

N° Ref :



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila

**Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie

Option : Biotechnologie Végétal

Thème :

Activité biologiques de *Centaurea macrocephala* L.

Présenté par : LEDRA Assam

BOUTEBICHA Zakarya

Devant le jury

- Président : Mr YAHIA Abdelouahab

Grade : Professeur

- Examineur : Mr SAHLI Mohammed

Grade : Maitre conférence B

- Promoteur : M^{me} HIMOUR Sara

Grade : Maitre conférence B

Année Universitaire : 2018/2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant et miséricordieux, pour m'avoir donnée la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Au terme de ce travail, nous avons le plaisir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

En premier lieu, nous voudrions remercier notre promotrice Mme **HIMOUR Sara**, d'avoir acceptée d'encadrer notre travail, ainsi pour ses rigueur scientifique, ses précieux conseils, ses critique constructives, sa patience et notamment son bon coeur.

Je remercie sincèrement Mr **YAHIA Abdelouahab** pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être le président du jury.

Un grand merci à Mr **SAHLI Mohammed** d'avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.

Nous remercions tous nos enseignants et nos collègues.

Nous remercions également le groupe de laboratoire de centre universitaire de Mila, pour leurs aides.

Dédicace

Au nom de dieu le miséricordieux

Je dédie ce travail à :

*Mes chère parents : Mon cher père Mohamed et ma tendre
maman Zahia qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la
période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse
vie.*

A mes frères Yasser et Ahmed et ma soeur Marwa

A toute ma famille

A mon binome Zaky

A tous mes amis

A toute personne qui me connais.

Issam

Dédicace

Au nom de dieu le miséricordieux

Je dédie ce travail à :

*Mes chère parents : Mon cher père Taher et ma tendre maman El
Djaida qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la période de mes
études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie*

A mes frères et ma soeur

A toute ma famille

A mon binome Issam

A tous mes amis

A toute personne qui me connais.

Zakarya

Résumé

Notre étude est basée sur l'évaluation des activités biologiques de la plante *Centaurea macrocephala* L. prélevée de la région de Mechtat Seraghna Wilaya de Mila (Algérie). Ce travail consiste à étudier l'activité antibactérienne, anticoagulante et antioxydante des extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. obtenus par une macération dans l'éthanol/eau. Le rendement de l'extraction a montré les valeurs de 31% et 25% respectivement pour les feuilles et les graines.

L'étude des dosages des composés phénoliques (phénols, flavonoïdes totaux et tanins condensés) a montré une richesse en phénols totaux des graines et feuilles respectivement avec les valeurs de 316,25 µg/mg et 786,6 µg/mg par rapport au flavonoïdes et tanins.

L'étude réalisée par un screening phytochimique a montré la présence de toutes les familles de métabolites secondaires testé sauf les alcaloïdes, saponines, anthraquinones et les composés réducteurs.

Le pouvoir antibactérien des extraits testé sur les trois souches bactériennes (*B.cereus*, *S.gallinarum* et *M.luteus*), a montré une forte activité contre *B.cereus*, la zone la plus important (8.28mm dans les feuilles et 6.5 pour les graines) et une activité antibactérienne moins importante contre *S.gallinarum* et *M.luteus*.

Les résultats obtenus pour l'activité anticoagulante indiquent une activité très importante des deux extraits sur la voie exogène de la coagulation (TQ de 47,26s chez les feuilles et 29,23s pour les graines). Le pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques qui a été calculé par la moyenne concentration inhibitrice a montré un pouvoir important $EC_{50}=0,08$ g/ml pour les feuilles et 0,57 g/ml pour les graines par rapport au BHA.

Mots clés: *Centaurea macrocephala* L., Composés phénoliques, Métabolites secondaires, Antibactérienne, Anticoagulante, Antioxydante.

Abstract

Our study is based on the biological activities of the plant *Centaurea macrocephala* L., from the Mechtat Seraghna in the wilaya of Mila (Algeria). This work consists to study the antibacterial activity, the anticoagulant and antioxidant activity of the extracts of the seeds and leaves of *Centaurea macrocephala* L., obtained by maceration in the solvent of ethanol. The extraction yield showed values between 31% for the leaves and 25% for the seeds.

The study of the quantitative analysis of phenolic compounds (phenols, flavonoids total and condensed tannins) increased a total phenols have important a value of 316.25 µg/mg in the seeds and 786.6 µg/mg for the leaves. compared to flavonoids and tannins.

The study conducted by phytochemical screening showed the presence of some families of secondary metabolites except alkaloids, saponins, anthraquinones and reducing compounds.

The antibacterial potency of the extracts was evaluated with the diffusion method of the disks on three bacterial strains (*B.cereus*, *S.gallinarum* and *M.luteus*) with the value of inhibition zone (8.26mm in the leaves and 6.5mm for the seeds). Both extracts had a strong activity against *B.cereus* and a lower antibacterial activity against *S.gallinarum* and *M.luteus*.

The anticoagulant activity was evaluated by the test of prothrombin levels (TP) and the blood of a normal man, the results obtained indicate a very important anticoagulant activity of the two extracts on the exogenous pathway of coagulation (TQ of 47,26s in the leaves and 29,23s for the seeds). The antioxidant power of the ethanolic extracts which was calculated by the average inhibitory concentration showed an important power $EC_{50}=0.08$ g/ml for the leaves and 0.57 g/ml for the seeds compared to BHA.

Key words: *Centaurea macrocephala* L., Phenolic compounds, Secondary metabolites. Antibacterial. Anticoagulant. Antioxidant.

المخلص

تركزت دراستنا على النشاط البيولوجي لنبته القنطريون المستخلصة من مشته السراغنة بولاية ميله و المتمثلة في التأثير المضاد للبكتيريا ,التأثير المضاد للتخثر و المضاد للأكسدة لمستخلصات بذور و أوراق هذه النبتة المتحصل عليها عن طريق النقع في مذيب الإيثانول, حيث بينت النتائج ان مردود الاستخلاص قيمته 31% في الأوراق و 25% في البذور.

تم دراسة التقدير الكمي للمركبات الفينولية (الفينولات, الفلافونويدات الكلية و الثنينات المكثفة) الموجودة في مستخلصات نبتة القنطريون وكانت كمية الفينولات الكلية اهم من الفلافونويدات الكلية و الثنينات المكثفة حيث قدرت ب: 316,25 مكغ/مغ في البذور و 786,6 مكغ/مغ في الأوراق .

أما الدراسة الكيميائية بينت وجود اغلب عائلات الميثابوليزم الثانوي ما عدا القلويدات, الصابونيات و الأنتراكينون والمركبات المختزلة.

فيما يخص النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين تمت عن طريق الانتشار ضد ثلاث سلالات بكتيرية (*M.luteus, S.gallinarum, B.cereus*), نتائج المستخلصين أظهرت نشاط قوي على (*B.cereus*) و نشاط ضعيف ضد (*S.gallinarum, M.luteus*).

تم تقييم النشاط المضاد للتخثر باستخدام اختبار وقت البروثرومبين (TP) على بلازما شخص عادي, حيث بينت الدراسة وجود نشاط قوي مانع للتخثر للمستخلصين 47,26 ثانية في الأوراق و 29,23 ثانية في البذور. أما فيما يخص النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصي الإيثانول التي تم حسابها بواسطة EC_{50} , حيث قيمة $EC_{50}=0.08$ غ/مل لمستخلص الأوراق و 0,57 غ/مل للبذور مقارنة بـ BHA.

الكلمات المفتاحية: نبتة القنطريون , المركبات الفينولية, الميثابوليزم الثانوي, المضاد للبكتيريا , المضاد للتخثر ,المضاد للأكسدة.

Liste des Abréviations

% : Pourcentage.

°C : Celsius.

µl : Microlitre.

¼ : Dilution 25%.

½ : Dilution 50%.

⅛ : Dilution 12.5%.

A.A.oxy : Activité antioxydante.

A.Acoag : Activité anticoagulante.

A.Antibac : Activité antibacterienne.

Abs : Absorbance.

ATCC : American Type Culture Collection.

AVI: Analyse de variance.

B.cereus : *Bacillus cereus*.

BHA : Butylhydroxyanisol.

BN : Bouillon Nutritif.

C : Carbone.

C.macrocephala : *Centaurea macrocephala* L.

cm : Centimètre.

Cm: *Centaurea macrocephala* L.

DO : Densité optique.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

EC50 : Concentration équivalente à 50% de DPPH perdu.

Fl : Feuille.

g : Gramme.

Gn : Gentamicine.

Gr : Graines.

h : Heure.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCl : Acide chlorhydrique.

Kg : Kilo gramme.

l : Litre.

m : Mètre.

M.luteus : *Micrococcus luteus*.

mg : Milli gramme.

MH : Mueller Hinton.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

rpm : Rotation par minute.

S.gallinarum : *Salmonella gallinarum*.

SM : Solution mère.

T.Flav : Teneur en flavonoïdes.

T.phén : Teneur en phénols totaux.

T.polyphén : Teneur en polyphénols.

T° : Température.

TQ : Temps de Quick.

UV : Ultra-Violet.

V : Volume.

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	<i>Centaurea macrocephala</i> L.	05
02	Structure du noyau phénol	10
03	Acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et l'acides hydroxy benzoïques (C6-C1)	10
04	Structure chimique de base des flavonoïdes	11
05	Principaux types de coumarines	13
06	Structure des tanins hydrolysables et leur monomère	14
07	Structure des tanins condensés et leur monomère	15
08	Différentes classes de l'anthocyane	16
09	Structure de l'isoprène	17
10	Exemples des dérivés d'alcaloïdes	17
11	Formule chimique de l'isoprène	19
12	Matériel végétal de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	29
13	Situation géographique de la Ferme Pilote AMIRA Ahmed	30
14	Protocole d'extraction des molécules bioactives	32
15	Etapas de préparation de milieu MH	37
16	Préparation de milieu BN	37
17	Préparation de l'eau physiologique	38
18	Préparation des disques	38
19	Etapas de réactivation des bactéries	39
20	Préparation des boîtes de pétri	40
21	Ensemencement des bactéries	41
22	Dépôts des disques et l'injection des extraits	42
23	Préparation des témoins	42
24	Pied à coulisse	43
25	Centrifugation du sang pour obtenir un plasma déplaqueté	44
26	Schéma représente les étapes de l'activité anticoagulante	45
27	Préparation de l'activité antioxydante	47

28	Histogramme représente le rendement d'extraction des deux organes de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	49
29	Résultats de test des substances phénoliques	51
30	Résultats de test des saponines	51
31	Résultats de test des tanins	52
32	Résultats de test des flavonoïdes	52
33	Résultats de test des triterpènes et stéroïdes	53
34	Résultats de test des alcaloïdes	53
35	Résultats de test des composés réducteurs (Glycosides)	54
36	Résultats de test des quinones libres	55
37	Résultats de test des anthraquinones	55
38	Résultats de test des anthocyanes	56
39	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	56
40	Teneur en phénols totaux dans les deux organes de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	57
41	Courbe d'étalonnage de la quercitine	58
42	Teneur en flavonoïdes dans les deux organes de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	58
43	Courbe étalonnage de Mimoza	59
44	Teneur en tanins condensés dans les deux organes de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	59
45	Pouvoir antibactériennes des extraits des graines et feuilles et le témoin de <i>B.cereus</i>	62
46	Pouvoir antibactériennes des extraits des graines et feuilles et le témoin de <i>M.luteus</i>	63
47	Pouvoir antibactériennes des extraits des graines et feuilles et le témoin de <i>S.gallinarum</i>	64
48	Effet de concentration des extraits polyphénoliques des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L. sur le TQ	66
49	Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des extraits éthanoliques des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L. ainsi que le BHA (Standard)	66

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
I	Structures de quelques classes des flavonoïdes	12
II	Facteurs de la coagulation	25
III	Activité biologiques des quelques composés polyphénoliques	28
IV	Données météorologiques en moyenne mensuelle enregistrées l'année 2018 dans la région de Mila	30
V	Caractéristiques des trois souches bactériennes utilisées	31
VI	Différents solution préparées pour le test	46
VII	Résultats des tests phytochimique des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	50
VIII	Diamètres des zones d'inhibition des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	60
IX	Résultats de l'activité anticoagulante des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	65
X	EC50 d'activité antioxydants de <i>Centaurea macrocephala</i> L.	67

Table des matières

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Rappel bibliographique

Chapitre I : *Centaurea*

I. *Centaurea*

I.1 Position systématique de la famille Asteraceae.....	03
I.2 Historique de genre <i>Centaurea</i>	03
I.2.1 Présentation du genre <i>Centaurea</i>	03
I.2.2 Généralités.....	03
I.2.2.1 Description botanique de <i>Centaurea</i>	04
I.2.2.2 Utilisation du genre <i>Centaurea</i>	04
I.3 Présentation de l'espèce <i>Centaurea macrocephala</i> L.....	05
I.3.1 Description de l'espèce.....	05
I.3.2 Place dans la systématique.....	06
I.3.3 Habitat de <i>Centaurea macrocephala</i> L.....	06
I.3.4 Biologie de la reproduction.....	07
I.3.5 Utilisations de la plante.....	07
I.3.6 Utilisation traditionnelle de <i>Centaurea</i>	07

Chapitre II : Métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires.....	08
II.1 Généralités.....	08
II.2 Définition des métabolites secondaires.....	08
II.3 Relation entre les métabolismes primaires et secondaires.....	08

II.4 Utilisation.....	08
II.5 Principaux métabolites secondaires du genre <i>Centaurea</i>	09
II.6 Classification des métabolites secondaires.....	09
II.6.1 Composés phénoliques.....	09
II.6.1.1 Acides phénoliques.....	10
II.6.1.2 Flavonoïdes.....	11
II.6.1.3 Coumarines.....	13
II.6.1.4 Tanins.....	13
II.6.1.5 Anthocyanes.....	14
II.6.1.6 Lignanes.....	16
II.6.2 Terpènes.....	16
II.6.3 Alcaloïdes.....	17
II.6.4 Hétérosides.....	18
II.7 Huiles essentielles.....	18

Chapitre III : Activités biologiques

III. Activités biologiques.....	20
III.1 Activités biologiques de genre <i>Centaurea</i>	20
III.2 Activité antibactérienne.....	20
III.2.1 Principales substances antimicrobiennes.....	20
III.2.1.1 Antibiotiques.....	20
III.2.1.2 Classification des antibiotiques.....	21
III.2.2 Donnée sur les souches bactériennes utilisé.....	21
III.3 Activité antioxydante.....	22
III.3.1 Définition.....	22
III.3.2 Polyphénols comme antioxydants.....	23
III.4 Activité anticoagulante.....	24
III.4.1 Coagulation du sang.....	24
III.4.2 Facteurs de la coagulation.....	24
III.4.3 Voies de la coagulation.....	25
III.4.3.1 Voie endogène.....	25
III.4.3.2 Voie exogène.....	26
III.5 Rôle biologique des composés phénoliques.....	27

Partie II : Etudes expérimentales

Chapitre I : Activités biologiques

I. Etude expérimentale.....	29
I.1 Matériel végétal.....	29
I.2 Situation géographique des zones de prélèvement.....	29
I.3 Climat de la zone d'étude.....	30
I.4 Souches microbiennes.....	31
I.5 Antibiotiques.....	31
II. Méthodes	31
II.1 Etude phytochimique.....	31
II.1.1 Préparation des échantillons (graines et feuilles).....	31
II.1.2 Rendement d'extraction.....	32
II.1.3 Screening phytochimique.....	33
II.1.4 Dosage des phénols totaux.....	35
II.1.5 Dosage des flavonoïdes.....	35
II.1.6 Dosage des tanins condensés.....	36
III. Activités biologiques.....	36
III.1 Aactivité antibactérienne des extraits de <i>Centaurea macrocephala</i> L.....	36
III.1.1 Préparation des milieux.....	36
III.1.2 Préparation des disques d'aromatogramme.....	38
III.1.3 Stérilisation du matériel.....	39
III.1.4 Préparation de l'inoculum bactériennes.....	39
III.1.5 Dilution des extraits.....	40
III.1.6 Préparation des boites de pétri.....	40
III.1.7 Ensemencement bactérienne.....	40
III.1.8 Dépôts des disques et l'injection des extraits.....	41
III.1.9 Préparation des témoins (Positif et négatif).....	42
III.1.10 Incubation et lecture.....	43

III.2	Activité anticoagulante des extraits de <i>Centaurea macrocephala</i> L.....	44
III.3	Activité antioxydante des extraits de <i>Centaurea macrocephala</i> L.....	46
IV.	Analyse statistiques.....	48

Chapitre II: Résultats et discussion

I.	Résultats.....	49
I.1	Etude quantitative.....	49
I.1.1	Rendement d'extraction.....	49
I.1.2	Screening phytochimique.....	49
I.1.3	Teneur en phénols totaux.....	56
I.1.4	Teneur en flavonoïdes	57
I.1.5	Teneur en tanins condensés.....	59
I.2	Activités biologiques.....	60
I.2.1	Activité antibactérienne des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L..	60
I.2.2	Activité anticoagulante des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L..	64
I.2.3	Activité antioxydante des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> L.....	66
II.	Discussion.....	68
	Conclusion et perspectives.....	75
	Références bibliographiques.....	77
	Annexes.....	94

Introduction

Centaurea macrocephala L. originaire du Caucase, est une plante vivace, à des tiges robustes, feuillées, qui atteint une hauteur de 1 m et porte des fleurs jaunes, de genre *Centaurea*, la famille des Asteraceae, regroupe environ 700 espèces dans le monde. En Algérie, ce genre est représenté par 45 espèces (**Quezel et Santa, 1963 ; Mabblerley, 1987**).

Le genre *Centaurea* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques, ces travaux ont permis l'isolement de divers métabolites secondaires, en citant; les composés phénoliques, flavonoïdes, lignanes, tanins ,saponines, alcaloïdes , terpènes et les lactones sesquiterpéniques (**Sarker et al., 1997**), ces derniers considérés en général comme constituants du genre *Centaurea* et en particulier agissent comme antioxydants primaires et stabilisent les radicaux (**Formisano et al., 2012**).

Nombreuses espèces du genre *Centaurea* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour leurs activités antimicrobienne, antivirale, antifongique et antioxydant afin de soigner divers maladies , par exemple le diabète, la diarrhée, les rhumatismes, le paludisme, l'hypertension.

Ce travail avait pour objectif l'évaluation de l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Centaurea macrocephala* L. endémique dans notre région. L'investigation phytochimique des plantes passe tout d'abord par la récolte et l'identification des espèces végétales présentant un intérêt en médecine traditionnelle en particulier, après l'extraction de métabolites secondaires, pour le criblage biologique des extraits obtenus, afin de tester leur pouvoir guérison.

Notre travail sera divisé en deux parties :

✓ **La première partie** concerne tout d'abord au rappel bibliographique de la plante, elle contient trois chapitres :

- Généralités sur *Centaurea macrocephala* L.
- Présentation des métabolites secondaires.
- Activités biologiques.

✓ **La deuxième partie** concerne l'étude expérimentale, est divisé en deux chapitres :

- Matériel et méthodes

- Résultats et discussion.

et finalement conclusion et perspectives.

Partie I : Rappel bibliographique

I. *Centaurea*

I.1 Position systématique de la famille Asteraceae

Les Asteraceae sont des plantes herbacées, rarement arbustives, arborées ou rampantes. Selon les estimations, distribuées principalement dans les zones tempérées du globe, la famille Asteraceae contient environ 900 genres et entre 15 000 et 20 000 espèces, c'est pour cela qu'on dit que cette famille est la plus étendue de la classe des dicotylédones (**Bayer et Starr, 1998**). En Algérie, il existe 109 genres et 408 espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

Le mot « Aster » du grec indique étoile, en relation avec la forme de la fleur de ces plantes. Son nom scientifique : Asteraceae a été introduit par Martynov en 1820. Le nom Compositae revient à Giseke dès 1792. Les Asteraceae sont fréquemment utilisées en médecine populaire pour guérir un bon nombre de maladies (**Bellakhdar, 1997**).

I.2 Historique de genre *Centaurea*

Selon la mythologie, en XIV^{ème} siècle Centoïre encore au XVII^{ème} siècle. Emprunté du latin *Centaurea* « plante du centaure », est nommée ainsi car ses propriétés médicinales auraient été découvertes par le centaure Chiron. *Centaurea* provient du grec *Kentaurion* qui signifie "Centaure". C'est une allusion au sage Chiron, un centaure érudit et guérisseur qui, d'après la légende, savait user des propriétés médicinales des Centaurées. *Centaurea* a été utilisée pour soigner la blessure au pied du sage Centaure Chiron, l'enseignant du dieu Grec de médecine «Esculape» causée par la flèche d'Hercule (**Carnoy, 1959 ; Beloued, 1998**). Selon Discorde, les latins on appelait les Centaurées par les noms «*Unefera*» ou «*Phellerae*», qui vient des mots latins "fel" "terrae", qui signifient "bile de la terre"; ce nom lui a été attribué à cause de son amertume (**Berendes , 1970**).

I.2.1 Présentation du genre *Centaurea*

I.2.1.1 Généralités

Le genre *Centaurea*, qui fait partit de la famille des Astéracées, compte environ 700 espèces et 600 sous-espèces (**Trease et Evans, 1983**). Il est répandu aussi bien sur le territoire Algérien qu'en Europe méridionale, dans le bassin méditerranéen, à l'ouest de l'Asie et sur le continent américain (**Quezel et Santa, 1963 ; Mabberley, 1987**).

En Algérie, on trouve 45 espèces du genre *Centaurea*, qui sont décrites à travers le territoire (Quezel et Santa, 1963).

I.2.1.2 Description botanique de *Centaurea*

Selon Quezel et Santa (1963) les centaurées sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, à feuilles alternes. Comme pour toutes les composées, les fleurs, ou fleurons, sont disposées en capitule multiflores homomorphes ou dimorphes, celles de la périphérie (souvent stériles) s'ouvrant largement en cinq lobes. Leur couleur varie le plus souvent entre le rose, le pourpre et le violet, mais il existe aussi quelques espèces à fleurs jaunes. Ces fleurs entourées d'un involucre ovoïde ou globuleux à bractées imbriquées et inégales sur plusieurs rangs, à la manière des artichauts. Ces bractées peuvent être ciliées (Cas le plus fréquent) ou épineuses.

Leur observation est essentielle pour déterminer les espèces. Le réceptacle plan ou sub plan est garni de soies abondantes. Les fruits sont des akènes longues ou ovoïdes, lisses, à hile latéral, profond, barbu ou non, portant une aigrette assez courte, simple ou double, persistante ou caduque.

I.2.1.3 Utilisation du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* est riche en substances naturelles, utilisées contre plusieurs maladies comme le diabète, la malaria ainsi que les maladies de la peau et du foie, il était utilisé dans la médecine populaire depuis longtemps.

Plusieurs espèces du genre *Centaurea* font l'objet d'une large investigation phytochimique, en raison de leur richesse en métabolites secondaires connus pour leurs diverses activités biologiques : anti-tumeur, cytotoxique, antimicrobienne, hypothermique (Lee et al., 1977; Giordano et al., 1992 ; Akbar et al., 1995).

Parmi les espèces les plus connues par leurs richesses en métabolites secondaires et leurs usages médicinaux on cite :

- *Centaurea macrocephala* : une espèce endémique en Arménie, en Iran et en Turquie et également naturalisées dans de nombreux autres pays du monde (Shoeb et al., 2004). De nombreuses espèces du genre *Centaurea* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour soigner divers maux, par exemple. le diabète, la diarrhée, les

rhumatismes, le paludisme, l'hypertension, etc., ainsi que divers métabolites secondaires ont été rapportés chez différentes espèces de ce genre (Sarker et al., 1997).

- *Centaurea helenioides* Boiss : une espèce endémique de la Turquie, ayant des principes actifs connus par leurs activités anti-inflammatoire, cardiotonique, neurocytotoxique (Yayli et al., 2004).
- *Centaurea solstitialis* : une espèce très connue en raison de sa très grande distribution géographique dans les pays du monde et ses propriétés médicinales contre les troubles digestifs, les malaras, les ulcères (Fujita et al., 1995 ; Honda et al., 1996 ; Yesilada et al., 2004).
- *Centaurea cyanus* : une espèce endémique de l'Iran, Iraq, Pakistan, Italie et de la Turquie. Elle présente des propriétés anti-diarrhéiques, antipyrétiques et cardiotoniques (Asadipour et al., 2005).

I.3 Présentation de l'espèce *Centaurea macrocephala* L.

I.3.1 Description de l'espèce

Centaurea est un mot Grecque qui signifie demi homme et demi cheval, d'où son nom générique (Armitage, 2001), "*macro*" signifiant grand et "*céphalus*" signifiant des têtes de palier (Hellwig, 2004).

Centaurea macrocephala L. originaire du Caucase, est une plante vivace, à des tiges robustes, feuillées, qui atteint une hauteur de 1 m et porte des fleurs jaunes, d'environ 5 cm de diamètre sur une base de bractées brillantes brunes, en forme de massue (Yoshimura et Tsukamoto, 1968; Hellwig, 2004). Cette plante ornementale est populaire pour ses fleurs coupées et comme plante ornementale de jardin (Figure 01) (Yoshimura et Tsukamoto, 1968).



Figure 01 : *Centaurea macrocephala* L. (Anonyme 1, 2018).

I.3.2 Place dans la systématique

Selon **Garcia-Jacas et al. (2006)** la classification de *Centaurea macrocephala* L. est la suivante :

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermeae
Classe	Dicotylédoneae
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Astéraceae
Sous-famille	Carduoidae
Tribu	Cardueae
Sous-tribu	Centaureinae
Genre	<i>Centaurea</i>
Espèce	<i>macrocephala</i> L.

I.3.3 Habitat de *Centaurea macrocephala* L.

Centaurea macrocephala L. se serait développé dans les prés subalpins entre 2000 et 2300 m (**Wagenitz, 1975**) ou dans des endroits dégagés en forêt de haute montagne, dans de hautes communautés herbacées (**Klokov et al., 1963**). Dans son aire de répartition naturalisée, il pousse dans des conditions de climat tempéré humide supportant principalement la végétation forestière comme couverture indigène ou, dans quelques cas, la prairie indigène. En Amérique du Nord, l'habitat se présente sous forme de prairies et de clairières herbeuses, entre 400 et 2000 m (**Keil et Ochsmann, 2006**).

Certaines espèces sont populaires en Asie de l'Est, en Europe (Turquie et Espagne) et en Afrique (Niger) (**Murray, 1999**).

C. macrocephala L. a principalement envahi des communautés déjà dominées par des plantes pérennes: les prés; les pâturages; bluegrass gazon; et des ouvertures de graminées vivaces dans les zones boisées (**Roché, 1991**).

I.3.4 Biologie de la reproduction

Centaurea macrocephala L. est une plante vivace qui se reproduit par graines. Les jardiniers et les ouvriers des pépinières peuvent le propager en divisant la couronne. Dans les populations naturalisées, les rosettes ne fleurissent généralement pas la première année. Le pic de floraison se situe entre le milieu et la fin de l'été (**Keil et Ochsmann, 2006**).

I.3.5 Utilisations de la plante

C'est une plante à fleurs ornementales bien connue. Il a été une fleur de jardin pendant plus de 200 ans, étant introduit au Royaume-Uni et aux États-Unis au début du 19ème siècle. Thomas Jefferson a obtenu des graines du pépiniériste Bernard McMahon et les a plantées à Monticello (**Hellwig, 2004**).

I.3.6 Utilisation traditionnelle de *Centaurea*

Centaurea avait été utilisée en médecine traditionnelle comme diurétique et pour traiter la fièvre et le diabète (**Font Quer, 1995**).

De nombreux *Centaurea* ont été ajoutés aux toniques dans l'idée qu'ils stimulaient le flux de la salive et des acides gastriques, redonnant ainsi de l'appétit aux invalides (**Bernhardt, 2008**).

Selon **Farrag et al. (1993)**; **Barrero et al. (1997)**; **Orallo et al. (1998)**; **Baba aissa (1999)**; **Skaltsa et al. (2000)**; **Köse et al. (2007)** les espèces de genre *Centaurea* sont réputées en médecine traditionnelle seuls ou en mélangeant avec d'autres plantes, pour leurs propriétés :

- Anti-diarrhéiques, anti-pelliculaires.
- Anti-rhumatismales, anti-inflammatoires, cholagogue, cholérétiques, digestives, stéroïdiennes, astringentes et hypotensives.
- Anti-pyrétiques, cytotoxiques et anti-bactériennes et antifongique.

Sont utilisés

C. pullata est utilisé en Algérie dans la préparation avec d'autres plantes d'un plat traditionnel local appelé "El Hammama" (**Djeddi et al., 2007**).

Chapitre II :
Métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires

II.1 Généralités

La famille des Asteraceae est riche en divers composés naturels. On y trouve des terpenoïdes, flavonoïdes et alcaloïdes, c'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représentent une des principes amers typiques de cette famille (**Harborne et Swain, 1969**).

II.2 Définition des métabolites secondaires

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire) : ce sont des métabolites secondaires qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même (rôle de résistance) (**Guerrah et Seguni, 2015**).

II.3 Relation entre les métabolismes primaires et secondaires

Le métabolisme primaire représente tous les processus de bases, comme la croissance ou la respiration, qui sont vitaux pour la plante. Les métabolites primaires proviennent de ces réactions et sont les composés essentiels de la machinerie moléculaire de la cellule. Le métabolisme secondaire a été défini par rapport à cette définition, et constitue donc tous les autres processus. Initialement la notion de métabolites secondaires résidait dans trois principales observations : une difficulté à attribuer une fonction précise à ces composés dans la physiologie de la plante, leur répartition très inégale selon les végétaux et au sein même des plantes, et enfin leur inertie biochimique (**Macheixj et al., 2005**).

II.4 Utilisation

➤ **En médecine** : Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'homme sont utilisés en :

-Urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil.

-Systèmes cardiovasculaires, par exemple : Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercetine est utile dans le traitement de l'athérosclérose.

- **En alimentation** : Les épices et les herbes aromatiques contenant des divers métabolites sont considérées comme condiments et aromates.
- **En cosmétique** : Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (Mohammedi, 2006).

II.5 Principaux métabolites secondaires du genre *Centaurea*

De nombreuses études phytochimiques sur des espèces du genre *Centaurea* ont révélé la richesse de ces dernières en métabolites secondaires tels que les stéroïdes (stérols) (Flamini et al., 2002; Picher, 1984), les composés phénoliques, quelques alcaloïdes (Shoeb et al., 2006; Seghiri et al., 2006) et les lactones sesquiterpéniques ainsi que les flavonoïdes qui sont les principaux métabolites secondaires de ces espèces (Seghiri et al., 2006).

II.6 Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en quatre grands groupes selon leur structure chimique :

- Les composés phénoliques.
- Les terpènes.
- Les alcaloïdes.
- Les hétérosides.

II.6.1 Composés phénoliques

Les composés polyphénoliques sont abondants dans les plantes et les fruits et légumes. Dans en autre, ils sont des composantes importantes des sont susceptibles de devenir des ingrédients dans des matières médicinales (Figure 02) (Goszcz et al., 2015).

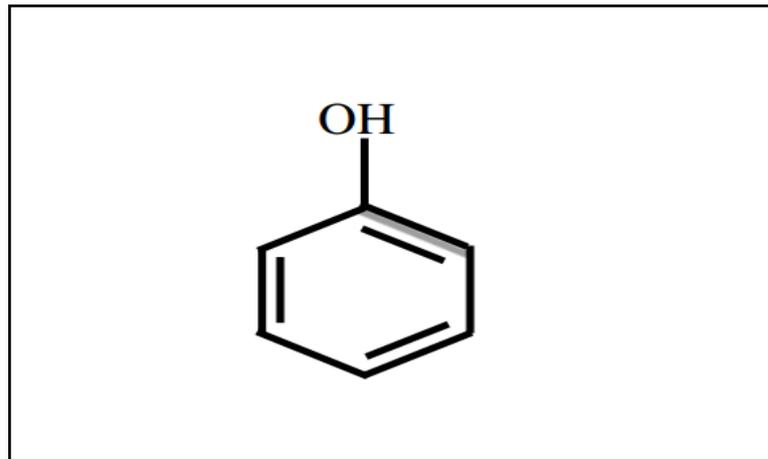


Figure 02: Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

II.6.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et les acides hydroxy benzoïques (C6-C1) (**Figure 03-A et B**). (Arimboor ; Kumar *et al.*, 2008).

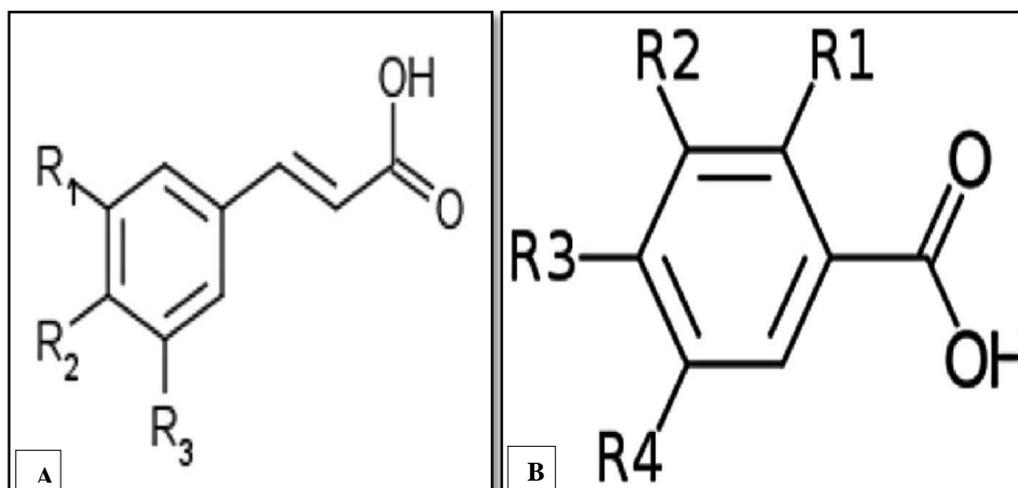


Figure 03 : Acides hydroxycinnamiques (C6-C3) (A) (Han *et al.*, 2007; Chira *et al.*, 2008) et l'acides hydroxy benzoïques (C6-C1) (B) (Bruneton, 2008).

II.6.1.2 Flavonoïdes

Certain nombre de flavonoïdes, de la 6-C-glucosyl-lutéoline, de l'isoquercitrine, de la 3-O-glucosyl-isorhamnetine, de la trifoline, de la rutine, de l'isoscoparine et de l'isovitexine ont déjà été isolés des parties aériennes de *C. macrocephala* L. (Reynaud et al., 1992).

D'après Bouakaz (2006), le mot flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont responsables de la coloration des différents organes végétaux (Havasteen, 2002).

Ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes tels que : flavones, isoflavandiol, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanins (Tableau I) (Leonard et al., 2006) (Tableau I).

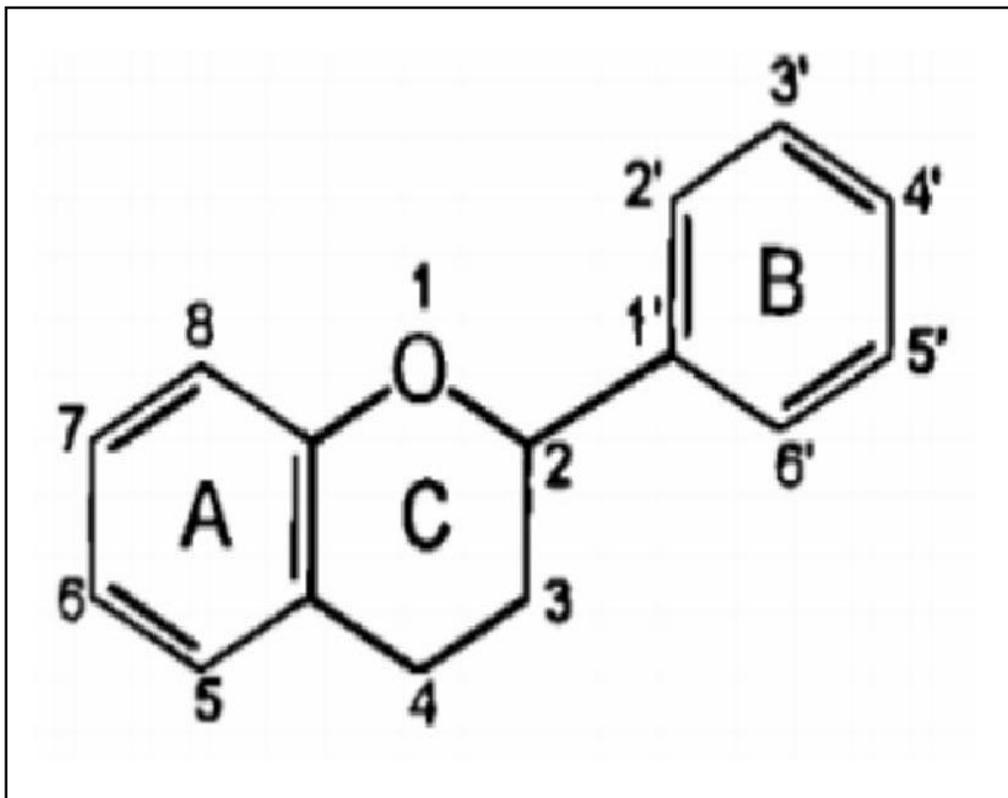
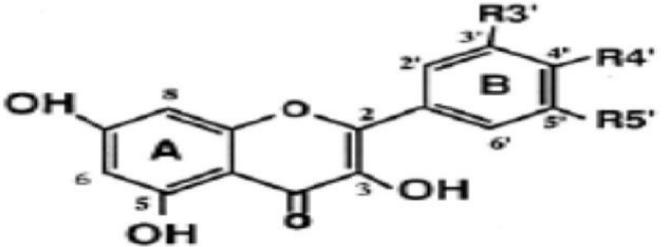
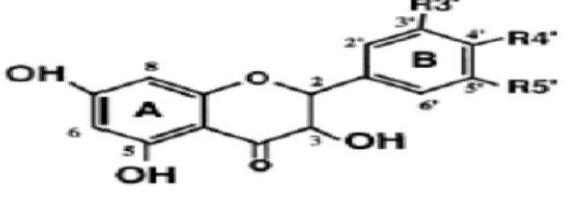
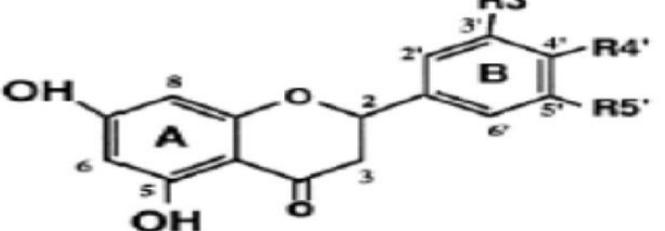
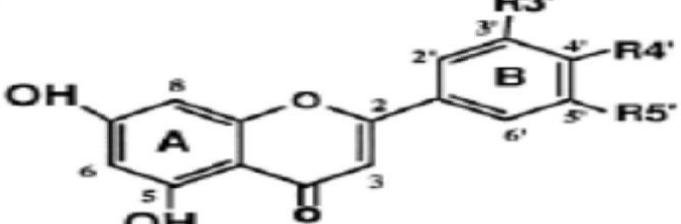
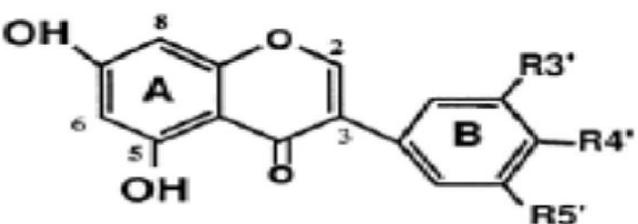
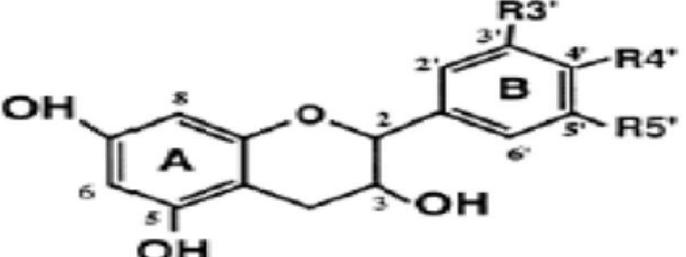


Figure 04 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et al., 2001).

Les structures de quelques classes des flavonoïdes sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau I : Structures de quelques classes des flavonoïdes (Gamet-Payraastre *et al.*, 1999).

Flavonoïdes	Structure chimique
- Flavonol	
- Flavanonol	
- Flavanone	
- Flavone	
- Isoflavone	
- Flavan-3-ol	

II.6.1.3 Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone, dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarounaodorata*. Du point de vue structural, ils sont classés en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, les coumarines substitués en position 3 et/ou 4. Le dernier groupe serait celui des dimères (Figure 05) (Sakagami et al., 2005).

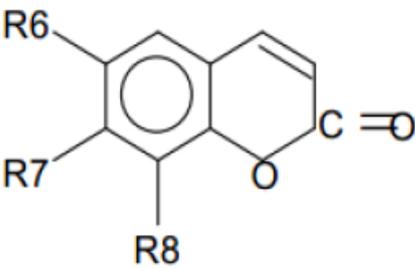
	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

Figure 05: Principaux types de coumarines (Macheix et al., 2005).

II.6.1.4 Tanins

✓ Généralité sur les tanins :

Le terme " tanin " (ou tannin) vient du mot tannage, un procédé datant du moyen age et permettant la formation de cuir imputrescible par la création de liaisons entre les fibres de collagène de la peau fraîche (Bruneton., 2009). Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant outre les propriétés habituelles des phénols la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Aganga et Mosase, 2001 ; Peronny, 2005).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (Khanbabae et Ree, 2001), en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (Peronny, 2005).

✓ **Structure chimique et classification :**

On distingue habituellement deux groupes différents qui sont :

➤ **Tanins hydrolysable**

Ce sont des polyesters de glucose (ou de molécules apparentées) et d'un nombre variable d'acide phénolique qui est : soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (**Figure 06**) (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001**).

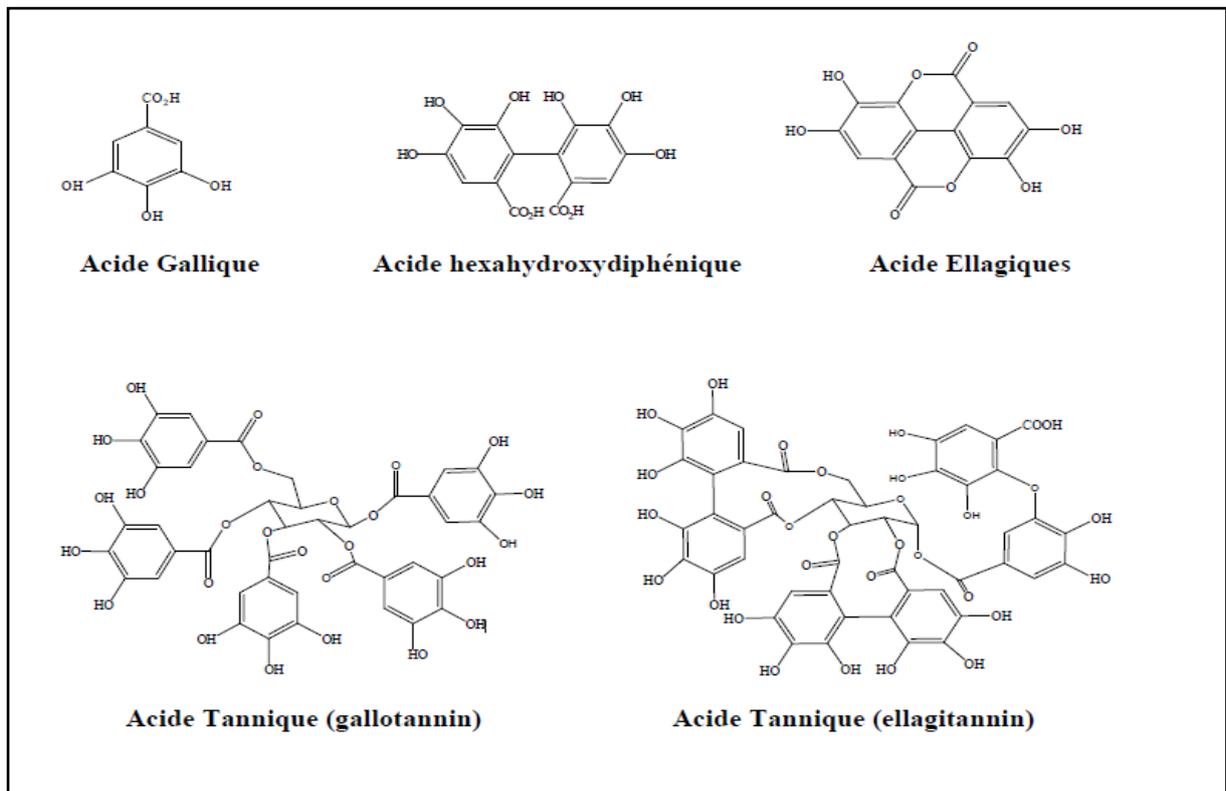


Figure 06: Structure des tanins hydrolysables et leur monomère (**Bruneton, 1999**).

➤ **Tanins condensés (proanthocyanidines) :**

Ce sont des dérivés non hétérosidique, n'ayant pas tous des propriétés tannantes, résultant de la polymérisation d'un nombre variable d'unités flavane (flavan-3-ols), le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de cinquante unités (**Ghestem et al., 2001 ; Khanbabaee et Ree, 2001**). Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone 4→8 ou 4→6 dans les proanthocyanidines de type B, ou

par une liaison inter flavanique double (C-4→C-8 ou C-4→C-6) et (C-2→O→C-7) dans les proanthocyanidines de type A (**Figure 07**) (**Bruneton, 1999** ; **Vivas et al., 2006**).

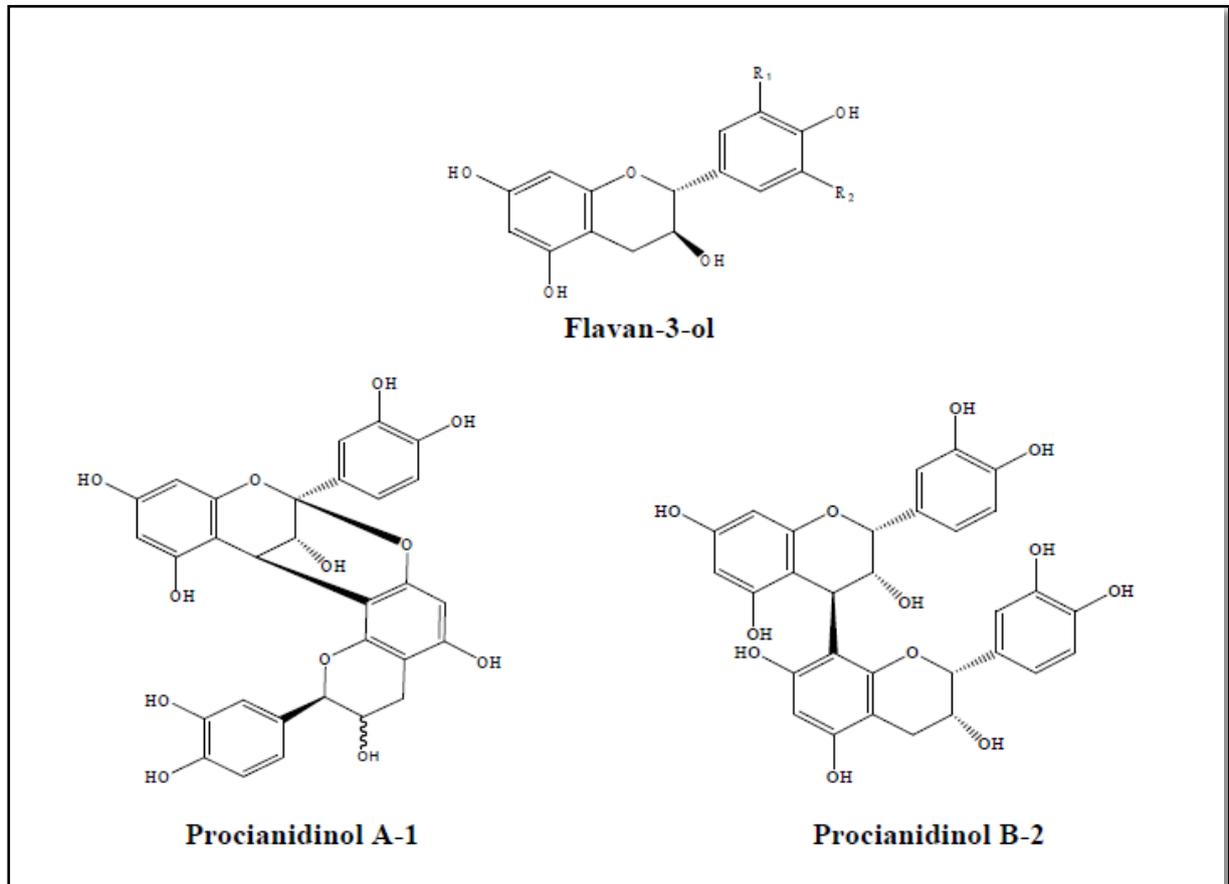


Figure 07: Structure des tanins condensés et leur monomère (**Bruneton, 1999**).

II.6.1.5 Anthocyanes

Ce sont des pigments rouges en milieu acide, virant au bleu en milieu alcalin ; ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits.

Les anthocyanes sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de lumière visible. Dans la nature, ces pigments n'existent pas sous forme aglycone, mais sous forme d'hétérosides.

Les sucres sont liés au chromophore en position 3, mais aussi en position 5 et plus rarement en position 7 (**Brouillard, 1986**) (**Figure08**).

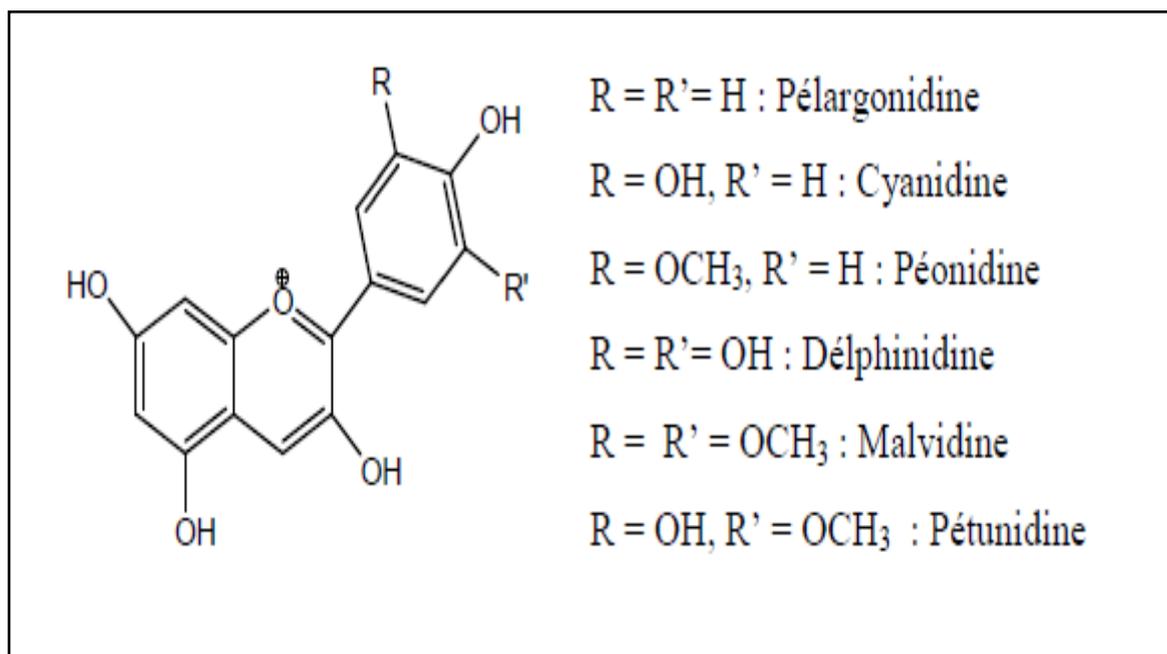


Figure 08: Différentes classes de l'anthocyane (Brouillard, 1986).

II.6.1.6 Lignanes

Les lignanes désignent des molécules qui résultent, le plus souvent, de l'établissement d'une liaison entre deux carbones de la chaîne latérale de deux acides hydroxycinnamiques. Ils interviennent dans les mécanismes de défense de la plante (Yang ; Linko et al., 2006).

Matairesinoside est un lignane, a été déjà isolés des parties aériennes de *C. macrocephala* L. (Ribeiro et al., 2002 ; Shoeb et al., 2007).

II.6.2 Terpènes

les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structures soit cyclique soit chaîne ouverte : leurs formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont x : est variable en fonction de degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les poly terpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc), la molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Figure 09) (Bezzaz, 2014).

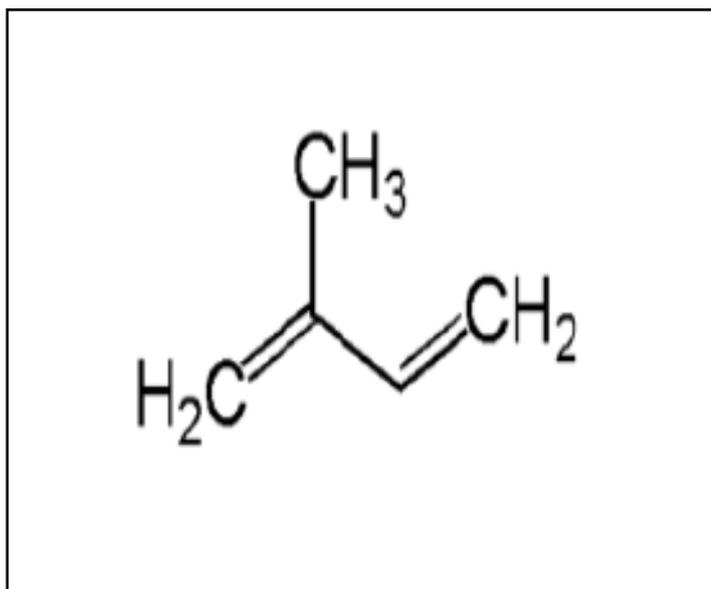


Figure 09: Structure de l'isoprène (Hininger, 2011).

II.6.3 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (Volack et Stodola, 1983).

Les alcaloïdes sont des hétérocycliques à caractère alcalin contenus essentiellement dans les plantes (Ouahas, 1996) (Figure 10).

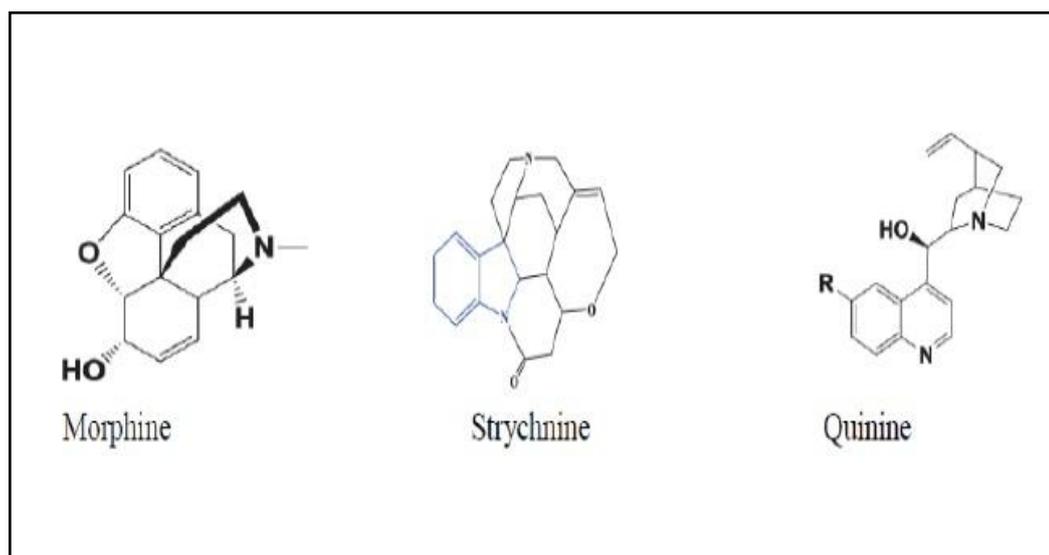


Figure 10: Exemples des dérivés d'alcaloïdes (Badiaga, 2011).

Selon leur structure chimique et surtout leur structure moléculaires, on peut diviser les alcaloïdes en plusieurs groupes selon **Volack et Stodola (1983)** :

- **Des phénylalanines:** capasaïcine du piment, colchicine du colchique ;
- **Des alcaloïdes isoquinoléiques:** morphine, ethylmorphine, codéine et papavérine contenus dans l'opium du pavot ;
- **Des alcaloïdes quinoléiques:** tige feuillée de la rue commune ;
- **Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques:** ricine du ricin, trigonelline du fenugrec ;
- **Des alcaloïdes dérivés du tropane:** scopolamine et atropine de la belladone ;
- **Des alcaloïdes stéroïdes:** racine de vératre, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple.

II.6.4 Hétérosides

Les hétérosides ou glycosides sont des molécules formées par combinaison d'oses et de substances non glucidique appelées aglycones ou génines.

Ce sont les substances du métabolisme secondaire les plus anciennement connues. Ils forment des substances de réserve localisés dans la vacuole cellulaires.

Les hétérosides se différencient entre eux par leur génines qui appartiennent à tous les groupes du métabolisme secondaire et par le mode de liaison entre la génine et l'ose, ainsi que par la nature de la partie glucidique. Ils sont classés selon la nature de la liaison C,N,O, S-hétérosides (**Guignard, 2000**).

II.7 Huiles essentielles

Les huiles essentielles ont plusieurs définitions. Ils sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (**Bruneton,1999**). Une autre définition est donnée par **Afnor, (2000)**, qui dit : les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche.

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans

diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (Yahyaoui , 2005).

Les huiles essentielles sont avant tout des composés terpéniques. Du strict point de vue chimique, les terpènes apparaissent comme des polymères d'un carbure d'hydrogène diéthylénique, l'isoprène (Figure 11).

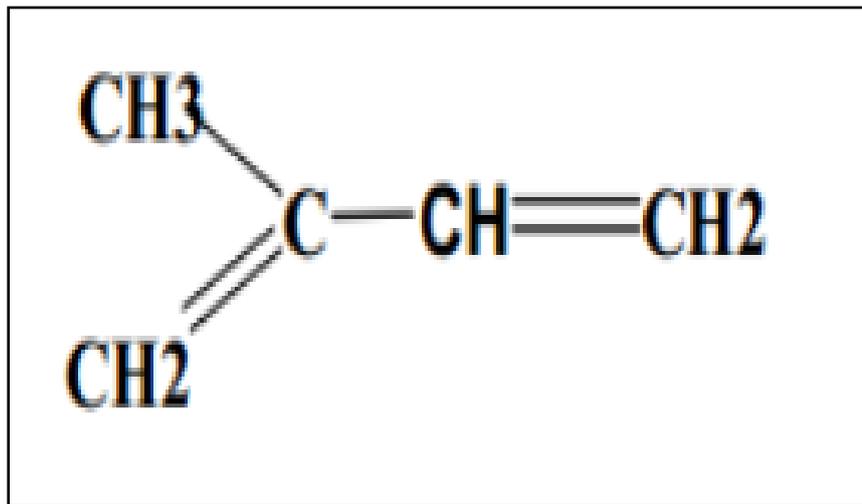


Figure 11: Formule chimique de l'isoprène (Benayad, 2008).

Selon le nombre de résidus isoprènes que groupent les composés terpéniques, on distingue :

- Les terpènes simples, formés de deux isoprènes C₁₀H₁₆.
- Les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes C₁₅H₂₄.
- Les di terpènes, formés de quatre isoprènes C₂₀H₃₂.
- Les triterpènes, formés de six isoprènes C₃₀H₄₀.
- Les tétraterpènes, formés de six isoprènes C₄₀H₆₄.

On trouve aussi les polyterpènes (n isoprènes) qui comprennent par exemple le caoutchouc et la gutta-percha (Benayad, 2008).

Chapitre III :
Activités biologiques

III. Activités biologiques

III.1 Activités biologiques de genre *Centaurea*

De nombreuses espèces du genre *Centaurea* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour soigner divers maux, par exemple: diabète, diarrhée, rhumatismes, paludisme, hypertension, etc., et divers métabolites secondaires ont été signalés chez différentes espèces de ce genre. (Sarker et al., 1997).

Parmi les propriétés thérapeutiques reconnues chez les espèces de *Centaurea*, montré que ces derniers possèdent diverses activités biologiques, comme l'activité antibactérienne, cytotoxiques et antipyrétiques (Kose et al., 2007).

III.2 Activité antibactérienne

L'activité antibiotique correspond à activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (Nicolas et Daniel, 1998).

III.2.1 Principales substances antimicrobiennes

Les substances antimicrobiens sont des substances capables de tuer les microbes et empêcher leur croissance (CE, 2001).

Cette action dépend par la nature du microorganisme, de l'agent antimicrobien et de l'environnement. On parle d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie (Meyer et Deiana, 1988).

III.2.1.1 Antibiotiques

Qui s'oppose à la vie, terme créé par Waksman (Berche et al., 1989). Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) (Khiati, 1998), dans les quelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme (Delamare, 1992) ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier (Berche et al., 1989), mais qui

sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales (**Leclerc et al., 1995**).

Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse (**Delamare, 1992**).

III.2.1.2 Classification des antibiotiques

Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs modes d'action. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi, la membrane, l'acide nucléique et les ribosomes des microorganismes (**Jean-Luc, 2013**).

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: β -lactamines: Pénicilline et Céphalosporines; Aminosides: Streptomycine, Gentamicine; Chloramphénicol et Thiamphénicol; Cyclines: Tétracyclines, Doxycycline et Macrolides leur apparentés: Erythromycine, Oléandomycine (**Cohenet-Jacquot, 2001**).

Plusieurs études in vitro et in vivo ont été focalisées sur l'utilisation des composés phénoliques comme autres antibiotiques.

Les composés phénoliques ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* (**Babayi et al., 2004**), *Escherichia coli* (**Ulanowska et al., 2006**).

III.2.2 Donnée sur les souches bactériennes utilisées

❖ *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une bactérie sporulée, aéro-anaérobie facultative et thermorésistante. Ces caractéristiques lui confèrent une résistance particulière à l'action des bactéricides, aux désinfectants, aux radiations et au cycle froid (**Cadel et al., 2010**).

❖ *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus est une bactérie à Gram-positive, sphérique, saprophyte faisant partie de la famille des Micrococcaceae. Aérobie obligatoire, Sa morphologie simple, coccoïde a retardé la reconnaissance de sa relation avec les actinomycètes, qui sont généralement plus complexes sur le plan morphologique (Skerman et al.,1980 ; Stackebrandt et al.,1995).

❖ *Salmonella gallinarum*

Le bacille à Gram négatif est responsable de la fièvre typhoïde chez les volailles commerciales(Kumarietal.,2013).

III.3 Activité antioxydante

L'oxygène (O₂) est le premier élément essentiel pour la vie, responsable d'un nombre de processus d'oxydation responsable au stress oxydatif (oxydant) (Namiki, 1990 ; Dalton, 1995 ; Garcia-Plazaola et Becerril, 1999).

Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (Durackova et al., 2008) et à des dégâts cellulaires irréversibles (Abuja et Albertini, 2001) ».

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (Sanchez, 2002 ; Huang et al., 2005).

III.3.1 Définition

Un antioxydant est une molécule qui possède une capacité à capter ou piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant (Feher et al., 1987).

✓ Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (**Feher et al., 1987**).

Les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont: l'anion superoxyde (O_2^-); le radical hydroxyle (OH \cdot); le radical alcoyle (RO \cdot); l'oxyde nitrique (NO \cdot), et le radical hydroperoxyde (HOO \cdot). Il existe des mécanismes de défense cellulaires qui détruisent les radicaux oxygénés (peroxydases cellulaires) ou qui piègent les radicaux libres (molécules antioxydantes) (**Dacosta, 2003**).

Selon (**Shimizu, 2004**), un antioxydant est une substance qui ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber la manifestation d'oxydation.

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à neutraliser l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH \cdot) et superoxydes (O_2^-) (**Rice et al., 1995 ; Bartosz, 2003**).

III.3.2 Polyphénols comme antioxydants

Les phénols simples, les acides phénoliques et les flavonoïdes jouent un rôle capital dans l'élimination et la détoxification des radicaux libres. Par ailleurs, ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antihémorragiques, des propriétés antibactériennes et antifongiques, en particulier à l'égard des organismes phytopathogènes. Les flavonoïdes tant que des polyphénols présentent de nombreuses activités "anti oxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes et prévention des maladies cardiovasculaires" (**Cushine et Lamb, 2005 ; Sharma et al., 2008**).

III.4 Activité anticoagulante

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux, soit arrêtent les hémorragies et empêchent les thromboses. On distingue classiquement trois temps de l'hémostase : l'hémostase primaire, ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" (clou plaquettaire), la coagulation qui consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge) et la fibrinolyse, permet la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension. Ces trois temps sont initiés simultanément dès qu'est enclenché le processus d'hémostase (Schved,2007).

III.4.1 Coagulation du sang

La coagulation est une succession de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme central permettant de transformer le fibrinogène en fibrine, est la thrombine. Le processus de formation de la thrombine est complexe avec une série d'activations enzymatiques qui surviennent à la surface des phospholipides membranaires des plaquettes, cellules endothéliales ou monocytes (Schved, 2007). C'est un phénomène localisé au site de la brèche vasculaire car cette succession de réactions, malgré son auto-amplification, est limitée et régulée par différents systèmes d'inhibiteurs physiologiques. L'équilibre entre la coagulation et les mécanismes qui vont la limiter est fondamental, une rupture ayant pour conséquence un risque hémorragique (déficit en facteurs) ou thrombotique (excès de facteurs activés ou déficit en inhibiteurs) (Manallah, 2012).

III.4.2 Facteurs de la coagulation

Les facteurs de la coagulation sont définis à la fois par un nom et par un numéro en chiffres romains attribués en 1954 par un comité de nomenclature internationale (Giullin, 1985), et affectés du signe "a" lorsque le facteur est activé (Igor, 2003) (Tableau II).

Tableau II: Les facteurs de la coagulation (Boisseau, 1996)

Nomenclature Internationale de facteurs	Synonyme	Lieu de synthèse	Fonction
I	Fibrinogène	Foie	Substrat
II	Prothrombine	Foie	Zymogène
III	Facteur tissulaire	Sous-Endothélium cellules sanguines	Cofacteur
V	Proéaccélérine	Foie	Cofacteur
VII	Proconvertine	Foie	Zymogène
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Foie	Cofacteur
IX	Facteur anti-hémophilique B	Foie	Zymogène
X	Facteur STUART	Foie	Zymogène
XI	Facteur de Rosenthal	Foie	Zymogène
XII	Facteur de Hageman	Foie	Zymogène

III.4.3 Voies de la coagulation

Le système de la coagulation fait intervenir deux voies dites, extrinsèque et intrinsèque.

III.4.3.1 Voie endogène

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

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

III.4.3.2 Voie exogène

La voie exogène est la voie la plus simple et la plus rapide que la voie endogène, elle fait intervenir un nombre limité de facteurs (**Caen et al., 1975**).

Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sou-endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (Pro-convertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquent de prothrombine en thrombine (**Colvin, 2004**).

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

III.4.4 Anti coagulantes

Les anticoagulants sont utilisés pour la prévention et le traitement d'événements thrombotiques sévères. Les plus utilisés sont jusqu'à présent l'héparine et ses dérivés et les anti-vitamines K (AVK). De nombreuses études cliniques ont démontré leur action dans la prévention et le traitement de complications thromboemboliques (**Kortchinsky et al., 2013**).

III.4.4.1 Héparine

L'héparine existe en deux types utilisables, administrées par voie intraveineuse ou sous cutanée, l'héparine non fractionnée (HNF) et les héparines de bas poids moléculaire (HBMP). L'héparine non fractionnée est composée d'un mélange hétérogène de chaînes

polysaccharidiques sulfatées, de taille et de structures différentes, extraites de la muqueuse intestinale de porc ou du poumon du bœuf. Les héparines d'origine bovine ne sont plus commercialisées, du fait de leur contamination virale potentielle et des problèmes liés aux prions (**Batty et Smith, 2010 ; Elalamy, 2012**).

III.4.4.2 Anti vitamines K

La vitamine K intervient dans la carboxylation des molécules d'acide glutamique de l'extrémité N- terminale de la chaîne glycoprotéinique de quatre facteurs de la coagulation FII, FVII, FX et FIX. Cette carboxylation est nécessaire pour l'activité biologique et la fixation de ces facteurs sur les surfaces phospholipidiques plaquettaires, et elle nécessite la présence de la forme réduite de vitamine K (KH₂). Ce dernier est transformé après la carboxylation en époxyde de vitamine K, qui est régénérée via la vitamine K époxyde réductase, pour être utilisée dans une autre réaction de carboxylation. Les anti-vitamines K exercent leurs effets anticoagulants en inhibant le recyclage de vitamine K, ce qui conduit à la perte de l'activité enzymatique des facteurs vitamines K dépendants et par conséquent la ralentie de la vitesse de la coagulation (**Hirsh et al., 2001 ; Batty et Smith, 2010**).

III.5 Rôle biologique des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances d'un grand intérêt pour les chercheurs, et sont les plus recherchées par l'industrie. Les principales raisons de cette popularité sont leur propriété antioxydant, leur abondance dans les aliments et leur rôle probable dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires et dégénératives (**Middleton et al., 2000**) (**Tableau III**).

Tableau III : L'activité biologiques des quelques composés polyphénoliques.

Polyphénols	Activités biologiques	Auteurs
Acides Phénoliques	- Antibactériens - Antifongiques - Antioxydants	(Bruneton, 1999; Hennebelle, 2006).
Coumarines	- Vasoprotectrices - Antioedémateuses - Anticoagulant - Antioxydant	(Mabry et Ulubelen, 1980 ; Bruneton 1999; Hennebelle, 2006).
Flavonoïdes	-Antitumorales -Anticarcinogènes -Anti-inflammatoires -Hypotenseurs et diurétiques	(Stavric et Matula, 1992 ; Bruneton, 1993; Aruoma et <i>al.</i> , 1995)
Anthocyanes	-Protection des veines et capillaires	(Bruneton, 1993)
Tanins	- Anti-diarrhéique - Cicatrisante - Vasoconstricteur - Antimicrobienne -Antivirale - Anti-inflammatoire -Antimutagène - Antioxydant	(Hong et <i>al.</i> , 2000; Kaur et <i>al.</i> , 2000 ; Merghem, 2009)
Alcaloïdes	- Antitussifs - Anti-arythmiques - Antipaludiques	(McCalley, 2002 ; Stöckigt et <i>al.</i> , 2002)
Saponosides	- Antitumoreux - Antimicrobiens	(Bruneton, 1999).

Partie II : Etudes expérimentales

Chapitre I: Matériel et méthodes

I. Etude expérimentale

L'étude a été effectuée au laboratoire de Centre Universitaire Abdelhafid Bousouf de Mila, au cours de la période 2018-2019 sur l'espèce *Centaurea macrocephala* L.

I.1 Matériel végétal

Les graines de *Centaurea macrocephala* L. ont été prélevés au niveau de la ferme pilote AMIRA Ahmed dans la région de Mechtat Seraghna commune d'Oued Endja, Wilaya de Mila. Pendant le mois de Octobre 2018.

Les graines de *Centaurea macrocephala* L. ont été récoltées au niveau de la ferme pilote AMIRA Ahmed dans la région de Mechtat Seraghna commune d'Oued Endja, Wilaya de Mila. Durant le mois de Janvier 2019 (**Figure 12**).



Figure 12: Matériel végétal de *Centaurea macrocephala* L. (Photo personnel).

I.2 Situation géographique de zone de prélèvement

La Ferme Pilote AMIRA Ahmed est située au niveau de la région de Mechtat Seraghna, la commune d'Oued Endja est localisée au centre Nord de la wilaya à 15km à l'ouest de Mila. Elle est limitrophe à la ferme MAZOUZI. La Ferme se localise au niveau de 36°25'35.4" de latitude Nord et 6°10'33.2" de longitude Est, avec une altitude moyenne de 335 m (**Figure 13**).

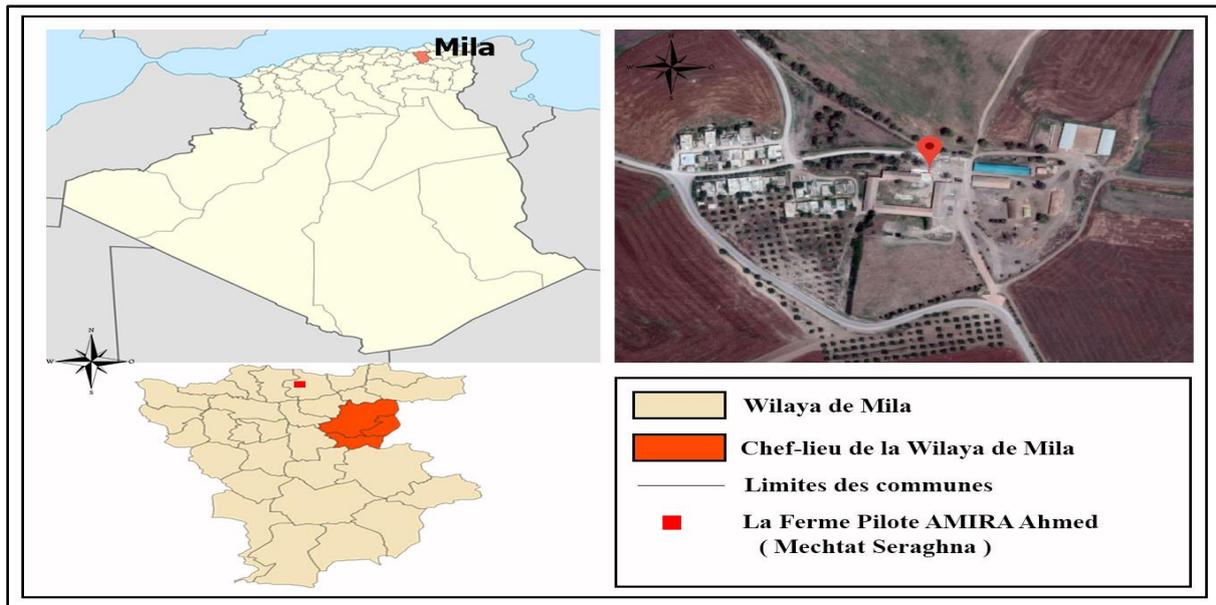


Figure 13: Situation géographique de la Ferme Pilote AMIRA Ahmed.(Anonyme 2, 2019).

I.3 Climat de la zone d'étude

Les différents facteurs, température (T°), précipitation (P), humidité de l'air (HR) et la vitesse du vent de la région d'étude en 2018 sont représentés dans le **tableau IV**.

Tableau IV: Données météorologiques en moyenne mensuelle enregistrées l'année 2018 dans la région de Mila (Station météorologique de Mila., 2018).

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
Moy Temp ($^{\circ}C$)	9.2	9.7	11.6	13.9	15.9	21.7	28.1	24.4	23.1	16.8	13.3	10.2
Moy T.Max($^{\circ}C$)	14.5	18.3	16.2	19.7	21.7	14.9	36.2	31.6	29.8	21.5	17.9	14.7
Moy T.Min ($^{\circ}C$)	6	7.1	7.7	8.6	11.1	8.9	21.6	18.6	18.1	13.2	9.2	5.9
Moy HR (%)	71	68	56	76	78	60	40	62	66	64	70	80
Moy Vitesse du vent (m/s)	2.1	1.5	3.4	1.7	1.3	1.1	7.7	0.4	5.7	4.9	7.2	2.9
PP (mm/mois)	41.1	65.3	136.2	67.2	48.3	14.5	0.3	13.7	31.6	15.7	16.1	24.8

(T°) Température; (HR) L'humidité de l'air; (P) Précipitation; ($T.Max$) Température maximale; ($T.Min$) Température minimale.

I.4 Souches microbiennes

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), ont été choisies, deux souches à gram positif sont : *Micrococcus luteus* et *Bacillus cereus* et une souche à gram négatif : *Salmonella gallinarum*.

Ces souches bactériennes obtenus auprès du laboratoire de Contrôle de qualité et de la conformité « Ghaouat » d'Ain Melila. Les caractéristiques des souches sont citées dans le **tableau V**.

Tableau V: Les caractéristiques des trois souches bactériennes utilisées.

Genre et espèce	Gram	Référence
<i>Micrococcus luteus</i>	Positif	ATCC27141
<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC10987
<i>Salmonella gallinarum</i>	Négatif	ATCC700623

I.5 Antibiotiques

L'antibiotique utilisé dans ce travail est : Gentamicine.

II. Méthodes

II.1 Etude phytochimique

II.1.1 Préparation des échantillons (graines et feuilles)

Deux opérations de prétraitement ont été effectuées pour faciliter l'extraction des composés phénoliques : séchage et broyage.

➤ Séchage :

Après la récolte, le matériel végétal (Feuilles) sont séchées dans un endroit sec pour s'assurer de la bonne conservation de notre échantillon, aérées à l'abri de la lumière pendant une semaine puis dans une étuve portée à une température voisine de 37°C pendant 5 jours.

➤ **Broyage:**

Les graines et feuilles sont broyées à l'aide d'un mortier jusqu'à devenir une poudre. La poudre est conservée dans des sachets propres qui sert ultérieurement à l'extraction des polyphénols.

II.1.2 Rendement d'extraction

Cette étape consiste à extraire au maximum les molécules polyphénoliques contenues dans les organes (graines et feuilles) de *Centaurea macrocephala* L. en utilisant l'eau distillée et l'éthanol qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction des composés phénoliques (Madi, 2009).

✓ **Principe**

La macération est la méthode d'extraction solide/liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétale avec le solvant, à température ambiante et à l'obscurité pour une durée déterminée.

Solen la méthode décrite par Abaza et al. (2007), les polyphénols sont extraites par la méthode de macération prolongée (5jours) à température ambiante par l'éthanol, l'extraction représenté dans la figure suivante :

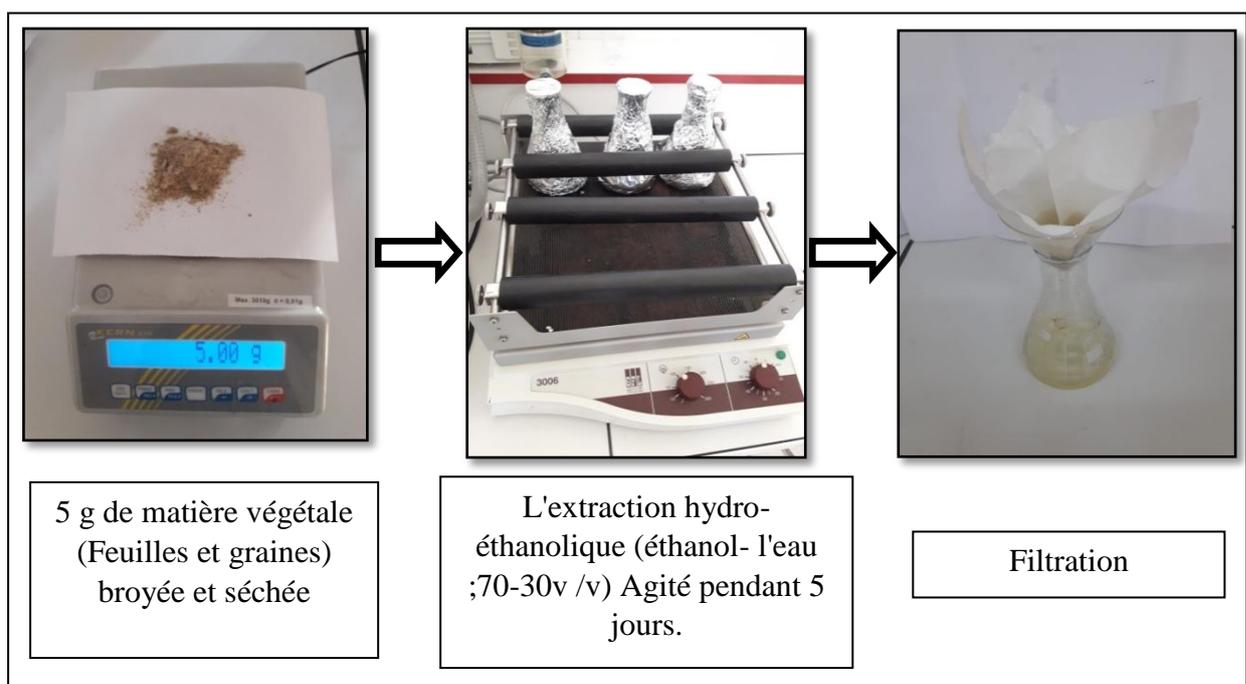


Figure 14: Protocole d'extraction des molécules bioactives.

Après la macération, nous avons calculé le rendement d'extraction selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M - M_0}{M} \times 100$$

R(%) : Rendement d'extraction.

M : Masse en gramme du matériel.

M₀ : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

II.1.3 Screening phytochimique

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits. Elle est basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

➤ Recherche des substances polyphénoliques

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl_3), à 2 ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (**Békro et al., 2007**).

➤ Recherche des saponines : test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 2 ml de l'extrait à analyser, ajouter 2ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence des saponines (**Harborne, 1998**).

➤ Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1 ml de l'extrait méthanolique, 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des flavonoïdes**

On trempe 10 g de la plante dans 150 ml d'acide chlorhydrique à 1 % pendant 24 heures, on filtre et on procède aux tests suivants:

On ajoute à 10 ml du filtrat, du NH_4OH jusqu'au pH basique. L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes (**Benwqhi, 2001; Chaouch, 2001**).

➤ **Recherche des triterpènes et stéroïdes**

On agite le filtrat obtenu par macération de 5 g de la poudre dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes. On ajoute 1 ml d'acide sulfurique sur les parois du ballon. L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution prouve la présence des stéroïdes et triterpènes (**Kalla, 2012**).

➤ **Recherche des alcaloïdes**

10 ml de l'extrait est évaporé à sec. Le résidu obtenu est repris dans 1.5 ml d'acide chlorhydrique 2 % sous agitation au bain marie à chaud. Après refroidissement et filtration. Le filtrat est traité par le réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc révèle la présence des alcaloïdes (**Majob et al., 2003**).

➤ **Recherche des composés réducteurs (les glycosides)**

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1 ml d'extrait, 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling est chauffé à 90°C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des coumarines**

Le résidu de chaque extrait est dissout dans 2 ml d'eau distillée chaude. Le mélange est partagé dans deux tubes. On ajoute à un des tubes 0.5 ml de NH_4OH 25 %, ensuite, une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre qui sera observé sous U.V. à 366 nm (**Bruneton, 1999**). Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH_4OH indique la présence des coumarines.

➤ **Recherche des quinones libres**

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyde, 2005**).

➤ **Recherche des anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH_4OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

➤ **Recherche des anthocyanes**

La présence des anthocyanes dans un décocté ou un infusé est indiquée par une coloration rouge qui s'accroît par l'addition de HCl dilué et vire au bleu-violet verdâtre par l'ajout d'ammoniaque (**Wagner, 1984**).

II.1.4 Dosage des phénols totaux

La quantification des phénols totaux est effectuée selon plusieurs méthodes analytiques. La méthode la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu (**Daels-rakotoarison, 1999**).

➤ **Mode opératoire**

0.2 ml d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec les dilutions convenables) est ajouté à 0.8 ml de la solution de Na_2CO_3 (75 mg/ml d'eau distillée), après agitation, 1ml de la solution de Folin Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait. Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire, établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-200 mg/l) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

II.1.5 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 1 ml de la solution de trichlorure d'aluminium AlCl_3 (10 % dans l'eau distillé). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La quercétine est utilisé comme standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0-10mg/ml.

II.1.6 Dosage des tanins condensés

Selon **Porter et al. (1986)**, Le dosage des tanins condensés est effectué par la méthode n-butanol-HCl.

➤ Mode opératoire

Le milieu réactionnel est composé de 0,5 ml de l'extrait, 3 ml de la solution n-butanol-HCl (95 %) et de 0,1 ml du réactif ferreux (sulfate d'ammonium ferrique 2% dilué dans HCl, 2N). Les échantillons sont agités puis incubés une heure dans un bain marie à 100°C. L'absorbance est mesurée à 550 nm après refroidissement des tubes.

III. Activités biologiques

III.1 Activité antibactérienne des extraits de *Centaurea macrocephala* L.

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne, nécessitent un travail dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter les problèmes de contamination. En outre, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage. L'inhibition de la croissance bactérienne in vitro a été étudiée par la méthode de diffusion par disque (l'aromatogramme) sur gélose telle que décrite par (**Bauer et al., 1966**).

Le test sur les extraits de la plante préparés précédemment, s'est déroulé selon les étapes suivantes :

III.1.1 Préparation des milieux

Selon **Baur et al. (1966)**. La préparation des milieux effectués par les méthodes suivantes :

➤ Préparation de milieu MH (Mueller Hinton)

Pour la préparation de la gélose Mueller Hinton on introduit 38g de MH dans un erlenmeyer auquel est ajoutée 1L d'eau distillé, le mélange obtenu est semis sous agitation continue à une température élevé sur une plaque chauffante jusqu'à le bouillage, le milieu sera divisée dans des flacons en verre. Le milieu MH à été préparé pour le but du repiquage des souches bactériennes et d'évaluation de l'activité antibactérienne (**Figure15**).

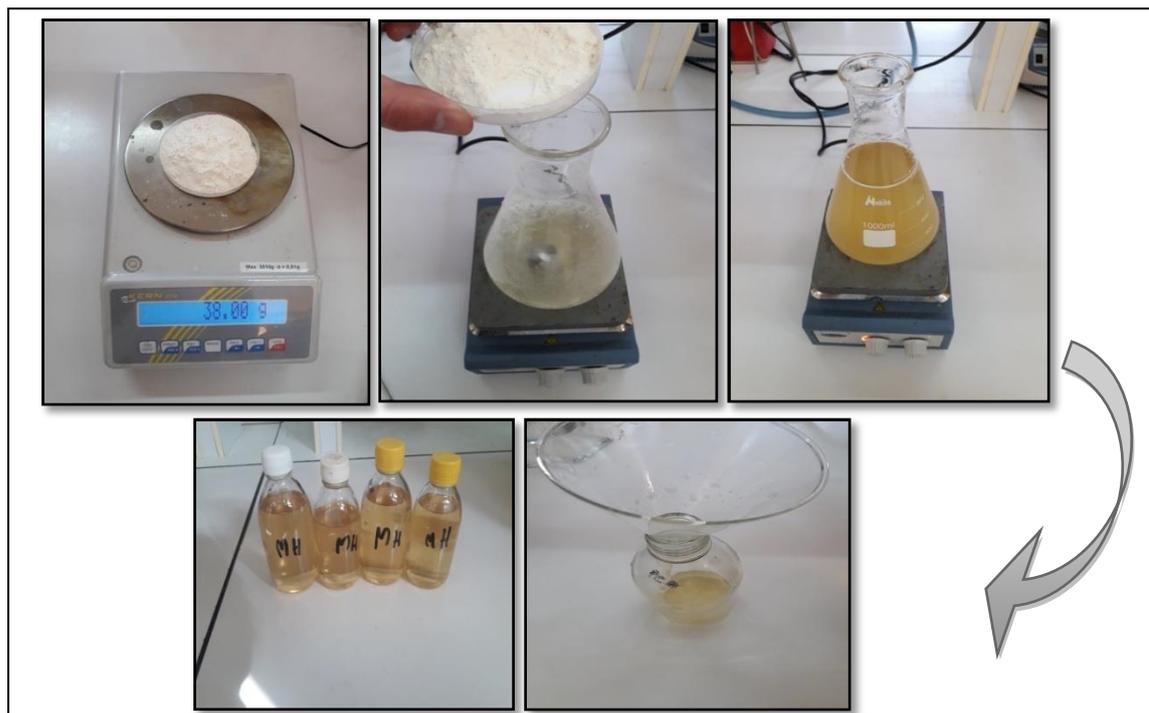


Figure 15: Les étapes de préparation de milieu MH.

➤ **Préparation de milieu BN (Bouillon nutritif)**

Le bouillon nutritif a été préparé pour le but de la réactivation et l'entretien des souches bactériennes par l'ajoute de 20 g de BN à 1L d'eau distillé sous agitation pendant quelques minutes, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vesse (**Figure 16**).



Figure 16: Préparation de milieu BN.

➤ Préparation de l'eau physiologique

L'eau physiologique est préparée pour l'ensemencement des souches, Elle est préparée par solubilisation de 0.9g de NaCl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes et divisée dans des tubes en verre à vesse (**Figure 17**).



Figure 17: Préparation de l'eau physiologique.

III.1.2 Préparation des disques d'aromatogramme

Nous avons coupé les feuilles de papier Wattman N °3 en disques de 6 mm de diamètre. Ensuite ils sont mis dans un tube en verre à vesse, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation (**Figure 18**).



Figure 18: Préparation des disques.

III.1.3 Stérilisation du matériel

Le milieu de culture BN (Bouillon nutritif) et MH (Mueller Hinton), l'eau physiologie, les tubes à essai, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre), les pinces enrobées dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

III.1.4 Préparation de l'inoculum bactériennes

- ✓ Après la stérilisation de zone de travail avec l'eau de javel. Les souches bactériennes ont été réactivées dans 10 ml de bouillon nutritif (BN) et incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h.
- ✓ Les trois souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive (MH) en boîte de pétri à l'aide d'un écouvillon, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.
- ✓ A l'aide d'un écouvillon, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologique puis homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- ✓ Nous avons fait la lecture de la suspension bactérienne à une densité optique de (0.08 à 0.10), à la longueur d'onde 625 nm.
- ✓ L'ensemencement doit se faire au moins en quelques minutes qui suivent la préparation de l'inoculum (**Figure 19**).



Figure 19: Les étapes de réactivation des bactéries.

III.1.5 Dilution des extraits

L'extrait des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ont été solubilisé dans l'éthanol, selon la méthode suivante :

- ✓ **Solution mère (SM):** 0.3g d'extrait avec 0.3ml Ethanol (100%).
- ✓ **T^{1/2} :** 0.1ml d'extrait de SM avec 0.1ml Ethanol (50%).
- ✓ **T^{1/4} :** 0.1ml d'extrait de T^{1/2} avec 0.1ml Ethanol (25%).
- ✓ **T^{1/8} :** 0.1ml d'extrait SM avec 0.7ml Ethanol (12.5 %).

III.1.6 Préparation des boîtes de pétri

Le milieu de culture (Muller Hinton) stérilisé par l'autoclave est versé dans les boîtes de pétri à 4 mm de hauteur et on été laissé quelques minutes jusqu'à la solidification (**Figure 20**).

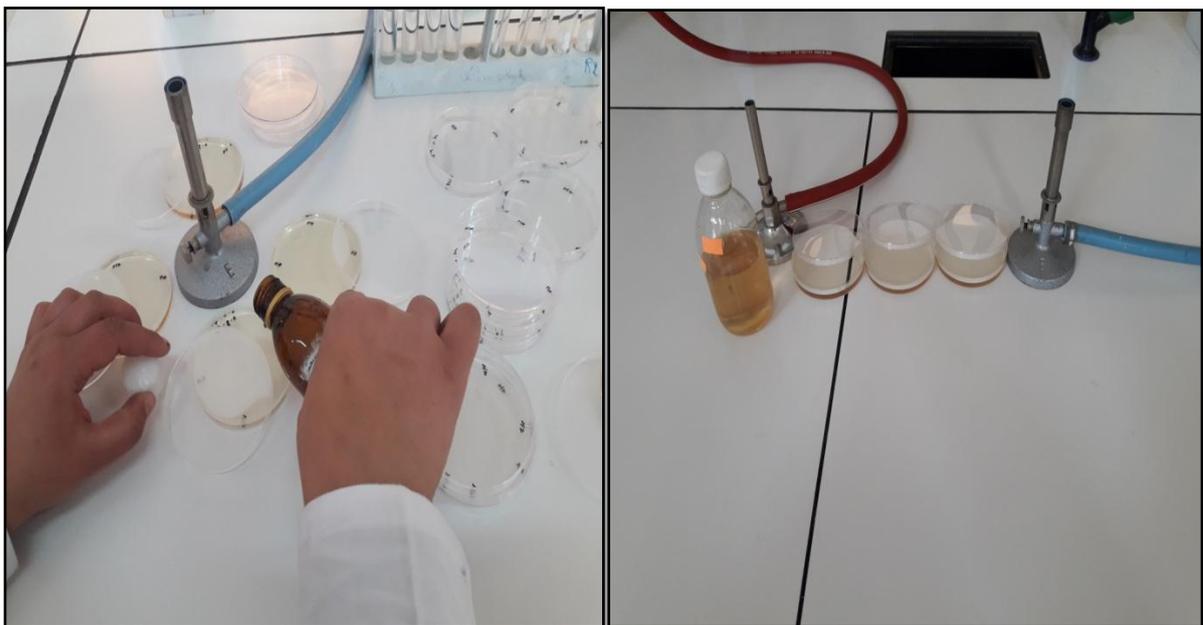


Figure 20: Préparation des boîtes de pétri.

III.1.7 Ensemencement bactérienne

Après la préparation et l'identification des boîtes de pétri nous avons fait l'ensemencement des bactéries dans un milieu stérile en présence de bec benzène.

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.

- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- ✓ Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ✓ Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche (**Figure 21**).



Figure 21: Ensemencement des bactéries.

III.1.8 Dépôts des disques et l'injection des extraits

- ✓ À l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen les disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont placés sur la surface de la gélose MH inoculée.
- ✓ On a ajouté 10µl de chaque dilution des extraits (SM / T^{1/2} / T^{1/4} et T^{1/8}) sur les disques à l'aide d'une micro pipette (**Figure 22**).



Figure 22: Dépôts des disques et l'injection des extraits.

III.1.9 Préparation des témoins (Positif et négatif)

La préparation des témoins a été réalisée pour étudier l'effet des antibiotiques (témoin positif) et de l'Ethanol (témoin négatif) sur les différentes souches utilisés et le comparer avec l'effet d'extraits de *Centaurea macrocephala* L.

Les disques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. L'antibiotique utilisé dans ce test c'est la gentamicine (**Figure 23**).



Figure 23: Préparation des témoins.

III.1.10 Incubation et lecture

Après dépôt des extraits, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 h.

La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'un pied à coulisse, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte pour les milieux MH (**Figure 24**).

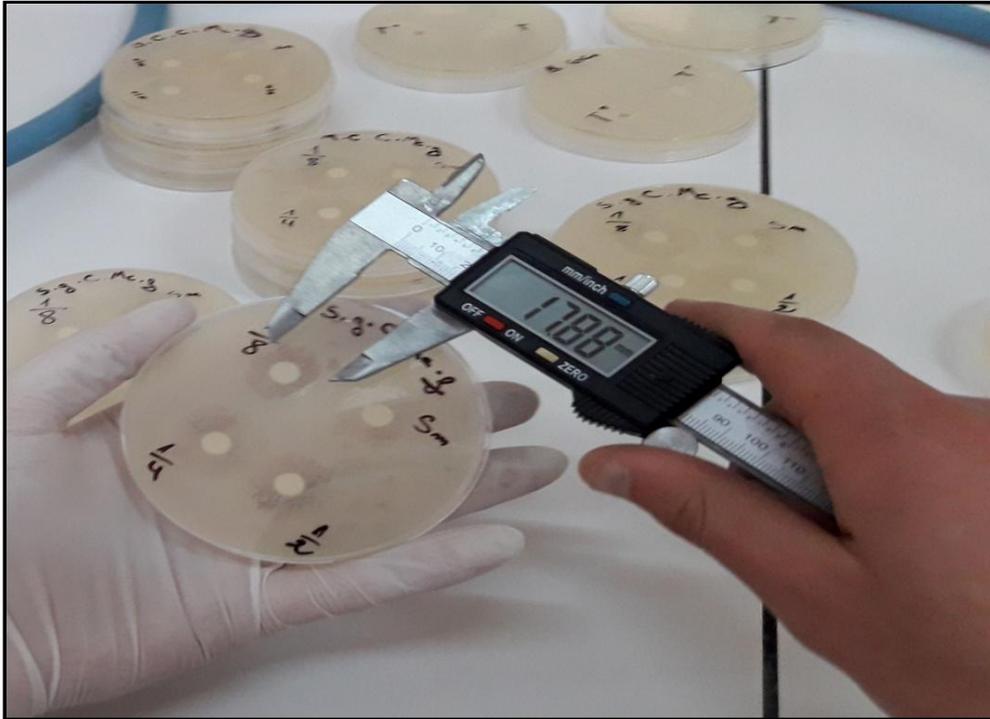


Figure 24: Le pied à coulisse.

L'effet des extraits et de l'antibiotique se traduit par l'apparition d'une zone transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi et al., 2006**). Les tests sont répétés trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

III.2 Activité anticoagulante des extraits de *Centaurea macrocephala* L.

L'activité anticoagulante des extraits polyphénoliques des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. a été évaluée *in vitro* par la voie exogène de la coagulation sur un plasma normal déplaqué et à l'aide d'un test global chronométrique; le temps de Quick (TQ).

✓ Prélèvement du sang et la préparation du plasma déplaqueté

Le sang est prélevé d'un jeune adulte sain non traité, dont le TQ est normal, il est prélevé dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 %, dont les tubes sont remplis jusqu'à 5 ml à raison de respecter du rapport sang/anticoagulant (1 volume pour 9 volumes du sang). Le sang est ensuite centrifugé pendant 5 minutes à 2500 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (**Figure 25**).

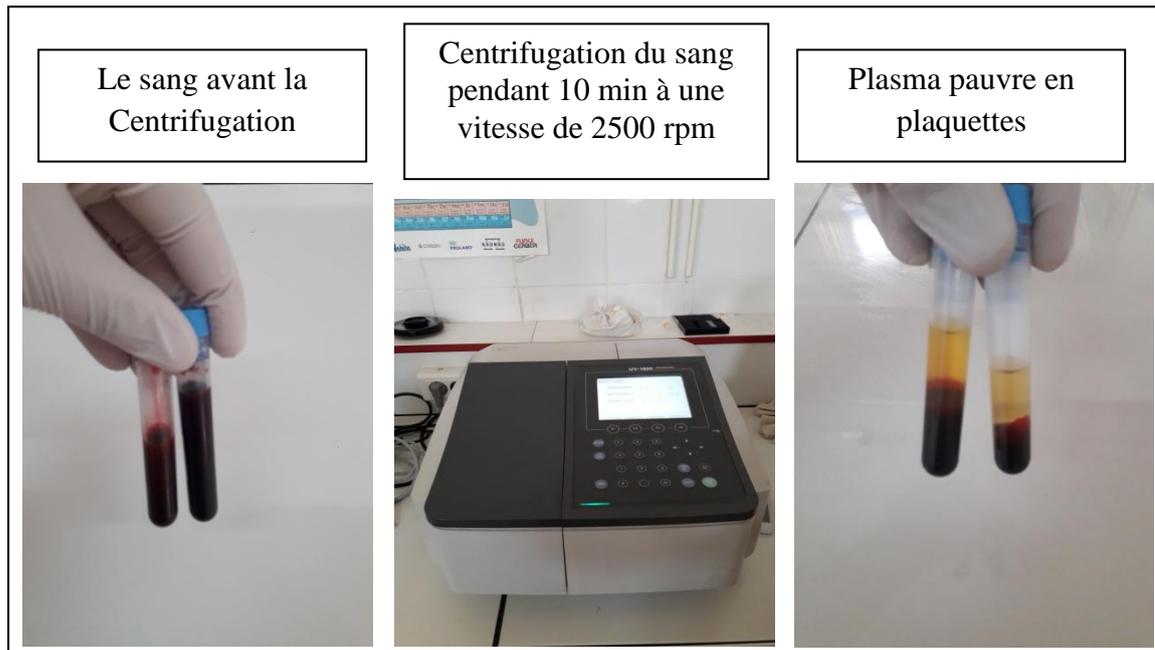


Figure 25: Centrifugation du sang pour obtenir un plasma déplaqueté.

- ✓ Préparation des dilutions de l'extrait de *Centaurea macrocephala* L.

III.2.1 Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène

✓ Principe

L'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation a été évaluée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP) qui permet d'une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (La proconvertine VII, la prothrombine II, la proaccélérine V, le facteur stuart X, et aussi le fibrinogène) (**Caquet, 2004**). Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteur tissulaire et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium.

Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré (Caen *et al.*, 1975 ; Caquet, 2004).

Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation.

✓ Mode opératoire

L'effet des polyphénols de *Centaurea macrocephala* L. sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par (Athukorala *et al.*, 2007) avec modifications. D'une part, nous avons mis 100 μ l de plasma déjà obtenu dans un tube témoin qui est ensuite incubé à 37°C dans un bain marie durant 2 minutes. D'autre part, 50 μ l des extraits polyphénoliques dilués avec de l'eau distillé à 50% (1:1 (v/v)) sont additionnées à 100 μ l du plasma dans chacun des tubes à analyser qui sont ensuite incubés à 37°C durant un temps optimal de 15 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200 μ l de thromboplastine pré-incubé à 37°C pendant 15 minutes (Figure 26).

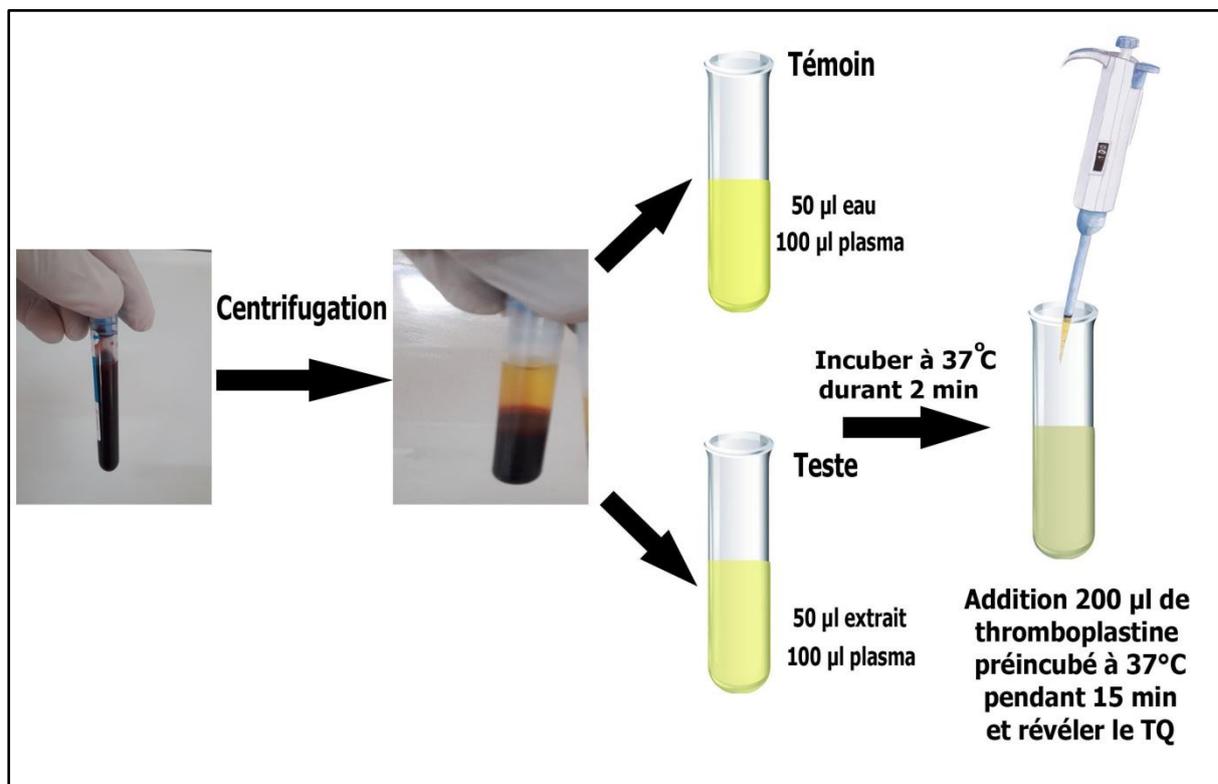


Figure 26: Schéma représente les étapes de l'activité anticoagulante.

III.3 Activité antioxydante des extraits de *Centaurea macrocephala* L.

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés purs ou de mélange complexe. La méthodologie est basée sur la décroissance de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH suite à l'addition de l'antioxydant visualisé également par un changement de coloration de la solution qui vire du violet au jaune (Nanjo et al., 1996 ; Koleva et al., 2002).

La méthode au DPPH est réalisée en suivant les étapes ci-dessous:

- ✓ La préparation de la solution DPPH : une masse de 0,008g de poudre de DPPH est solubilisée dans 150 ml éthanol/eau distillée (70% éthanol et 30% eau distillée). Cette solution a été mise en agitation pendant 24h.
- ✓ Différentes dilutions ont été préparées dans des tubes. On prélève par micropipette différentes concentrations (Extraits + Solvant + DPPH), comme il est montré dans le **tableau VI**. Et après agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min.
- ✓ Pour chaque concentration le test est répété 3 fois.
- ✓ Le blanc est préparé en mélangeant 1 ml d'éthanol avec 2 ml eau distillée et 1ml de la solution éthanolique de DPPH.

Tableau VI: Différents solution préparées pour le test.

	Extrait (ml)	Solvant (ml)	DPPH (ml)
Solution 1	0.1	2.9	1
Solution 2	0.2	2.8	1
Solution 3	0.3	2.7	1
Solution 4	0.4	2.6	1
Solution 5	0.5	2.5	1
Solution 6	0.6	2.4	1

- ✓ La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm.

Les mesures de l'absorbance du DPPH de nos extraits permettent de déterminer le pourcentage d'inhibition en appliquant l'équation suivante (Koleva et al., 2002).

$$I (\%) = \{(Abs\ contrôle - Abs\ échant) / Abs\ contrôle\} \times 100$$

- **I (%)** : Pourcentage d'inhibition.
- **Abs contrôlée** : Absorbance du blanc.
- **Abs échant** : Absorbance de l'échantillon (Nos extraits).

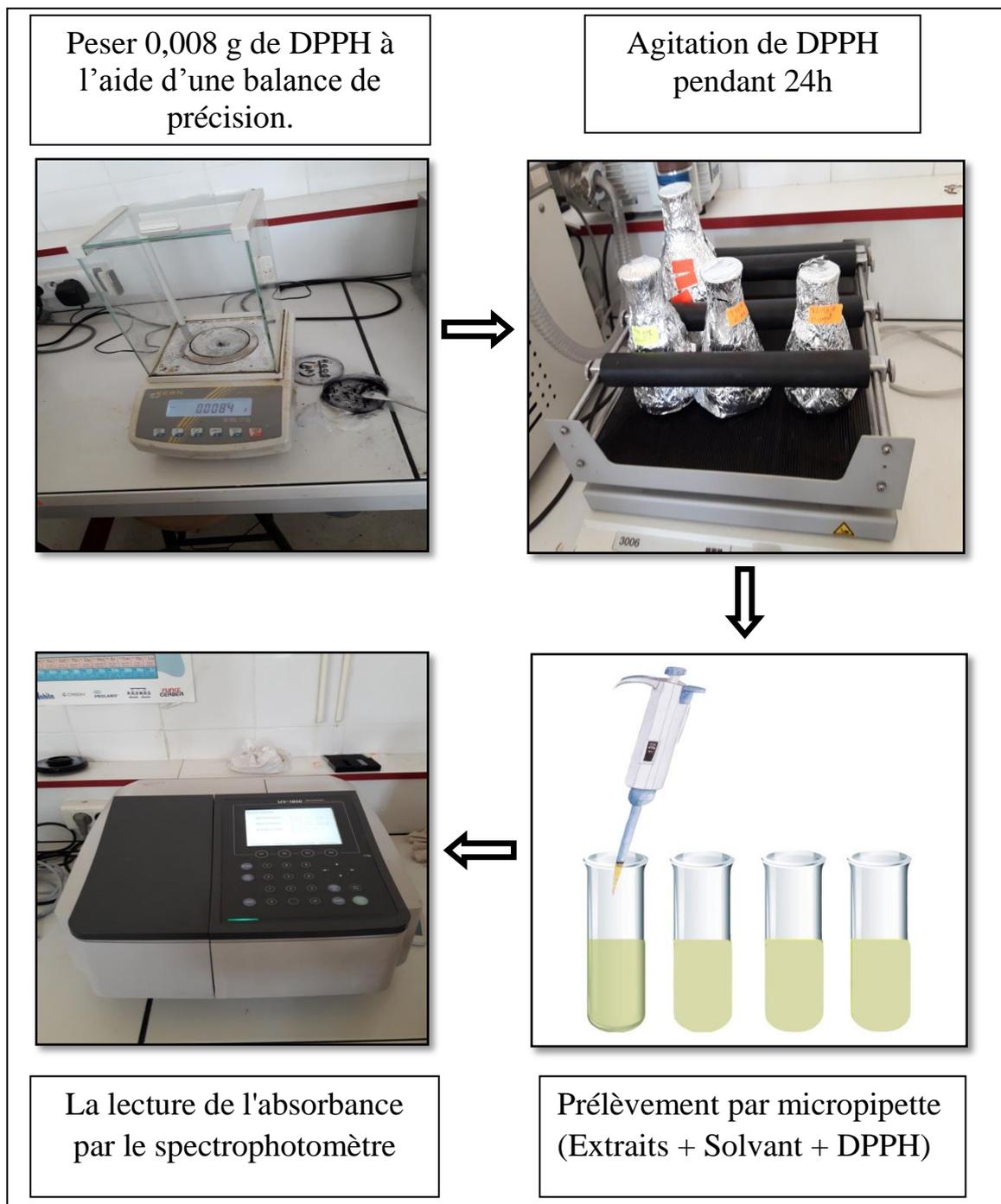


Figure 27: Préparation de l'activité antioxydante.

IV. Analyse statistiques

Les histogrammes sont tracés par le Microsoft Office Excel 2007 et les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel SPSS (Version 24). Les résultats des tests effectués in vitro sont exprimés en moyenne \pm écart-type SD. La différence entre les différents paramètres est déterminée par le test d'ANOVA suivie du test de la Corrélation, ACP pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $P \leq 0.05$ sont considérées significatives.

Chapitre II: Résultats et discussion

I. Résultats

I.1 Étude quantitative

I.1.1 Rendement d'extraction

Les résultats de rendement de l'extraction des deux organes de *Centaurea macrocephala* L. (Graines et feuilles) sont représentés dans la **figure 28**.

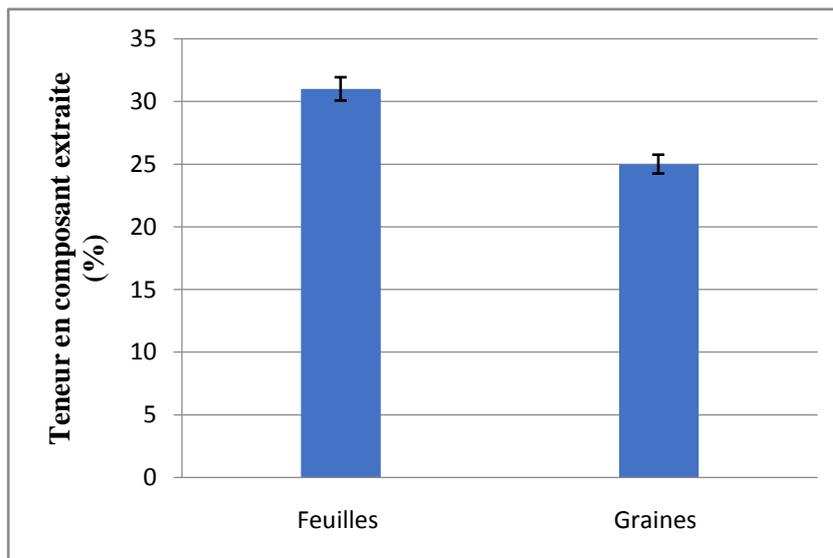


Figure 28: Histogramme représente le rendement d'extraction des deux organes de *Centaurea macrocephala* L.

L'historgramme montre que le rendement d'extraction dans les deux organes est proche, on constate que la teneur en matières extraites est élevée dans les feuilles que les graines.

I.1.2 Screening phytochimique

La réalisation de ces tests a pour but de révéler les différentes familles de substances existantes dans les graines et feuilles de la plante étudiée en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés (**Tableau VII**).

Tableau VII: Résultats des tests phytochimique des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

	Feuilles	Graines
Substances phénoliques	+++	++
Saponines	-	-
Tanins	++	+
Flavonoïdes	+++	++
Triterpènes et stéroïdes	++	+++
Alcaloïdes	-	-
Composés réducteurs	-	-
Coumarines	+++	++
Quinones libres	+	+++
Anthraquinones	-	-
Anthocyanes	++	-

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négatif.

I.1.2.1 Substances phénoliques

Nous avons remarqué la présence de la couleur verte foncé qui indique la présence des substances phénolique dans les deux organes de *Centaurea macrocephala* L.

On remarque que la teneur de ces substances est élevé dans les feuilles que les graines (**Figure 29**).

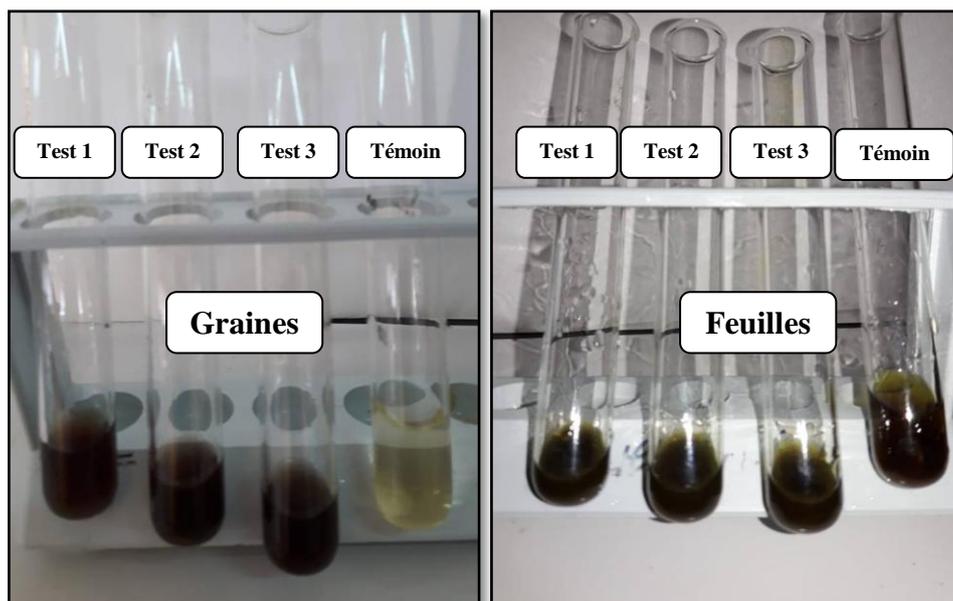


Figure 29: Résultats de test des substances phénoliques.

I.1.2.2 Saponines (Test de mousse)

L'absence de la mousse dans les deux extraits des organes indique l'absence des saponines dans la plante étudiée (**Figure 30**).

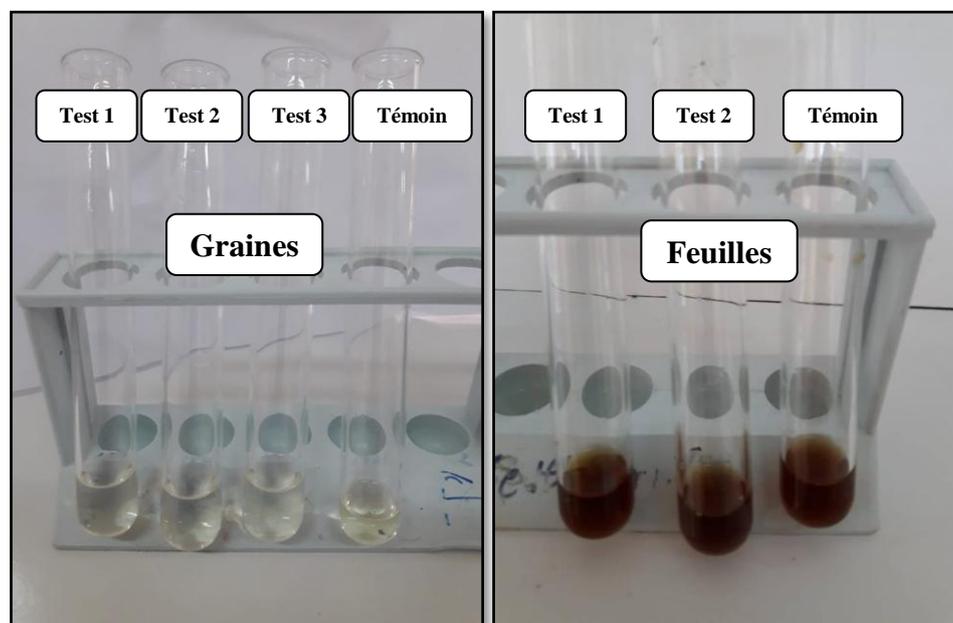


Figure 30: Résultats de test des saponines.

I.1.2.3 Tanins

L'apparition d'une couleur vert foncée dans les graines et les feuilles du *Centaurea macrocephala* L. prouve la présence des tanins, mais on remarque une teneur plus élevée dans les feuilles (**Figure 31**).

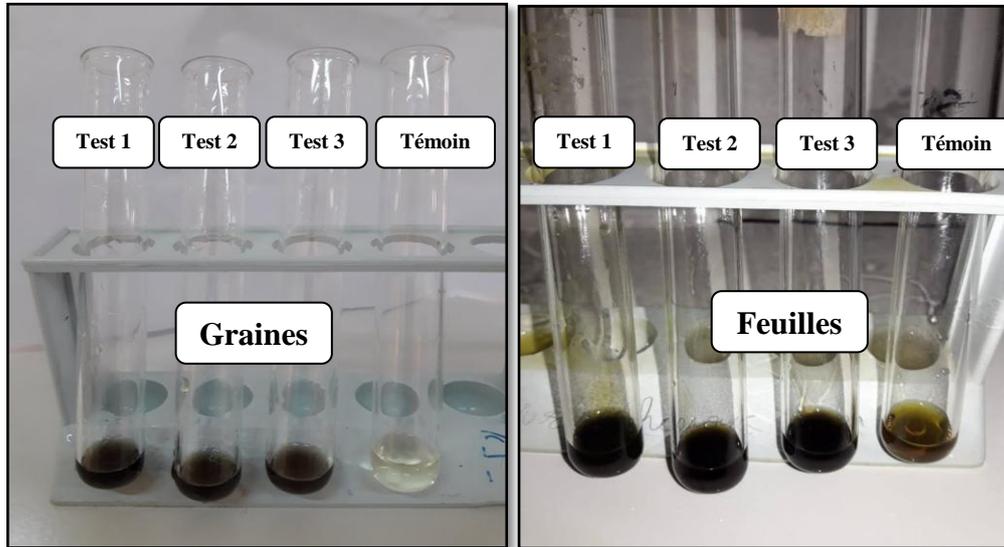


Figure 31: Résultats de test des tanins.

I.1.2.4 Flavonoïdes

Les résultats de test des flavonoïdes ont donné une couleur jaune dans les deux organes ce qui signifie que le test est positif.

On note que la teneur des flavonoïdes est élevée dans les feuilles que les graines (**Figure 32**).

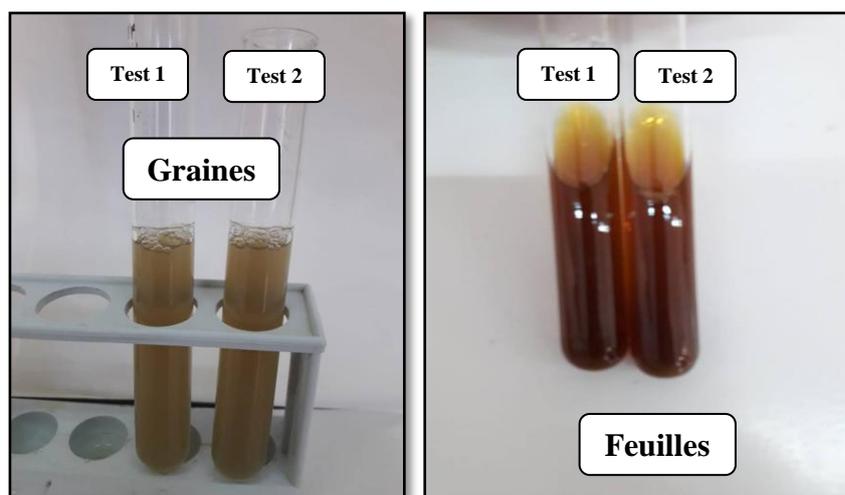


Figure 32: Résultats de test des flavonoïdes.

I.1.2.5 Triterpènes et stéroïdes

Les résultats de test des triterpènes et stéroïdes ont montré que ces derniers sont abondants chez les deux organes.

On a remarqué l'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge, avec une teneur importante dans les graines que les feuilles. Les résultats sont présentés dans la photo suivante (**Figure 33**).

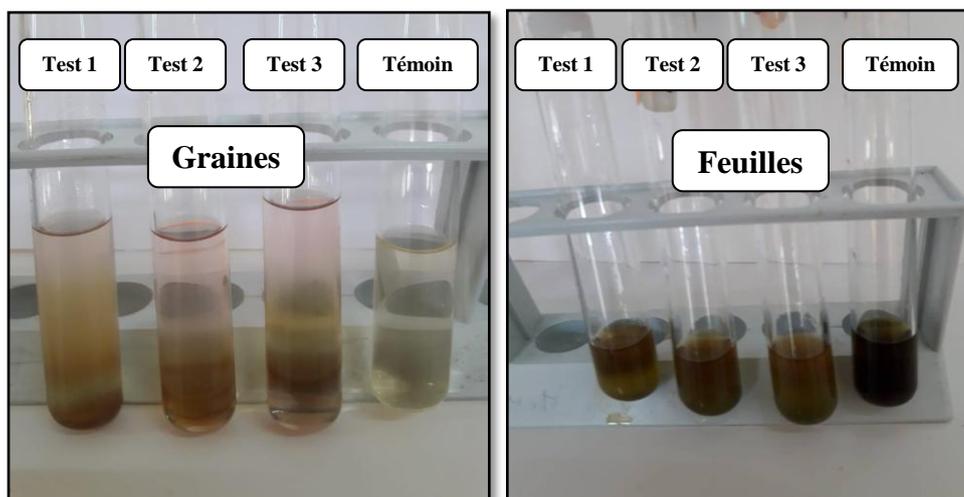


Figure 33: Résultats de test des triterpènes et stéroïdes.

I.1.2.6 Alcaloïdes

On a remarqué l'absence d'un précipité blanc qui révèle le manque des alcaloïdes dans les deux organes de la plante étudiée (**Figure 34**).

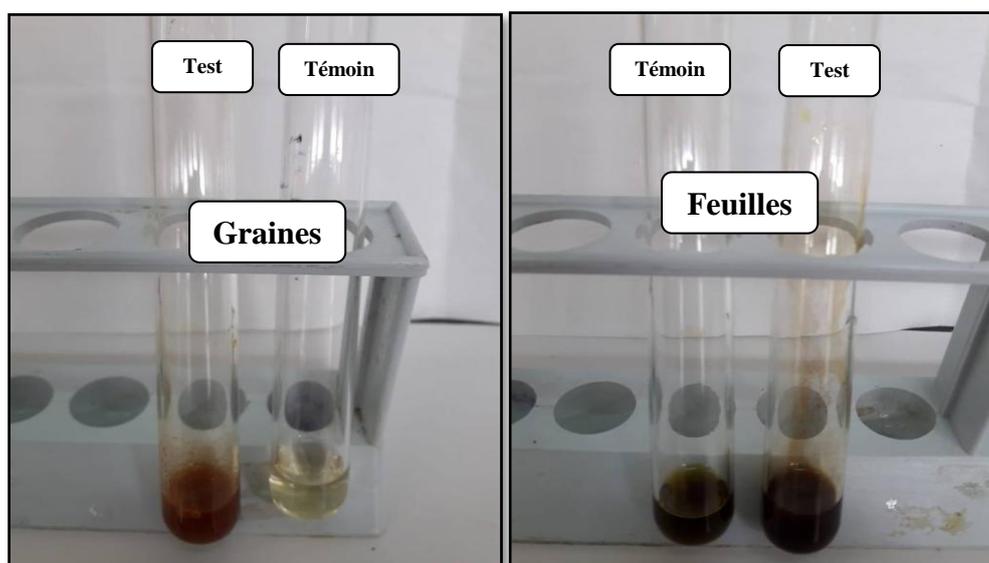


Figure 34: Résultats de test des alcaloïdes.

I.1.2.7 Composés réducteurs (Glycosides)

Le test de composés réducteurs est négatif dans les deux organes, ce qui prouve l'absence de ces derniers dans la plante étudiée (**Figure 35**).

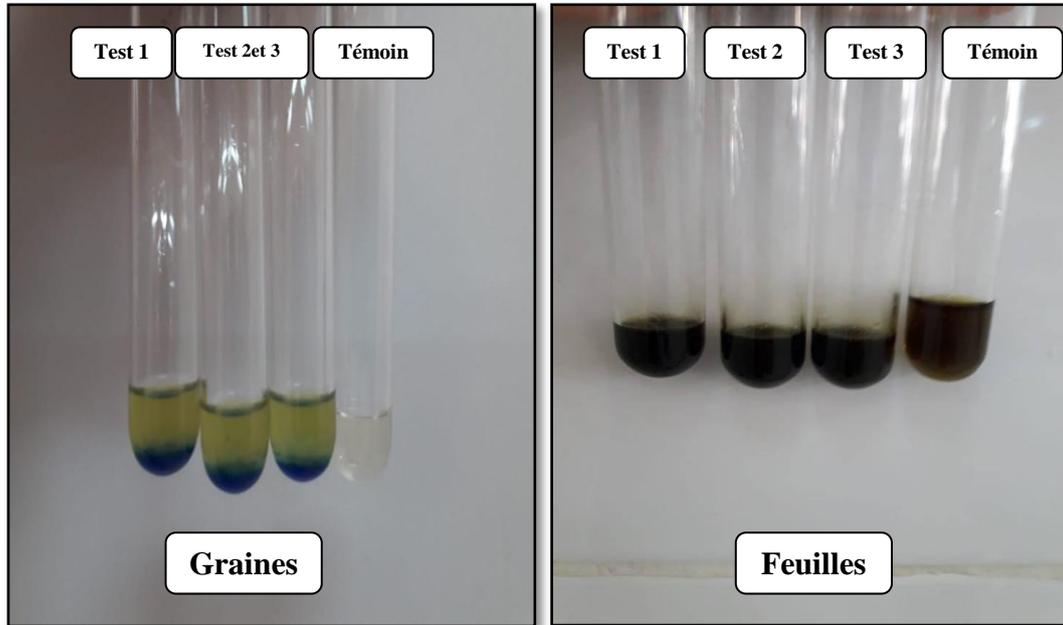


Figure 35: Résultats de test des composés réducteurs (Glycosides).

I.1.2.8 Coumarines

On a remarqué la présence des fluorescences dans les deux organes de *Centaurea macrocephala* L. (Graines et feuille), qui signifie que le teste de coumarines est positif.

On a remarqué également que la présence des coumarines est élevé dans les feuilles que les graines.

I.1.2.9 Quinones libres

Nous avons remarqué l'apparition d'une couleur jaune dans les graines et les feuilles, qui prouve la présence des quinones libres dans ces dernières.

La couleur jaune est très importante dans les graines et faible dans les feuilles de *Centaurea macrocephala* L. qui indique une teneur élevée en quinones libres dans les graines et faible dans les feuilles (**Figure 36**).

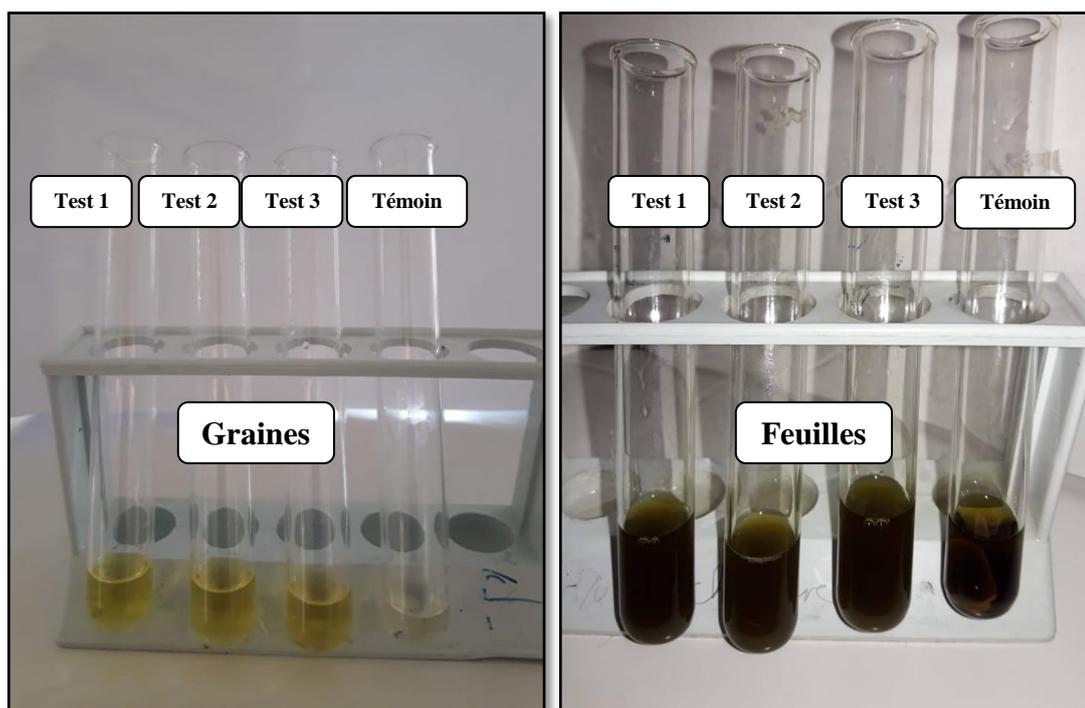


Figure 36: Résultats de test des quinones libres.

I.1.2.10 Anthraquinones

On remarque qu'il n'y a pas d'anneau rouge dans les deux organes, ce qui signifie l'absence d'anthraquinones. Les résultats sont présentés dans la photo suivante (**Figure 37**).

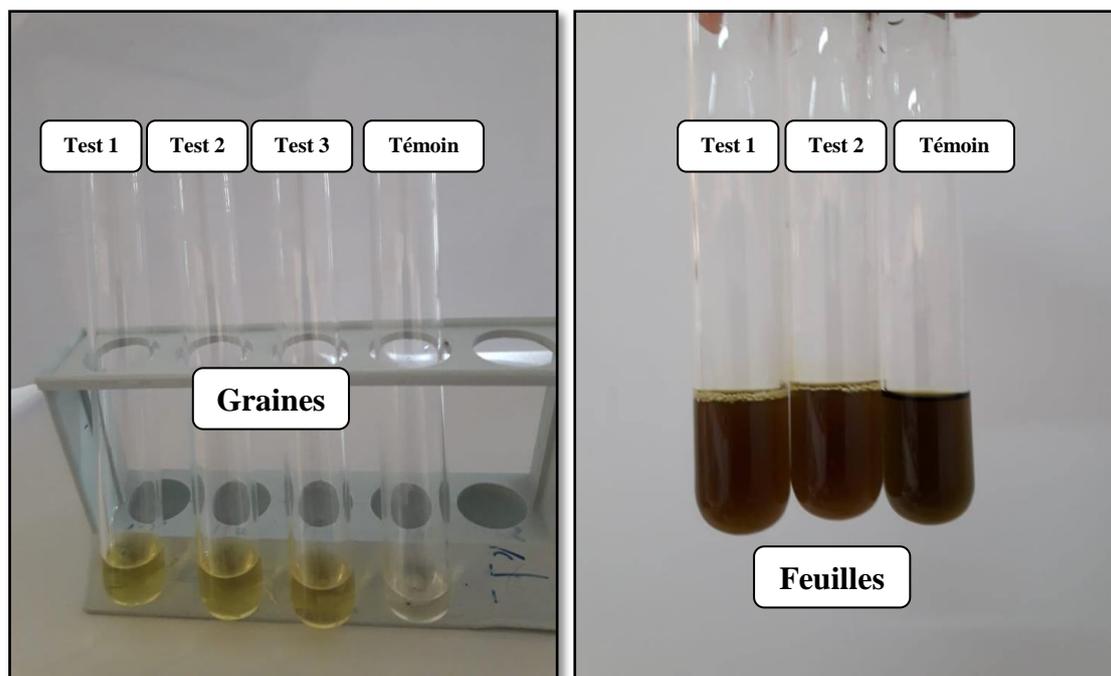


Figure 37: Résultats de test des anthraquinones.

I.1.2.11 Anthocyanes

Nous avons remarqué la présence des anthocyanes dans les feuilles avec une teneur importante et l'absence dans les graines. Les résultats sont présentés dans la photo suivante (Figure 38).

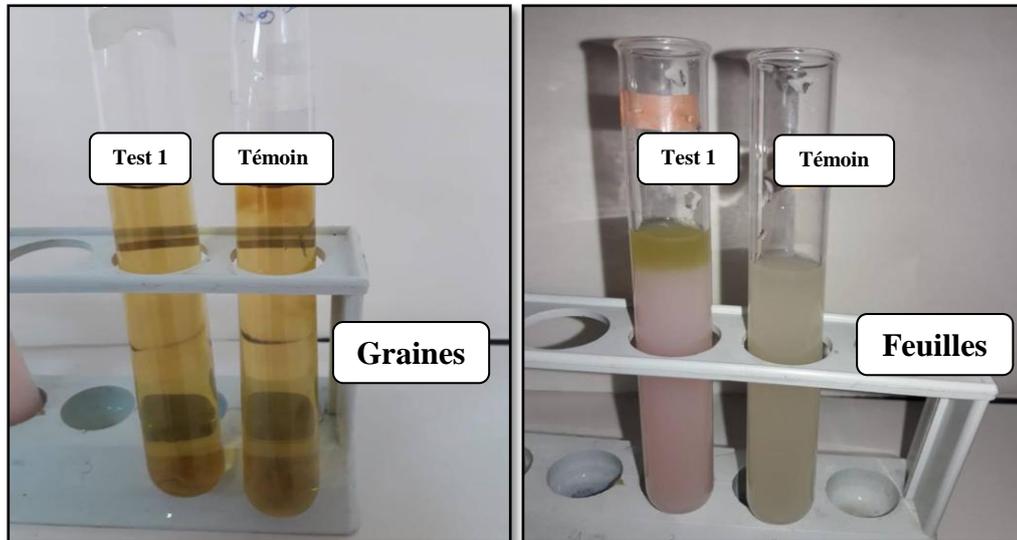


Figure 38: Résultats de test des anthocyanes.

I.1.3 Teneur en phénols totaux

Les analyses quantitatives des phénols totaux ont été déterminées par la méthode du Folin-Ciocalteu. Une courbe d'étalonnage de l'acide galique a été tracée afin de quantifier les phénols totaux.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de l'acide galique par milligramme d'extrait de feuilles et graines en poudre (Figure 39).

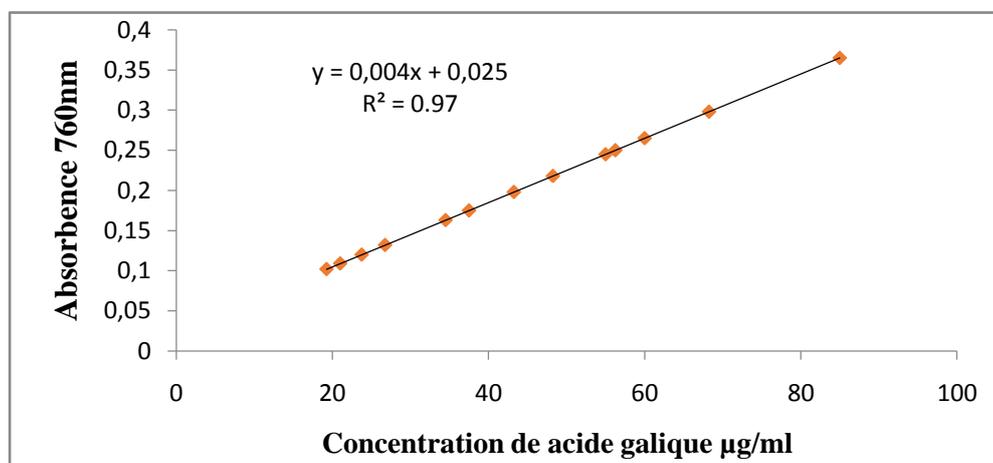


Figure 39: Courbe d'étalonnage de l'acide galique (moyenne \pm SD de trois mesures).

Les résultats obtenus pour la teneur en phénols totaux dans les deux organes sont représentés dans la **figure 40**.

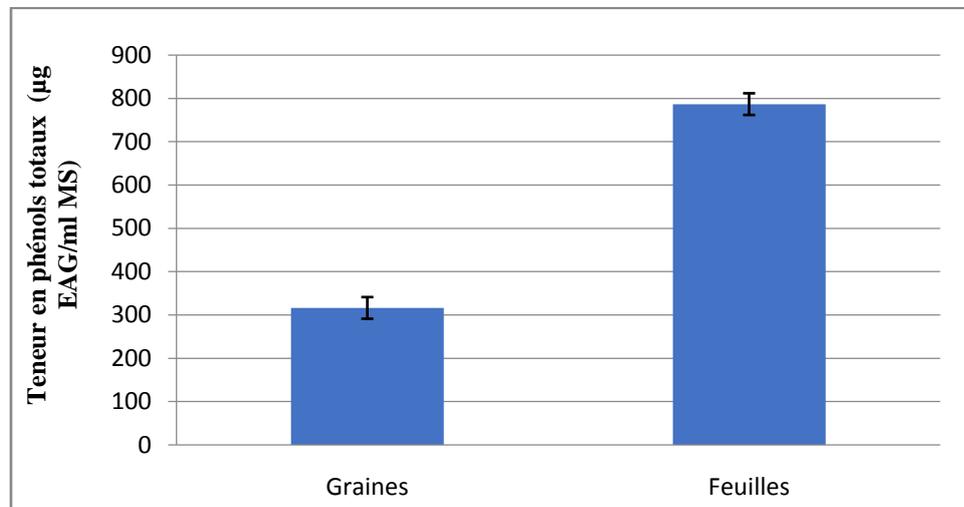


Figure 40: Teneur en phénols totaux dans les deux organes de *Centaurea macrocephala* L.

D'après cette figure, on remarque que la teneur en phénols totaux en équivalent de l'acide gallique chez les graines est 316,25 µg/ml et 786,6 µg/ml pour les feuilles. On observe que les feuilles sont plus riches en phénols totaux que les graines.

L'analyse de la variance à un critère (AVI) a révélé un effet significatif entre les teneurs en phénols totaux des deux extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ($P < 0,05$) (**Annexe III**).

I.1.4 Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est quantifiée par la méthode au trichlorure d'aluminium. Une courbe d'étalonnage (**Figure 41**) a été réalisée avec la quercitine à une longueur d'onde 430 nm.

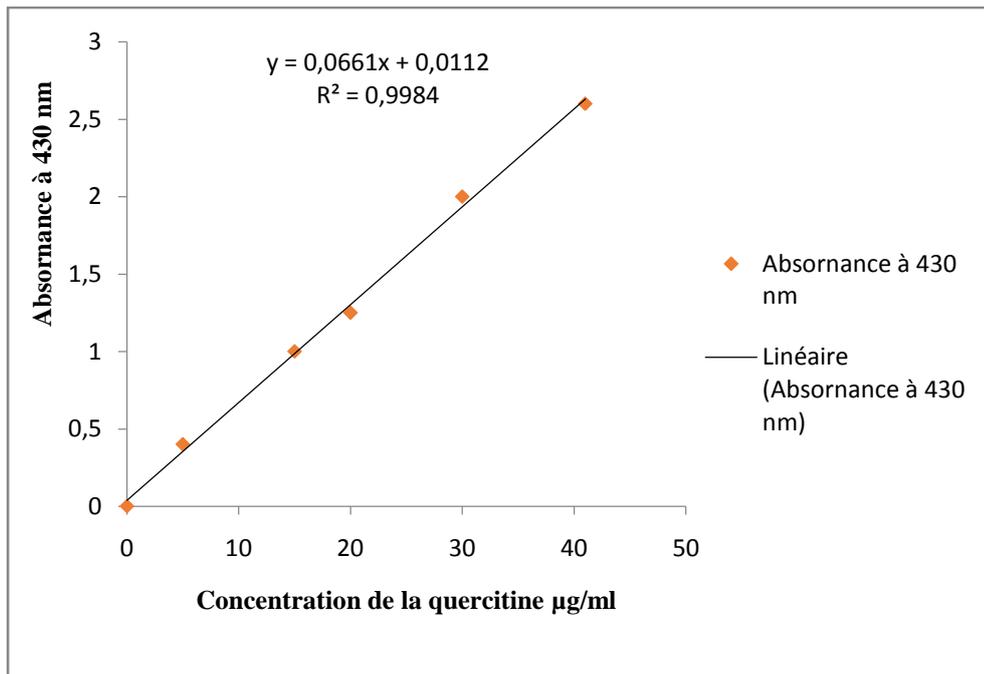


Figure 41: Courbe d'étalonnage de la quercitine (moyenne \pm SD de trois mesures)

Les résultats obtenus pour la teneur en flavonoïdes dans les deux organes sont présentés dans la **figure 42**.

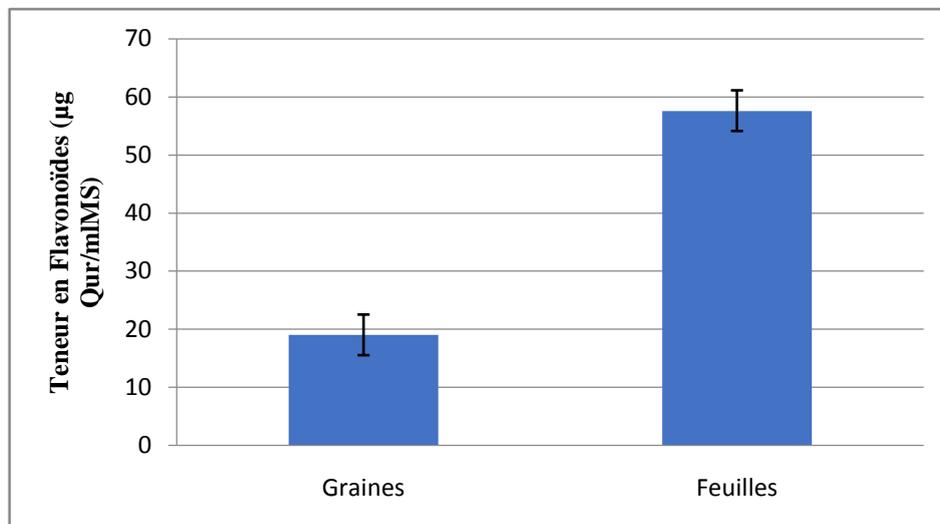


Figure 42: Teneur en flavonoïdes dans les deux organes de *Centaurea macrocephala* L.

Suivant la **figure 42**, nous enregistrons en équivalent de la quercitine 19 $\mu\text{g/ml}$ MS chez les graines et 57,6 $\mu\text{g/ml}$ MS pour les feuilles. L'extrait des feuilles représentent la teneur la plus élevée en flavonoïdes (Figure 22). Ceci est confirmé par l'analyse

de la variance à un critère (AVI), il se dégage alors une différence très hautement significative entre les teneurs en flavonoïdes dans les deux organes feuilles et graines ($P < 0,0001$) (**Annexe III**).

I.1.5 Teneur en tanins condensés

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits éthanolique des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. afin de déterminer la teneur totale en tanins. Une courbe d'étalonnage (**Figure 43**) a été réalisé avec Mimoza à une longueur d'onde 580nm.

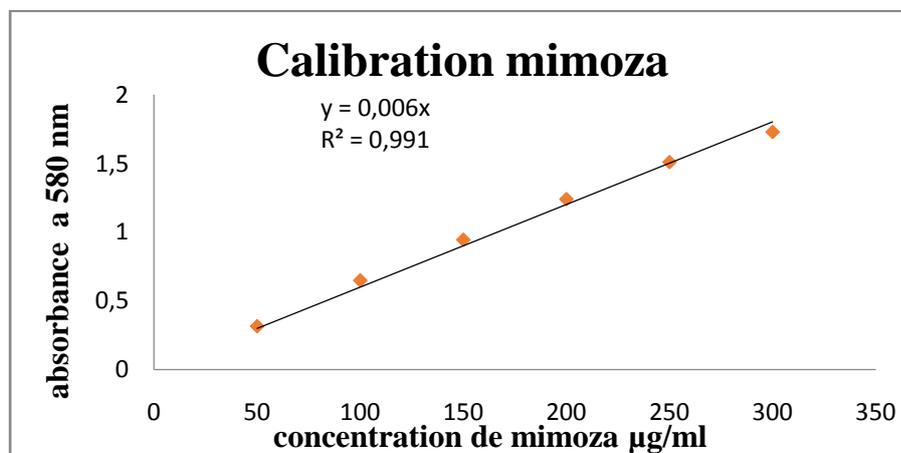


Figure 43: Courbe d'étalonnage de Mimoza (moyenne \pm SD de trois mesures).

Les résultats obtenus pour la teneur en tanins condensés dans les deux organes sont présentés dans la **figure 44**.

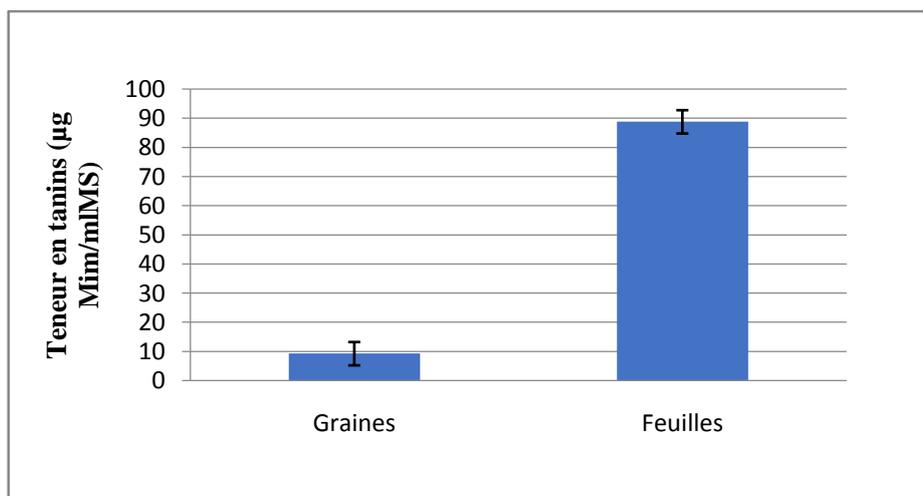


Figure 44: Teneur en tanins condensés dans les deux organes de *Centaurea macrocephala* L.

D'après cette figure, on remarque que la teneur en tanins en équivalent de mimosa chez les graines est $9,27 \mu\text{g/ml}$ et $88,83 \mu\text{g/ml}$ pour les feuilles. Les extraits des feuilles représentent la teneur la plus élevée en tanins.

L'analyse de la variance à un critère (AVI) a révélé un effet très hautement significatif entre les teneurs en tanins des deux extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ($P < 0,0001$) (**Annexe III**).

I.2 Activités biologiques des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

I.2.1 Activité antibactérienne des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

L'activité antibactérienne des extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. vis-à-vis les trois souches pathogènes a été évaluée selon la méthode de diffusion sur gélose avec l'utilisation de l'antibiotique Gentamicine comme témoin positif et l'éthanol comme témoin négatif.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. sont résumés dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII: Diamètres des zones d'inhibition des graines et feuilles de *C. macrocephala* L.

Les Souches	Dilutions	Zones d'inhibition (mm)		Témoin (-)	Témoin (+)
		Graines	Feuilles		
<i>Bacillus cereus</i>	SM	$24,86 \pm 1,06$	$19,96 \pm 0,29$	18.36	Gn 21.80
	T ½	$23,72 \pm 0,38$	$21,72 \pm 1,80$		
	T ¼	$23,17 \pm 0,46$	$21,86 \pm 2,13$		
	T ⅛	$22,97 \pm 1,54$	$26,64 \pm 0,58$		

<i>Micrococcus luteus</i>	SM	25,02 ± 1,74	17,98 ± 1,56	23.31	Gn 22.65
	T ½	24,54 ± 0,17	20,23 ± 0,74		
	T ¼	22,81 ± 1,32	18,52 ± 0,00		
	T ⅛	22,56 ± 1,48	21,07 ± 0,65		
<i>Salmonella gallinarum</i>	SM	21,56 ± 1,98	19,21 ± 1,42	23.52	Gn 23.22
	T ½	23,80 ± 1,98	20,40 ± 0,18		
	T ¼	24,00 ± 0,26	21,75 ± 1,27		
	T ⅛	23,80 ± 1,53	18,53 ± 0,00		

D'après le **tableau VIII**, la zone d'inhibition de témoin positif l'antibiotique (Gentamicine), possède un pouvoir inhibiteur très élevé avec 22,65mm de diamètre contre *Micrococcus luteus* (ATCC27141), 21,8mm contre *Bacillus cereus* (ATCC10987) et 23,22 mm contre *Salmonella gallinarum* (ATCC700623) par rapport aux témoin négatif (Ethanol) qui possède un pouvoir inhibiteur très élevé avec 23,31mm de diamètre contre *Micrococcus luteus* (ATCC27141), 18,36 mm contre *Bacillus cereus* (ATCC10987) et 23,52 mm contre *Salmonella gallinarum* (ATCC700623).

Nous avons remarqué que la souche *Bacillus cereus* est sensible à l'extrait éthanolique des graines et feuilles de *C.macrocephala* L. avec un diamètre de zone d'inhibition dans les graines de (6,5mm) avec la solution mère, tandis que les dilutions ½ , ¼ et ⅛ ont donné des zones moins importantes avec les diamètres suivants (5.36 mm, 4.81 mm et 4.61 mm) respectivement, et dans les feuilles une zone de (8.28 mm) avec la dilution ⅛ , et des zones moins importantes (1.6 mm, 3.36 mm et 3.48 mm) sont enregistrés pour les trois dilutions SM , ½ et ¼ (**Figure 45**).

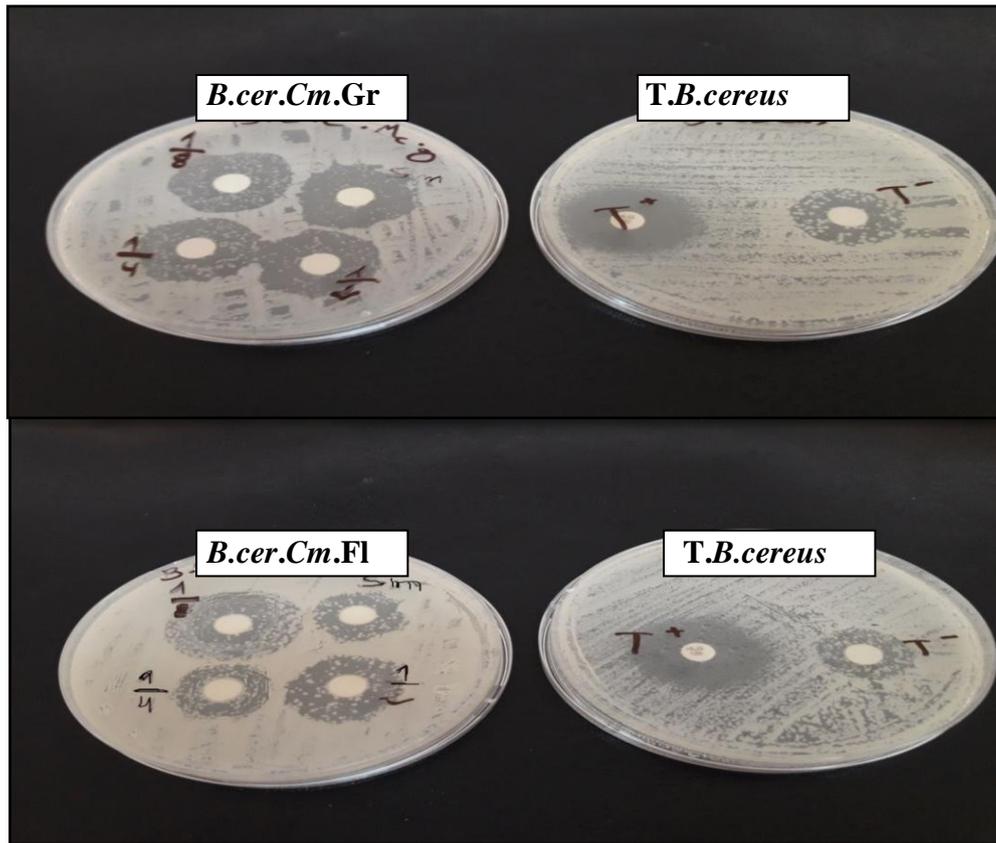


Photo 45: Pouvoir antibactériennes des extraits des graines et feuilles et le témoin de *B.cereus*.

Pour la souche *B.cereus* l'analyse de la variance a un critère a révélé un effet significatif contre les extraits des feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ($P > 0.05$) (**Annexe III**).

La souche *Micrococcus luteus* a montré une résistance moins importante à l'extrait des graines pour la solution mère et la dilution T $\frac{1}{2}$ avec des diamètres des zones d'inhibition de 1,71mm et 1,23mm respectivement, par contre elle est insensible à l'extrait des graines pour les dilutions $\frac{1}{4}$ et $\frac{1}{8}$ et toutes les dilutions de l'extrait des feuilles (**Figure 46**).

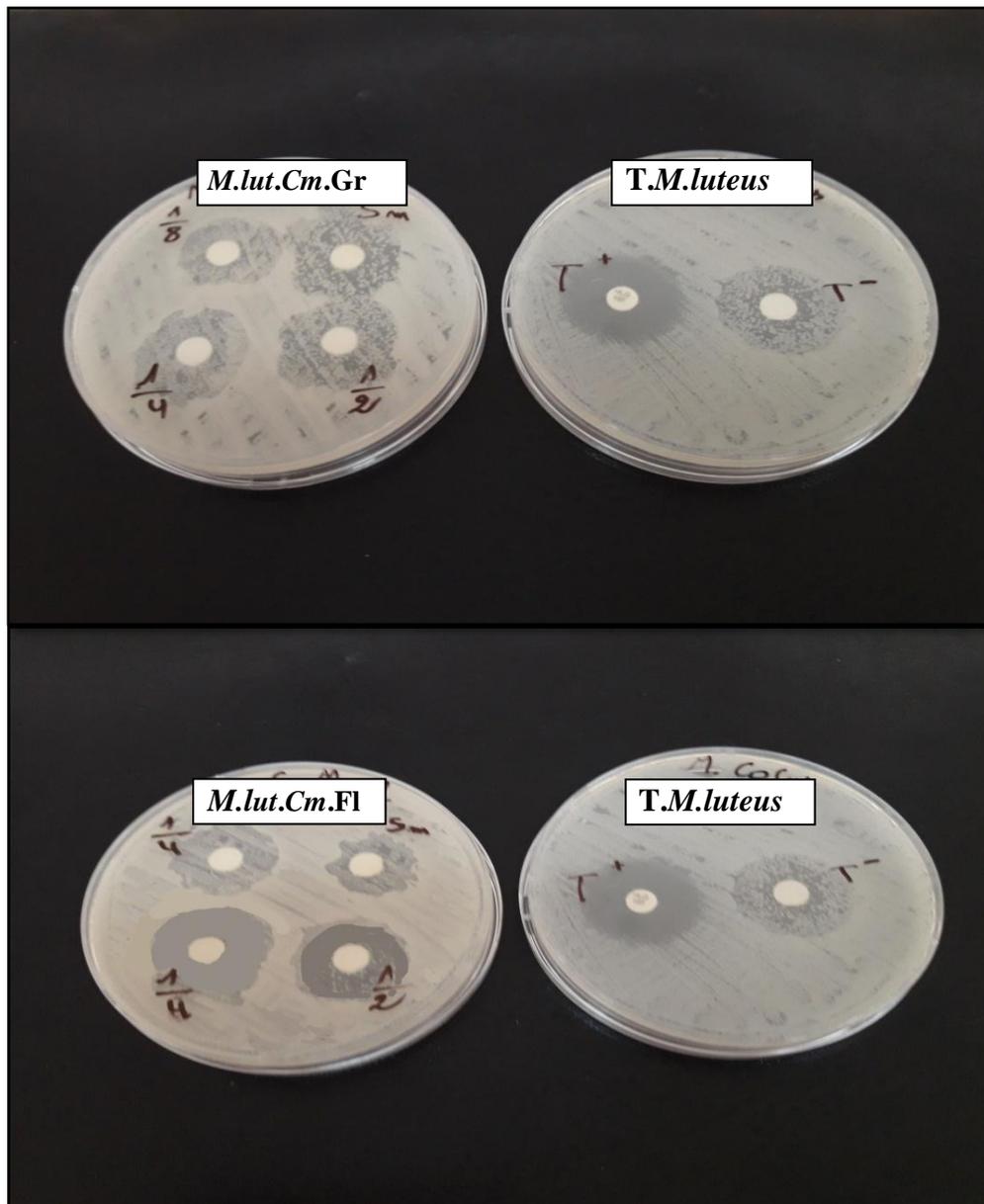


Figure 46: Pouvoir antibactériennes des extraits des graines et feuilles et le témoin de *M.luteus*.

Pour la souche *M.luteus*, l'analyse de la variance a un critère a révélé un effet non significatif contre les extraits des feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ($P>0.05$) (Annexe III).

D'autre part *Salmonella gallinarum* a montré une résistance moins importante à l'extrait des graines pour les dilutions $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ et $\frac{1}{8}$ avec des diamètres de (0,28mm, 0,48mm et 0,28mm) respectivement, par contre elle s'avère insensible à la solution mère (SM) de l'extrait des graines et toutes les dilutions de l'extrait des feuilles (Figure 47).

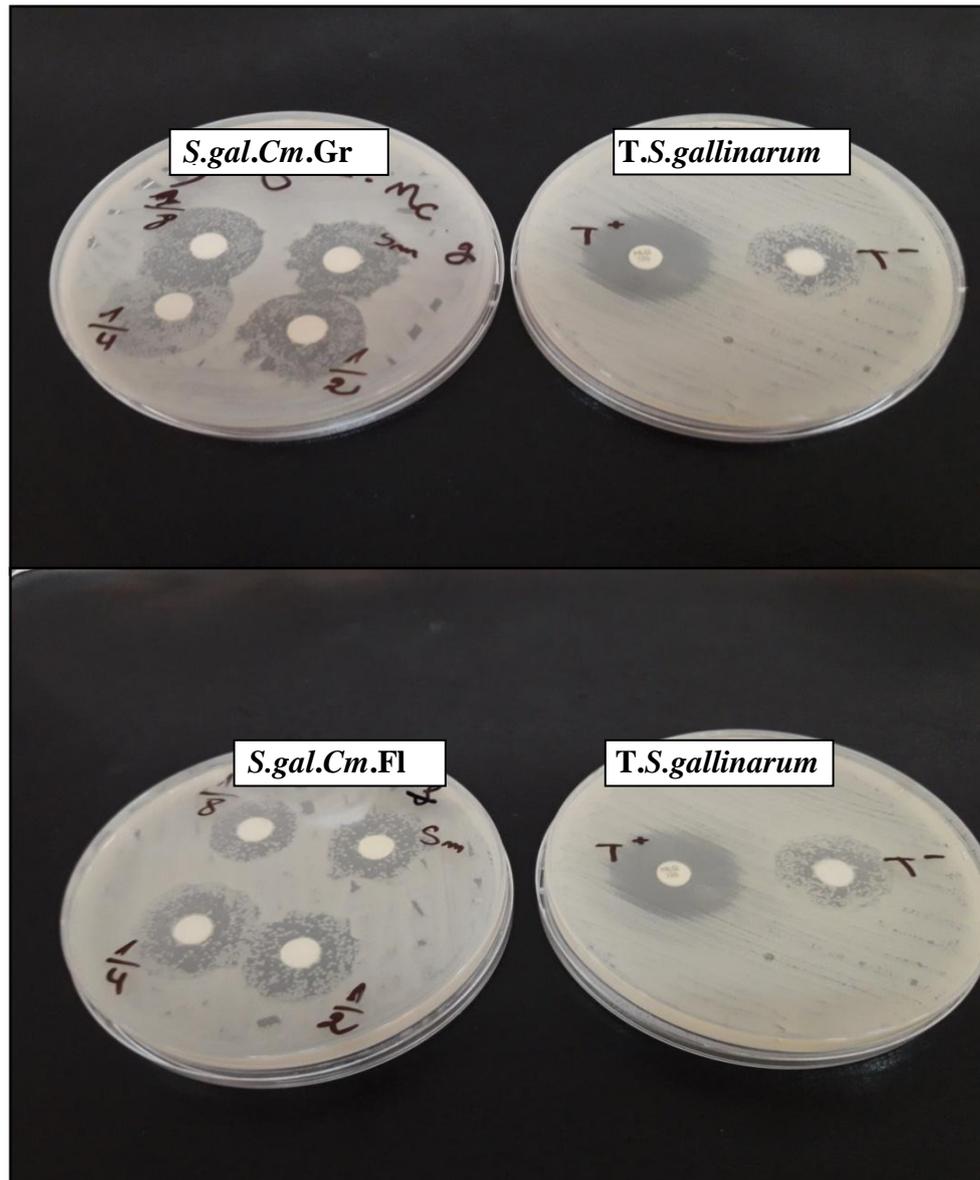


Figure 47: Pouvoir antibactériennes des extraits des graines et feuilles et le témoin de *S.gallinarum*.

Pour la souche *S.gallinarum* l'analyse de la variance a un critère a révélé un effet non significatif contre les extrais des feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ($P>0.05$) (Annexe III).

I.2.2 Activité anticoagulante des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

Lors de cette étape, la capacité anticoagulante des extraits polyphénoliques des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation par le test TQ a été évaluée au temps d'incubation optimal fixé de 15 minutes.

On a utilisé le test de taux de prothrombine (TP), qui explore la voie extrinsèque de la coagulation sanguine où le facteur tissulaire (thromboplastine) est le déclencheur de cette voie (Tripodi, 2009). Les résultats obtenus pour l'activité anticoagulante sont regroupés dans le **tableau IX**.

Tableau IX: Résultats de l'activité anticoagulante des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

	100%	50%	25%	Témoin
Feuilles (s)	65,55 ± 2,27	23,30 ± 2,30	19,18 ± 0,53	18,29
Graines (s)	47,52 ± 2,04	43,04 ± 0,63	21,03 ± 2,47	18,29
Signification(AVI)	,001	,000	,274	

La moyenne des résultats réalisés sur 3 essais±SD.

D'après le **tableau IX**, on peut remarquer clairement que tous les extraits polyphénoliques étudiés exercent une activité anticoagulante, mais les résultats montrent une variation remarquable des valeurs de cette activité par rapport au témoin.

Pour les résultats d'extraits polyphénoliques des feuilles, on note qu' il y a un allongement plus important de TQ de l'ordre de (47,26s) pour la concentration 100% en comparant à celui du témoin (18,29 s) et un allongement moins important de TQ de l'ordre de (5,01s et 0,89s) pour les concentrations 50% et 25% respectivement.

Par ailleurs, pour les extraits polyphénoliques des graines on observe que les allongements de TQ les plus élevés sont enregistrés pour les concentrations 100% et 50% avec l'ordre de 29,23s et 24,75s et un allongement moins important de TQ de l'ordre de 2,47s pour la concentration 25%.

En comparant le TQ des extraits des graines et feuilles, on remarque que l'effet anticoagulant des feuilles est relativement élevé pour la concentration 100% par rapport aux graines, et un effet anticoagulant élevé pour les concentration 50% et 25% dans la graines que les feuilles (**Figure 48**).

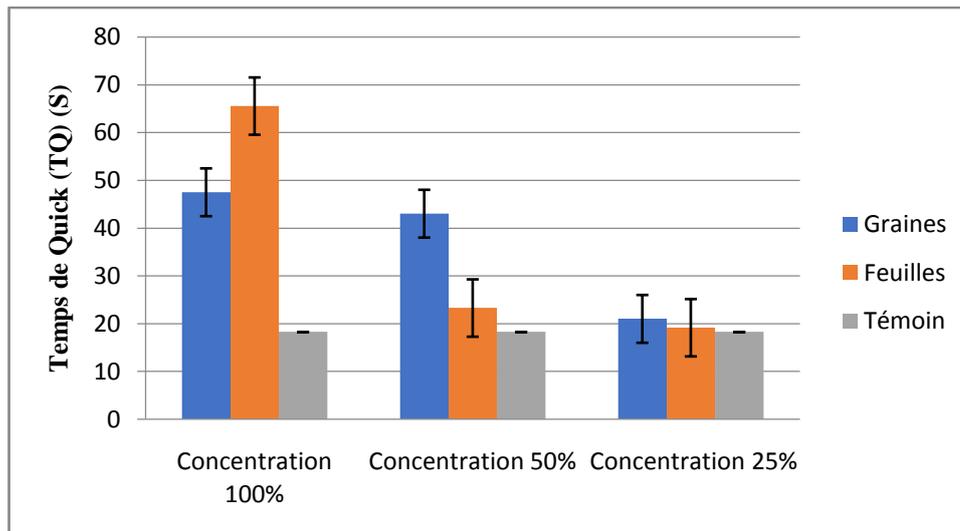


Figure 48: Evaluation de TQ des extraits polyphénoliques des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

Cet histogramme représente une variabilité entre les quatre concentrations. L'étude statistique qui sont basées sur l'analyse de la variance à un critère qui révèle une différence très hautement significative pour la concentration 100% et hautement significative pour la concentration 50% des graines et feuilles ($P < 0,01$), et non significatif pour la concentration 25%.

I.2.3 Activité antioxydante des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L.

L'activité antioxydante des extraits de *Centaurea macrocephala* L. par rapport au standard (BHA) vis-à-vis le radical DPPH ; a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Majhenic et al., 2007).

Les résultats obtenus par ce test permettent de tracer les graphes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour les deux extraits (Graines et feuilles) de *Centaurea macrocephala* L. (Figure 49).

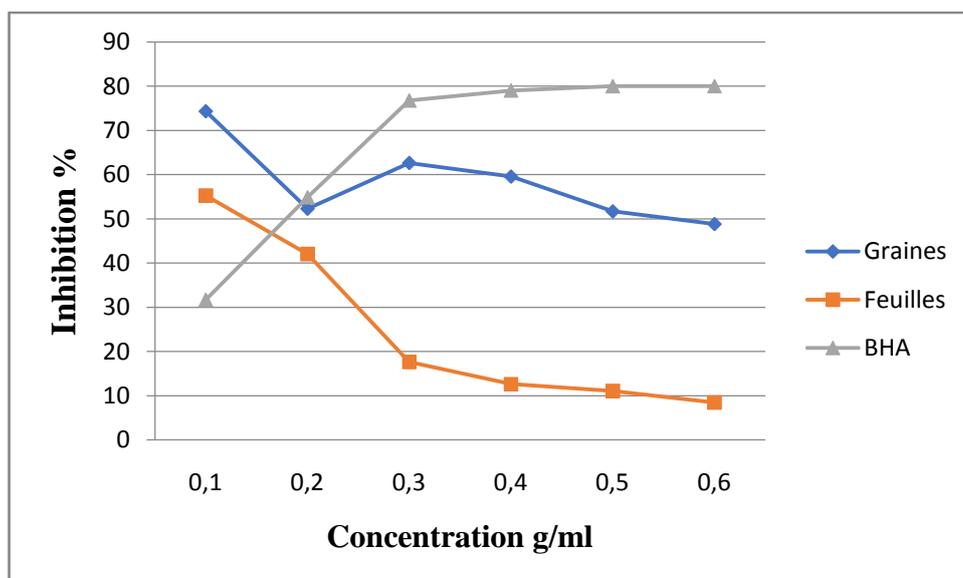


Figure 49: Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des extraits éthanoliques des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ainsi que le BHA (Standard) (Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions \pm SD).

Ces courbes montrent que le pourcentage d'inhibition des deux extraits réduit avec l'augmentation de la concentration des extraits, au contraire pour le standard (BHA) le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration.

L'analyse de la variance à un critère a révélé une différence très hautement significative entre les extraits de *Centaurea macrocephala* L. (**Annexe III**).

Selon **Villaño et al. (2007)**, La valeur d' EC_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, comme elle exprime la quantité de l'antioxydant nécessaire pour diminuer 50% de la concentration du radical. Plus EC_{50} est faible plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. Les résultats obtenus à partir de ce test sont regroupés dans le **tableau X**. Les valeurs des EC_{50} sont exprimées en (g/ml).

Tableau X: EC_{50} d'activité antioxydants de *Centaurea macrocephala* L.

Organes	Activité antioxydante (test DPPH) EC_{50} (g/ml)
Graines	0,57
Feuilles	0,08
HBA	0,36

D'après le **tableau X**, les résultats de ce test ont montré un pouvoir antioxydant important dans les feuilles avec une réduction de 50% des radicaux libres les polyphénols des feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ($EC_{50}=0,08$ g/ml), et le moins importante est dans les graines ($EC_{50}=0,57$ g/ml).

En comparant le pouvoir antioxydant des deux organes avec le BHA on peut indiquer que les feuilles de *Centaurea macrocephala* L. sont des antioxydants de valeur, vu que le pouvoir est très important par rapport aux témoin positif.

II. Discussion

On a préparé les extraits des graines et feuilles de la plante *Centaurea macrocephala* L. par macération hydro-éthanolique durant (cinq jours) à l'obscurité et une température ambiante.

Le rendement d'extraction, exprimé en pourcentage par rapport au poids total de la poudre de *Centaurea macrocephala* L. montre que l'éthanol et l'eau distillée fournissent une proportion plus élevée en matières extraites dans les feuilles avec la valeur de (31%) et moins importante dans les graines avec la valeur de (25%). Nos résultats sont inférieure à ce trouvés par (**Bendilmi et Boussouar, 2018**), qui ont trouvé les valeurs suivantes (49,4% pour les graines et 38,2% pour les feuilles), cette différence peut être expliquée par la méthode et la durée de séchage, selon (**Romero, 2004 ; Seidel, 2005; Marston et Hostettmann, 2006**) le séchage du matériel végétal est recommandé surtout lorsqu'il est destiné à être conservé pour une certaine période avant utilisation. Ceci, en effet, prévient les dégradations enzymatiques ou par fermentation microbienne des molécules qui s'y trouvent telles que les flavonoïdes et particulièrement les glycosides.

La différence entre le rendement d'extraction décrit dans la littérature peut être attribué à plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction et la méthode de quantification. Par ailleurs, les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique et la sécheresse), la période de la récolte et le stade de développement de la plante peuvent également influencer l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (**Locatelli et al., 2010**).

Après l'extraction nous avons réalisé l'examen phytochimique des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. qui a montré la présence des composés bioactives

suivants : les substances phénoliques, tanins, flavonoïdes, triterpènes et stéroïdes, coumarines, quinones libres dans les deux organes et les anthocyanes dans les feuilles.

Des recherches ont été effectuées par **Shoeb et al. (2007)** ont montré la présence des lignines dans les parties aériennes de *Centaurea macrocephala* L.

Plusieurs études phytochimiques sur le genre *Centaurea* ont révélé la présence des flavonoïdes (**Djeddi et al., 2008; Seghiri et al., 2009 ; Mouffok et al., 2012**) , coumarines (**Erel et al., 2010 ; Takeli et al., 2011**), alcaloïdes (**Shoeb et al., 2005 ; Shoeb et al., 2006**) et les lactones sesquiterpéniques (**Djeddi et al., 2008; Ayad et al., 2012**). Ces résultats sont très proches des nôtres. Les alcaloïdes sont absents dans les deux extraits que nous avons étudiés ceci peut être justifiée par les différents climats d'où ces plantes ont été prélevées. Ces principes actifs sont connus par leurs effets toxiques (**Bruneton, 2009**).

En outre, ce screening phytochimique corrobore celui effectué par **Jansen (2007) ; Bruneton (2005)** mentionne, chez *Centaurea cyanus*, la présence des flavonoïdes, tanins catéchiques.

Par ailleurs, une étude récente réalisée par **Barkat et al. 2017** concernant le screening phytochimique des tissus végétaux de *Centaurea nigra* a montré la présence de divers composés tels que les anthraquinones, stérols et triterpènes, flavonoïdes, tanins, saponosides et les quinones, et l'absence des alcaloïdes, anthraquinones et les anthocyanes, ces résultats sont très proches des nôtres.

Des recherches ont été effectuées par (**Mouffok , 2011**) ont permis d'isoler 9 composés naturels appartenant à trois classes de métabolites secondaires qui sont les flavonoïdes, triterpénoïdes et stéroïdes. Ces composés se répartissent comme suit : quatre flavonoïdes de type flavone, un flavonoïde de type flavonol, un triterpène pentacyclique à squelette lupane, un triterpène pentacyclique à squelette ursane, deux stéroïdes dont un glycosylé. Ceci confirme nos résultats.

L'étude réalisée par **Ayad (2013)** sur *Centaurea melitensis* L. a permis d'isoler trois flavonoïdes aglycones et un acide phénolique.

D'après le screening phytochimique réalisé sur les graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. on a remarqué sa richesse en certains principes bioactifs, qui ont des effets

bénéfique sur la santé comme l'activités antibactérienne, antioxydants, anticoagulant et antifongiques.

Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins des extraits éthanoliques (feuilles et graines) exprimées en μg d'équivalent d'acide gallique, quercitrine et Mimoza par mg d'extrait ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$ d'extrait) respectivement, se different selon le dosage et l'organe. Le dosage des phénols totaux a montré des teneurs importants dans les deux organes par rapport aux flavonoïdes et tanins.

Solen **Azzouzi et al. (2016)** qui a réalisé des dosages quantitatifs des polyphénols totaux et en flavonoïdes sur les extraits de *C. choulettiana*. Il a révélé que les deux extraits (AcOEt et *n* BuOH) des feuilles présentent les quantités les plus élevées en polyphénols (325,81 mg EAG/g d'extrait et $176,91 \pm 0,003$ mg EAG/g d'extrait) respectivement. Ces mêmes extraits (AcOEt et *n*-BuOH) présentent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes ($263,73 \pm 0.004$ mg EQ/ g d'extrait et $145,20 \pm 0,001$ mg EQ/ g d'extrait) respectivement. Ces résultats sont très proches des notre.

D'autre études ont montré que plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques, tels que des facteurs géographiques, climatiques, génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage (**Aktumsek et al., 2013**).

L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres d'étude (**Annexe IV**) a montré des corrélations négatives, significatives et hautement significatives. Une corrélation hautement significative entre la teneur en tanins condensés et la teneur en flavonoïdes ($R^2=0,995^{**}$). Le coefficient de corrélation ($R^2 =0,876^*$) indique une corrélation significative entre la teneur en matières extraites et la teneur en tanins condensés. Une corrélation hautement significative entre la teneur en flavonoïdes et la teneur en tanins condensés ($R^2=0,995^{**}$).

Une corrélation négativement forte pour la teneur en phénols totaux et la teneur en tanins condensés, faible pour la teneur en matières extraites ($R^2= -0,911^{**}$; $R^2= -0,687$) respectivement.

Une corrélation significative entre la teneur en tanins condensés et la teneur en flavonoïdes et la teneur en matières extraites ($R^2=0,876^*$; $R^2=0,875^*$) respectivement.

Suite aux différents résultats de l'activité antibactérienne illustrés dans le **tableau VIII**, l'action antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque. On remarque que le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon l'organe de *Centaurea macrocephala* L. (Graines ou feuilles), la concentration appliquée et la souche bactérienne testée.

Selon nos résultats des dosages et des tests ont montré la présence des polyphénols, et d'après **Cowan (1999)** les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédant des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis un nombre important de microorganismes.

Notre étude a montré que les extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. ont produit des zones d'inhibitions vis-à-vis à toutes les bactéries étudiées avec des valeurs variées (*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* et *Salmonella gallinarum*). Ceci est dû à la présence des flavonoïdes et selon **Shan et al. (2007)** les flavonoïdes ont une activité antibactérienne puissante).

La sensibilité de la souche *Bacillus cereus* et *Micrococcus luteus* aux extraits de *Centaurea macrocephala* L. peut s'expliquer aussi par la probabilité de sensibilité des bactéries à Gram positif aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH du milieu et la composition chimique des extraits naturels dus à l'absence de la membrane externe (**Balentine et al., 2006**).

La résistance des deux souches *Micrococcus luteus* et *Salmonella gallinarum* aux extraits des feuilles de *Centaurea macrocephala* L. peut être attribuée à l'incapacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar (**Hayouni et al., 2007**). Aussi la mauvaise solubilité de l'extrait dans l'éthanol pourrait expliquer dans une certaine mesure son action inactive à l'égard des souches testées.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram positif par rapport aux Gram négatif (**Turkmen et al., 2007 ; Falleh et al., 2008**), Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram négatif et Gram positif.

L'étude réalisée par **Tekeli et al. (2011)** sur l'activité antibactérienne des organes de *Centaurea sp* (*C. balsamita*, *C. calolepis*, *C. cariensis* et *maculiceps*, *C. cariensis* et *microlepis*,) a montré un effet bactérien contre quatre bactéries (*Escherichia coli*, *Bacillus*

cereus, *Salmonella enteritidis* et *Staphylococcus aureus*) en utilisant la technique de microdilution. *C. varians* ssp. *microlepis* présentait un effet antimicrobien sur tous les microorganismes testés.

Ces études et d'autres recherches antérieures (Barrero et al., 2000; Skaltsa et al., 2000 ; Karioti et al., 2002; Saroglou et al. 2005) ont révélé que les activités antimicrobiennes et antifongiques de *Centaurea* sont principalement dues à leur teneur élevée en lactones sesquiterpéniques. Bien plus, les composés phénoliques contenant des groupes hydroxyle possèdent une meilleure activité antibactérienne (Mori, 1987), alors que l'activité antifongique était attribuée à l'absence de groupes polaires (Robles et al., 1995; Picman et al., 1995).

Toutefois, les produits des métabolites secondaires contenant de l'oxygène, tels que les phénols, tendent à afficher une forte activité antimicrobienne (Ultee et al., 2002), selon (Cowan, 1999) les composés terpéniques expriment des effets contre les bactéries et les stéroïdes sont connus pour leurs efficacités à baisser le cholestérol.

Certes les extraits éthanoliques de *C. macrocephala* L. renferment une quantité appréciable de polyphénols qui sont connus par leur activité antimicrobienne mais les souches *M. luteus* et *S. gallinarum* sont insensibles aux extraits des feuilles de *C. macrocephala* L. ces résultats peuvent être expliqués par la présence des flavonoïdes qui sont des agents capables de déprimer l'activité antimicrobienne des extraits (Surveswaran et al., 2007).

En ce qui concerne la sensibilité des souches vis-à-vis à l'antibiotique (Gentamicine) et l'éthanol, rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par l'antibiotique (Gentamicine) sur les différentes souches étudiées.

Les trois souches sont sensibles à la Gentamicine et l'éthanol, la souche *Salmonella gallinarum* se révèle la plus sensible, tandis que la souche *Micrococcus luteus* est plus sensible que la souche *Bacillus cereus*.

L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres d'étude a montré une corrélation significative entre l'activité antibactérienne de la souche *M. luteus* (Solution mère et la dilution 1/2) et la teneur en matières extraites ($R^2=0,892^*$; $R^2=0,896^*$) respectivement.

Une corrélation négativement forte entre l'activité antibactérienne de la souche *M. luteus* (solution mère et la dilution 1/2) et la teneur en tanins, flavonoïdes et la teneur en

matières extraites ($R^2_{Sm}=-0,933^{**}$, $R^2_{1/2}=-0,979^{**}$; $R^2_{Sm}=-0,928^{**}$, $R^2_{1/2}=-0,965^{**}$; $R^2_{Sm}=-0,820^{*}$, $R^2_{1/2}=-0,930^{**}$) respectivement.

Une corrélation hautement significative entre l'activité antibactérienne de la souche *S.gallinarum* (Dilution 1/2) et la teneur en phénols totaux ($R^2 = 0,971^{**}$).

Selon les résultats de l'activité anticoagulante illustrés dans le **tableau IX** et présenté par l'histogramme (**Figure 48**), on remarque que l'effet anticoagulant des feuilles est relativement élevé par rapport aux graines.

Nos résultats de l'activité anticoagulante obtenues avec l'extrait éthanolique ont été comparé avec ceux trouvés par (**Bendilmi et Boussouar, 2018**), qui ont trouvé les valeurs suivantes (TQ de l'ordre de 12s ; 8,33s pour les concentrations 100% et 50% et un allongement moins important de TQ de l'ordre de 4,33s ; 2 s pour les concentrations 75 % et 25 % de l'extrait polyphénoliques des graines et un allongement de TQ de l'ordre de 13 s ; 3,33 s ; 1,66 s ; 0,66s pour les concentrations 100%, 50%, 75 % et 25 %) respectivement, on a remarqué que nos résultats sont plus élevés ceci peut être expliqué par la teneur en phénols totaux importante dans nos résultats par rapport à celle de (**Bendilmi et Boussouar, 2018**), .

Selon **Rouba (2012)** qui a réalisé l'activité anticoagulante des graines de *Nigella sativa* L. sur la voie exogène a montré une activité anticoagulante importante cela est due à la teneur importante en phénols totaux et en flavonoïdes ces études confirment nos résultats vu la richesse de notre plante en phénols totaux et en flavonoïdes.

Une corrélation hautement significative entre la teneur en tanins et phénols totaux et le TQ pour la concentration 50% ($R^2 = 0,978^{**}$; $R^2 = 0,944^{**}$) respectivement. Une corrélation négativement forte entre la concentration 100% de l'activité anticoagulante et la teneur en phénols totaux ($R^2 = -0,946^{**}$) (**Annexe IV**).

Les coefficients de corrélation ($R^2 = 0,927^{**}$; $R^2 = 0,917^{**}$) indiquent une corrélation hautement significative entre le TQ de la concentration 50% et l'activité antibactérienne de la souche *M.luteus* et *S.gallinarum* pour la dilution 1/2 respectivement (**Annexe IV**).

Les résultats de l'activité antioxydante illustrés dans la **figure 49** et le **tableau X** sont confirmés par les travaux de **Aktumsek et al. (2011)** qui ont examiné les concentrations totales des composés phénoliques, flavonoïdes et le potentiel antioxydant de cinq espèces de

Centaurea (*C. kurdica*, *C. rigida*, *C. amanicola*, *C. cheirolopha* et *C. ptosimopappoides*) de la flore de Turquie. Ils ont rapporté que tous les extraits avaient des activités antioxydantes significatives. **Zengin et al. (2011)** ont évalué l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de trois *Centaurea* sp. en utilisant les dosages suivants: dosage du phosphomolybdène, activité de piégeage des radicaux libres (dosage DPPH), dosage du blanchiment bêta-carotène / acide linoléique, dosage du fer (III) et de la réduction cuivrique. *C.pulchella* présentait la plus forte capacité anti-oxydante comparée aux deux autres *Centaurea* sp. comme suit : *C. pulchella* > *C. patula* > *C. tchihatcheffii*.

L'étude de **Azzouzi et al. (2016)** sur l'activité antioxydante de *C. choulettiana*, elle a réalisé deux extraits différents (EtOAc et n-BuOH) et les résultats comme suite avec l'extrait AcOEt des feuilles présente un pourcentage d'inhibition important (94,29%) comparativement à l'acide ascorbique utilisé comme standard (96,54%) et ceci à la même concentration de 100 µg/ml. Ceci confirme nos résultats.

Ces résultats sont en bon accord avec les données du dosage des phénols totaux et des flavonoïdes qui montrent une richesse remarquable de l'extrait éthanolique des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. avec ces composés. Ceci confirme également les résultats de nombreuses études qui ont pu établir une relation étroite entre la structure chimique des composés phénoliques et leur capacité à piéger les radicaux libres (**Marfak, 2003**).

L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres d'étude a montré une corrélation hautement significative entre l'activité antioxydante et le TQ pour la concentration 100% ($R^2=0,975^{**}$).

Une corrélation hautement significative entre l'activité antioxydante et la teneur des tanins condensés et des flavonoïdes avec la valeur ($R^2=0,999^{**}$), on signale aussi une corrélation significative entre l'activité antioxydante et la teneur en matières extraites ($R^2=0,887^*$).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des antimicrobiens et des antioxydants naturels. De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits des plantes, pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques utilisés pour soigner plusieurs maladies.

Centaurea macerocephala L. a envahi les surfaces des grandes cultures surtout des céréales, ce qui nous a permis de choisir cette espèce comme plante d'étude afin d'extraire des composés bioactifs.

L'analyse quantitative des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. a révélé un rendement important en matière extraite dans les feuilles que les graines, les résultats de l'étude phytochimique confirment la richesse de *Centaurea macerocephala* L. en métabolites secondaires à savoir les flavonoïdes, tanins, composés phénoliques, quinones libres, triterpènes et stéroïdes, coumarines et les anthocyanes, qui sont bien connues pour leur grande importance en activités biologiques.

L'étude des dosages des composés phénoliques (phénols, flavonoïdes totaux et tanins condensés) a montré une richesse en phénols totaux des graines et feuilles respectivement avec les valeurs de 316,25 µg/mg et 786,6 µg/mg par rapport aux flavonoïdes et tanins.

Les résultats de l'étude phytochimique confirment la richesse de *Centaurea macerocephala* L. en métabolites secondaires à savoir les flavonoïdes, tanins, composés phénoliques, quinones libres, triterpènes et stéroïdes, coumarines et les anthocyanes, qui sont bien connues pour leur grande importance en activités biologiques.

L'évaluation du pouvoir antibactérien de deux extraits a été testée sur trois souches bactériennes (*B.cereus*, *S.gallinarum* et *M.luteus*), indique une forte activité contre *B.cereus* et une activité antibactérienne moins importante contre *S.gallinarum* et *M.luteus* pour les graines, tandis que l'extrait des feuilles a été inactif vis-à-vis de *S.gallinarum* et *M.luteus*.

L'activité anticoagulante des extraits a été évaluée par le test de taux de prothrombine (TP), les résultats ont montré que les deux extraits de *C.macrocephala* L. présentent une bonne activité sur la voie exogène de la coagulation, avec un allongement du temps important dans les feuilles (TQ de 47,26s) que les graines (TQ de 29,23s).

L'évaluation de l'activité antioxydante de *C.macrocephala* L. par la méthode du piégeage du radical libre DPPH. L'extrait éthanolique des feuilles a présenté l'effet le plus puissant vis-à-vis du radical libre DPPH avec ($EC_{50}=0,08$ g/ml).

Une coefficients de corrélation importante positive a été signalé entre les teneurs en flavonoides et tanins condensés et la température. ($R^2 = 0,957$; $R^2=0,886$) respectivement

Très peu travaux faites sur l'évaluation des activités biologiques et la recherche des substances naturelles biologiquement actives de *Centaurea macrocephala* L. in-vitro, nos résultats constituent une première étape dans il serait toutefois intéressant d'approfondir les explorations phytochimiques et biologiques de cette plante afin d'isoler les molécules responsables de ces activités testées, ce qui permettra le développement des agents thérapeutiques à base des plantes. Aussi, permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives pour d'autre études dans le future, telle que :

- L'évaluation de l'activité antifongique et anti-inflammatoire.
- Tester ces extraits in vivo.
- Tester l'effet insecticide.
- Identifier les molécules responsables des activités.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- ❖ **Abaza L, Talorete TP, Yamada P, Kurita Y, Zarrouk M., (2007).** Induction of Growth Inhibition and Differentiation of Human Leukemia HL-60 Cells by Tunisian Gerboui Olive Leaf Extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 71. P 1306-1312.
- ❖ **Akbar S, Fries D.S, Malone M.H., (1995).** Effect of various pretreatment on the hypothermic activity of repin in naive rats. *Journal of Ethno pharmacology.* 49: 91-99.
- ❖ **AFNOR, (2000).** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles. Volume 1 et 2, Paris, 6ème édition.
- ❖ **Aganga A et Mosase K., (2001).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, **91**:107-113.
- ❖ **Ajjan R., Grant P. J., (2006).** Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186 : 240–259.
- ❖ **Aktumsek A, Zengin G, Guler GO, Cakmak YS, Duran A., (2011) .** Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea L.* species from Turkey flora. *Food Chem Toxicol*; 49: 2914-2920.
- ❖ **Aktumsek, A, Zengin, G, Guler, G.O, Cakmak, Y. S, Duran, A., (2013),** Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species, *Food and Chemical Toxicology*, 55, 290–296.
- ❖ **Ghasemzadeh A et Ghasemzadehed N., (2011).** *Flavonoids and phenolicacids: Role and biochemicalactivity in plants and human. Journal of Medicinal Plants Research. ;5(31) : 6697-6703.*
- ❖ **Anonyme1,(2018),**www.Wikipédia.com.site:(https://fr.wikipedia.org/wiki/Centaurea_groenlandica).
- ❖ **Anonyme2,(2019),**(<https://www.google.com/maps/place/Mila/@36.426101,6.1746118,290m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x12f22d33e739e283:0x4d637e28a1254681!8m2!3d36.4512301!4d6.2535257>).
- ❖ **Arimboor, Kumar K.S et al., (2008).** Simultaneous estimation of phenolicacids in seabuckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) using RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*; **47(1): 31-38.**

- ❖ **Armitage, A.M., (2001).** Armitage's manual of annuals, biennials, and half-hardy perennials. Timber Press.
- ❖ **Aruoma OI, Spencer JPE, Butler J et Hlliwel B., (1995).** commùentary reaction of plant derived and syntitic antioxidants whith trichloromethylperopxyl radicals. Free rad. Res. p22,187-190.
- ❖ **Asadipour A, Mehrabani M, Larinajafi M., (2005).** Volatile oil composition of *Centaurea aucheri*. DARU. **13**: 160-164.
- ❖ **Ayad, R, Ababsa, Z. E. A, Belfadel, F. Z, Akkal, S, Leon, F, Brouard, I, Medroubi, K., (2012).** Phytochemicamical and biological activity of Algerian *Centaurea melitensis*. Int. J. Med. Plants. **2**, 151- 154.
- ❖ **Ayad, R., (2013).** Etude phytochimique et activité antioxydante de la plante *Centaurea melitensis* L. .Diplôme de DOCTORAT en Chimie Organique. Université Constantine 1.P: 204.
- ❖ **Azzouzi Dj., (2017).** Investigation phytochimique et recherche d'activité biologique de deux espèces du genre *Centaurea* (Asteraceae), Mémoire de Doctorat troisième cycle en chimie pharmaceutique, Universite Freres Mentouri CONSTANTINE 1. P : 27.
- ❖ **Azzouzi Dj, Bioud K, Demirtas I, Gül F, Sarri DJ, Benayache S, Benayache F and Mekkiou R., (2016).** Phenolic Profile and Antioxidant Activity of *Centaurea choulettiana* Pomel (Asteraceae) Extracts. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening. Vol. 19, No. 10.

B

- ❖ **Baba Aissa, F., (1999).** Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident. Encyclopédie des plantes utiles. Ed. Edas, Alger.
- ❖ **Babayi H, Kolo I, Okogum JL., (2004).** The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Biochemistri, **16** (2): 102-5.
- ❖ **Badiaga M., (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale Africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat en chimie organique. Unv. Bamako (Mali): P13.
- ❖ **Bahorun, T, Grinier, B, Troitin, F, Brunet, G, Pin, T, Luncky, M, Vasseur, J, Cazin, M , Cazin, C. and Pinkas, M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel-Forschung, **46**(11): 1086-1089.

- ❖ **Balentine, C. W, Crandall, P. G, O’Bryan, C. A, Duong, D. Q, Pohlman, F. W., (2006).** The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*. 73, 413-421.
- ❖ **Barero, A.F, Oltra, J.E, Alvarez, M, Raslan D.S, Saude, D.A, Akssira, M., (2000).** New sources and antifungal activity of sesquiterpene lactones. *Fitoterapia* 71, 281–283.
- ❖ **Barkat El houaria, Belbey Meriem, Safi Siham., (2017).** Etude phytochimique de deux plantes endémique (ouest algérien) *Centaurea nigra* -*Lepidium sativum*. Mémoire de Master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.p: 39-40.
- ❖ **Barrero, A.F, Herrador, M.M, Arteaga, P, Cabrera, E, Rodriguez-Garcia, I, Garcia-Moreno, M., Gravalos, D.G., (1997).** Cytotoxic Activity of Flavonoids from *Carthamus arborescens*. *Ononis natrix* ssp. *ramosissima* and *Centaurea malacitana*. *Fitoterapia* 68, 281–283.
- ❖ **Basile A, Giordano S, Lopez Saez JA, Cobianchi BC., (1999).** Antibacterial activity of pure flavonoïds isolated from mosses. *Phytochem*, 2 (8): 1419-82.
- ❖ **Batty, P et Smith, G., (2010).** Anticoagulation. *Surgery*, vol. 28 (6), 243-247.
- ❖ **Bauer A W, Kirby W M, Sheris J C et Turck M., (1966)** .Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *AM. J. Clin. Pathol.* 45.P :493-496. Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. 39:756-761.
- ❖ **Bayer E, Butter, K.P, Finkenzeller, X & Grau, J., (1990).** Guide de la flore méditerrané. Edition : Delachaux et Niestlé, S. A. Paris. 206-207.
- ❖ **Bayer R. J et Starr, J. R., (1998).** Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two noncoding chloroplast sequences. 85, 242-256.
- ❖ **Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H and Ehilé E.E., (2007).** Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpiniaaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2): P 217-225.
- ❖ **Bellakhdar J., (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle, bis Press. Detection of Antioxidant Capacity of Liquid et Semi-solid Pharmaceutical Formulations Using ABTS .Immobilized by Gel Entrapment. *AAPS PharmSciTech*, 11(3):1159- 1163.
- ❖ **Belkou H , beyoud F , taleb bahmed Z., (2005).** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*Menthe spicata* L) dans la région de ouargla, mémoire DES,univ ouargla. P 2-61.

- ❖ **Beloued A., (1998).** Etymologie des noms de plantes du bassin méditerranéen. Édition : Office des publications universitaires : 22
- ❖ **Benayad N., (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair, département de chimie ,faculté des sciences de rabat.
- ❖ **Bendilmi A et Bousouar M., (2018).** Activité biologique de *Centaurea macrocephala* .L. Mémoire de Master en biotechnologie végétale.Centre universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila.P:43.
- ❖ **Benwqhi K., (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon Dactylon L chiendent, mémoire de magister. Université d' Ouargla. P15 – 17.
- ❖ **Berche P, Gaillard J-L, Simonet M., (1989).** Bactériologie: bactéries des infections humaines.Médecine-Sciences.Flammarion.
- ❖ **Berendes J., (1970).** Des Pedianos Diaskurides aus Anazarbos Arzneimittellehre, Stuttgart 1902. Réédité par Dr. Martin Sandig. Wiesbaden: 90.
- ❖ **Bernhardt P., (2008).** Gods and goddesses in the garden: Greco-Roman mythology and the scientific names of plants. Rutgers University Press, United States. Pharmacological and Biological Properties of some *Centaurea* Species *Ononis natrix* ssp. *ramosissima* and *Centaurea malacitana*. *Fitoterapia* 68, 281–283.
- ❖ **Bezzaz .N., (2014).** Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentharotundifolia*. Mémoire de magistère : chimie organique. M'sila: Université de M'sila. Algérie..p :14.
- ❖ **Boerlin P, White D.G, (2006).** Antimicrobial resistance and its epidemiology. In : Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D., Dowling P.M. (Eds), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 4th Edition. Blackwell publishing : Ames, p :27-43.
- ❖ **Boisseau M.R., (1996).** Données actuelles sur l'hémostase. *Phlébologie*, 42 (2) : 175 – 186.
- ❖ **Bouakaz, I., (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna. P 50.
- ❖ **Bouchet P, Guignard J. L, Pouchus Y. F, Villard J., (2005).** Les champignons. *Mycologie fondamentale et appliquée*. 2ème éd. Ed. Masson, Paris, p: 191.
- ❖ **Breuil M., (2009).** Biologie, 2ème année BCPST-VETO. Eds. TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 818 p.
- ❖ **Brouillard R., (1986).** Bull. Liaison groupe Polyphénols,13,p76-94.

- ❖ **Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3^{ème} Edition. Lavoisier, Paris, p : 199- 915-388.
- ❖ **Bruneton J., (1999)** .Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » Médicinales 3^{ème} Ed, Tec et doc,Paris-P484-540.
- ❖ **Bruneton J., (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- ❖ **Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4^e éd., revue et augmentée, Paris, France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales,p 1288.
- ❖ **Bryskier A., (1999).** Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques. Paris: Ellipses. p55.

C

- ❖ **Cadel, S. S, De buyser, M. et al., (2010).** Toxi-infections alimentaires collective à *Bacillus cereus* : bilan de la caractérisation des souches .Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation Spécial Risques alimentaires microbiologique,p:50.
- ❖ **Caen J, Lrrieu MJ, Samama M., (1975).** L'hémostase : méthodes d'exploration et diagnostic pratique (2^{ème} Ed), Expansion Scientifique Francaise (Paris); pp : 15-20.
- ❖ **Caquet R., (2004).** 250 examens de laboratoire prescription et interprétation (9^{ème} Ed), Masson (Paris); pp:388-389.
- ❖ **Carnoy A., (1959).** Dictionnaire étymologique des noms grecs de plantes. Bibliothèque du Muséon Louvain. (46) :70.
- ❖ **CE., (2001).** Commission Européenne : proposition de la commission en matière de lutte contre la résistance microbienne. Bruxelles.
- ❖ **Chaouch N., (2001).** Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte *colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister; Université de Ouargla. P 44.
- ❖ **Chira K, Such J, Saucier C, Teissèdre L., (2008).** Les polyphénols du raisin. Ed :Springer. 6 :75-82.
- ❖ **Cohen Y et Jacquot C., (2001).** Pharmacologie. 5^{ème} Ed. Masson. Paris. p350.
- ❖ **Colvin B.T., (2004).** Physiology of haemostasis.Vox Sanguinis, 87(1): 43-46.
- ❖ **Cowan, M., (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents, Journal Of Medicinal Plant. vol 16 p122-125.
- ❖ **Cushnie TP, Hamilthoh VES, Lamb AJ., (2003).**Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. Microbiol. Res., 158(4): 281-9.

D

- ❖ **Daels-rakotoarison D., (1999).** Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France. 172 (64).
- ❖ **Deconchat C et Polese J-M., (2002).** Champignons. L'encyclopédie. Eds. Artémis, Losange, France, 7-8-9 p.
- ❖ **Djafar I, Menzri I., (2017).** Extraction et purification des métabolites secondaires du champignon Algérien *Pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antioxydante, 8-9.
- ❖ **Djeddi, S, Argyropoulou, C, Skaltsa, H., (2008).** Secondary metabolites from *Centaurea grisebachii* ssp. *Grisebachii*. *Biochem. Syst. Ecol.* 36, 336–339. *grisebachii* ssp. *Grisebachii*. *Biochem. Syst. Ecol.* 36, 336–339. during fermentation of naturally black olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (7): P 1973-1979.
- ❖ **Djeddi, S, Karioti, A, Sokovic, M, Stojkovic, D, Seridi, R, Skaltsa, H., (2007).** Minor Sesquiterpene Lactones from *Centaurea pullata* and Their Antimicrobial Activity. *J. Nat. Prod.* 70, 1796–1799.

E

- ❖ **Elalamy., (2012).** héparine; structure, propriétés pharmacologiques et activités. Elsevier Masson SAS 13-022 D10.
- ❖ **Elgailani et C.Y. Ishak., (2014).** Determination of Tannins of Three Common Acacia Species of Sudan. *Armando Zarrelli.* 5:1.
- ❖ **Erel, S.B, Bedir E, Ikhlas, A, Khan, I.A, Karaalp, C., (2010).** Secondary metabolites from *Centaurea ensiformis* P.H. Davis. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 1056–1058. *Centaurea ensiformis* P.H. Davis. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 1056–1058.

F

- ❖ **Fajardo A, Linares JF, Martínez JL., (2009).** Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. *Clin Microbiol Infect*; 15 (Suppl 1): 14-16.
- ❖ **Falandysz J, Borovička J., (2013).** Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97: 477-501.
- ❖ **Farrag, N.M, Abd El Aziz, E.M, El-Domiatty, M.M, El Shafea, A.M., (1993).** Phytochemical Investigation of *Centaurea araneosa* Growing in Egypt, *Zag. J. Pharm. Sci.* 2, 29–45.

- ❖ **Faure S., (2009).** Transfert d'un gène de résistance aux B-lactamines bla.CTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie, Equipe d'accueil : unité Pharmacocinétique-Pharmacodynamie, AFSA Ecole Doctorale : Vie-Agro-Santé.
- ❖ **Formisano, C, Rigano, D, Senatore, F, Bancheva, S, Maggio, A, Rosselli, S. and Bruno, M., (2012).** Flavonoids in subtribe Centaureinae (Cass.) Dumort. (Tribe Cardueae, Asteraceae) : Distribution and ¹³C-NMR spectral data. *Chemistry & Biodiversity*. **9**, 2096-2158
- ❖ **Flamini, G, Bulleri, C, Morelli, I., (2002),** Secondary constituents from *Centaurea horrida* and their evolutionary meaning, *Biochemical Systematics and Ecology* 30, p 1051–1054.
- ❖ **Font Quer, P., (1995).** Plantas Medicinales. El Dioscorides Renovado. Fifteenth ed. Editorial Labor S.A., Madrid.
- ❖ **Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yesilada E, Honda G, Takeda Y, Takaushi Y, Tanaka T, (1995).** Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west black Sea Regions. *Economic Botany*. 49: 406- 422.
- ❖ **Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yesilada E, Honda G, Takeda Y, Takaushi Y, Seghiri, R, Mekkiou, R, Boumaza, O, Benayache, S, Bermejo, J, Benayache, F.,(2006),** Phenolic compounds from *Centaurea Africana*. *Chemistry of Natural Compounds* 42(6), 491-492.

G

- ❖ **Gamet-Payrastre L , Manenti S , Gratacap M.P, Tulliez J, Chap H et Payrastre B.,(1999).** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase.*General Pharmacology*. p 32: 279-286.
- ❖ **Garcia-Jacas.N, Uysal.T, Romashchenco.K, Suarez-Santiago.V, Ertugrul.K, Susanna.A., (2006).** Centaurea revisited a molecular survey of the Jacea group Barcelona, Botanic Institute of Barcelona, p: 741-753.
- ❖ **Garnier Delamare., (1992).** Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.
- ❖ **Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A.M., (2001).** Le préparateur en pharmacie .Dossier 2.Editions TEC & DOC Paris. P275.
- ❖ **Giordano O.S, Pestchanker M.J, Guerreiro E, Saad J.R, Enriz R.D, Rodriguez A.M, Jauregui E.A, Guzman J, Maria O. M. A, Wendel G.H, (1992).** Structure activity

relationship in the gastric cytoprotective effect of several sesquiterpenes lactones Journal of Medicinal Chemistry. 35: 2452- 2458.

- ❖ **Giullin M.C., (1985)** La couagulation physiologie et exploitation EMC. SAN.13000.
- ❖ **Goszcz K, Deakin SJ, Duthie GG, Stewart D, Leslie SJ and Megson IL., (2015).** Antioxydants in cardiovasculartherapy: panacea or false hope? . Frontiers in Cardiovascular Medicine .; 2:10.
- ❖ **Goodarzi MT, Zal F, Malakooti M, Safari MR, Sadeghian S., (2006).** Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats. Acta Med. Iran., 44(1): 41-5.
- ❖ **Guerrah.M et Seguni.M., (2015).** Contribution à l'étude biochimique de quelques plantes médicinales dans le Sahara Septentrional algérien .Mémoire de master. Biochimie appliquée. El-oued. Université Echahid Hamma Lakhdar. Algerie. p :10.
- ❖ **Guignard.J.L., (2000).** Biochimie végétale. Ed.Masson,Paris. p 231-241.
- ❖ **Gupta R., (2004).** A text Book of Fungi.Ed. Efficient Offset Printers, New Delhi, India,p:343.

H

- ❖ **Han X.H, Hong S.S, Hwang J.S, Lee M.K, Hwang B.Y, Ro J.S., (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from Cayratia japonica. Archives Pharmacal Research. 30: 07-13.
- ❖ **Harborne. J.B et Swain.T., (1969).** Perspectives In Phytochemistry, Academic Press, London, New York.
- ❖ **Harborne J.B., (1998).** Phytochemical Methods: A guide to modern technics of plant Analysis 3e Ed: Chapman and hill. P 303.
- ❖ **Havsteen B. H., (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Therap. 96: 67-202.
- ❖ **Hayouni, E. A, Abedrabba, M, Bouix, M., Hamdi, M., (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem. 105, 1126-1134.
- ❖ **Hellwig F.H., (2004).** Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean - history of ecogeographical radiation. Plant Syst. Evol, 246: 137-162.
- ❖ **Hennebelle T., (2006).** Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota

Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbenacées), Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. France.

- ❖ **Hininger-Favier I., (2011).** Biochimie, les lipides et dérivés ; Partie 4: les composées à caractère lipidique (lipoïde). Josef Fourier (France):P23.
- ❖ **Hirsh J, Dalen JE, Poller L, Deykin D., (2001).** Oral Anticoagulants: Mechanism of Action Clinical Effectiveness, and Optimal Therapeutic Range. CHEST; 119:8S–21S.
- ❖ **Honda G Yesilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita E, Takeda Y, Takaushi Y, Tanaka T., (1996).** Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia : Afyon, Kutahya, Denizli, Mugla, Aydin provinces. Journal of Ethno pharmacology. 53: 75- 87.
- ❖ **Hong X.Y, Wan M, Dong H, But P.P.H and Foo L.Ycap., (2000).** Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(9) .p 1072 - 1076.

I

- ❖ **Igor P.L.B., (2003).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* La (Rutaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako. P : 24.
- ❖ **Ismail , A.I, Eklund, S.A, Striffler, D.F et Szpunar, S.M., (1987):** The Prevalence of Advanced Loss of Periodontal Attachment in Two New Mexico Populations, J Periodont Res 22:119-124.

J

- ❖ **Jansen, P., (2007).** Prota Network Office Europe, Wageningen University, P.O. Box 341, 6700 AH Wageningen, Netherlands.
- ❖ **Jean-Luc Aboya Moroh., (2013).** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale – Brest. Français.p :19-30.

K

- ❖ **Kalla A., (2012).** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse doctorat. Université Mentouri - Constantine.
- ❖ **Karioti, A, Skaltsaa, H, Lazaria, D, Sokovicb, M, Garciac, B, Harvalaa, C., (2002).** Secondary Metabolites from *Centaurea deusta* with Antimicrobial Activity. Z. Naturforsch. C.P:57,75–80.

- ❖ **Kaur S.J, Grover I.S and Kumar S., (2000).** Modulatory effects of tannin fraction isolated from Terminaliaarjuna on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and Chemical Toxicology*, 38(12). p1113 -1119.
- ❖ **Keil DJ, Ochsmann J., (2006).** *Centaurea*. In: Flora of North America north of Mexico (ed. by Flora of North America) Oxford, UK: Oxford University Press, 181-194.
- ❖ **Khanbaba K et Ree T.R., (2001).**Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*,**18**:641-649.
- ❖ **Khenaka K., (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovine. Université Mentouri. Constantine. p81.
- ❖ **Khiati M., (1998).** Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.
- ❖ **Klokov MB, Sonsovskii DI, Tsvelev NN, Cherepanov CK., (1963).** *Centaurea*. In: Flora of the USSR, Volume XXVIII: Compositae, tribes Cynareae and Mutisieae (ed. by Bobrov EG, Czerepanov SK), 370-579.
- ❖ **Koleva, V, Beek, T.A, Linssen, J.P.H., (2002).** Screening of Plant Extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochemical Analysis*, 13(1), 8-17.
- ❖ **Kortchinsky T, VIGUE B et Samama C., (2013).** Antagonisation des héparines et des nouveaux anticoagulants Reversal for heparins and new anticoagulant treatments ,37- 49.
- ❖ **Köse Y. B, Iscan G, Demirci, B, Baser K. H. C, Çelik S., (2007).** Antimicrobial activity of the essential oil of *Centaurea aladagensis*. *Fitoterapia* 78, 53–254.
- ❖ **Krishna D, Chaluvadi M, Raj N. and Sripal R., (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological,biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.*; 33: 2-16.
- ❖ **Kuroda M, Baba T, Yuzawa H, Cui L, Lian 1. Q et al., (2001).** Whole genome sequencing of methicilline-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*; 357: 1225-98.

L

- ❖ **Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M., (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- ❖ **Lee K.H, Ibuka T, Wu R.Y, Geissman T. A., (1977).** Structure antimicrobial activity relationship among the sesquiterpenes lactones and related compounds. *Phytochemistry*. 16:p1177.
- ❖ **Lemoine C et Claustres G., (2002).** Mieux connaître les champignons. Eds. Gisserot J-P, France,128p.

- ❖ **Leonard E, Yan Y et Koffas M.A.G., (2006).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering* 8: 172-181.
- ❖ **Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Martelli A, Stevigny C, & Arlorio M., (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola Piemonte PGI*) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*, **119**:1647-1655.
- ❖ **Lüttge U, Kluge M, Bauer G., (2002).** Botanique. 3ème éd. Eds. TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 604 p.

M

- ❖ **Mabberley, D. J., (1987).** The Plante Book, Combridge University Press. **P:110.**
- ❖ **Mabry T et Ulubelen A., (1980).** Chemistry and utilization of phenilpropanoïdes including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* 28, p 188-196.
- ❖ **Macheix J. J, Fleuriet A and Jay-Allemand C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p 4-5.
- ❖ **Madi A., (2009).** caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire magister. Université Mentouri-Constantine.
- ❖ **Majob F, Kamalinejab M, Ghaderi N, Vahidipour HR., (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Res.* ; 77 – 82.
- ❖ **Majhenic L, kerget M S et Knez Z., (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*.104: 1258–1268.
- ❖ **Manallah, A., (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* thèse doctorat université Université Ferhat Abbas – sétif p17.
- ❖ **Marfak, A., (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, France.
- ❖ **Martini A, Katerere DR, Eloff JN., (2004).** Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol.*, 93 (2-3): 207-12.
- ❖ **McCalley D.V., (2002).** Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*, **967**:p:1–19.

- ❖ **Merghem R., (2009).** Elément de biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie, en sciences alimentaires et en sciences de la nature et de la vie. Bahaeddine Edition, Algérie, p107-132.
- ❖ **Meyer A, Deiana J., (1988).** Cours de microbiologie générale. Doin éditeurs, paris. p 201.
- ❖ **Mori, A, Nishino, C, Enoki, N, Tawata, S., (1987).** Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*.26,2231–2234.
- ❖ **MOUFFOK S., (2011).** Etude des métabolites secondaires de *Centaurea pubescens* ssp. *omphalotricha* (Asteraceae), Mémoire de Magister en chimie organique. Université Hadj Lakhdar-BATNA. P: 6-7 et 155-157.
- ❖ **Mouffok, S, Haba, H, Lavaud, C, Long, C, Benkhaled, M., (2012).** Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab. *Rec. Nat. Prod.* 6, 292–295.
- ❖ **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. Algérie. page: 155.
- ❖ **Middleton E, Kandaswami C et Theoharides T.C., (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.* 52(4), p 673-751.
- ❖ **Murray, M.P., (1999).** Textbook of Natural Medecine. Churchil Livingston, London.

N

- ❖ **Nanjo, F, Goto, K, Seto, R, Suzuki, M, Sakai, M, Hara, Y., (1996).** Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol.Md.*21(6),895-902.
- ❖ **Nicolas, M et Daniel, C., (1998).** Activités technologiques en microbiologie1 -Techniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux, PP : 152.
- ❖ **Novick P. R, Schevert P et Ruzin A., (2001).** Pathogenicity and Resistance Islands of *Staphylococci*, *Journal of Microbes and Infections*, 3, P 585-594.

O

- ❖ **Oloyede OI., (2005).** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr*; 4. P379-381.

- ❖ **Orallo, F, Lamela, M., Camina, M., Uriatre, E, Calleja. M., (1998).** Preliminary study of the potential vasodilator effects on rat aorta of Centaurein and Centaureidin, two flavonoids from *Centaurea corubionensis*. *Planta. Med.* 64, 116–119.
- ❖ **Ormeno E, Fernandez C, Mévy J.P., (2007).** Plant coexistence Alters terpene emission and content of Mediterranean Species-*Phytochemistry*.68:840-852.
- ❖ **Ortuno A, Baidez A, Gomez P, Arcas MC, Porrás I, Garcia-Lidon A, Del Rio JA., (2006)** Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem.* 98 (2): 351-8.
- ❖ **Ouahas. C., (1996).** Chimie Organique, Science biomédicales et Sciences de la nature, Office des publications Universitaires, Alger, p 431.
- ❖ **Ouali K, Trea F, Toumi L, Bairi A, Maurel D, Guellati MA., (2007).** L'hespéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental. *Phytothér.*, 5 (4): 204-9.
- ❖ **Oussala M, Caillet S, Saucier L., (2006)** L'activité antimicrobienne de selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat science*.73 : 236-244.

P

- ❖ **Patzer J. A, Dzierzanowska D, Turner P., (2008).** Trends in antimicrobial susceptibility of Gram-negative isolates from a pediatric intensive care unit in Warsaw: results from the Mystic program (1997–2007). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62 : 369–375.
- ❖ **Peronny S., (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle, Discipline EcoEthologie .151p.
- ❖ **Peter,S, Marshall,J. B., (1987)** ,Harborne,and Graham,S. ,*Phytochemistry*,26,2493-2494.
- ❖ **Picher, M. T, Seoane, E, Tortajada, A., (1984),** two new anti-inflammatory elemanolides from *Centaurea chilensis*, *Phytochemistry*, 23(9), 1995-1998.
- ❖ **Picman, A, Schneider, E, Picman J., (1995).** Effect of flavonoids on mycelial growth of *Verticillium albo-atrum*. *Biochem. Syst. Ecol.* 23, 683–693.
- ❖ **Porter L.J, R.Y. Wong, H.F. Benson, B.G. Chang, V.N. Viswanadhan, R.E. Gandour and W.L. Mattice., (1986).** Conformational analysis of flavan. *Journal of Chemistry Research*,p:86,830.

Q

- ❖ **Quezel, P, Santa, S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.), Vol. 1-2. Paris.

R

- ❖ **Raven P. H, Johnson G. J, Mason K. A, Losos J. B, Singer S. S., (2011).** Biologie. 2ème édition. Ed. De Boeck, Bruxelles, 1406p.
- ❖ **Reynaud J, Couble A, Reynaud J., (1992).** Flavonoids from *Centaurea macrocephala* Muss Pusch. Ex Willd (Compositae). Pharmazie; 47: 51-52.
- ❖ **Robles, M, Aregullin, M, West J, Rodriguez E., (1995).** Recent studies on the zoopharmacognosy, pharmacology and neurotoxicology of sesquiterpene lactones. Planta. Med. 61, 199–203.
- ❖ **Roché CT., (1991).** Bighdead Knapweed (*Centaurea macrocephala Puschk*). PNW Extension Bulletin, 386:2 pp.
- ❖ **Romero C, Brenes M, García P, García A, Garrido A., (2004).** Polyphenol changes
- ❖ **Rouba L., (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols des graines de *Nigella sativa* L., Université Ferhat Abbas-SETIF. En Biochimie appliquée. P:40, 50.

S

- ❖ **Sakagami, H, Hashimoto, K, Suzuki, S, Ogiwara, T, Satoh, K, Ito, H, Hatano, T, Yoshida, T. & Fujisawa, S., (2005).** Molecular requirement of lignin for expression of unique biological activity. Phytochemistry, **Vol.66** (17), pp. 2107-2119.
- ❖ **Sarker SD, Savchenko T, Whiting P, Sik V, Dinan LN., (1997).** Moschamine, *cis*-moschamine, moschamindole and moschamindolol; Four novel indole alkaloids from *Centaurea moschata*. Natural Product Letter; 9: 189-199.
- ❖ **Sarni-Manchado P et Cheynier V., (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. p : 02-11.
- ❖ **Saroglou, V, Karioti, A, Demetzos, C, Dimas, K, Skaltsa, H., (2005).** Sesquiterpene lactones from *Centaurea spinosa* and their antibacterial and cytotoxic activities. J. Nat. Prod. 68, 1404–1407.
- ❖ **Schved, J. F., (2007).** Physiologie de l'hémostase , Faculté de Médecine Montpellier Nîmes.
- ❖ **Seghiri, R, Mekkiou, R, Boumaza, O, Benayache, S, Bermijo, J, Benayache, F., (2006).** Phenolic compounds from *Centaurea africana*. *Chemistry of Natural Compounds*. **42**, 491-492.
- ❖ **Seghiri, R, Boumaza, O, Mekkiou, R, Benayache, S., Mosset, P, Quintana, J, Estevez, F, Leon, F, Bermejo, J, Benayache, F., (2009).** A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea africana*. *Phytochem. Lett.* 2, 114–118.

- ❖ **Seidel V., (2005).** Initial and Bulk Extraction. *In: Sarker S.D., Latif Z. and Gray A.I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa).* P 27-37.
- ❖ **Shan, B, Cai, Y. Z, Brooks, J. D, Corke, H., (2007).** The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food microbiology.* 117, 112-119.
- ❖ **Shoeb M, Rahman MU, Nahar L, Delazar A, Jaspars M, Stephen M. Macmanus, and Satyajit D, Sarker., (2004).** *Bioactive lignans from the seeds of Centaurea macrocephala.* DARU Volume 12, No. 3, 87.
- ❖ **Shoeb, M, Celik, S, Jaspars, M, Kumarasamy, Y, MacManus, S.M, Nahar, L, Kong-Thoo-Lin, P.K, Sarker, S.D., (2005).** Isolation, structure elucidation and bioactivity of schischkiniin, a unique indole alkaloid from the seeds of *Centaurea schischkini*, *Tetrahedron* 61, 9001–9006.
- ❖ **Shoeb, M, MacManus, S. M, Jaspars, M, Trevidu, J, Nahar, L, Kong-Thoo-Lin, P, Sarker, S. D., (2006),** Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea Americana*. *Tetrahedron*, 62, 11172-11177.
- ❖ **Shoeb, M, Macmanus, S. M, Kong-Thoo-Lin, P, Celik, S, Jaspars, M., Nahar, L, Sarker, S. D., (2007).** Bioactivity of the extracts and isolation of lignans and a sesquiterpene from the aerial parts of *Centaurea pamphylica* (Asteraceae). *DARU* 15, 118–122.
- ❖ **Skaltsa H , Lazari D, Panagouleas C, Georgiadou E, Garcia B, Sokovic M., (2000).** Sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *Centaurea attica*. Antifungal activity. *Phytochemistry.* 55(8): 534–539, 903-908.
- ❖ **Skerman, V. B. D, V. McGowan, P. H. A. Sneath, and (ed.), (1980).** Approved lists of bacterial.names.*Int.J.Syst.Bacteriol.*30:225–420.
- ❖ **Stackebrandt, E, C. Koch, O. Gvozdiak, and P. Schumann., (1995).** Taxonomic dissection of the genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45:682–692.
- ❖ **Stavric B et Matula T., (1992).** Flavonoids in food.Their significance for nutrition and health.p:274-294.
- ❖ **Stöckigt J, Sheludko Y, Unger M, Gerasimenko I, Warzecha H et Stöckigt D., (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Review Journal of Chromatography A*,967.p85–113.

- ❖ **Surveswaran, S, Cai, Z.Y, Cark, H, Sun, M., (2007).** Systematic evaluation of natural phenolic antioxidant from 133 indian medicinal plants. *Food Chemistry* **102**, 938-953.

T

- ❖ **TanakaT., (1995).** Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west black Sea Regions. *Economic Botany*. **49**: p 406- 422.
- ❖ **Tekeli, Y, Zengin, G, Aktumsek, A, Sezgin, M, Torlak, E., (2011).** Antibacterial activities of extracts from twelve *centaurea* species from Turkey. *Arch. Biol. Sci.* **63**, 685–690.
- ❖ **Trease E et Evans W.C., (1987).** Pharmacognosy Billiaire. Ed. Tindall London. **13**: P 61-62.

U

- ❖ **Ulanowska K, Traczyk A, Konopa G, Wegrzym G., (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.*, **184** (5): 271-8.
- ❖ **Ultee, A, Bennik, M.H.J, Moezelaar, R., (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol **68**, p1561-1568.

V

- ❖ **Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, Garcia-Parilla MC., (2007).** Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* **71**:230–235.
- ❖ **Vivas N, Nonier M.F, Pianet I, Vivas de Gaulejac N, Fouquet E., (2006).** Proanthocyanidins from *Quercus petraea* and *Q. robur* heartwood: quantification and structures. *Comptes rendus chimie*, **9**. P120-126.
- ❖ **Vogler A.E, Siedlecki A.C., (2009).** Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*, **30** : 1857–1869.
- ❖ **Volack J et Stodola J., (1983).** Les plantes médicinales .Ed GRUND, paris.

W

- ❖ **Wagenitz G., (1975).** *Centaurea*. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, volume 5 (ed.by Davis PH) Edinburgh, UK: Edinburgh University Press, 522.
- ❖ **Wagner H et Bladt S., (1984).** Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas EdSpringer,New-York.P320.

Y

- ❖ **Yayli N, Baltaci C, Gok Y, Aydin O., (2004).** Sesquiterpène lactones from *Centaurea helenioides* Boiss . TU`BITAK p : 229- 233.
- ❖ **Yahyaoui N., (2005)** .Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe Spicata L* sur *Rhyzoperlhu dominicu* (F .) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Triboium confusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.
- ❖ **Yang B, Linko A et al., (2006).** Secoisolariciresinol andmatairesinol of seabuckthorn (*HippophaërhamnoidesL.*) berries of differentsubspecies andharvesting times. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **54**(21):8065-8070.
- ❖ **Ybert E., (2001).** Petit Larousse de la médecine. Ed Larousse-Bordas, Paris, 1087p.
- ❖ **Yesilada E, Gurbuz I, Bedir E, Tateli I, Khan I. A., (2004).** Isolation of anti-ulcerogenic sesquiterpenes lactones from *Centaurea solstitialis L. ssp. Solstitialis* through bioassayguided fractionation procedures in rats. Journal of Ethnopharmacology. 95: 213-219.

Z

- ❖ **Zengin G, Cakmak YS, Guler GO, Aktumsek A., (2010).** In vitro antioxidant capacities and fatty acid compositions of three *Centaurea* species collected from Central Anatolia region of Turkey. Food Chem Toxicol; 48: 2638-2641.

Annexes

Annexe I : Matériel de laboratoire.**Tableau I : Le matériel de laboratoire.**

Les verreries	Solvants
- Pipettes	- Éthanol (C ₂ H ₆ O)
- Bécher	- Eau distillée
- Spatule	- Chlorure de fer (FeCl ₃)
- Pipettes pasteur	- Acide chlorhydrique (HCl)
- Micro pipette	- Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)
- Boîtes de pétries	- Hydroxyde d'ammonium (NH ₄ OH)
- Tubes à visse	- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Flacons	- Folin-Ciocalteu
- Erlenmeyer	- Acide gallique
- Entonnoir	
- Papier filtre	
- Papier film	
- Papier d'aluminium	
- Papier Whatmann	
- Eprouvette	
- Eppendorf	

➤ **Réactifs utilisés**

Ce réactif est composé d'un mélange de 1.27 g d'Iode et 2.0 g d'Iodure de potassium dissout dans 75 ml d'eau distillée. Ce mélange est jaugé jusqu'à l'obtention de 100 ml de la solution.

➤ Appareillage :



Autoclave



Bain marie



Balance de précision



PH mètre



Bec benzène



Chambre UV



Plaque chauffante



Agitateur



Etuve



Centrifugeuse

Annexe II : Les zones d'inhibition avec 3 répétitions

Tableau I : Les zones d'inhibition avec 3 répétitions des graines.

Les souches	Test	Zones d'inhibition des graines (mm)				
		SM	T1/2	T1/4	T1/8	Témoin
<i>Micrococcus luteus</i>	Test 1	26,28	24,4133333	21,42	22,93	23,01
	Test 2	23,0333333	24,75	24,046666	20,936666	23,17
	Test 3	25,7533333	24,4766667	22,99	23,836666	23,766666
<i>Salmonella gallinarum</i>	Test 1	23,24	22,27	24,233333	22,27	22,23
	Test2	22,0833333	23,8	24,06	23,8	26,22
	Test3	19,38	25,3466667	23,72	25,346666	22,12
<i>Bacillus cereus</i>	Test 1	25,19	23,9633333	22,66666	21,443333	17,89
	Test2	25,7233333	23,2833333	23,56	24,53333	18,09
	Test3	23,67	23,92	23,31	22,94	19,100001

Tableau II : Les zones d'inhibition avec 3 répétitions des feuilles.

Les souches	Test	Zones d'inhibition des feuilles (mm)				
		SM	T1/2	T1/4	T1/8	Témoin
<i>Micrococcus luteus</i>	Test 1	18,89	20,666666	18,52	21,336666	23,01
	Test 2	16,176666	19,373333		21,553333	23,17
	Test 3	18,89	20,666666		20,33	23,766666
<i>Salmonella gallinarum</i>	Test 1	20,58	20,32	20,386666	18,53	22,23
	Test 2	19,313333	20,616666	22,903333		26,22
	Test 3	17,743333	20,29	22,036666		22,12
<i>Bacillus cereus</i>	Test 1	20,3	22,993333	19,45	26,966666	17,89
	Test 2	19,72	22,53	23,51	25,966666	18,09
	Test 3	19,883333	19,663333	22,633333	26,996667	19,100001

Annexe III : Analyse statistique de la teneur en polyphénols, l'activité antibactérienne, activité anticoagulante, activité antioxydante et le dosage.

ANOVA						
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Activité Anticoagulante 100%	Inter-groupes	487,802	1	487,802	107,279	,000
	Intragroupes	18,188	4	4,547		
	Total	505,990	5			
Activité Anticoagulante 50%	Inter-groupes	584,501	1	584,501	82,159	,001
	Intragroupes	28,457	4	7,114		
	Total	612,959	5			
Activité Anticoagulante 25%	Inter-groupes	5,134	1	5,134	1,604	,274
	Intragroupes	12,800	4	3,200		
	Total	17,934	5			
Activité Anticoagulante Témoin	Inter-groupes	,000	1	,000		
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,000	5			

ANOVA						
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Activité Antioxydante temps 30min C=0.1ml	Inter-groupes	,004	1	,004	825,806	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,004	5			

Activité Antioxydante temps 30min C=0.2ml	Inter- groupes	,005	1	,005	407,042	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,005	5			
Activité Antioxydante temps 30min C=0.3ml	Inter- groupes	,024	1	,024	2198,21 5	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,024	5			
Activité Antioxydante temps 30min C=0.4ml	Inter- groupes	,026	1	,026	3528,09 1	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,026	5			
Activité Antioxydante temps 30min C=0.5ml	Inter- groupes	,019	1	,019	2907,02 5	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,019	5			
Activité Antioxydante temps 30min C=0.6ml	Inter- groupes	,019	1	,019	2298,42 0	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,019	5			

ANOVA						
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Antibacterienne <i>M.luteus</i> SM	Inter-groupes	74,272	1	74,272	27,056	,007
	Intragroupes	10,980	4	2,745		
	Total	85,252	5			
Antibacterienne <i>M.luteus</i> 1/2	Inter-groupes	27,879	1	27,879	94,571	,001
	Intragroupes	1,179	4	,295		
	Total	29,058	5			
Antibacterienne <i>M.luteus</i> 1/4	Inter-groupes	13,860	1	13,860	7,935	,106
	Intragroupes	3,494	2	1,747		
	Total	17,354	3			
Antibacterienne <i>M.luteus</i> 1/8	Inter-groupes	3,350	1	3,350	2,550	,186
	Intragroupes	5,254	4	1,314		
	Total	8,604	5			
Antibacterienne <i>M.luteus</i> T	Inter-groupes	,000	1	,000	,000	1,000
	Intragroupes	,636	4	,159		
	Total	,636	5			
Antibacterienne <i>S.gallinarum</i> SM	Inter-groupes	8,323	1	8,323	2,801	,170
	Intragroupes	11,887	4	2,972		
	Total	20,210	5			
Antibacterienne <i>S.gallinarum</i> 1/2	Inter-groupes	17,306	1	17,306	14,427	,019
	Intragroupes	4,798	4	1,200		
	Total	22,104	5			

Antibacterienne <i>S.gallinarum</i> 1/4	Inter- groupes	7,452	1	7,452	8,753	,042
	Intragroupe s	3,405	4	,851		
	Total	10,857	5			
Antibacterienne <i>S.gallinarum</i> 1/8	Inter- groupes	20,874	1	20,874	8,820	,097
	Intragroupe s	4,733	2	2,366		
	Total	25,607	3			
Antibacterienne <i>S.gallinarum</i> T	Inter- groupes	,000	1	,000	,000	1,000
	Intragroupe s	21,828	4	5,457		
	Total	21,828	5			
Antibacterienne <i>B.cereus</i> SM	Inter- groupes	35,917	1	35,917	58,658	,002
	Intragroupe s	2,449	4	,612		
	Total	38,366	5			
Antibacterienne <i>B.cereus</i> 1/2	Inter- groupes	5,960	1	5,960	3,507	,134
	Intragroupe s	6,797	4	1,699		
	Total	12,757	5			
Antibacterienne <i>B.cereus</i> 1/4	Inter- groupes	2,592	1	2,592	1,085	,356
	Intragroupe s	9,553	4	2,388		
	Total	12,145	5			
Antibacterienne <i>B.cereus</i> 1/8	Inter- groupes	20,216	1	20,216	14,802	,018
	Intragroupe s	5,463	4	1,366		
	Total	25,678	5			
Antibacterienne <i>B.cereus</i>. T	Inter- groupes	,000	1	,000	,000	1,000
	Intragroupe s	1,683	4	,421		
	Total	1,683	5			

ANOVA						
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Teneur en Tanins	Inter-groupes	,342	1	,342	107927,579	,000
	Intragroupes	,000	4	,000		
	Total	,342	5			

ANOVA						
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Teneur en Flavonoïdes	Inter-groupes	,253	1	,253	408,233	,000
	Intragroupes	,002	4	,001		
	Total	,255	5			

ANOVA						
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Teneur en phénols Totaux	Inter-groupes	1,840	1	1,840	18,948	,012
	Intragroupes	,389	4	,097		
	Total	2,229	5			

Annexes IV: Corrélations entre les paramètres quantitatifs.

Corrélations		A.A.100	A.A.50	A..A.25	A.A.T
A.Antibac. <i>M.luteus</i> .SM	Corrélation de Pearson	-,914*	,885*	0,674	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,011	0,019	0,142	
	N	6	6	6	6

A.Antibac <i>M.luteus</i>.1.2	Corrélation de Pearson	-,938**	,948**	0,535	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,006	0,004	0,274	
	N	6	6	6	6
A.Antibac. <i>M.luteus</i>.1.4	Corrélation de Pearson	-0,860	0,910	-0,054	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,140	0,090	0,946	
	N	4	4	4	4
A.Antibac. <i>M.luteus</i>.1.8	Corrélation de Pearson	-0,741	0,626	0,400	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,092	0,184	0,432	
	N	6	6	6	6
A.Antibac. <i>M.luteus</i>.T	Corrélation de Pearson	0,012	-0,061	-0,358	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,982	0,909	0,486	
	N	6	6	6	6
A.Antibac. <i>S.gallinarum</i>.SM	Corrélation de Pearson	-0,612	0,661	0,723	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,196	0,153	0,104	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>S.gallinarum</i>.1.2	Corrélation de Pearson	-,914*	,882*	0,127	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,011	0,020	0,811	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>S.gallinarum</i>.1.4	Corrélation de Pearson	-0,808	,862*	0,444	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,052	0,027	0,378	
	N	6	6	6	6

A.Antibac <i>S.gallinarum</i> .1.8	Corrélation de Pearson	-0,941	0,900	-0,027	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,059	0,100	0,973	
	N	4	4	4	4
A.Antibac <i>S.gallinarum</i> .T	Corrélation de Pearson	-0,004	0,115	-0,387	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,994	0,829	0,448	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>B.cereus</i>.SM	Corrélation de Pearson	-,918**	,961**	0,587	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,010	0,002	0,221	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>B.cereus</i>.1.2	Corrélation de Pearson	-0,779	0,728	0,376	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,068	0,101	0,463	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>B.cereus</i>.1.4	Corrélation de Pearson	-0,444	0,513	0,002	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,377	0,298	0,996	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>B.cereus</i>.1.8	Corrélation de Pearson	,906*	-,887*	-0,744	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,013	0,019	0,090	
	N	6	6	6	6
A.Antibac <i>B.cereus</i>.T	Corrélation de Pearson	0,012	-0,065	-0,332	.^b
	Sig. (bilatérale)	0,982	0,902	0,521	
	N	6	6	6	6

Corrélations		Variétés	A.Acoag100	A.Acoag50	A.Acoag25	A.AcoagT
T.Tan.c	Corrélation de Pearson	1,000**	,982**	-,991**	-0,532	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,000	0,000	0,277	
	N	6	6	6	6	6
T.Flav	Corrélation de Pearson	,995**	,972**	-,990**	-0,591	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,001	0,000	0,216	
	N	6	6	6	6	6
T.phén	Corrélation de Pearson	-,909*	-,943**	,889*	0,294	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,012	0,005	0,018	0,571	
	N	6	6	6	6	6
T.polyphén	Corrélation de Pearson	,878*	0,773	-,839*	-0,534	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,021	0,072	0,037	0,275	
	N	6	6	6	6	6

Corrélations		Variétés	A.Acoag100	A.Acoag50	A.Acoag25	A.AcoagT
A.A.oxy.t 30.C0.1ml	Corrélation de Pearson	,999**	,975**	-,990**	-0,556	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,001	0,000	0,252	
	N	6	6	6	6	6

A.A.oxy.t 30.C0.2ml	Corrélation de Pearson	,999**	,974**	-,988**	-0,535	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,001	0,000	0,275	
	N	6	6	6	6	6
A.A.oxy.t 30.C0.3ml	Corrélation de Pearson	,999**	,985**	-,992**	-0,509	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,000	0,000	0,302	
	N	6	6	6	6	6
A.A.oxy.t 30.C0.4ml	Corrélation de Pearson	,999**	,977**	-,990**	-0,565	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,001	0,000	0,243	
	N	6	6	6	6	6
A.A.oxy.t 30.C0.5ml	Corrélation de Pearson	,995**	,960**	-,977**	-0,544	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,002	0,001	0,265	
	N	6	6	6	6	6
A.A.oxy.t 30.C0.6ml	Corrélation de Pearson	,998**	,985**	-,991**	-0,525	. ^b
	Sig. (bilatérale)	0,000	0,000	0,000	0,285	
	N	6	6	6	6	6

Corrélations		A.Antibac <i>B.cereus</i> .S m	A.Antibac <i>B.cereus</i> .1. 2	A.Antibac <i>B.cereus</i> .1.4	A.Antibac <i>B.cereus</i> .1.8
T.Tanc	Corrélation de Pearson	-,933**	-,979**	-0,894	-0,627
	Sig. (bilatérale)	0,007	0,001	0,106	0,183
	N	6	6	4	6

T.Flav	Corrélation de Pearson	-,928**	-,965**	-0,850	-0,617
	Sig. (bilatérale)	0,008	0,002	0,150	0,192
	N	6	6	4	6
T.phén	Corrélation de Pearson	,892*	,896*	0,780	0,774
	Sig. (bilatérale)	0,017	0,016	0,220	0,071
	N	6	6	4	6
T.polyphén	Corrélation de Pearson	-,820*	-,930**	-0,871	-0,212
	Sig. (bilatérale)	0,046	0,007	0,129	0,687
	N	6	6	4	6

Corrélation		Moy.T. Sep	Moy. T.Oct	Moy. T.Nov	Moy. T.Dec	M.T .Max. Sep	M.T .Max. Oct	M.T .Max. Nov	M.T .Max. Dec	M.T .Min. Sep	M.T .Min. Oct	M.T. Min. Nov	M.T. Min. Dec
A.bac.S. gal.SM	Corrélation de Pearson	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475	-	0,475	-	0,475	0,475	0,475
	Sig. (bilatérale)	0,341	0,341	0,341	0,341	0,341	0,341	0,101	0,341	0,341	0,341	0,341	0,341
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.bac.S. gal.1.2	Corrélation de Pearson	-0,130	-0,130	-0,130	-0,130	-	-	0,281	-	0,130	-	-0,130	-0,130
	Sig. (bilatérale)	0,806	0,806	0,806	0,806	0,806	0,806	0,590	0,806	0,806	0,806	0,806	0,806
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.bac.S. gal.1.4	Corrélation de Pearson	0,183	0,183	0,183	0,183	0,183	0,183	0,030	0,183	-	0,183	0,183	0,183
	Sig. (bilatérale)	0,728	0,728	0,728	0,728	0,728	0,728	0,954	0,728	0,728	0,728	0,728	0,728
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

A.bac. S.gal.1. 8	Corrélation de Pearson	-0,216	-0,216	-0,216	-0,216	-0,216	-0,216	0,709	-0,216	0,216	-0,216	-0,216	-0,216
	Sig. (bilatérale)	0,784	0,784	0,784	0,784	0,784	0,784	0,291	0,784	0,784	0,784	0,784	0,784
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
A.bac. Témo n	Corrélation de Pearson	,878*	,878*	,878*	,878*	,878*	,878*	-0,430	,878*	-0,878*	,878*	,878*	,878*
	Sig. (bilatérale)	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,395	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Corrélation		Moy. T. Sep	Moy. T. Oct	Moy. T. Nov	Moy. T. Dec	M.T. Max. Sep	M.T. Max. Oct	M.T. Max. Nov	M.T. Max. Dec	M.T. Min. Sep	M.T. Min. Oct	M.T. Min. Nov	M.T. Min. Dec
D.Tan	Corrélation de Pearson	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	-0,004	0,003	-0,003	0,003	0,003	0,003
	Sig. (bilatérale)	0,996	0,996	0,996	0,996	0,996	0,996	0,994	0,996	0,996	0,996	0,996	0,996
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
D.Flav	Corrélation de Pearson	-0,029	-0,029	-0,029	-0,029	-0,029	-0,029	0,005	-0,029	0,029	-0,029	-0,029	-0,029
	Sig. (bilatérale)	0,957	0,957	0,957	0,957	0,957	0,957	0,948	0,957	0,957	0,957	0,957	0,957
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
D.phé n.Tt	Corrélation de Pearson	-0,235	-0,235	-0,235	-0,235	-0,235	-0,235	0,242	-0,235	0,235	-0,235	-0,235	-0,235
	Sig. (bilatérale)	0,654	0,654	0,654	0,654	0,654	0,654	0,644	0,654	0,654	0,654	0,654	0,654
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
T.poly ph	Corrélation de Pearson	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	Sig. (bilatérale)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

A.A.O X.C0.1	Corrélation de Pearson	-0,006	-0,006	-0,006	-0,006	-0,006	-0,006	0,005	-0,006	0,006	-0,006	-0,006	-0,006
	Sig. (bilatérale)	0,991	0,991	0,991	0,991	0,991	0,991	0,992	0,991	0,991	0,991	0,991	0,991
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.A.O X.C0.2	Corrélation de Pearson	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	0,003	-0,003	-0,003	-0,003
	Sig. (bilatérale)	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995	0,999	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.A.O X.C0.3	Corrélation de Pearson	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	Sig. (bilatérale)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,981	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.A.O X.C0.4	Corrélation de Pearson	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	-0,003	0,010	-0,003	0,003	-0,003	-0,003	-0,003
	Sig. (bilatérale)	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995	0,985	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.A.O X.C0.5	Corrélation de Pearson	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	-0,010	0,022	-0,022	0,022	0,022	0,022
	Sig. (bilatérale)	0,968	0,968	0,968	0,968	0,968	0,968	0,985	0,968	0,968	0,968	0,968	0,968
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
A.A.O X.C0.6	Corrélation de Pearson	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	-0,033	0,015	-0,015	0,015	0,015	0,015
	Sig. (bilatérale)	0,977	0,977	0,977	0,977	0,977	0,977	0,950	0,977	0,977	0,977	0,977	0,977
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

* : Corrélacion significativa ; ** : Corrélacion hautement significativa; b : Calcul impossible.

Thème : Activité biologiques de *Centaurea macrocephala* L.**Résumé**

Notre étude est basée sur l'évaluation des activités biologiques de la plante *Centaurea macrocephala* L. prélevée de la région de Mechtat Seraghna Wilaya de Mila (Algérie). Ce travail consiste à étudier l'activité antibactérienne, anticoagulante et antioxydante des extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* L. obtenus par une macération dans l'éthanol/eau. Le rendement de l'extraction a montré les valeurs de 31% et 25% respectivement pour les feuilles et les graines.

L'étude des dosages des composés phénoliques (phénols, flavonoïdes totaux et tanins condensés) a montré une richesse en phénols totaux des graines et feuilles respectivement avec les valeurs de 316,25 µg/mg et 786,6 µg/mg par rapport au flavonoïdes et tanins.

L'étude réalisée par un screening phytochimique a montré la présence de toutes les familles de métabolites secondaires testé sauf les alcaloïdes, saponines, anthraquinones et les composés réducteurs.

Le pouvoir antibactérien des extraits testé sur les trois souches bactériennes (*B.cereus*, *S.gallinarum* et *M.luteus*), a montré une forte activité contre *B.cereus*, la zone la plus important (8.28mm dans les feuilles et 6.5 pour les graines) et une activité antibactérienne moins importante contre *S.gallinarum* et *M.luteus*.

Les résultats obtenus pour l'activité anticoagulante indiquent une activité très importante des deux extraits sur la voie exogène de la coagulation (TQ de 47,26s chez les feuilles et 29,23s pour les graines). Le pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques qui a été calculé par la moyenne concentration inhibitrice a montré un pouvoir important $EC_{50}=0,08$ g/ml pour les feuilles et 0,57 g/ml pour les graines par rapport au BHA.

Mots clés: *Centaurea macrocephala* L., Composés phénoliques, Métabolites secondaires, Antibactérienne, Anticoagulante, Antioxydante.

Devant le jury

Président : Mr YAHIA Abdelouahab Professeur Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila

Examineur : Mr SAHLI Mohammed MCB Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila

Promoteur : M^{me} HIMOUR Sara MCB Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila