers extraits végétaux, cette activité n'a pas été étudiée pour les extraits phénoliques des graines de Lin, de ce fait le sujet de cette étude est considéré comme étant le premier de son genre qui s'inscrit dans le cadre des études intéressées à la prévention et la thérapie des maladies thrombotiques et cela par la recherche d'une éventuelle activité anticoagulante des polyphénols de *L.ussitatissimum* L. Les résultats obtenus dans notre étude montrent que les extraits testés sont capables d'allonger le temps de coagulation, ces résultats s'accordent avec d'autres travaux réalisés sur différentes plantes médicinales. Selon Sakthipriya et Vidhya [30] *Pergularia deamia* présente une bonne activité anticoagulante qui peut être attribuée à la présence des tanins, des alcaloïdes et d'autres composés actifs, ces études confirment nos résultats vu de la richesse de notre plante en alcaloïdes et en tanins.

En fin, il faut signaler aussi qu'ils existent d'autres composés doués aussi de cette activité, tels que les peptides [31], les glycoprotéines, les coumarines [32], quelques tanins et polysaccharides [33]. De ce fait ces études donnent un grand espoir pour le développement des suppléments alimentaires qui peuvent contribuer à la prévention des thromboses.

4. CONCLUSION

Le criblage phytochimique, nous a permis de mettre en évidence que les graines de *Linum usitatissimum* L. renferment plusieurs familles de composés naturels comme les flavonoïdes, les stérols et les triterpènes, les polyphénols, les composés réducteurs et les tanins. Ces substances sont généralement responsables de certaines activités biologiques des extraits des plantes médicinales.

La détermination quantitative des composés phénoliques de nos extraits méthanolique et aqueux chez l'espèce étudiée a bien montré que leur graines contiennent une faible teneur en

polyphénols totaux.

S'agissant de l'activité antibactérienne des deux extraits phénoliques, les extraits phénoliques, n'ont exprimé aucune activité contre les bactéries testées par contre l'étude du pouvoir anticoagulant démontre que ces extraits exercent une activité anticoagulante importante pour les deux voies de la coagulation mais elle est plus observée dans la voie exogène que dans la voie endogène de la coagulation.

Le lin est une plante médicinale riche en métabolites actifs. Une exploitation de ses propriétés pharmacologiques s'impose sur une recherche approfondie de ses principes actifs.

A cet effet, il est souhaité de :

- Approfondir l'analyse chromatographique pour isoler et identifier les molécules actives de cette plante.
- Compléter l'étude *in vivo* pour l'évaluation de l'activité antioxydante, antibactérienne et anticoagulante des extraits phénoliques et des huiles fixes des graines de lin.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui peuvent répondre aux problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments de synthèses.

5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Gurib-Fakim, A. Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine, Med. Pla*, 2006, 27:1-93.

[2] Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. The effect of plant flavonoides on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol.Rev*, 2000.52(4), p: 673-751.

[3] Tzang B. S., Yang S. F., Fu S. G., Yang H.C., Sun H. L., Chen Y.C. Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry*, 2009.114: 1450-1455.

[4] Békro Y.A., Békroj A.M., Bouab.B., Trab F.H. and Ehilé E.E. Etude Ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat*, 2007. 4 (2) : p. 217-225.

[5] Kalla, A. Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*. Thèse de Doctorat en

Sciences, 2012. Université de Mentouri – Constantine

- [6] Tadros S.H. Pharmacognostical study of *entolobuim cyclocarpum griseb* growing in Egypt. Ph. D.thesis. Faculty of pharmacy.Cairouniversity.Florida state horticultural society, 1979.426p.
- [7] Oloyede O.I, Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*, *Pakistan journal of nutrition*, 2005. 4, p. 379-381.
- [8] Koffi N., Beugré K., Guédé N., Dossahoua T., Laurent A. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte –d’Ivoire), *Sciences & Nature*, 2009. Vol.6N°1 :1-15.
- [9] Dohou N., Yamni K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A., GmiraN. Screening phytochimique d’une endémique ibéro-Marocaine, *Thynelaealythroïdes*. *Bull.Soc, Pharm. Bordeaux*, 2003.142:61-78.
- [10] Tresse E. et Evans W.C. Pharmacognosy. Billiaire, Ed. Tindall, London1987. 13, p. 61-62.
- [11] Memelink J., Verpoort R., Kijne J.W. Organisation of jasmonate-responsive gene expression in alkaloid metabolism, *Trends plant sci*, 200 1. 6:212-219
- [12] Diallo D. Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Minosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae), 2000.Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l’université de Lausanne Suisse.
- [13] Catalano L, Franco I, De Nobili M, Leita L. Polyphenols in olive mill waste waters and their depuration plant effluents: a comparaison of the Folin-Ciocalteauand HPLC methods, *Agrochimica*, 1999. p :46
- [14] Skerget, M., P. Kotnik, M. Hadolin, A.R. Hras, M. Simonic and Z. Knez. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chem*, 2005. 89: 191-198.
- [15] Lafka T.I, Sinanoglou V, Lazos E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes, *Food Chemistry*, 2007. p : 46.
- [16] Li H.B.,Cheng K.W., Wong C. C., Fan K. W., chen F., Tian Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food*

Chemistry, 2007. 102, p.771-776.

- [17] Hayes A. J. et Markovic B. Toxicity of australian essential oil *Backhousia Citriodora* (Lemon myrtle). Part1, Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity, *Food Chem Toxicol*, 2002. 40: 535-543.
- [18] Najjaa H., Neffati M., Zouari, S. and Ammar E. Essential oil composition and Antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum*L, a North African endemic species. *C.R.Chimie*, 2007. 10:820-826.
- [19] Rizzo F, Papisoulitis K, Crawford E, Dodkin S, Cue S. Measurement of prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) on canine citrated plasma samples following different storage conditions. *Research in Veterinary Science*, 2008. 85: 166-170.
- [20] Wang J, Zhanga Q, Zhang Z, Songa H, Li P. Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010. 46: 6-12.
- [21] ALachaher Fatima Zohra. Effet de la supplémentation des graines brunes de lin sur le profil lipidique et les statuts redox et inflammatoire, chez les rats rendus diabétique par streptozotocine. Thèse de Doctorat, 2018. Université d'Ahmed Benbella, Oran, Alger.
- [22] Zafar Javed Khan., Naeem Ahmad Khan., Imrana Naseem., Shahab A. A Nami. Exploration of physicochemical potential of *Linum usitatissimum* L (Tukhm-e-Katan). *Asian journal of pharmacy and pharmacology*, 2019.5(3):551-558.
- [23] Acket S. (2015). Implication du métabolisme carboné pour une production différentielle d'huile chez les plantes oléagineuses-Lin : modélisation des systèmes. Thèse de doctorat, Université de Technologie, Compiègne.
- [24] Anwar F., Przybylski R. Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from fl axseed (*Linum usitatissimum* L.). *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 2012. 11(3), 293-301.
- [25] Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y. Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 2003. 51: 7292-7295.
- [26] (Ebrahimi et al., Ebrahimi NS. Hadian J., Mirjalili MH., Sonboli A., Youcef Zadi M. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *thymus caramanicus* at different

phonological stages. *Food chemistry*, 2008.110:927-931

[27] Miliuskas G., Venskutonis P.R., Van Beek TA, Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 2004. 85:231-237.

[28] Nesbitt P.D., Lam Y., and Thomposo L.U. Human metabolism of mammalian lignan precursors in raw and processed flaxseed .*American journal of clinical nutrition*, 1999. 69:549-555.

[29] Caquet R.250 Examens de laboratoire : prescription et interprétation (9ème Ed. Masson (Paris); 2004. p. 388-389.

[30] Sakthipriya P. etVidhya R. Phytochemical and in-vitro thrombolytic Activity of *Pergulariadeamia* (forsk.) stem.*World Journal of PharmaceuticalResearch*, 2015.4 (5): 1325-1337.

[31] Mieszczanek J., Harrison L. M., Vlasuk G.P., Cappello M. Anticoagulantpeptides from *Ancylostomacanicum* immunologically distinct and localize to Separate structures within the adult hookworm. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2004. 133: 319-323.

[32] Zhou H.Y., Hong J.L., Shu P., Juan Ni Y., Qin M. J. A new coumarin andAnticoagulant activity from *Viola yedoensis* Makino. *Fitoterapia*, 2009. 80:283–285.

[33] Bae J.Antithrombotic and profibrinolytic activities of phloroglucinol.*Food and ChemicalToxicology*, 2011. 49: 1572-1577.

How to cite this article:

Boukeria S, Mnasri SR, Kadi K., Benbott A, Bougueria H, Biri K, Lazbbache W. Evaluation of the antibacterial and anticoagulant activity of phenolic extracts of *linum usitatissimum* L. J. Fundam. Appl. Sci., 2020, 12(2), 667-682.