

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

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 Végétale

Thème :

Activité biologique de *Centaurea macrocephala* .L

Présenté par : - BENDILMI Abde laziz

- BOUSSOUAR Mohammed

Devant le jury composé de :

- Président : Mr YAHIA Abdelouhab

Grade : Professeur

- Examineur : Mr BOUBENDIR Abdelhafid

Grade : Maitre conférence A

- Promoteur : Dr HIMOUR Sara

Grade : Maitre conférence B

Année universitaire : 2017/2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

*Nous remercions les membres du jury : Mr **YAHIA Abd Elouahab** Qui nous fait l'honneur d'être le président de ce jury*

*Nous exprime nos profonds remerciements et notre gratitude à Mr **BOUBENDIR Abdelhafid**, pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*Nous voudrions remercier notre promotrice Mme **HIMOUR Sara**, pour la disponibilité, le soutien total dont elle a fait preuve à notre égard tout au long de notre travail d'étude. Nous la remercions spécialement d'avoir relu attentivement et commenté notre mémoire en nous prodiguant des conseils avisés.*

Nous remercions également tous nos enseignants, nos collègues, les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie et es techniciens des laboratoires de centre universitaire de Mila.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail.

*A mes très chères parents : **Sabah et Younes** pour leurs encouragements, leur soutien et leur patience durant toute ma période d'étude.*

*A chère **Margot** pour leur soutien morale et physique pendant cette travail*

*A mes grands-parents **Massouada et Massaoud***

*A mes chères frère : **Seif, Moussaab, Houd***

*A mes chères sœurs : **Samia, Aicha, Yasmine, Safia, Sarra Chahra, Ikram, Nedjma.***

*A mes très chers amis : **Islam, Soufiane, Oussama, Abdelhamid, Abd elmoumen, Yacine, Soheib, Ibrahim, Mohammed, Youcef, Ammar, Nacer.***

*A mes chères tantes : **Nadia et Ouahiba***

*A mes chère cousins et cousines : **Loukmane, Ibrahim, Asma, Haitem***

A ma chère équipe de travail hors université :

Yazid, Madjid, Hanane, Lamia, Nour Eddine, Zaki

A mes entraîneurs et athlètes d'équipe de Taekwondo

A tous mes collègues de promotion de Master biotechnologies et amélioration des plantes.

Dédicace

Dédicace

Tout d'abord, louange à « ALLAH »
Qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du
travail et qui m'a inspiré

Les bons pas et les justes réflexes, sans sa
miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

A ma très chère mère : Salima

A mon très cher père : Abd elouahab

A mes frères : Khaled, Farah et Khadîdja

A ma famille

A mes professeurs

A mes amis

A mes collègues

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Synthèses bibliographique

Chapitre I : *Centaurea*

I- <i>Centaurea</i>	04
I.1 Historique de <i>Centaurea</i>	04
I.2 Description botanique de genre <i>Centaurea</i>	04
I.2.1 Famille des Asteraceae	04
I.2.2 Genre <i>Centaurea</i>	05
I.2.3 caractères morphologiques du genre <i>Centaurea</i>	05
I.2.4 Distribution du genre <i>Centaurea</i>	05
I.3 Présentation d'espèce <i>Centaurea macrocephala</i>	05
I.3.1 Description de l'espèce	05
I.3.2 systématique de l'espèce	06
I.3.3 propagation	06
I.3.4 Utilisations de la plante	07
I.3.5 Ravageurs et maladies	07
I.3.6 Utilisation en médecine traditionnelle	07

Chapitre II : Métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires	09
II.1 Définition des métabolites secondaires	09
II.2 Alcaloïdes	09
II.2.1 Définition des alcaloïdes	09
II.2.2. Classification et distribution des alcaloïdes	09
II.3 Composés phénoliques	10
II.3.1 Définition des composés phénoliques	10
II.3.2 Les flavonoïdes	10

II.3.2.1 Structure chimique et classification	11
II.4 Coumarines	13
II.5 Terpènes	14
II.5.1 Classification des terpènes	14
II.6 Lignines	14
II.7 Huiles Essentielles (HEs)	15
II.7.1 Définition des huiles Essentielles	15
II.7.2 Caractères chimiques des HEs	15
II.7.3 Utilisation des HEs	16
II.7.3.1 En pharmacie	16
II.7.3.2 Dans l'industrie	16

Chapitre III : Activités biologiques

III.1 Activités biologiques de genre <i>Centaurea</i> (antioxydante et anticoagulante)	18
III.2 Coagulation	19
III.2 Hémostase	19
III.2.1 Hémostase primaire	19
III.2.2 Hémostase secondaire (coagulation plasmatique)	19
III.2.2.1 Définition de la coagulation	19
III.2.2.2 Facteurs de la coagulation	20
III.2.2.3 Voies de la coagulation	21
III.2.2.4 Pathologie de la coagulation (thrombose)	22
III.2.2.5 Types des thromboses	22
III.2.2.5.1 Thrombose veineuse	22
III.2.2.5.2 Thrombose artérielle	22
III.2.2.6 Traitement des thromboses	23
III.2.2.6.1 Anticoagulants	23
III.2.2.6.2 Antivitamines K (AVK)	23
III.2.2.6.3 Contention élastique	24
III.2.3 Fibrinolyse	24
III.3 Activité antioxydante	24
III.3.1 Radicaux libres	24
III.3.1.1 Définition	24
III.3.1.2 Sources des radicaux libres	25
III.3.1.2.1 Radicaux libres de source exogène (RLO)	25
III.3.1.2.2 Radicaux libres de source endogène	25

III.3.2 Antioxydants.....	26
III.3.2.1 Définition.....	26
III.3.2.2 Sources des antioxydants.....	26
III.3.2.2.1 Antioxydants enzymatiques.....	26
III.3.2.2.2 Antioxydants synthétiques.....	27
III.3.3 Stress oxydatif	28
III.3.3.1 Définition.....	28
III.3.3.2 Stress oxydatif et maladies associées	28

Partie II : Etudes expérimentales

Chapitre I : Matériel et méthodes

I – Etude expérimentale	30
I .1 Situation géographique des zones de prélèvement	30
II .1 Matériel végétal.....	30
III Méthodes.....	31
III.1 Etude phytochimique.....	31
III.1.1 Préparation des échantillons (graines et feuilles)	31
III.1.2 Extraction des polyphénols.....	31
III.1.3 Screening phytochimique	32
III.1.4 Dosage de la concentration en phénols totaux.....	35
III.2 Activité antioxydante des extraits de <i>Centaurea macrocephala</i>	36
a) Préparation de la solution DPPH.....	36
b) Solution d'extrait.....	36
c) Essai au DPPH.....	36
d) Expression des résultats	37
III.3 Activité anticoagulante des extraits de <i>Centaurea macrocephala</i>	38
III.3.1 Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène.....	38
III.3.1.1 Prélèvements sanguins.....	38
III.3.1.2 Préparation du plasma déplaqueté	38
III.3.1.3 Préparation des dilutions de l'extrait de <i>Centaurea macrocephala</i>	38
III.3.1.4 Test de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène	39
III.3.1.4.1 Principe	39
III.3.1.4.2 Mode opératoire.....	39

Chapitre II : Résultats et discussion

I- Etudes biochimique et biologique	43
1- Teneur en matière extraite	43
2- Screening phytochimique	43
2-1 Polyphénols	44
2-2 Flavonoïdes	44
2 -3 Alcaloïdes.....	45
2-4 Anthocyanes	46
2 -5 Triterpènes et stéroïdes.....	46
2 -6 Tanins	47
2 -7 Coumarines.....	48
2-8 Quinones libres.....	48
2 -9 Glucosides	49
2-10 Anthraquinones	49
2-11 Saponines	50
3- Teneur en phénols totaux.....	51
4 – Discussion	53
II- Activités biologiques.....	54
II-1 Activité antioxydante des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> ...	54
Discussion.....	57
II-2 Activité anticoagulante des graines et feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> ...	58
Discussion.....	59
Conclusion.....	61
Références bibliographiques.....	64
Annexes	

I- Liste des abréviations

Liste des abréviations

AMIRA.A : Amira Arrès.

Abs : Absorbance.

ANOVA : Analyse De Variance.

HEs : Huiles Essentielles

C : Carbone.

°C : Celsius.

DPPH : 1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EC50 : Concentration équivalente à 50% de DPPH perdu.

R : Racine de carbone

FeCl₃ : Chlorure de fer.

h : Heure.

g : Gramme.

Km : Kilo mètre.

min : Minute

mg : Milli gramme.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

MS : métabolisme secondaire.

Liste des abréviations

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

nm : nanomètre.

pH : Potentiel hydrique.

s : Second.

SD : Standard déviation.

TP : Taux de prothrombine.

TQ : Temps de Quick.

UV : Ultra-violet.

μl : Microlitre.

μm : Micromètre

V : volume.

Rpm : rotations par minute

II- Liste des figures

Liste des figures

Figure N°	Titre	page
01	<i>Centaurea macrocephala</i>	6
02	Squelette de base des flavonoïdes	11
03	Structures des différentes classes de flavonoïdes	12
04	Structure de base de Coumarine	13
05	Structures chimiques de lignine	15
06	Structure de l'isoprène	16
07	Schéma simplifié de la coagulation plasmatique	21
08	Formation d'une phlébite au niveau des veines de jambe	22
09	Formation d'une athérombose au niveau des artères	23
10	Schéma des défenses antioxydants enzymatiques	27
11	Localisation du site de prélèvement	29
12	Protocole d'extraction des polyphénols	31
13	Etapes de la préparation de l'activité antioxydante	36
14	Centrifugation du sang pour obtenir un plasma déplaqué	37
15	Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante	40
16	Teneur en polyphénol chez la plante <i>Centaurea macrocephala</i>	42
17	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	51
18	Teneur en phénols totaux dans les deux organes de la plante étudiée	51
19	Pourcentages d'activité antioxydante en fonction des différentes concentrations des extraits des feuilles et fruits de <i>Centaurea macrocephala</i> dans les temps 30 min et 45 min.	54
20	Pourcentages d'activité antioxydante en fonction des différentes concentrations des extraits des feuilles et fruits de <i>Centaurea macrocephala</i> dans le temps 45 min	54
21	EC50 marqué des deux organes dans les temps 30 min et 45 min	56
22	Effet des extraits polyphénoliques des feuilles et fruits sur le TQ	58

III- Liste des photos

Liste des photos

Photos N°	Titre	page
01	Matériel végétal de <i>Centaurea macrocephala</i>	30
02	Dosage des phénols totaux	34
03	Incubation de thromboplastine dans le bain marie	39
04	Arrêt de chronomètre simultanément avec la formation du caillot	39
05	Résultats de test des polyphénols	43
06	Résultats de test des flavonoïdes	44
07	Résultats de test des alcaloïdes	44
08	Résultats de test des anthocyanes	45
09	Résultats de test des triterpènes et stéroïdes	46
10	Résultats de test des tanins	46
11	Résultats de test des quinones libres	47
12	Résultats de test des glucosides	48
13	Résultats de test des anthraquinones	49
14	Résultats de test des saponines	49

IIII- Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableaux N°	Titre	page
I	Quelques exemples de coumarines	13
II	Facteurs de la coagulation plasmatique	20
III	Différents concentrations utilisées.	35
IV	Teneur de la matière extraite dans les organes graines fruits	42
V	Résultats des tests phytochimique sur les extraits des graines et des feuilles de <i>Centaurea macrocephala</i> .	50
VI	Teneur en phénols totaux d'extrait des feuilles	51
VII	EC50 d'activité antioxydants dans le temps 30 et 45 min	55
VIII	Résultats obtenus pour l'activité anticoagulante	57

Introduction

Introduction

La centaurée à grosse tête (*Centaurea macrocephala*) est une espèce de plantes du genre *Centaurea*, famille des *Asteraceae* (ou Composées). Elle est indigène en Arménie et dans le Caucase.

Le genre *Centaurea* est l'un des genres les plus répandus dans le monde, il compte environ 700 espèces **(Quezel et Santa, 1963)**. En Algérie, il est représenté par 45 espèces dont 7 localisées au sud **(Harborne et Williams, 2000)**.

Les plantes produisent une grande gamme impressionnante de diverses substances chimique. La plupart de ces produits sont basés sur le carbone, ils sont connus sous le nom de métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires sont communs pour toutes les espèces et peuvent être subdivisé aux : protéines, lipides et acides nucléiques, les métabolites secondaires peuvent être subdivisés aux : composés phénoliques, saponines, alcaloïdes et composés azotés, composés terpéniques.

Cette classification est basée sur les moyens par lesquels sont synthétisé, les métabolites secondaires peuvent être communs ou spécifiques à une espèce donc les espèces qui ont le même modèle de production de métabolites secondaires peuvent être classés par leur métabolites c'est la taxonomie **(Loiseleur, 1973)**.

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* qui les rendent bénéfiques à la santé humaine tels que l'effet antithrombotique, antiagrégant plaquettaire, anti-inflammatoire, vasodilatateur et donc hypotensif **(Boskou, 2009)**. les polyphénols favoriseraient la santé cardiovasculaire en maintenant l'intégrité des tissus vasculaires (veines, artères) ils ont aussi un effet anti inflammatoire, anti cancérigène, antiviral, antibactérien et antioxydant **(Gomez-Caravaca et al., 2006)**. On reconnait leur pouvoir antioxydant protégeant le système biologique contre les effets délétères **(Shimizu, 2004)**.

Le genre *Centaurea* présente une grande diversité structurale dans les principaux composés bioactifs, y compris les triterpènes, les composés phénoliques notamment les flavonoïdes, les lignanes et les lactones sesquiterpéniques **(Seghiri et al., 2009)**. Les études chimiques des espèces de ce genre ont montré également leur richesse en stéroïdes **(Negrete et al., 1989)**.

Ces derniers sont largement présents dans le règne végétal et représentent une catégorie douée de propriétés biologiques multiples.

L'objectif de notre travail est le criblage phytochimique de *Centaurea macrocephala*, puis l'évaluation de deux activités biologiques de la plante étudiée :

- Activité antioxydante.
- Activité anticoagulante.

Ce travail est divisé en deux (02) parties :

La première relative à la synthèse bibliographique, elle est subdivisée en trois chapitres :

- Généralités sur la plante *Centaurea macrocephala*
- Métabolites secondaires de la plante
- Activité antioxydante et anticoagulante de la plante.

La deuxième partie elle est réservée à l'étude expérimentale. Cette dernière elle est subdivisée en deux chapitres :

- Matériel et méthodes.
- Résultats et discussion.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Centaurea

I *Centaurea* :

I.1 Historique de *Centaurea*

Selon la mythologie, en XIV^{ème} siècle *Centoire* encore au XVII^{ème} siècle. Emprunté du latin *Centaurea*, « plante du centaure », ainsi nommée parce que 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 Discordide, 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 Description botanique de genre *Centaurea* :

Dans cette partie nous allons présenter les informations, nécessaires sur la famille des Asteraceae ainsi que sur le genre *Centaurea* et l'espèce *Centaurea macrocephala*.

I.2.1 Famille des Asteraceae

Le nom Asteraceae est dérive de mot grec « Aster » qui signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur, la famille Astéracées ou Composées représentent la plus importante famille de la division des spermatophytes. Elle comprend près de 25000 espèces connues, groupées en 1500 genres repartis en 17 tribus répandues à travers le monde (**Crete, 1965 ; Guignard, 1994**).

Les Astéracées sont caractérisées par des fleurs formant des inflorescences très denses, avec des anthères adhérentes les unes aux autres. En Algérie, elle est représentée par 45 espèces (**Quezel, 1963**).

I.2.2 Genre *Centaurea*

Appartenant à la famille des astéracées, le genre *Centaurea* 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, le genre *Centaurea* est très présent avec 45 espèces qui sont décrites à travers le territoire (**Quezel et Santa, 1963**).

I.2.3 Caractères morphologiques du genre *Centaurea*

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, entourées d'un involucre ovoïde ou globuleux à bractées imbriquées sur plusieurs rangs (**Quezel et Santa, 1963**).

I.2.4 Distribution du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* objet de notre étude comprend plus de 500 espèces dans le monde la plus part des *Centaurées* croissent autour du bassin méditerranée (**Gousiadou et Skaltsa, 2003**). Ce genre est répandu aussi bien sur le territoire national qu'en Europe méridional, l'ouest de l'Asie et le continent Américain (**Mabberley, 1987 ; Gousiadou et Skaltsa, 2003**).

En Algérie, le genre *Centaurea* est représenté par 45 espèces endémiques (**Quezel et Santa, 1963**) dont 7 d'entre eux sont localisés au Sahara (**Ozenda, 2004**).

I.3 Présentation d'espèce *Centaurea macrocephala* :

I.3.1 Description de l'espèce

Centaurea est un mot Grecque qui signifie demi - homme et demi cheval, *macro* signifiant grand et *céphalus* signifiant des têtes de palier. Cette espèce vivace, à des tiges robustes, feuillées, de 1 m de hauteur, portent de capitules jaunes, d'environ 5 cm de diamètre sur une base de bractées brillantes brunes, en forme de massue (**Hellwig, 2004**) (**figure 1**).



Figure 1 : *Centaurea macrocephala* (anonyme 1, 2017).

I.3.2 Systématique de l'espèce :

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

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta (Angiospermes)

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Sous-famille : Carduoideae

Tribu : Cardueae (Cynareae)

Sous-tribu : Centaureinae

Genre : *Centaurea*

Espèce : *macrocephala*

I.3.3 Propagation

Les Centaurées sont des plantes à résine ou à essence sans latex, ils se multiplient par touffes ou par semis, généralement au printemps. Elles se rencontrent sur différents types d'habitats tels que, les déserts et les semi-déserts, les pentes raides, les hautes montagnes, les terres arables, les zones à inondations périodiques, les zones sèches et partiellement exposées au soleil (Hellwig, 2004).

I.3.4 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.3.5 Ravageurs et maladies

- Les pourritures des tiges sont causées par *Phytophthora cactorum*, *Sclerotinia sclerotiorum* et *Pellicularia filimentosa*.
- Le flétrissement qu'il est causé par *Fusarium* spp.
- Les acariens sont un problème majeur dans les étés chauds.
- Les maladies fongique des feuilles et fleurs, telles que le botrytis, sont aggravées si l'irrigation par aspersion est utilisée (Hellwig, 2004).

I.2.6 Utilisation en médecine traditionnelle

Dans la littérature, plusieurs espèces du genre *Centaurea* sont référenciées pour leur large utilisation en médecine traditionnelle (Kamanzi et al., 1983 ; Yesilada, 2002).

Parmi les propriétés thérapeutiques reconnues chez les espèces de ce genre nous pouvons citer :

- Soigner certaines maladies comme le diabète, les rhumatismes, la malaria, l'hypertension... (Mohammad et al., 2005).
- Des pouvoirs diurétiques, antipyrétiques, cytotoxiques et antibactériens (Kose et al., 2007).
- Un pouvoir antidiabétique et anti-diarrhéique (Mohammad, 2005 ; Kose et al., 2007).
- Un pouvoir antirhumatismal (Kose et al., 2007).
- Effet hypoglycémiant et activité antipyrétique (Masso et al., 1979).

Dans la médecine traditionnelle turque, des variétés d'espèces du genre *Centaurea* sont utilisées pour soulager la douleur et l'inflammation, les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde, la fièvre et les maux de tête (Esra et al., 2009)

*Chapitre II : Métabolites
secondaires*

II. Métabolites secondaires :**II.1 Définition des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des groupes de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme les agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd et al., 2002).

II.2 Alcaloïdes :**II.2.1 Définition des alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotées et à caractère alcalin. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), ils représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. Ils ont joués un rôle important dans la découverte des médicaments (morphines, quinine cocaïne, atropine...) et dans le développement de l'industrie pharmaceutique (Omulokoli et al., 1997).

Selon Sarker, (2006) la présence des alcaloïdes chez certaines centaurees (*Centaurea Moschata*).

II.2.2. Classification et distribution des alcaloïdes

Depuis leur découverte et jusqu'à maintenant plus de 10.000 alcaloïdes ont été isolés ou détectés chez les plantes, les champignons et même les animaux, pour cela et à cause de la grande diversité de ce groupe de métabolites, leur classification est basée sur plusieurs critères : l'origine biologique, la voie de biosynthèse, la structure et les propriétés spectroscopiques/spectrométriques (chromophores dans la spectroscopie UV) (Hesse, 2002).

- Les alcaloïdes ne sont pas tous dérivés des acides aminés, quatre groupes sont reconnus :
- **Alcaloïdes dérivés des acides aminés** : comme l'ornithine/arginine, lysine, histidine, phénylalanine/tyrosine, tryptophane, l'acide anthranilique ou nicotinique.
 - **Alcaloïdes purines** : comme la xanthine caféine.
 - **Terpènes aminés** : diterpène aconitine ou triterpène solanine.
 - **Alcaloïdes poly-cétoniques où l'azote est inclus dans le squelette poly-cétonique** : comme la coniine et la coccinelline. (Hesse, 2002).

II.3 Composés phénoliques :**II.3.1 Définition des composés phénoliques**

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols, excluant ainsi les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. La désignation générale « composés phénoliques » concerne donc à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Fleuriet et al., 2005**).

II.3.2 Flavonoïdes

Le nom flavonoïde est dérivé du mot « Flavus » en latin, qui signifie jaune (**Bruneton, 1993**). L'appellation « flavonoïdes » rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié : plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés (**Harborne 1989 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxyles, méthoxyles, méthyles, benzyles, isoprényles et autres (**Kueny-Stotz et al., 2008**).

Selon **Ismail et al., (1986)**, les flavonoïdes sont parmi les constituants majoritaires des centaures.

II.3.2.1 Structure chimique et classification

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (**Harborne, 1989**) (**figure2**).

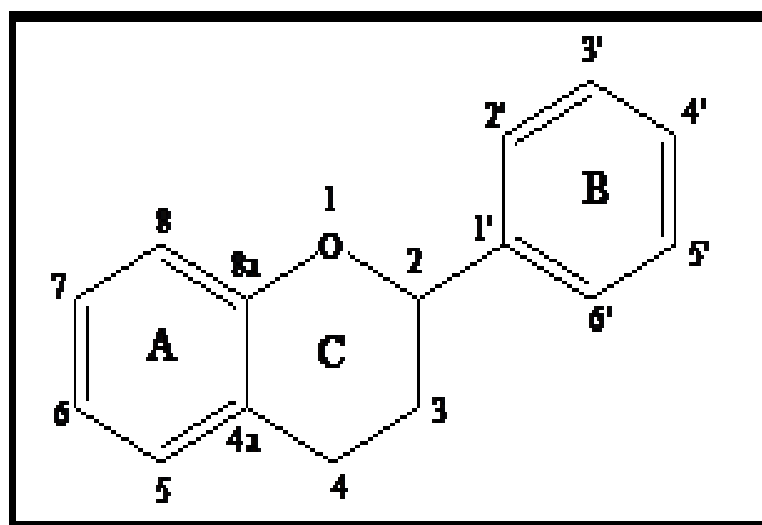


Figure 2 : Squelette de base des flavonoïdes (Harborne, 1989).

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (**Harborne et Williams, 2000 ; Kuresh et al ., 2002**).

Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle intermédiaire (**Julies et Christin, 2002**) (**Figure 3**).

Les flavonoïdes se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme d'hétérosides qui résultent de la combinaison du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique : l'aglycone ou la génine, avec élimination d'eau. La partie osidique peut être mono-, di- ou trisaccharidique. La partie glycarique est formée soit d'hexoses (D-glucose, D-galactose, Dallose...) ou de pentoses (D-apiose, L- arabinose, L- ramnose ...) ou avec des acides (D-glucuronique, D-galacturonique ...). La partie osidique peut être linéaire ou ramifiée (**Gerhard, 1993**).

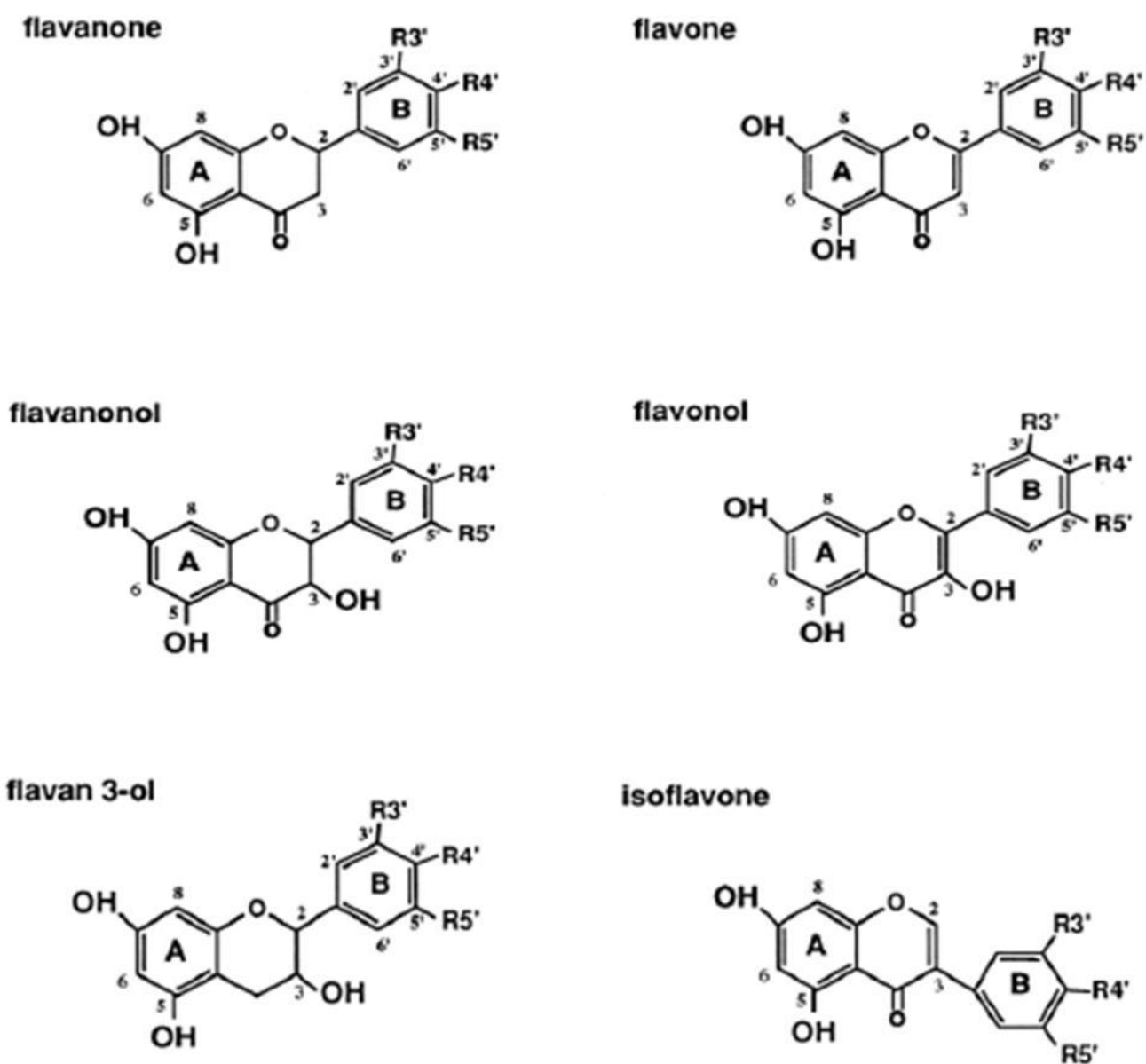


Figure 3 : Structures des différentes classes de flavonoïdes (Gamet-Payraastre et *al.*, 1999).

II.4 Coumarines

Ce sont des dérivées des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Il ont un rôle biologique et se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Booth et al., 2004). (Figure 4).

Selon Bruneton (1993), la présence des coumarines chez certaines espèces de genre centaurea (*Centaurea calcitrapa*)

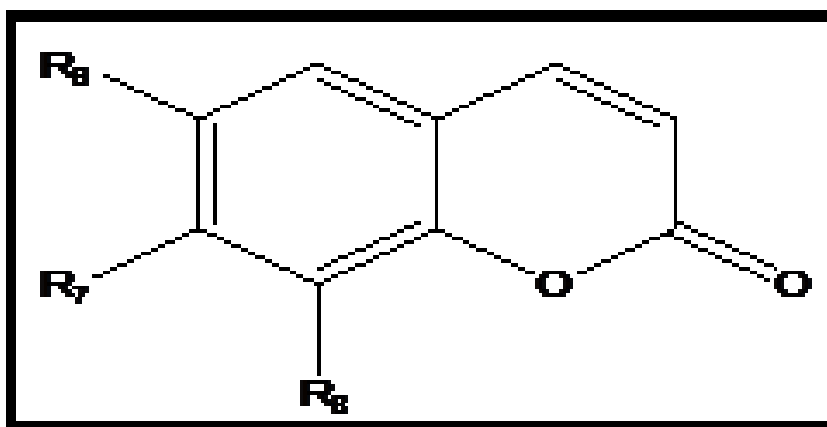


Figure 4 : Structure de base de Coumarine (Macheix et al., 2005).

Tableau I : Quelques exemples de coumarines (Macheix et al., 2005).

Nom de coumarine	R ₆	R ₇	R ₈
Ombelliférone	H	OH	H
Herniarine	H	OCH ₃	H
Esculétol	OH	OH	H
Scopolétol	OCH ₃	OH	H
Scopanone	OCH ₃	OCH ₃	H

II.5 Terpènes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) (**Lamarti et al., 1994**).

Selon **Ismail et al., (1986)** Les sesquiterpènes lactones sont parmi les constituants majoritaires des centaurees.

II.5.1 Classification des terpènes

La classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base l'isoprène, on distingue :

- **Monoterpènes** qui comptent deux unités isoprènes soit 10 atomes de carbone.
- **Sesquiterpènes** qui contiennent 3 unités isoprènes soit 15 atomes de carbone.
- **Diterpènes** qui comportent 4 unités isoprènes soit 20 atomes de carbone.
- **Sesterpènes** qui comptent 25 atomes de carbone.
- **Triterpènes** qui comportent 30 atomes de carbone.
- **Tétraterpènes** qui contiennent 40 atomes de carbone.

II.6 Lignines

C'est l'un des polymères biosources les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles (**Privas, 2013**). Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (**Murry et al., 1982**) (**figure 5**).

Selon **Shoeb et al., (2004)** la présence des lignines chez *Centaurea macrocephala*

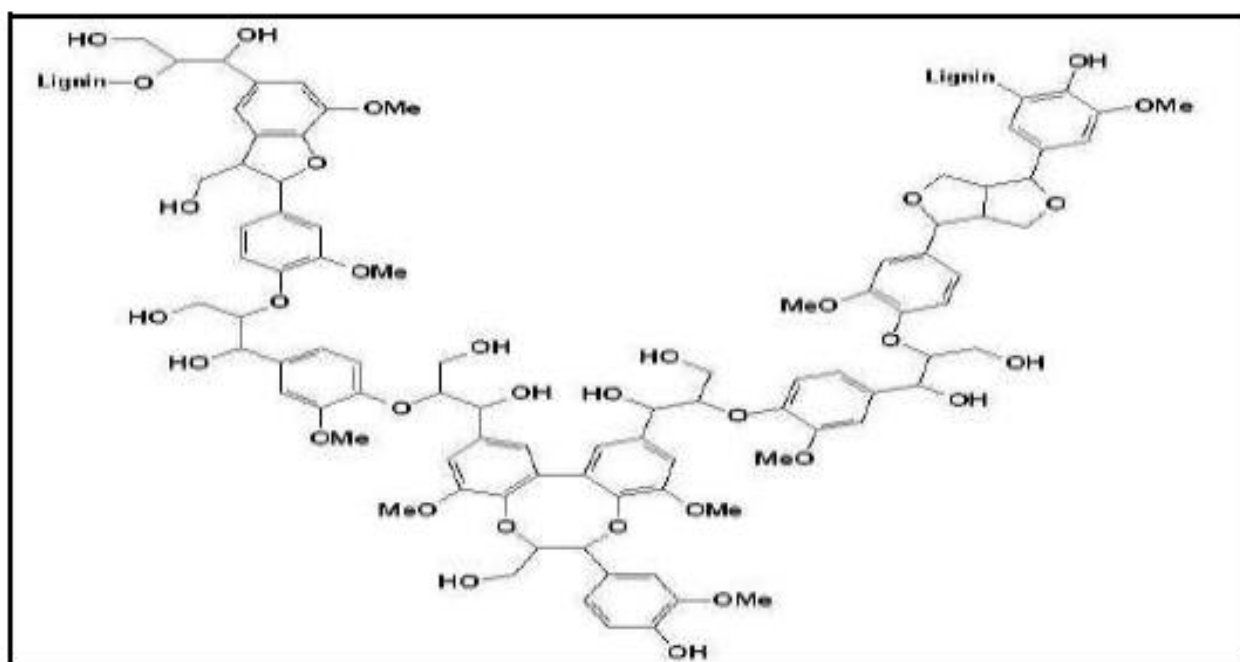


Figure 07 : Structures chimiques de lignine (Scalbert et Williamson, 2000).

II.7 Huiles Essentielles (HEs)

II.7.1 Définition des huiles Essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalemba, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes (Burt, 2004).

II.7.2 Caractères chimiques des HEs

Les HEs sont des mélanges très complexes, les constituants sont principalement des Monoterpènes et des sesquiterpènes de formule $(C_5H_8)_n$. Du strict point de vue chimique, les terpènes apparaissent comme des polymères d'un carbure d'hydrogène diéthylénique, l'isoprène. (Pibiri, 2006) (Figure 6).

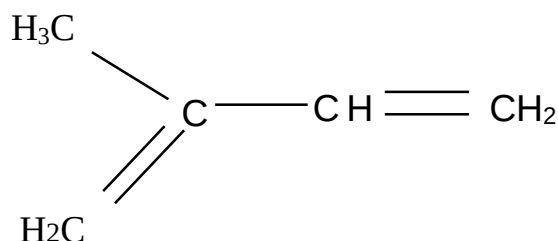


Figure 6 : Structure de l'isoprène (Pibiri, 2006).

Les HEs sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Pibiri, 2006).

II.7.3 Utilisation des HEs :

Selon Cavalli, (2002) ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activités tels que :

II.7.3.1 En pharmacie

Les HEs peuvent être utilisés dans l'aromatisation des médicaments destinés à la voie orale pour leurs actions physiologiques.

II.7.3.2 Dans l'industrie :

- Parfumerie et cosmétologie

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines HEs constituent des bases des parfums. Exemples : Rose, Jasmine etc...

- Alimentation

Les HEs (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

*Chapitre III : Activités
biologiques*

III.1 Activités biologiques de genre *Centaurea* :

Le genre *Centaurea* présente un grand intérêt thérapeutique, notamment comme source naturelle de sesquiterpènes lactones et flavonoïdes qui sont les constituants majoritaires de ce genre (Kupchen et al., 1971 ; Catherine et al., 2006).

Aux cours de ces dernières décennies, l'investigation biologique des extraits et des constituants chimiques des espèces du genre *Centaurea*, a montré que ces derniers possèdent diverses activités biologiques, par exemple, le pouvoir anti-inflammatoire de certaines d'entre elles est attribué à la présence des sesquiterpènes lactones qui possèdent un groupe α -méthylène γ - lactone responsable de ce pouvoir (Kupchen et al., 1971 ; Catherine et al., 2006).

Parmi les travaux reportés sur les espèces du genre *Centaurea*, on peut citer comme exemple :

Les espèces *C. malacitana* et *C. corcubionensis* qui possèdent respectivement des propriétés anti-inflammatoires, digestives, diurétiques, astringentes, cholagogues et peuvent être utilisées seules ou mélangées avec d'autres plantes en médecine traditionnelle (Barrero et al., 1997 ; Orallo et al., 1998).

Le costunolide (sesquiterpène lactone) isolé de *Centaurea acaulis* (Bentamène et al, 2005), exerce des effets inhibiteurs sur la fonction tueuse des lymphocytes T cytotoxiques (Taniguchi et al ; 1995). D'autres études ont également montré que le costunolide inhibe la synthèse de l'oxyde nitrique (NO), déclencheur chimique de l'inflammation (Lee et al, 1999) et déprime la croissance des cellules cancéreuses (Hall et al., 1977).

L'espèce *Centaurea calcitrapa* est utilisée dans le traitement de la fièvre (Yesilada, 2002).

III.2 Coagulation :

III.2 Hémostase

L'hémostase provient du latin (des mots haima : sang et stasis : arrêt) (**Tamboura, 2001**). 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 (**Schved, 2007**).

L'hémostase résulte de trois processus complémentaires : l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse (**Diagne, 1998 ; Allain, 2008 ; Decourcelle, 2009 ; Kaguelidou, 2012**) (figure 10).

III.2.1 Hémostase primaire

C'est la première étape, qui comprend l'ensemble des interactions entre la paroi vasculaire, les plaquettes sanguines, et certains facteurs de coagulation, aboutissant à la formation d'un thrombus blanc, essentiellement plaquettaire, qui permet l'obturation rapide de la brèche vasculaire (**Bernard et al, 2004**).

III.2.2 Hémostase secondaire (coagulation plasmatique) :

III.2.2.1 Définition de la coagulation

La coagulation est une succession de réactions enzymatiques permettant une activation des facteurs de la coagulation afin d'aboutir, dans une dernière étape, à activer la prothrombine (facteur II) en thrombine (facteur IIa). Cette dernière active alors le fibrinogène circulant pour former un réseau de fibrine insoluble qui participera avec les plaquettes à la formation d'un thrombus beaucoup plus résistant que le clou plaquettaire issu de l'hémostase primaire (**Joseph, 1998**).

III.2.2.2 Facteurs de la coagulation

Les facteurs de la coagulation ont été décrits à partir des déficits génétiques entraînant un syndrome hémorragique dû à la réduction de synthèse d'un de ces facteurs. Douze protéines plasmatiques nécessaires à la coagulation du sang *in vitro* ont été identifiées (**Fressinaude et Meyer, 1994**). Pour la plupart, elles ont été désignées par des chiffres romains, attribués en 1954 par le comité de nomenclature internationale (**Tableau II**).

Tableau II : Facteurs de la coagulation plasmatique (Guilin ,1985)

Nomenclature internationale	Synonyme	Lieu de synthèse	Concentration plasmatique µg/ml	Fonction
Facteur I	Fibrinogène	Hépatocyte, mégacaryocyte	2-4, 10	substrat
Facteur II	prothrombine	hépatocyte	100-150	substrat
Facteur V	proaccélérine	Hépatocyte Et/ou cellule endothéliale	5-10	cofacteur
Facteur VII	proconvertine	hépatocyte	0.35-0.60	zymogène
Facteur VIII : C	Facteur anti-hémophilique A	Inconnue	Inconnue	cofacteur
Facteur IX	Facteur anti-hémophilique B	Hépatocyte	3-5	zymogène
Facteur X	Facteur stuar 1	Hépatocyte	7-17	zymogène
Facteur XI	Plasma Thromboplastine Antécédent (PTA)	inconnu	3-6	zymogène
Facteur XII	Facteur de Hageman	inconnu	30-40	zymogène
Facteur XIII	Facteur stabilisant de la Fibrine	Hépatocyte	20-30	zymogène
Prékallikréine	Facteur de Fletcher	Hépatocyte mégacaryocyte	25-40	zymogène
Kininogène de haut poids moléculaire	Facteur Fitzgerald, Flauteur ou Williams	Inconnu	70-90	zymogène

III.2.2.3 Voies de la coagulation :**- Voie extrinsèque :**

Cette voie possède une cinétique très rapide : quelques secondes. Le facteur VII se fixe sur la partie phospholipidique de la thromboplastine cellulaire en présence de calcium. Le facteur VII ainsi activé agit alors sur le facteur X (facteur Stuart). Le facteur X activé en présence du facteur V (proconvertine) coupe la prothrombine en plusieurs fragments dont un est la thrombine (Girondon et al ., 1995) (figure 10).

- Voie intrinsèque :

L'activation de la voie intrinsèque de la coagulation est déclenchée par la fixation des facteurs XII et XI, de la prékallikréine et du kininogène de haut poids moléculaire sur une surface électro négative ; c'est la phase de contact. La surface est représentée in vivo par le sous endothélium ou les plaquettes agrégées, in vitro par le verre, le kaolin, des polymères comme le sulfate de dextran ou des micelles comme les sulfatides. La fixation de ces facteurs entraîne leur protéolyse, ils deviennent ainsi actifs. Le facteur XIa en présence d'ion calcium active le facteur IX par protéolyse. Le facteur IXa va ensuite activer le facteur X au sein d'un complexe qui comprend l'enzyme (facteur IXa), un cofacteur protéinique (facteur VIIC), des ions calcium et une surface phospholipidique (phospholipide membranaire de la cellule endothéliale). Le facteur VIII C ne joue son rôle de cofacteur que s'il est préalablement activé par protéolyse par le facteur IXa. Ce complexe enzymatique est la prothrombinase (**Girondon et al ., 1995**) (**figure7**).

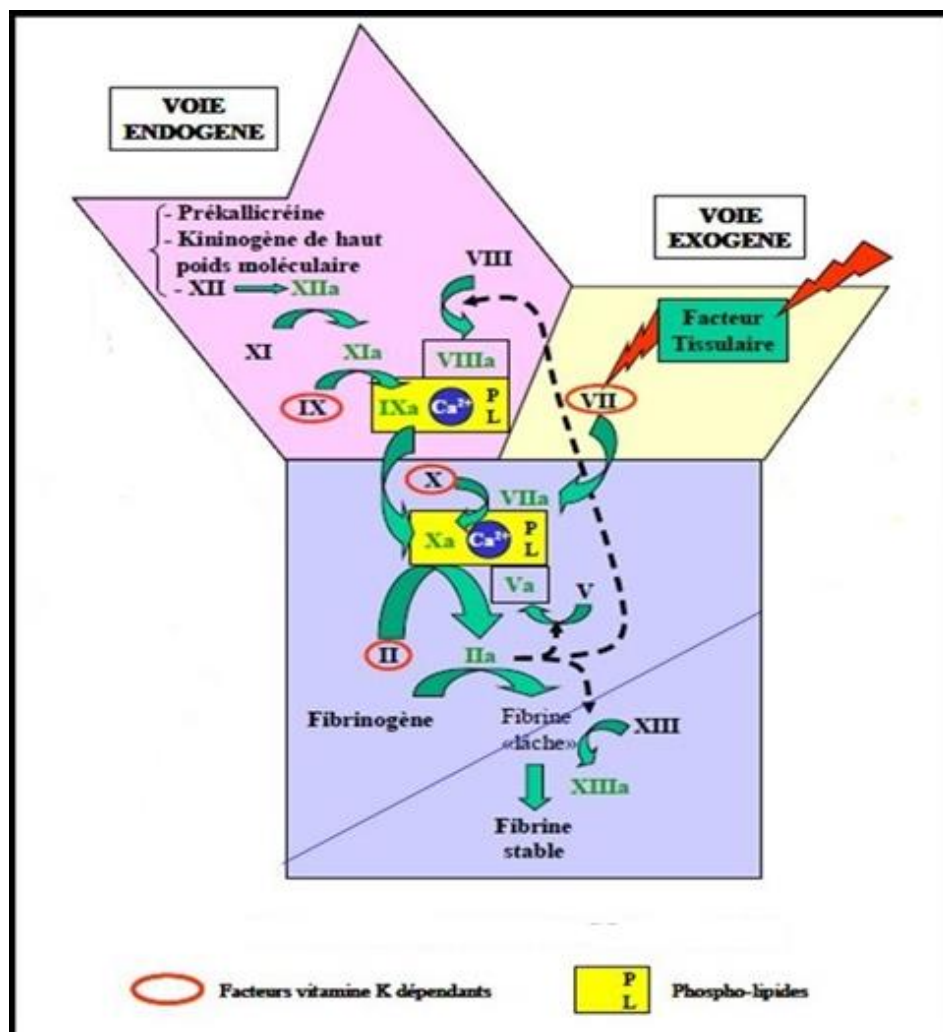


Figure 7 : Schéma simplifié de la coagulation plasmatique (Anonyme 2 ,2010).

III.2.2.4 Pathologie de la coagulation (thrombose) :

Le thrombus, résultant de l'activation de la coagulation et de l'agrégation plaquettaire, peut dans certaines situations pathologiques obturer complètement ou partiellement un vaisseau sanguin. On parle alors de thrombose (**Gustafsson et al ., 2004**).

III.2.2.5 Types des thromboses :

Selon le site de leurs formations on distingue deux types des thromboses :

III.2.2.5.1 Thrombose veineuse :

La phlébite ou thrombose veineuse profonde est liée à la formation d'un caillot de sang ou thrombus qui bouche une veine. Elle survient le plus souvent dans une veine des jambes, mais elle peut survenir sur presque toutes les veines de l'organisme (bras, cerveau, tube digestif, reins, etc.). Les veines superficielles, sous la peau, peuvent aussi être touchées par une phlébite, on parle alors de phlébite superficielle (**Lemaoui, 2010**) (**figure 8**).

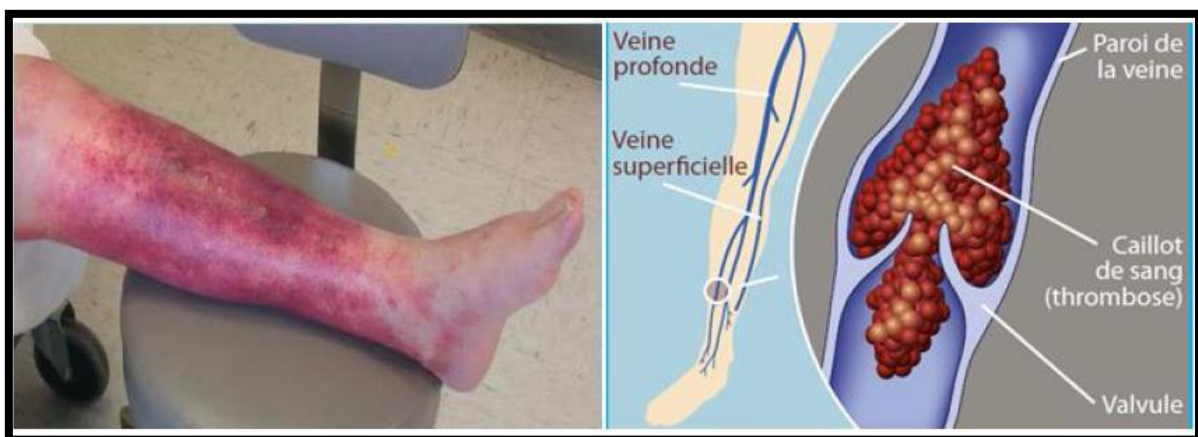


Figure 8 : Formation d'une phlébite au niveau des veines de jambe (**Lemaoui, 2010**)

III.2.2.5.2 Thrombose artérielle :

L'athérosclérose est définie selon l'OMS, (1957) comme « une association variable de remaniements de l'intima des artères de moyen et gros calibre par accumulation segmentaire de lipides et de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires ; le tout s'accompagnant de modifications de la media » (**figure 9**).

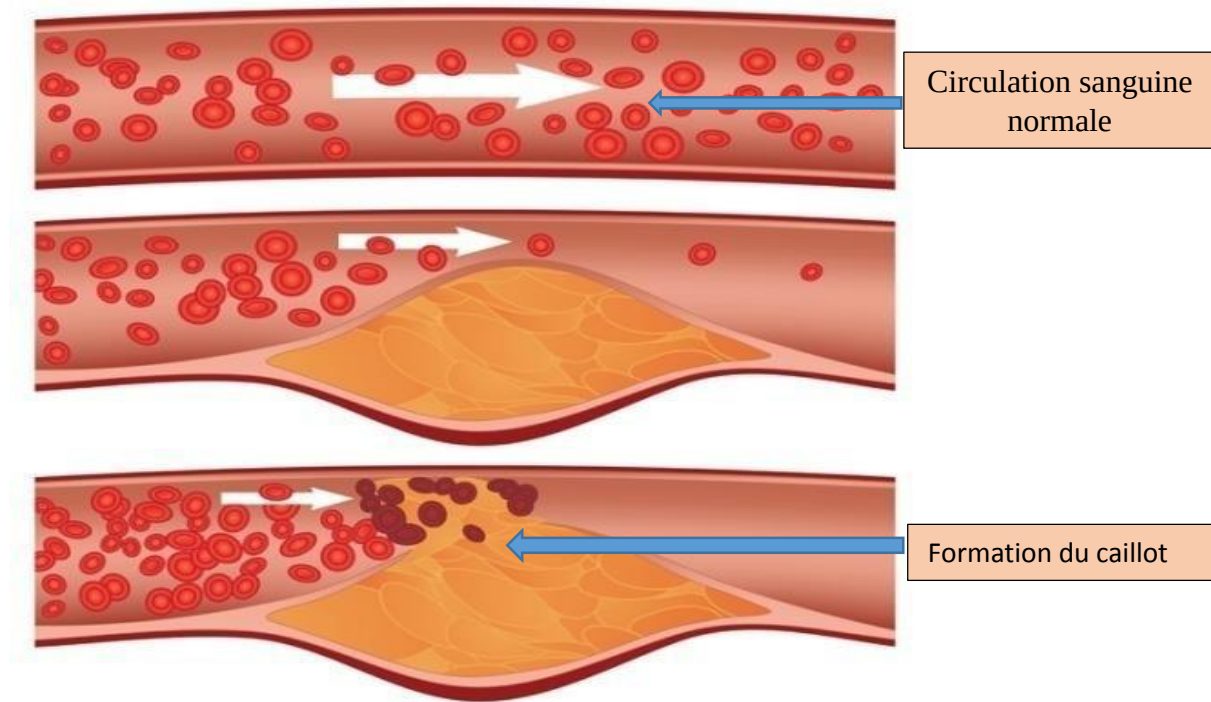


Figure 09 : Formation d'une athérombose au niveau des artères (**Anonyme 3, 2017**).

III.2.2.6 Traitement des thromboses :

Il permet de prévenir l'extension du thrombus veineux avec une perméabilisation maximale, prévient à la récurrence des TV et lutte contre le syndrome postthrombotique (**Wai, 2002**).

III.2.2.6.1 Anticoagulants :

Les héparines non fractionnées (HNF) et les héparines de bas poids moléculaires (HBPM) sont les seuls anticoagulants à posséder une activité anticoagulante rapide (**Demange, 1999**).

III.2.2.6.2 Antivitamines K (AVK) :

Est un traitement curatif et préventif secondaire, est un relais précoce des héparines par les AVK qui permettent de réduire le coût de la maladie tout en limitant le risque de thrombopénie à l'héparine (**Matthew et al., 2007**).

III.2.2.6.3 Contention élastique :

Réduit la douleur et l'œdème ; elle permet de plus, grâce à une diminution du calibre des veines profondes et superficielles d'améliorer le retour veineux dans les veines saines et de fixer le thrombus à la paroi, évitant son extension et son embolisation. La contention doit être portée au moins pendant l'année suivant l'épisode de thrombose aiguë car elle limite à long terme le développement d'une maladie post-phlébitique (**Gosselin et al ., 1995**).

III.2.3 Fibrinolyse

La fibrinolyse, ou ensemble des processus conduisant à la dissolution ou lyse de caillot de fibrine, est due à l'apparition dans le sang circulant d'une enzyme protéolytique, la plasmine, formée à partir d'un précurseur inactif, le plasminogène. Cette transformation ou activation du plasminogène résulte de l'action de différents agents ou activateurs. Le processus physiologique comporte deux étapes :

A - formation de la plasmine à partir d'un précurseur inactif, le plasminogène en présence de différents activateurs ;

B - dégradation par la plasmine ainsi formée de la fibrine insoluble en produits solubles. Les inhibiteurs de la fibrinolyse sont l'alpha-2-antiplasmine, inhibiteur de la plasmine, et le PAI-1 (inhibiteur de l'activateur du plasminogène) qui a pour cible le t-PA (activateur tissulaire du plasminogène) (**Hermans et al ., 2006**).

III.3 Activité antioxydante**III.3.1 Radicaux libres :****III.3.1.1 Définition :**

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives, agressives et à durée de vie très courte. Ces radicaux cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier en déclenchant alors une série de réactions en chaînes attaquant les structures voisines et aboutissant à des lésions cellulaires irréversibles (**Chahine, 2014**).

III.3.1.2 Sources des radicaux libres :

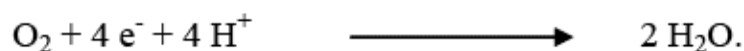
III.3.1.2.1 Radicaux libres de source exogène (RLO) :

Selon **Chahine, (2014)** les radicaux libres de source exogène sont :

- **Radiations ionisantes de la lumière** : les rayons X et α ionisants sont capables de générer des radicaux libres oxygénés (RLO) en scindant la molécule d'eau. Lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets,
- **Stress** : les facteurs personnels et émotionnels, les traumatismes physiques...etc ;
- **Substances chimiques** : les herbicides, insecticides...etc ;
- **Alcool, le tabac** : ils s'oxydent au niveau du cytochrome P450. La fumée de la cigarette contient du fer et du cuivre qui stimule la production des radicaux $\text{OH}^\bullet$;
- **Médicaments** : ceux contenant du fer administrés en grande quantité peuvent conduire à la formation de $\text{OH}^\bullet$ très toxique pour l'organisme ;
- **Particules inhalées** : l'amiante, la silice... sont susceptibles d'exacerber la phagocytose.

III.3.1.2.2 Radicaux libres de source endogène :

Selon **Chahine et Atti (2014)**, les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques (la défense antibactérienne, la régulation des fonctions cellulaires létales telle que la mort cellulaire, la réaction inflammatoire, l'âge car les cellules sont moins actives et produisent ainsi beaucoup plus de RLO ...), la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation :



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) mais surtout de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$). La dismutation de ($\text{O}_2^{\bullet-}$) va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis indirectement au radical hydroxyl ($^\bullet\text{OH}$) (**Atti, 2014**).

III.3.2 Les antioxydants :

III.3.2.1 Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Ladoh et al ., 2014**).

III.3.2.2 Sources des antioxydants :

Selon **Boudjouref (2011)**, il existe deux sources des antioxydants : enzymatiques et non enzymatiques.

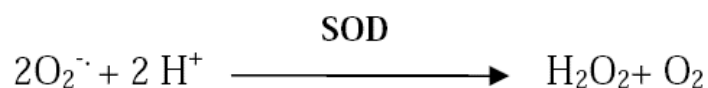
III.3.2.2.1 Antioxydants enzymatiques :

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement par les enzymes suivantes :

- Superoxyde dismutase (SOD) :

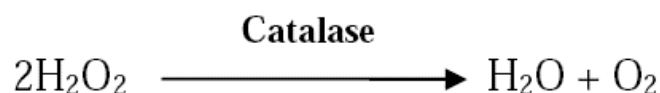
Le superoxyde dismutase (SOD), est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène.

Cette enzyme existe sous deux formes : une cytoplasmique nécessite comme cofacteur les ions de cuivre et de zinc (CuZnSOD) et l'autre mitochondriale utilise le manganèse comme cofacteur (MnSOD) (**Boudjouref ,2011**),



- Catalase (CAT) :

Le peroxyde d'hydrogène produit par la réaction de dismutation peut subir une réaction de Fenton. Il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase, elle transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables **Boudjouref (2011)**,



- Glutathion peroxydase (GPx) et Glutathion réductase (GR)

La glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau. En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites **(Boudjouref ,2011)**.

Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG) (**Adjadj, 2009**).

Le glutathion disulfure (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR), utilisant le NADPH comme donneur d'électron (**Adjadj, 2009**), fourni par la voie des pentoses phosphates. Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification active peut être résumé dans le schéma suivant (**Boudjouref, 2011**) (**figure 10**) :

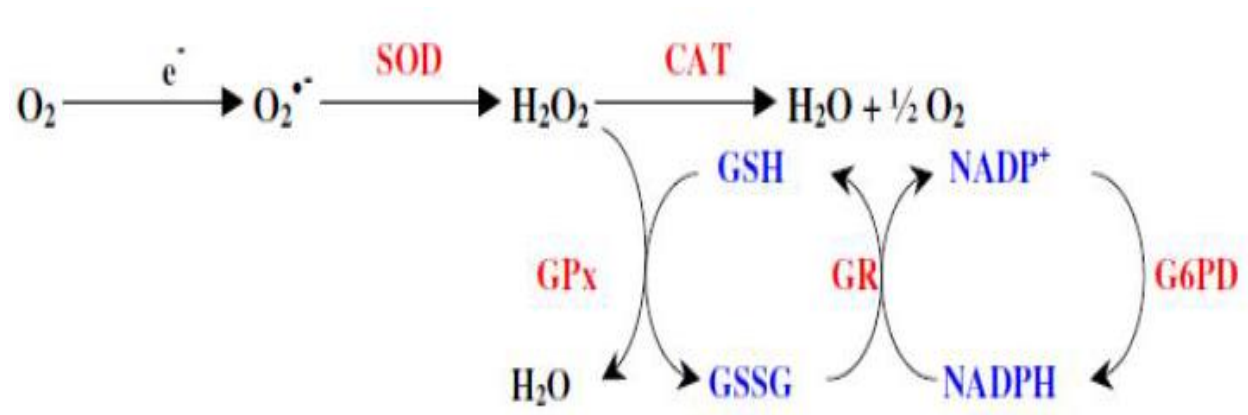


Figure 10 : Schéma des défenses antioxydants enzymatiques (Boudjouref ,2011).

III.3.2.2.2 Antioxydants synthétiques :

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra hépatiques. Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat (**Atti, 2014**).

III.3.3 Stress oxydatif :**III.3.3.1 Définition**

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydante. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimique (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (**Angelos et al., 2005**).

III.3.3.2 Stress oxydatif et maladies associées

Le stress oxydatif est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies ; parmi ces maladies on cite les maladies cardiovasculaires, le diabète, la carcinogenèse, les maladies auto-immunes (sclérose en plaque), l'immunodépression (SIDA), les maladies du système nerveux et les maladies neuro-dégénératives (Alzheimer, Parkinson...), les problèmes de vision (cataracte), les troubles rénaux, les maladies respiratoires, les maladies inflammatoires... (**Chahine, 2014**).

Etudes expérimentales

Chapitre I : Matériel et méthodes

I – Etude expérimentale :

L'étude a été menée dans le laboratoire de centre universitaire de Mila au cours de la période 2017-2018 sur l'espèce *Centaurea macrocephala*.

I.1 Situation géographique des zones de prélèvement

La ferme pilote AMIRA.A est située au niveau de la région de Mechtat Seraghna. La commune d'Oued Endja est localisée au contre Nord de la wilaya à 15km à l'ouest de Mila. Elle est limitrophe à la ferme MAZOUZI. Ses coordonnées sont compris entre 810 et 815 en longitude et entre 315 et 355 en latitude sur la carte d'état-major n72 au 1 /50.000 (**figure 14**).



Figure 11 : Localisation du site de prélèvement.

II Matériel végétal

Le prélèvement de matériel végétal était au niveau de la ferme pilote AMIRA.A dans la région de Mechtat Seraghna commune d'Oued Endja, wilaya de Mila (**photo1**).

Le matériel végétal utilisé dans notre étude (graines et feuilles) a été collecté en Phase Végétative à la cour de laquelle les graines vont prendre la taille d'une plante adulte.



Photo1 : Matériel végétal de *Centaurea macrocephala*.

III Méthodes :

III.1 Etude phytochimique :

III.1.1 Préparation des échantillons (graines et feuilles)

Pour faciliter l'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de la plante étudiée, deux opérations de prétraitement de ce matériel ont été effectuées : séchage et broyage ;

- **Séchage** : Le séchage des feuilles de *Centaurea macrocephala* est effectué à l'aire libre à température ambiante pendant 10 jours puis dans une étuve portée une température voisine de 37°C pendant 24 heures ;

- **Broyage** : Les feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à devenir une poudre puis conservées dans un sachet propre qui sert ultérieurement à l'extraction des polyphénols.

Pour les graines, on applique directement un broyage pour obtenir une poudre pour l'étude phytochimique.

III.1.2 Extraction de la matière extraite

La macération est une opération qui consiste à laisser le matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs (**Ribereau-Gayou J.B, 1968, Bruneton J, 1999**). C'est une extraction qui se fait à température ambiante. Les polyphénols sont des extraits par la méthode de macération prolongée (5jours) à une température ambiante par l'Ethanol, selon la méthode décrit par **Abaza et al., (2007) (figure12)**.

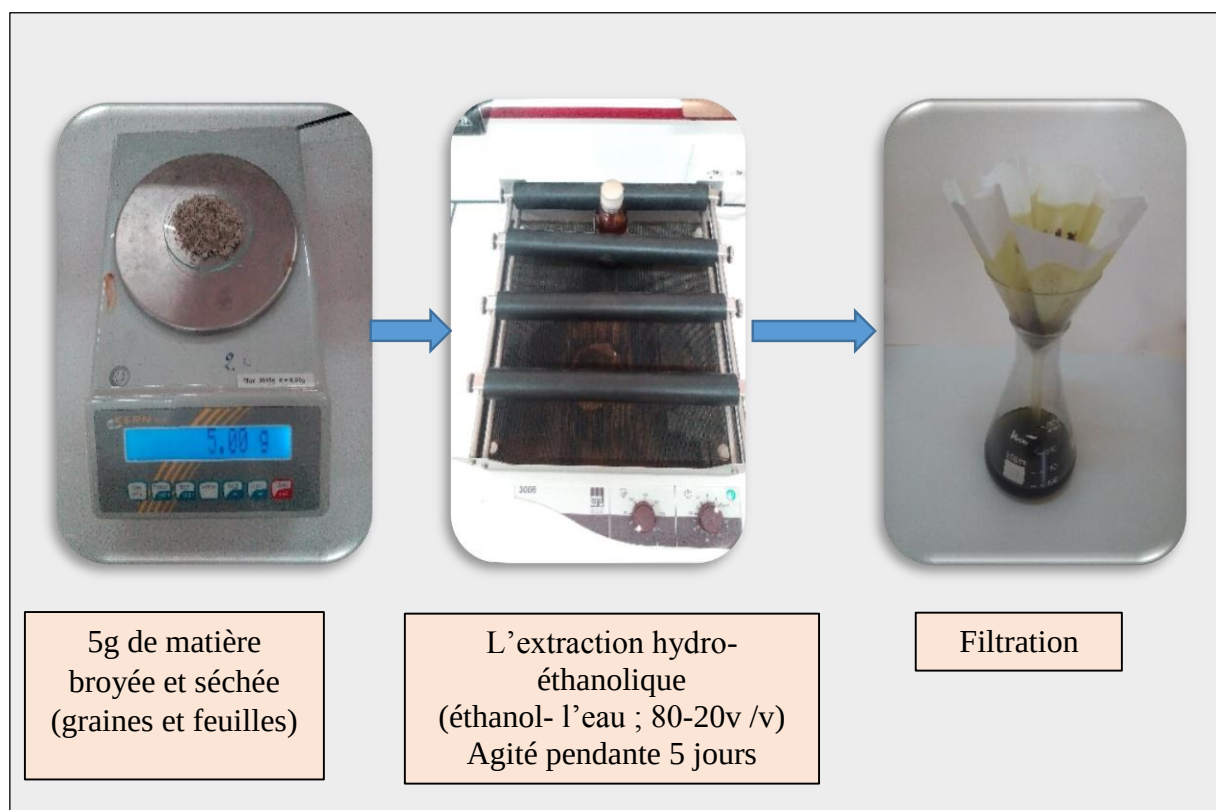


Figure12 : Protocole d'extraction des polyphénols.

Après la macération, on a calculé la teneur en matière extraite selon la formule suivante :

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

T(%) : Teneur en matière extraite.

M : Masse en gramme du matériel végétal traité.

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

III.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 2ml de l'extrait à analyser, ajouter 2ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. 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 et Chaouch, 2001**).

➤ **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**).

➤ **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 (**Oloye, 2005**).

➤ **Recherche des alcaloïdes**

On prend 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai et ajouter 5 gouttes de réactif de Wagner, l'apparition d'un précipité marron chocolat révèle la présence des alcaloïdes (**Trease et Evans, 1989 ; Harborne, 1998**).

➤ **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 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 anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH₄OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

➤ **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 NH₄OH 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 NH₄OH.

III.1.4 Dosage de la concentration en phénols totaux

Les phénols totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu avec spectrophotométrie UV-visible (**Silva et al ., 2005**). Le protocole du dosage des phénols totaux consiste à mélanger 2 ml d'échantillon (dilué 10 fois) avec 2,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. On ajoute 5 ml d'une solution de Na_2CO_3 (10%). On complète le volume jusqu'à 50 ml par l'eau distillé, on laisse le mélange pendant 45 mn.

Une lecture de la densité optique à 765 nm est effectuée. L'acide gallique est utilisé comme standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0 – 10 mg/ml ($y = 0,0217x - 0,003$; Y : Densité optique à 765 nm ; X : concentration en acide gallique (mg/ml) ; $R^2 = 0,9953$) (**photo2**).

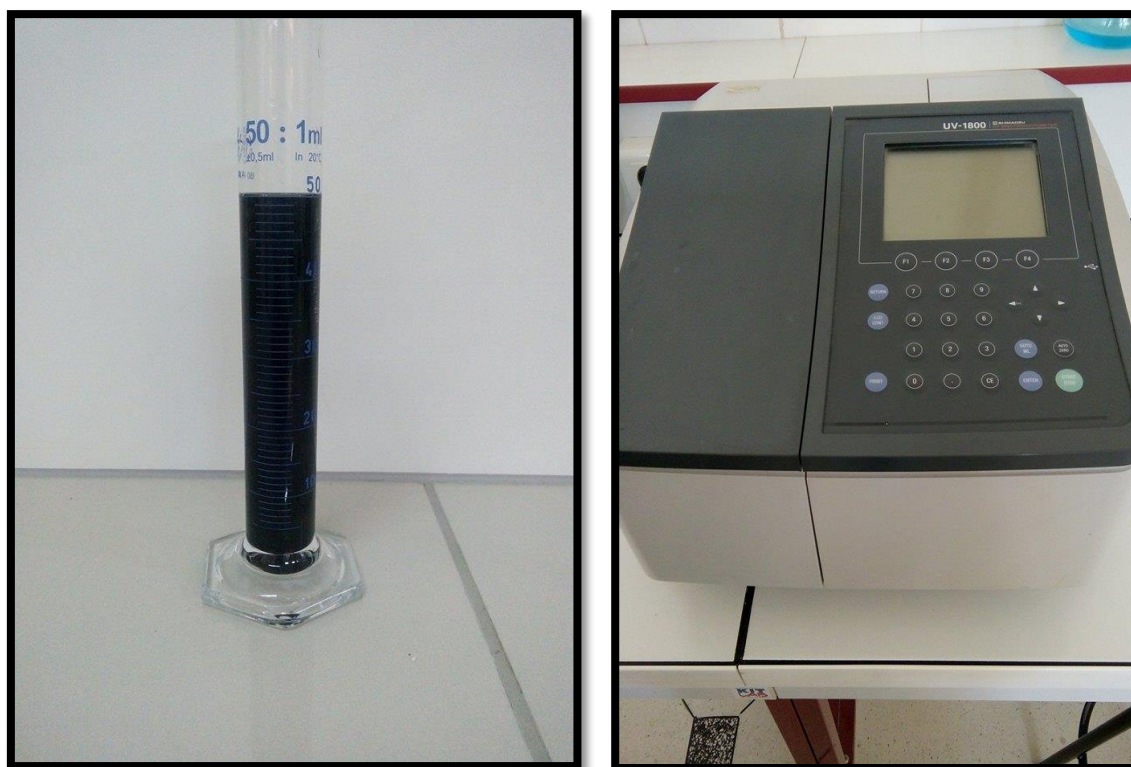


Photo2 : Dosage des phénols totaux.

III.2 Activité antioxydante des extraits de *Centaurea macrocephala* :

Le pouvoir antioxydant de nos extraits a été testé par la méthode au DPPH (**Leitão et al ., 2002 ; Chen et al ., 2004**). Ce radical libre stable, possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle.

a) Préparation de la solution DPPH :

Une masse de 0,008g de poudre de DPPH, ont été dissous dans 150 ml d'éthanol / d'eau distillée (70% éthanol ,30% eau). Cette solution a été mise en agitation pendant 24h.

b) Solution d'extrait :

Plusieurs délutions ont été effectuée pour réaliser cette technique en utilisant : éthanol / eau.

c) Essai du DPPH :

Dans des tubes, on prélève par micropipette (extraits + solvant + DPPH) des différentes concentrations (**tableau III**). Et après agitation, les tubes sont placés dans l'obscurité, à une température ambiante pendant 30 min et 45 min minutes.

La solution contenant l'acide ascorbique est préparé par les mêmes étapes en remplaçant l'extrait par l'acide ascorbique (acide ascorbique + solvant +DPPH).

Tableau III : Différents concentrations utilisées des deux extraits de *Centaurea macrocephala*.

	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 a été effectuée par la mesure de l'absorbance à l'aide de spectrophotomètre (517 nm).

d) Expression des résultats :

L'expression des résultats a été faite selon la formule suivant :

$$\text{Activité antioxydant \%} = \{(\text{Abs contrôlée} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôlée}\} \times 100$$

Tels que : - **Abs** : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

- **Abs test** : Absorbance de la solution DPPH

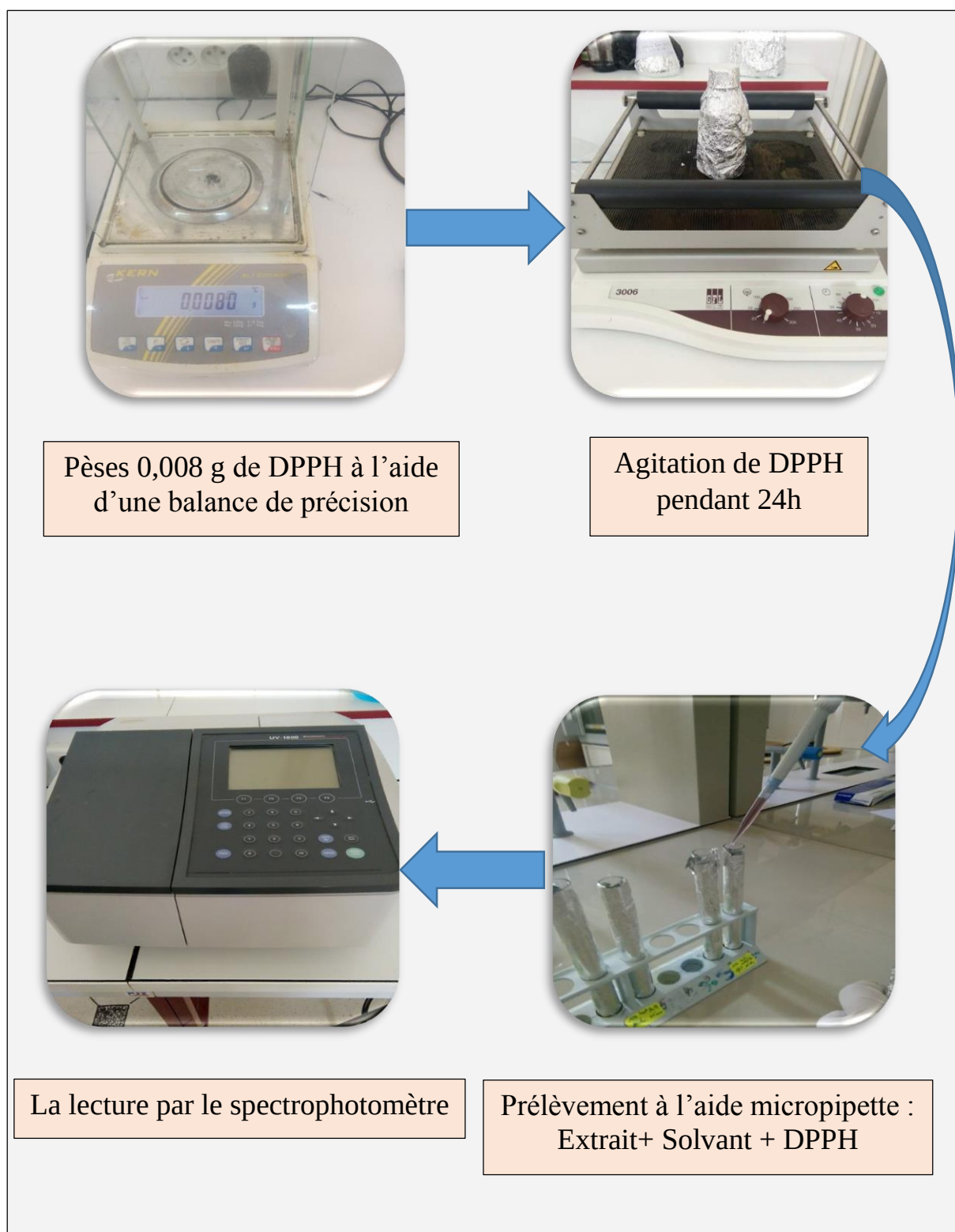


Figure13 : Etapes de la préparation de l'activité antioxydante.

III.3 Activité anticoagulante des extraits de *Centaurea macrocephala* :

III.3.1 Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène :

L'activité anticoagulante des extraits polyphénoliques des graines et des feuilles de *Centaurea macrocephala* 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).

III.3.1.1 Prélèvements sanguins :

Le sang est prélevé dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang le jour même de son utilisation.

III.3.1.2 Préparation du plasma déplaqué :

Le sang est centrifugé pendant 15 minutes à une vitesse de 2500 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (**ppp**). Le plasma déplaqué utilisé directement ou bien conservé à basse température (**-10C°**) jusqu'à son utilisation (**figure 14**).

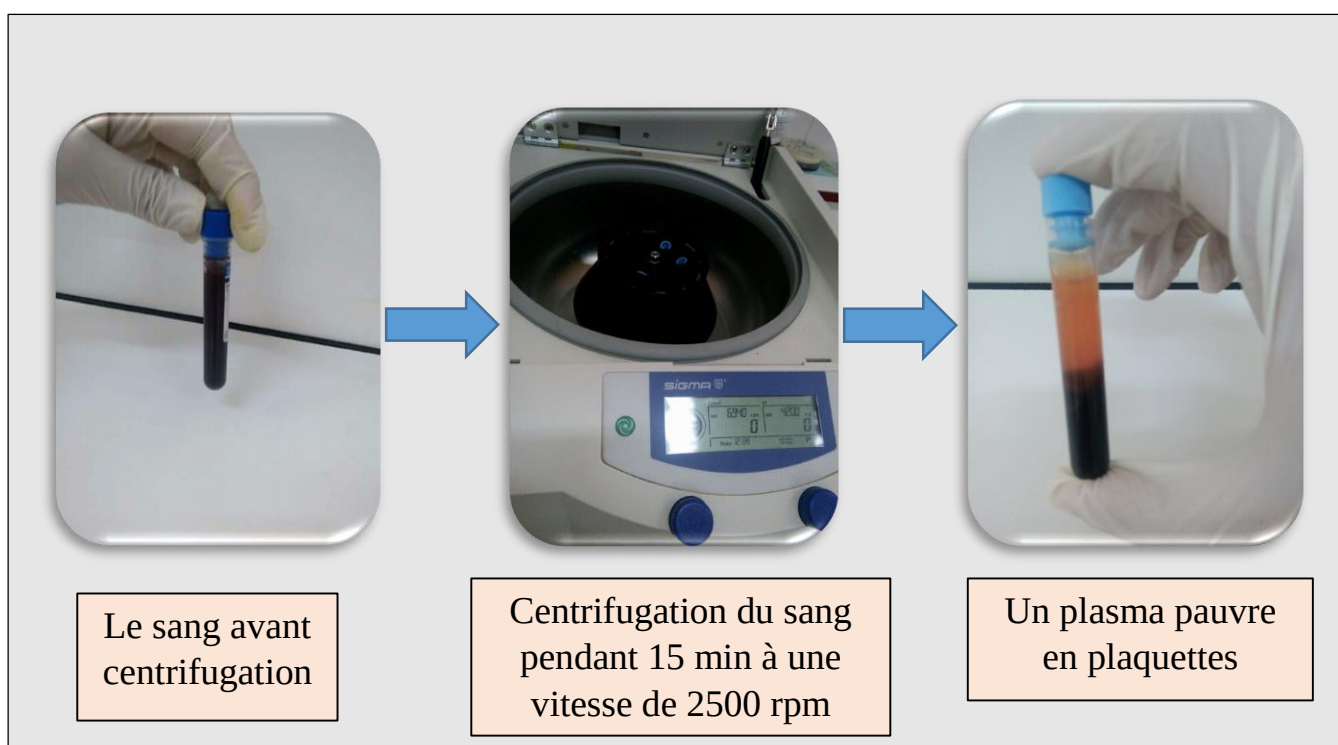


Figure 14 : Centrifugation du sang pour obtenir un plasma déplaqué.

III.3.1.3 Préparation des dilutions de l'extrait de *Centaurea macrocephala*

L'extrait est dilué avec le mélange éthanol + eau distillée ($v = 80/20$), les dilutions obtenues sont : 100% ,75%,50% et 25%.

III.3.1.4 Test de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène

L'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation a été évaluée en utilisant un test de coagulation appelé le taux de prothrombine (TP) qui permet d'une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (**Ahmim, 2006**).

III.3.1.4.1 Principe

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteurs tissulaires 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 (**Athukorala et al., 2007**).

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 (**Athukorala et al., 2007**).

Le test de Temps de Quick (TQ) permet une exploration de la voie extrinsèque de la coagulation. Le TQ, converti en "taux de prothrombine" (TP) permet d'évaluer l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%.

Ce test consiste à mesurer le temps que met à se former un caillot de fibrine à 37°C lorsqu'on ajoute dans le plasma un excès de thromboplastine ou facteur tissulaire en présence de calcium. Normalement le caillot se forme en 12 à 13 seconds ce qui représente le temps de Quick. Le TQ explore les facteurs de la voie exogène de la coagulation : facteur VII, facteur X, facteur V, facteur II, fibrinogène (**Caquet, 2004**) (**Tableau II**).

III.3.1.4.2 Mode opératoire

L'effet des polyphénols de *Centaurea macrocephala* sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Athukorala et ses collaborateurs avec modifications (**Athukorala et al., 2007**).

D'une part, nous avons mis 100µl 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 µl des extraits polyphénoliques dilués avec de l'eau distillé à 50% (1:1 (v/v)) sont additionnées à 100µl du plasma dans chacun des tubes à analyser qui est ensuite incubé à 37°C durant un temps optimal de 15 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200µl de thromboplastine préincubé à 37°C pendant 15 minutes (**photo3**).

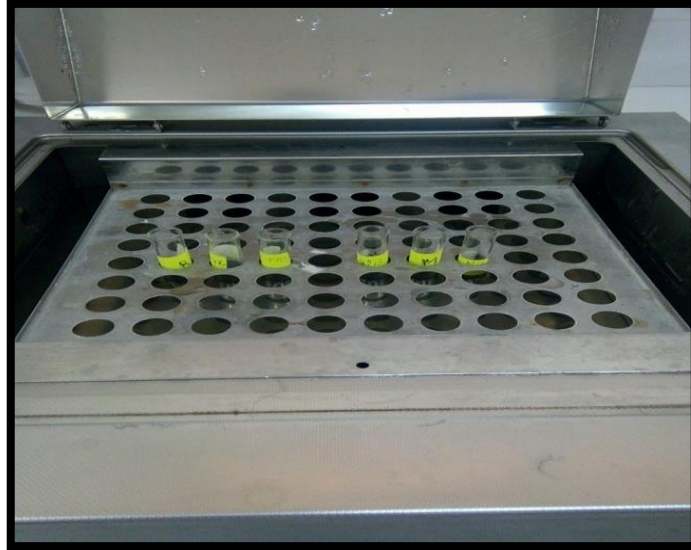


Photo 3 : Incubation de thromboplastine dans le bain marie.

Le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux est alors mesuré manuellement à l'aide d'un chronomètre qui est déclenché dès l'addition de thromboplastine dans les tubes jusqu'à ce que l'on observe la prise en masse du caillot. Les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s) (**photo4**).

La même opération a été répétée 3 fois dans les mêmes conditions pour chaque concentration de l'extrait.

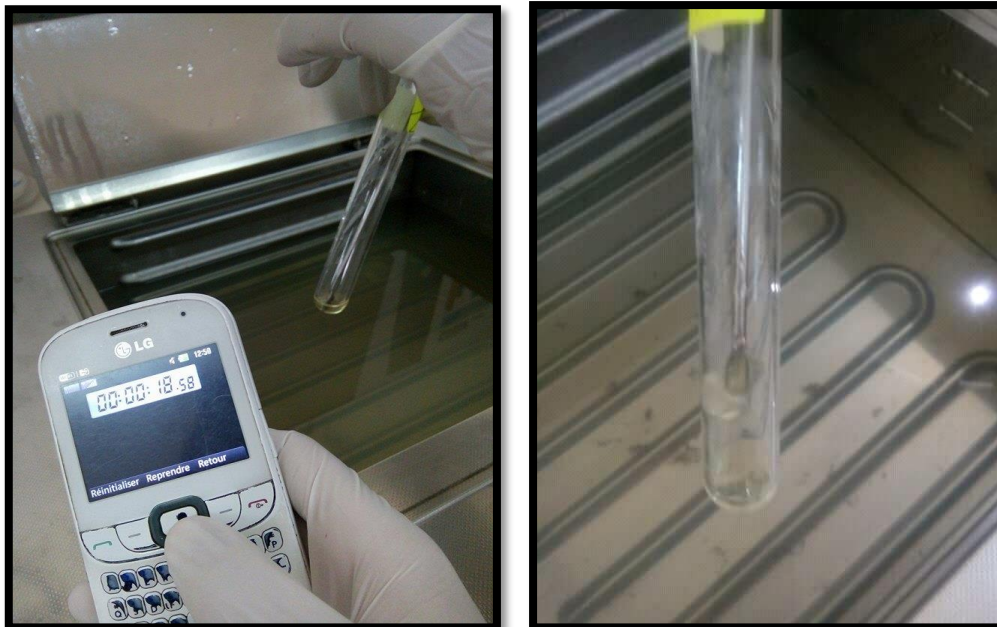


Photo 4 : Arrêt de chronomètre simultanément avec la formation du caillot.

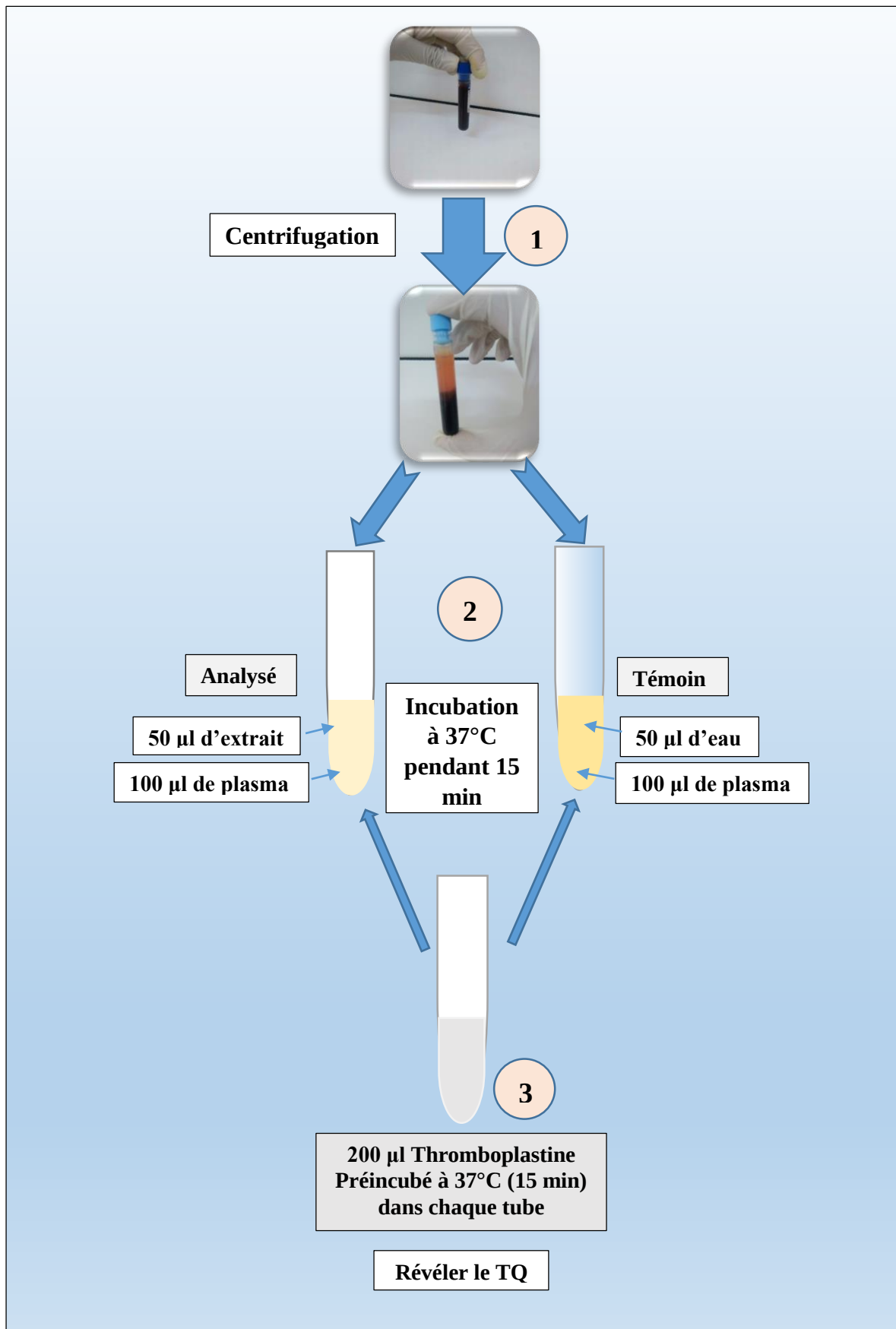


Figure15 : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante.

Chapitre II : Résultats et discussion

I- Etudes biochimique et biologique :

1- Teneur en matière extraite

Notre calcul de la teneur en matière extraite des organes graines, feuilles a illustrée dans le tableau IV :

Tableau IV : Teneur en matière extraite dans les organes graines fruits.

Organes	Graines	Feuilles
Teneur en matière extraite (%)	49.4	38.2

Les résultats montrent que la plante *Centaurea macrocephala* est riche en composants biochimiques.

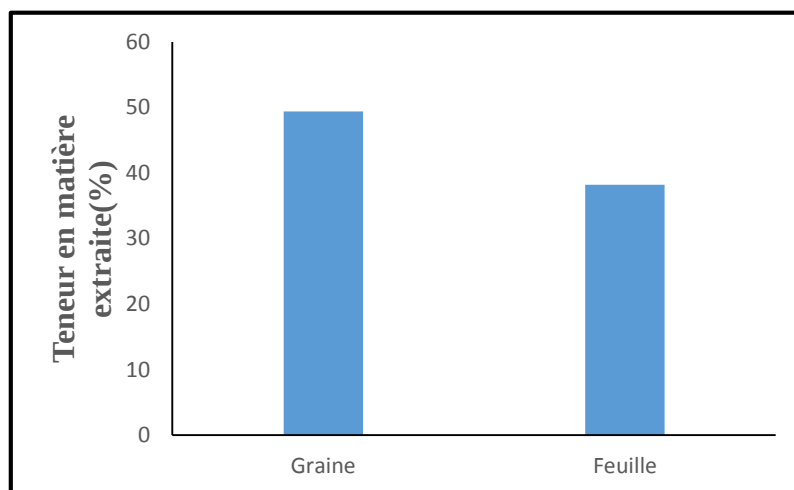


Figure 16 : Teneur en matière extraite chez la plante *Centaurea macrocephala*.

Selon la figure 19 les graines sont plus riches en composés biochimiques que les feuilles, dont les graines à une teneur de 49.4% en matière extraite alors que les feuilles à une teneur de 38.2% matière extraite.

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.

Les résultats des tests phytochimique effectués sur les graines et les feuilles de *Centaurea macrocephala*.

2 -1 Polyphénols

On remarque la présence d'une couleur vert foncé qui indique la présence des composés phénoliques dans les deux extraits des graines et feuilles.

D'après les résultats de test des composés phénolique on observe que ces derniers sont très élevés dans les deux organes de la plante étudié mais plus élevé dans les feuilles que dans les graines (**figure 20**).

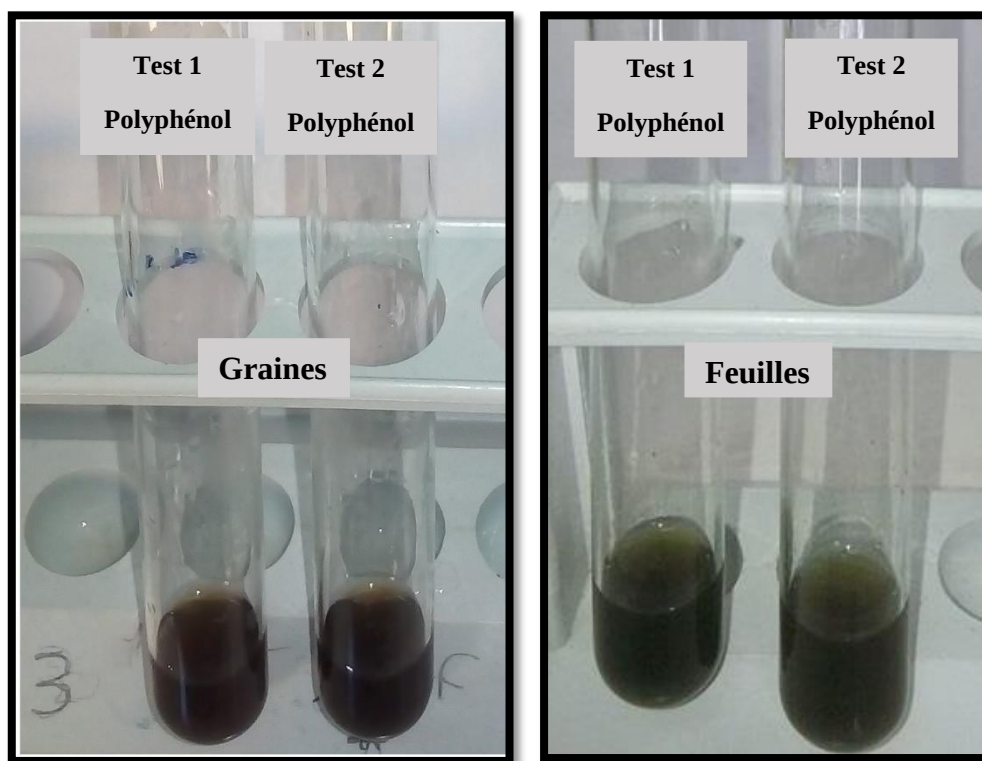


Photo 5 : Résultats de test des polyphénols.

2 -2 Flavonoïdes

Nous avons remarqué une couleur jaune qui indique la présence des flavonoïdes dans les deux organes étudiés.

Dans les deux organes (graines et feuilles), la teneur en flavonoïdes est plus élevée dans les graines par rapport aux feuilles. Les résultats sont présentés dans **la figure 21**.

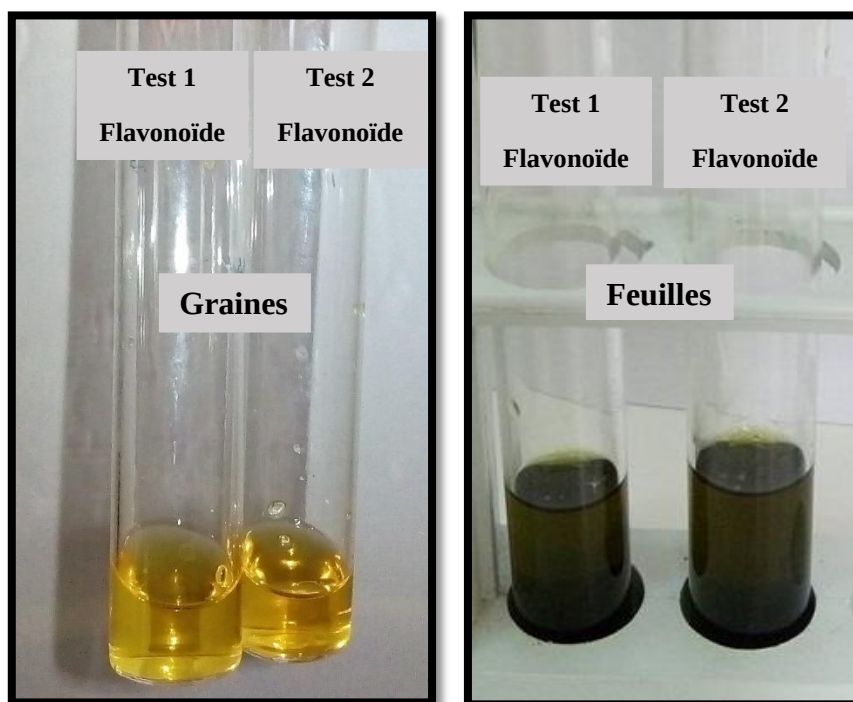


Photo 6 : Résultats de test des flavonoïdes.

2 -3 Alcaloïdes

Nous avons remarqué l'absence des alcaloïdes dans les deux organes graines et feuilles de la plante étudiée (**figure 22**).

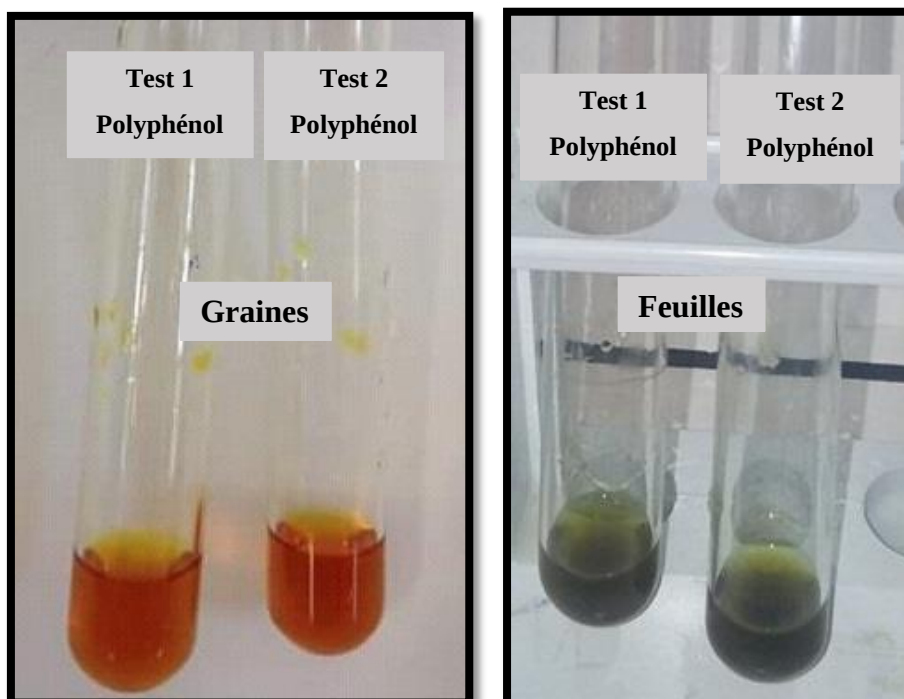


Photo 7 : Résultats de test des alcaloïdes.

2 -4 Anthocyanes

On remarque l'absence des anthocyanes dans les graines, par contre elle est présente avec une teneur élevée dans les feuilles (**figure23**).

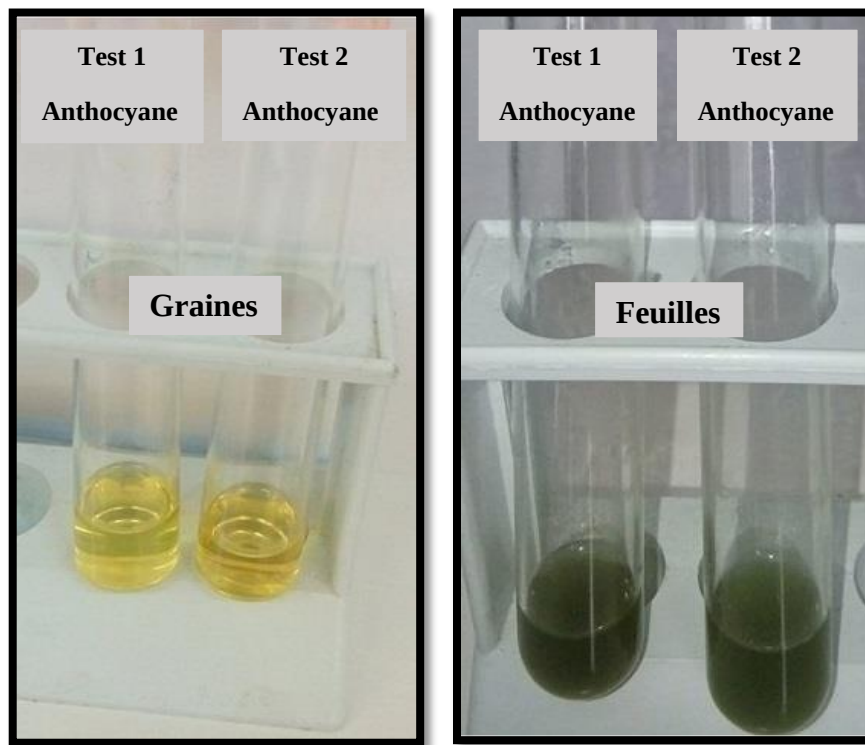


Photo 8 : Résultats de test des anthocyanes.

2 -5 Triterpènes et stéroïdes :

Pour les résultats de test des triterpènes et stéroïdes, nous remarquons l'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge dans les extraits des graines et feuilles.

On remarque que les triterpènes et les stéroïdes sont abondants dans les deux organes de la plante étudiée avec une dominance des graines par rapport aux feuilles (**figure 24**).

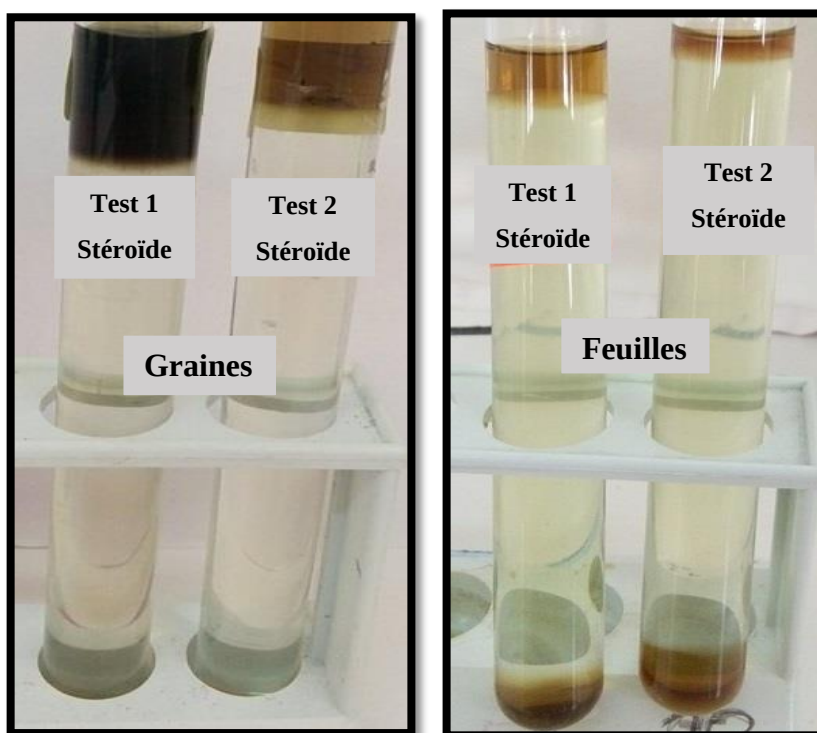


Photo 9 : Résultats de test des triterpènes et stéroïdes.

2 -6 Tanins

On remarque l'apparition d'une couleur verte foncée dans les organes graines et feuilles prouve la présence des tanins, mais la teneur la plus élevée est dans les graines (**figure25**).

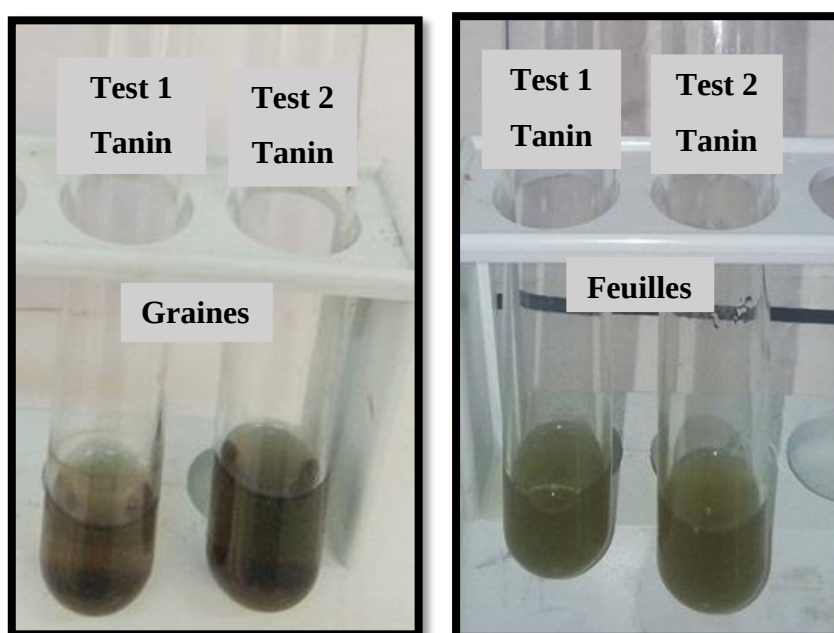


Photo 10 : Résultats de test des tanins.

2 -7 Coumarines

On remarque la présence des fluorescences dans les organes graines et feuilles de la plante étudiée qui signifie la présence des coumarines dans ces dernières.

On a remarqué aussi que la teneur des coumarines est supérieure dans les graines que les feuilles.

2 -8 Quinones libres

Nous remarquons la présence d'une couleur jaune dans les deux organes qui signifie la présence des quinones libres dans nos extraits.

Pour les graines la couleur jaune est plus importante que pour les feuilles c'est-à-dire une teneur plus grande en quinones libres (**figure 26**).

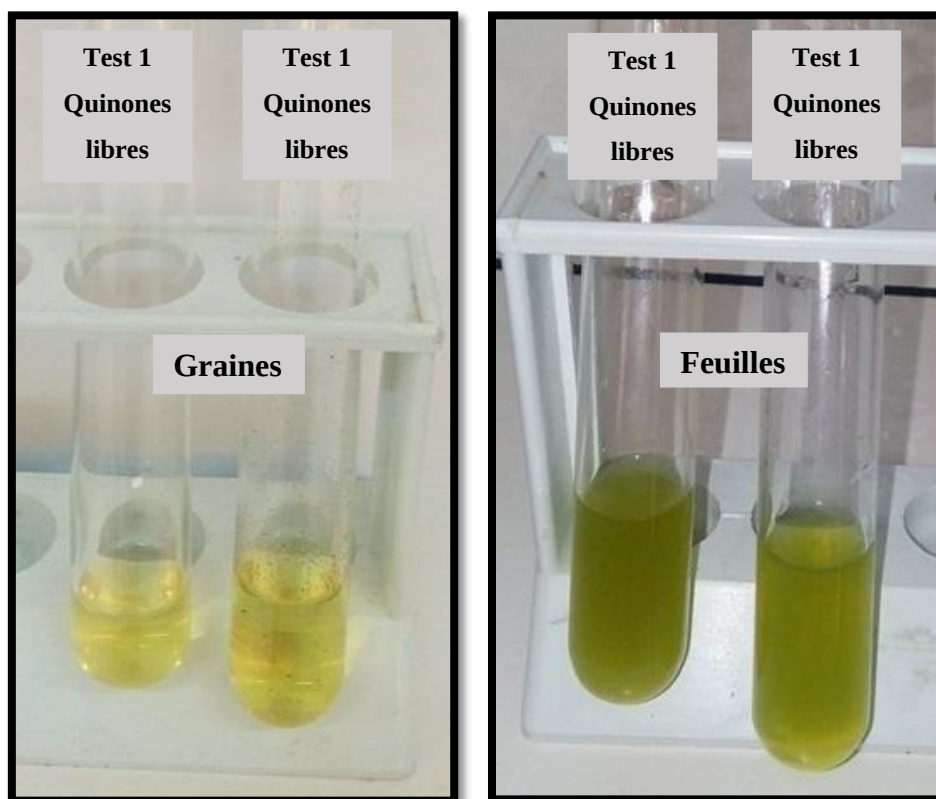


Photo 11 : Résultats de test des quinones libres.

2 -9 Glucosides

Nous avons noté une précipitation d'une couleur rouge brique dans les deux organes de la plante étudiée qui indique la présence des glucosides.

On remarque que la teneur des glucosides dans les graines est plus élevée que les feuilles. **(Figure 27).**

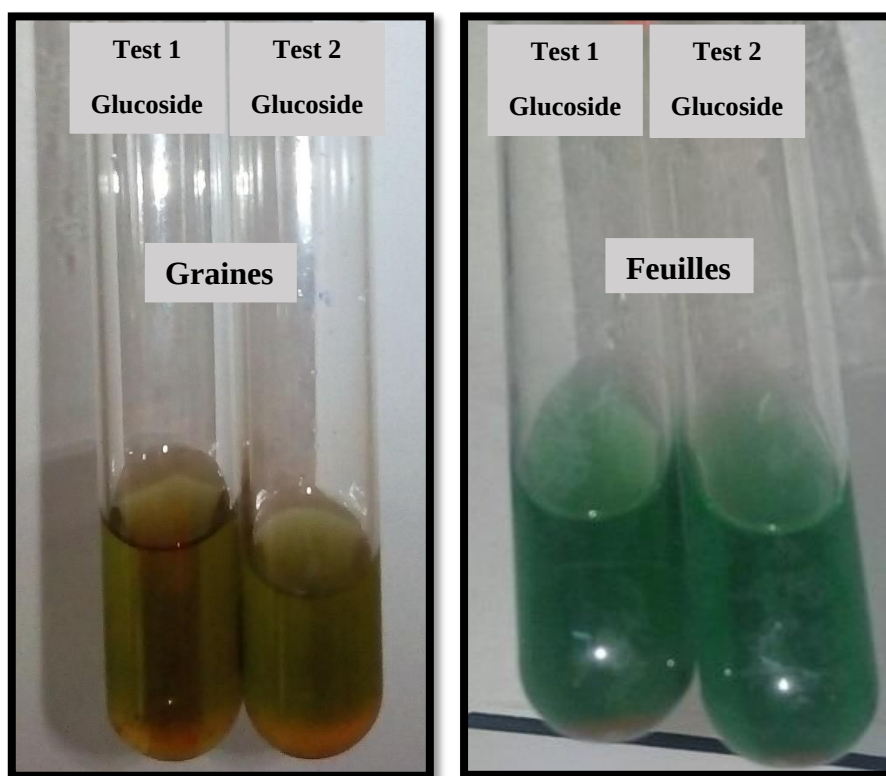


Photo 12 : Résultats de test des glucosides.

2 -10 Anthraquinones

Nous remarquons l'apparition d'un anneau dans les extraits des graines seulement qui signifie la présence des anthraquinones avec une teneur faible **(figure 28).**

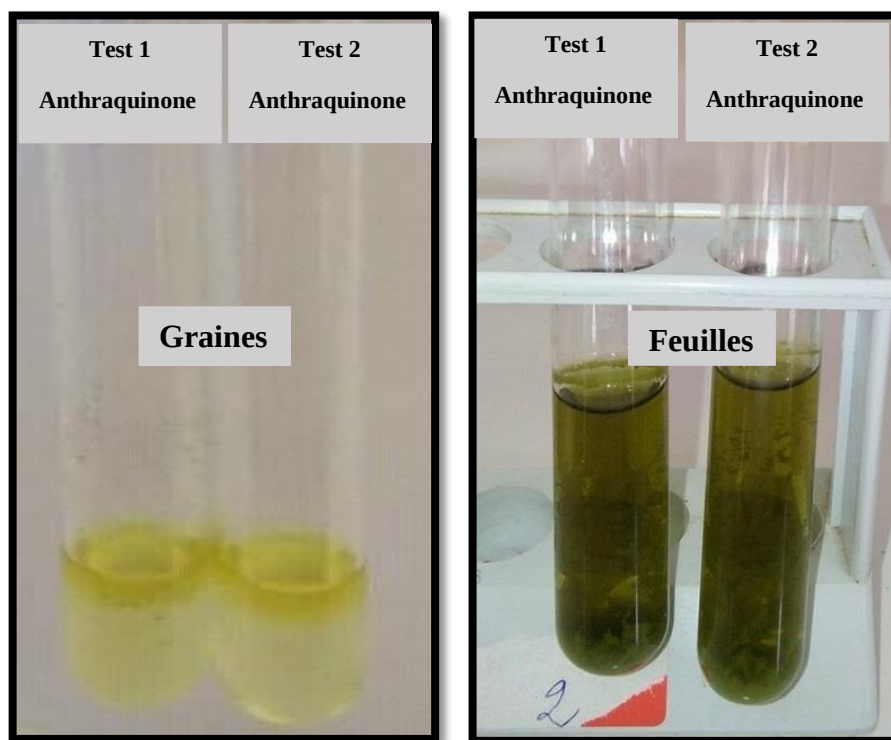


Photo 13 : Résultats de test des anthraquinones.

2 -11 Saponines :

Nous remarquons l'absence de la mousse qui signifie l'absence des saponines dans les deux organes graines feuilles (**figure 29**).

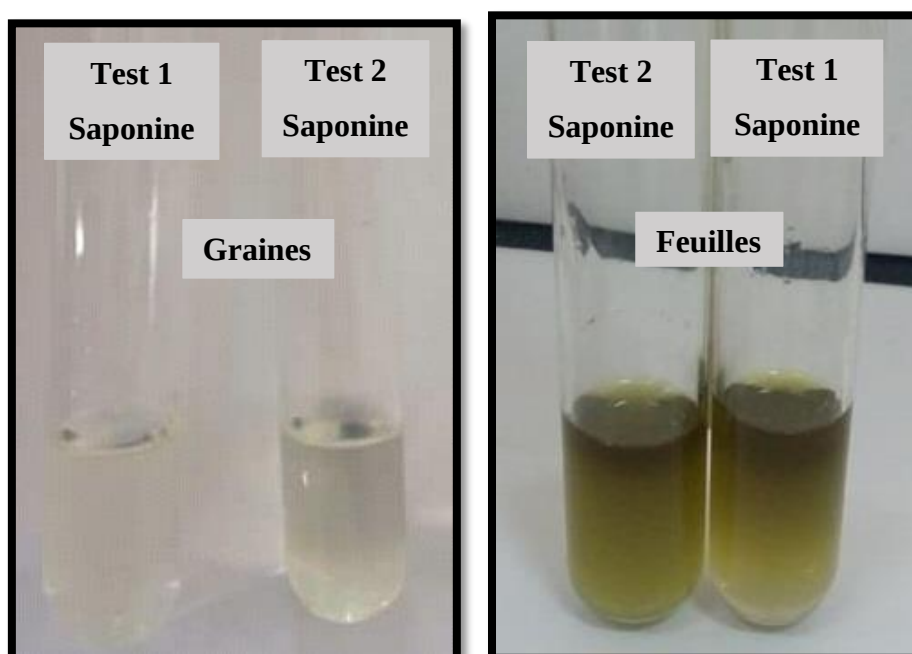


Photo 14 : Résultats de test des saponines.

Le tableau V regroupe les tests phytochimiques des deux organes (graines, feuilles).

Tableau V : Résultats des tests phytochimique sur les extraits des graines et des feuilles de *Centaurea macrocephala*.

	Graines	Feuilles
Polyphénols	++	+++
Alcaloïdes	-	-
Anthocyane	-	++
Anthraquinones	+	-
Coumarines	++	+
Glucosides	++	+
Quinones libres	+++	+
Triterpènes et stéroïdes	+++	++
Tanins	+++	++
Flavonoïdes	+++	+
Saponines	-	-

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

Selon le tableau on peut dire que les graines sont plus riches en métabolites secondaires que les feuilles surtout les polyphénols tanins, coumarines, flavonoïdes.

3- Teneur en phénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux, est déterminée à partir d'équation de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent d'acide gallique par gramme (g) de la matière sèche (**Figure 30**).

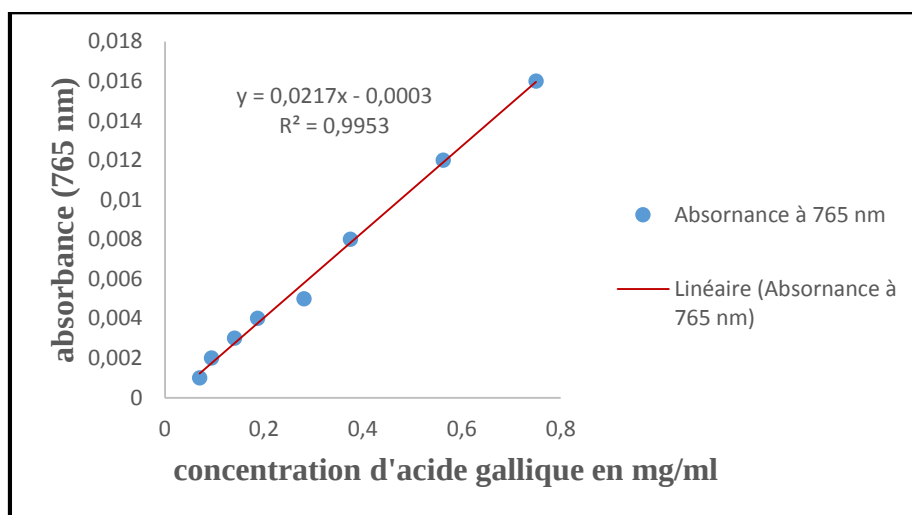


Figure 17 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les résultats obtenus pour les teneurs en phénols totaux dans l'extrait des graines et des feuilles de *Centaurea macrocephala*, regroupés dans le tableau VI.

Tableau VI : Teneur en phénols totaux d'extrait des feuilles.

Organes	Graine	Feuilles	Signification
Teneur en phénols totaux dans (mg EAG/g MS)	40.05 ± 0.97	688.8 ± 0.13	0.000

D'après **Tableau VI**, une différence hautement significative est observée entre la teneur en phénols totaux et les organes de *Centaurea macrocephala* (graines et feuilles).

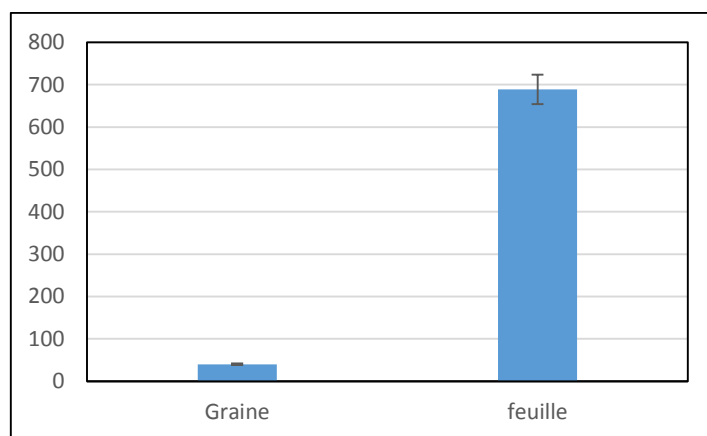


Figure 18 : Teneur en phénols totaux dans les deux organes de la plante étudiée.

Les résultats illustrés par l'histogramme (**figure 31**) montrent que la teneur en polyphénols est supérieure dans les feuilles (688.8 mg EQ/g MS) par contre la teneur inférieure (40.05 mg EQ/g MS) dans les graines.

4 – Discussion :

La teneur en matière extraite est influencée par la méthode de préparation du matériel végétative également la méthode et le solvant utilisé.

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 (**Seidel, 2005 ; Romero, 2004**).

On a préparé les extraits des graines et feuilles de la plante *Centaurea macrocephala* par macération prolongé (cinq jours) à température ambiante par l'éthanol et l'eau distillée.

Selon **Bouabdallah, 2014** qui a réalisé des dosages quantitatifs des polyphénols totaux sur les extraits. Il révèle que l'extrait hydrométhanolique est plus riche par rapport aux autres extraits avec (599.12 mg /100 g), l'extrait hydroacétonique (500.18 mg /100 g), l'extrait aqueux (333.04 mg /100 g. Une autre étude effectuée par (**Salem et Ashok, 2012**) a montré que les extraits éthanoliques plus riche en composés phytochimiques que l'extrait aqueuse et d'autres solvants organiques.

Notre étude a montré la présence 8 familles bioactives comprenant les flavonoïdes, tanins, quinones libres, glucosides, coumarines, anthraquinones (dans les graines), anthocyanes (dans les feuilles), triterpènes et stéroïdes.

Des recherches phytopharmaceutiques sur *Centaurea macrocephala* a montré la présence des lignines dans les graines de cette plante **Shoeb et al., (2004)** .

Le genre *Centaurea* a fait l'objet d'un grand nombre d'études phytochimiques qui ont révélé la présence des lactones sesquiterpéniques (**Fortuna et al., 2001**) flavonoïdes (**Flamini et al., 2000**) alcaloïdes (**Ahmed et al., 1970**) stéroïdes (**Picher et al., 1984**).

Selon **Mouffok et al., (2013)** neuf composés ont été isolés de *Centaurea omphalotricha* comprenant quatre Flavones, Un Flavonol, Deux Triterpènes pentacycliques, deux Stéroïdes

Nos résultats sont très proches aux résultats précédents. L'absence des alcaloïdes peut être justifiée par les différents climats d'où ces plantes ont été prélevées.

Les tanins sont des polyphénols qui ont un effet antioxydant fondamental en plus de cet effet fondamental les tanins possèdent des propriétés anti-tumorales, antivirales et antibactériennes (**Takuo, 2005**).

Les composés terpéniques expriment des effets contre les bactéries (**Cowan, 1999**) et les stérols sont connus à avoir une efficacité à baisser le cholestérol (**Shaghghi et al., 2014**) .

Les flavonoïdes tend que des polyphénols présentent de nombreuses activités : anti oxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes, et prévention des maladies cardiovasculaires. Pharmacologiquement, les aglycones sont particulièrement efficaces. Certains ont des activités hépatoprotectrices, diurétiques, vasodilatatrices, antibactériennes et antiallergiques (**Sharma et al., 2008**).

Selon **Yoon et al., (2002) ; Pawlaczyk et al., (2009)** les composés responsables de l'effet anticoagulant sont les polysaccharides .

L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres d'étude (**Annexe III**) a montré des corrélations positives et négatives. Une corrélation positivement forte a été remarquée entre la teneur en phénols totaux et l'organe qu'il contient ces composés, ce qui signifie le changement en quantité des phénols totaux dans les différents stades végétatifs de la plante.

En conclusion, d'après ces résultats montrant la richesse des graines et feuilles de la plante *Centaurea macrocephala* en certains principes bioactifs, on pourrait déduire qu'ils ont des effets bénéfiques sur la santé tels que : antibactérienne, anticoagulant, antioxydants, et prévention des maladies cardiovasculaires.

II- Activités biologiques :

II-1 Activité antioxydante des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala*

Pour détecter l'activité antioxydante des organes graines et feuilles de notre plante d'étude, nous avons utilisé la méthode de DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle), un radical stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm.

L'évaluation de pouvoir antioxydant de ces organes est présentée dans deux temps différents par les courbes suivantes (**figure 19 et 20**).

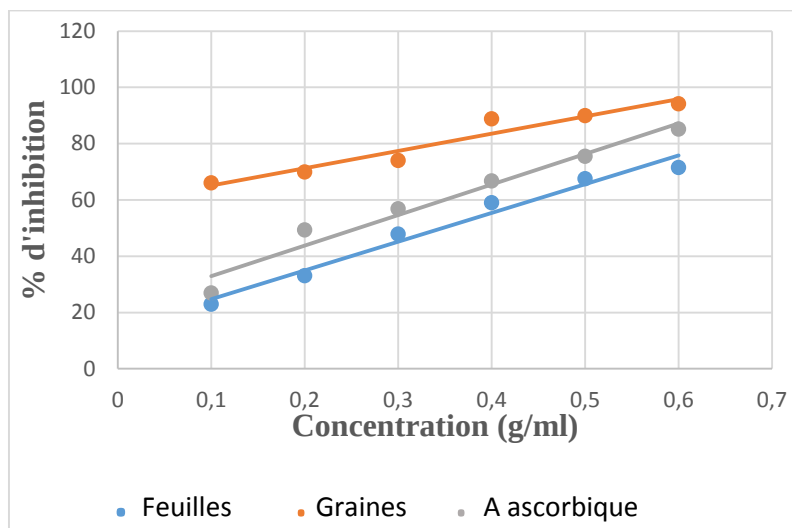


Figure 19 : Pourcentages d'activité antioxydante dans différentes concentrations des extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* et d'acide ascorbique dans le temps 30 min.

Le profil d'activité antioxydant obtenue révèle que les extraits des graines, feuilles de *Centaurea macrocephala* possède une activité antioxydante, elle dépendante de l'organe et la concentration des extraits.

D'après l'analyse des courbes, nous remarquons un pourcentage d'inhibition très élevé d'extrait des graines et élevé dans l'extrait des feuilles par rapport à l'acide ascorbique.

Nous avons remarqué aussi que toutes les pourcentages d'inhibition des graines sont supérieures que celles des feuilles.

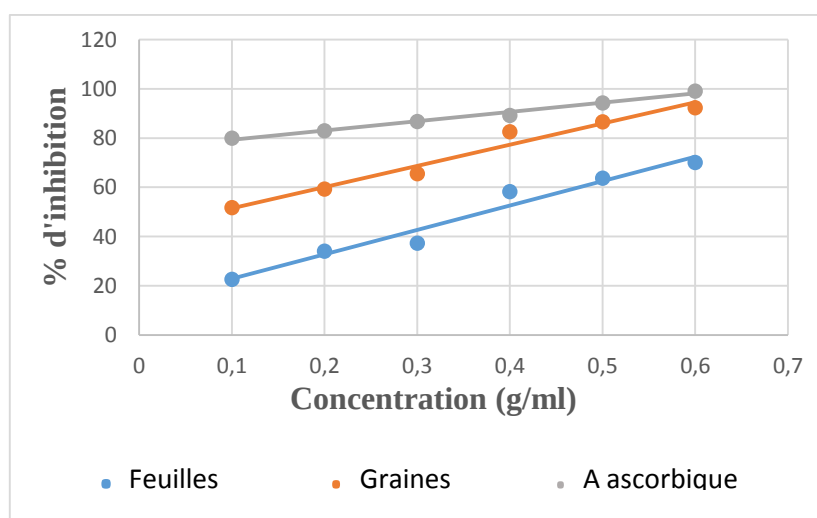


Figure 20 : Pourcentages d'activité antioxydante dans différentes concentrations des extraits des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* et l'acide ascorbique dans le temps 45 min.

D'après l'analyse des courbes nous avons remarqué une diminution des pourcentages d'inhibition des organes graines et feuilles dans le temps 45 min par rapport au temps 30 min.

On note que les pourcentages d'inhibition dans les deux organes des graines et feuilles sont inférieurs à celles de l'acide ascorbique.

On a noté aussi que les pourcentages d'inhibition des graines sont toujours supérieurs à celle des feuilles.

Selon **Molyneux (2004)** L'effet des extraits vis-à-vis du radical DPPH est exprimé par la concentration inhibitrice à 50 % (EC50) qui correspond à la concentration des polyphénols nécessaire pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH .Une EC50 faible représentent l'activité antiradicalaire la plus élevée.

Tableau VII : EC50 d'activité antioxydants dans le temps 30 et 45min.

Organes	EC50 (g/ml) DPPH (temps 30 min)	EC50 (g/ml) DPPH (temps 45 min)
Graines	0.336	0.333
Feuilles	0.316	0.333
Acide ascorbique	0.306	0.366

D'après le **tableau VII**, une comparaison du pouvoir réducteur de ces deux organes dans le temps 30 min montre qu'elles possèdent un effet plus élevé par rapport à l'acide ascorbique.

On note également que l'EC50 marqué par l'extrait des graines est plus élevé que celle des feuilles.

Une comparaison du pouvoir réducteur de ces deux organes dans le temps 45 min montre qu'elles possèdent un effet inférieur que l'acide ascorbique.

On note également que la valeur d'EC50 marqué dans les deux organes est la même (0.33g/ml).

On remarque que l'EC50 marqué par l'extrait des graines dans le temps 30 min et plus important que dans le temps 45 par contre moins important dans les feuilles dans le temps 30 min que dans le temps 45 min.

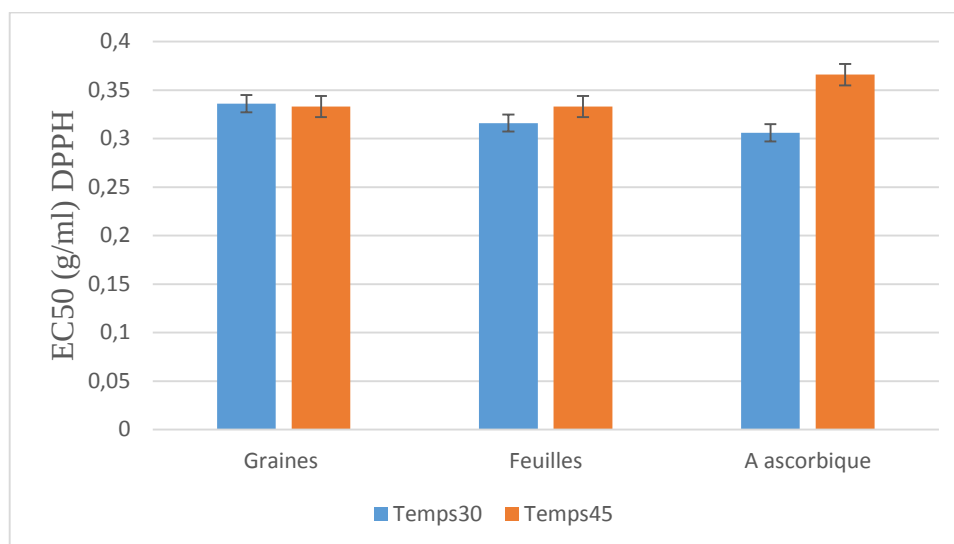


Figure 21 : EC50 marqué des deux organes dans les temps 30 min et 45 min.

D'après les résultats présentés par l'histogramme (**figure 34**), pour le temps 45 min on a noté une diminution d'EC50 par rapport au temps 30 min dans les graines. Par contre on a remarqué une augmentation dans le temps 45 min dans les feuilles par rapport au temps 30 min.

Discussion

Dans cette étude on a utilisé la méthode antioxydante au DPPH pour déterminer le meilleur organe (graine ou feuille) qui possède la capacité des antioxydants la plus importante.

Le test de DPPH est l'un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes (**Laguerre et al., 2007**).

D'après les résultats d'activité antioxydante de chaque organe dans deux temps d'incubation différents (30 min et 45 min). On remarque que l'activité antioxydant en 30 min est la plus élevée par rapport à l'activité antioxydant en 45 min.

L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres d'étude (**Annexe III**) a montré des corrélations positives et négatives. Une corrélation négativement forte a été remarquée entre la concentration de la matière extraite et l'activité antioxydante dans les deux temps (temps 30min et 45min) ce qui signifie une relation entre d'autre substances bioactives et l'activité oxydante.

Ces résultats sont confirmés par les études de **Yi et al., (2008)**, le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux.

L'effet des extraits vis-à-vis du radical DPPH est exprimé par la concentration inhibitrice à 50 % (EC50) qui correspond à la concentration des polyphénols nécessaire pour inhiber ou réduire 50 % de la concentration initiale du DPPH. Une EC50 faible représente l'activité antiradicalaire la plus élevée (Molyneux, 2004).

Les résultats de l'activité antioxydante obtenues dans notre plante sont confirmés par les travaux réalisés sur les plantes : *Centaurea americana* (Shoeb et al., 2006) ; *Centaurea montana* (Shoeb et al., 2005) ; *Centaurea pamphylica* (Shoeb et al., 2007) .

Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/ DPPH) et le profil phénolique en particulier. Cela est confirmé par : Molyneux (2004) ; Bouzide et al., (2011) et Gresele et al., (2011) ce qui confirme nos résultats.

II-2 Activité anticoagulante des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala*

Lors de cette étape, la capacité anticoagulante des différents extraits polyphénoliques des graines et feuilles de *Centaurea macrocephala* 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 ce test classique communément connu sous le nom 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 VIII.

Tableau VIII : Les résultats obtenus pour l'activité anticoagulante.

TQ	C (100%)	C (75%)	C (50%)	C (25%)	Témoin
Graines	25 ± 2.64 ^a	17.33 ± 2.51 ^a	21.33 ± 2.08 ^a	15 ± 2 ^a	13
Feuilles	26 ± 3 ^a	16.33 ± 2.08 ^{1a}	14.66 ± 2.51 ^a	13.66 ± 2.08 ^a	13
Signification	0.687	0.624	0.021	0.469	1

^a : La moyenne des résultats réalisés sur 3 essais ± SD.

D'après **Tableau VIII**, un effet non significative est observée entre la teneur en polyphénols totaux contenu dans les fractions aqueuses des deux organes de *Centaurea macrocephala* (graines et feuilles) et l'activité anticoagulante pour les concentrations 100% et 75%, Une corrélation hautement significative pour la concentration 50% et significative pour la concentration 25%. L'interprétation du tableau est présentée par l'histogramme (**figure 23**).

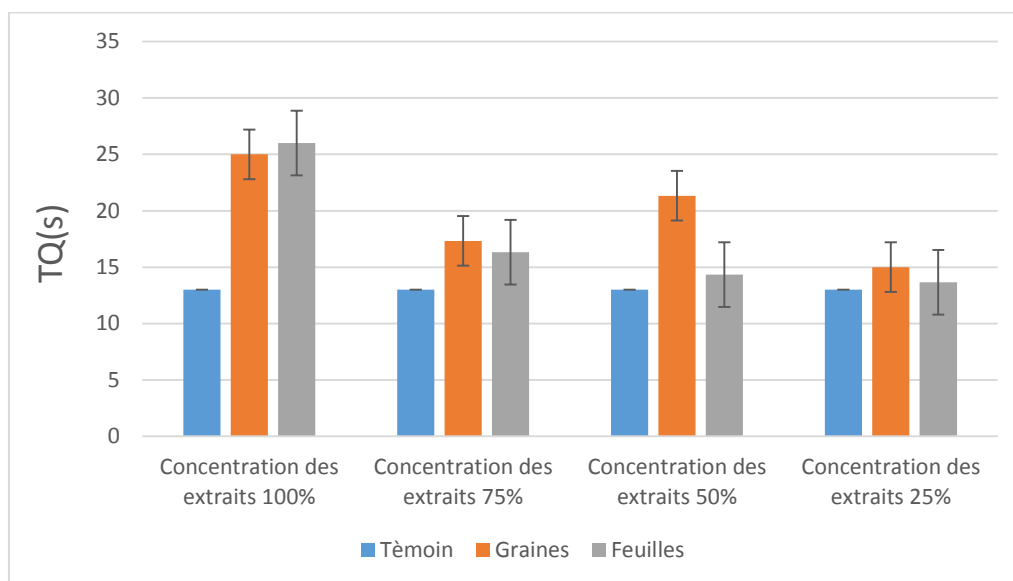


Figure 23 : Effet de concentration des extraits polyphénoliques des graines et feuilles sur le TQ.

Discussion :

D'après les résultats présentés par l'histogramme, on remarque 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.

En présence d'extraits polyphénoliques des graines, on note qu'il y a un allongement remarquable de TQ de l'ordre de 12 s ; 8,33 s pour les concentrations 100% et 50% en comparant à celui du témoin (13 s) et un allongement moins important de TQ de l'ordre de 4,33 s ; 2 s pour les concentrations 75 % et 25 % de l'extrait polyphénoliques.

En présence d'extraits polyphénoliques des feuilles, on note qu'il y a un allongement remarquable de TQ de 13 s pour la concentration 100% en comparant à celui du témoin (13 s) et un allongement moins important de TQ de l'ordre de 3,33 s ; 1,66 s ; 0,66s pour les concentrations 75% ; 50% et 25% de l'extrait polyphénoliques.

On a noté aussi que l'allongement de TQ est plus important dans les graines que les feuilles pour la concentration 100% et moins important pour les concentrations de l'ordre 75% ; 50% ; 25%.

L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres d'étude (**Annexe III**) a montré des corrélations positives et négatives. Une corrélation positivement forte entre la concentration des polyphénols et le TQ pour la concentration 100%, négativement forte pour TQ de concentration 25% et faible pour TQ de concentration 75% et 50%.

Une corrélation négative entre le TQ obtenu dans concentration 100% et l'activité antioxydante des différentes concentrations dans les deux temps différents (temps 30 min et 45 min).

Une corrélation positivement forte entre le TQ obtenu dans concentration 50% avec l'activité antioxydante des différentes concentrations dans les deux temps différents (temps 30 min et 45 min).

Une corrélation faible entre le TQ obtenu dans concentration 75% et 25% avec l'activité antioxydante des différentes concentrations dans les deux temps différents (temps 30 min et 45 min).

Par ailleurs, des études récentes réalisées par **Lemaoui (2011)** concernant l'évaluation de l'activité anticoagulante *in vitro* des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa* L a montré que ces huiles riches en polyphénols peuvent provoquer un prolongement au niveau du temps de coagulation ces études confirment notre résultats vue de la richesse de notre plante en polyphénols .

Il faut signaler la présence de certains composés comme les flavonoïdes (**Sharma et al., 2008**) et tanins (**Takuo, 2005**) résulte une activité antioxydante.

Toutefois, il faut signaler également qu'il y avait d'autres composés doués aussi de cet activité, tels que les peptides (**Mieszczanek et al., 2004**), les glycoprotéines, les coumarines (**Zhou et al., 2009**), quelques tannins (**Bae, 2011**) et les polysaccharides (**Youmbai, 2015**). De ce fait ces études donnent espoir pour le développement des suppléments alimentaires qui contribuent à la prévention des thromboses.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source importante des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de Stress oxydatif et maladies associées, coagulation sanguine qui provoque des maladies thrombotiques.

Dans ce présent travail nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de l'espèce *Centaurea macrocephala*. Les critères du choix de cette plante est dû au fait que le genre *Centaurea* a montré d'une part qu'il est doué d'activités biologiques et d'autre part que c'est un excellent accumulateur de plusieurs molécules bioactifs, également la présence de cette plante dans notre région, elle est bien acclimaté avec nos conditions.

En premier lieu, l'extraction des polyphénols nous a permis de dire que les feuilles de la plante *Centaurea macrocephala* sont plus riches en composés phénoliques que les graines.

Après l'étude phytochimique a montré la présence des flavonoïdes, tanins, quinones libres, glucosides, coumarines, triterpènes et stéroïdes dans les extraits des graines et feuilles étudiées, les anthraquinones sont présent dans les extraits des graines et les anthocyanes que dans extraits des feuilles.

L'évaluation d'activité antioxydante de l'extrait issu de l'espèce *Centaurea macrocephala* selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que les extraits éthanoliques des deux organes les graines et feuilles et surtout les graines possèdent une activité antioxydante modérée (EC50 égale 0,339 mg/ml), cet extrait pourrait donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques et contre les maladies associées du stress oxydatif. Également le meilleur temps du piégeage est le temps 30 min.

L'activité anticoagulante de ces extraits polyphénoliques a été évaluée *in vitro* en utilisant le test de TQ qui affirme que les polyphénols exercent une grande activité anticoagulante sur la voie exogène de la coagulation. En effet, nous avons remarqué que les extraits polyphénoliques des graines présentent une capacité anticoagulante très intéressante avec un temps d'allongements de TQ de 25s et 21.33 en présence d'extraits polyphénoliques des feuilles avec les concentrations 100% et 50% respectivement un temps d'allongement de TQ de 26 s en présence d'extraits polyphénoliques des feuilles avec la concentration 100% .

Une corrélation négative a obtenu entre le TQ obtenu dans concentration 100 % et l'activité antioxydante dans la majorité des concentrations dans les deux temps différents (temps 30min et 45min). Cette corrélation négative est peut être justifiée par la présence des flavonoïdes et tanins) qui donnent une activité antioxydante et les glucosides qui donnent une activité anticoagulante.

Enfin, nous pouvons dire que cette étude parmi plusieurs études est l'une de très peu travaux sur l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité anticoagulante d'extraits polyphénoliques de la plante *Centaurea macrocephala* donc ces résultats importants restent préliminaires et nécessitent d'encourager des études complémentaires et approfondies. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- rechercher directement l'activité antioxydante de l'extrait in vivo pour corréler les résultats observés dans les deux cas (in vivo et in vitro) ;
- Evaluée les autres activités biologiques : antifongique, antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreuse.
- Evaluée l'activité anticoagulante par voie endogène par le test de temps du céphaline-kaolin (TCK) ;

Références bibliographiques

Références

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.
- ❖ **Ahmim M, 2006.** Nature et biodiversité algérienne.
<http://www.biodalgerie.populus.org/rub/7>.
- ❖ **Ahmed Z. F, Hammoud F. M, Rizk A. M, Ismail S. L, 1970.** *Planta Med*, p: 18, 227-231.
- ❖ **Allain P, 2008.** Médicaments et coagulation. Les médicaments, 3ème édition CDM. 500 pp.
- ❖ **Angelos M.G, Kutala.V.K, Torres C.A, Stoner J.D, Oerannan K.2005.** hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation.*AMJ Physiol Heart Circ Physiol*.vol 290 : 341-347.
- ❖ **Anonyme 1, 2017,** [www. Wikipédia.com](http://www.Wikipédia.com).
- ❖ **Anonyme 2,2010.**[https://fr.scribd.com/document/171484757/Exploration Coagulation](https://fr.scribd.com/document/171484757/Exploration%20Coagulation).
- ❖ **Anonyme3,2017.**http://www.sanoficardiovasculaire.tn/web/maladies_cardiovasculaires/infarctus_myocarde/mieux_comprendre_la_maladie.
- ❖ **Athukorala Y, Lee K.W, Kim S.K, Jeon Y.J., 2007.** Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea.*Bioresource Technology*, 98. P: 1711 - 1716.

B

- ❖ **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(3). P: 281-283.
- ❖ **Bae, J. 2011.** Antithrombotic and profibrinolytic activities of phloroglucinol. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1572 - 1577.
- ❖ **Beloued A, 1998.** Etymologie des noms de plantes du bassin méditerranéen. Édition : Office des publications universitaires. p : 22.

- ❖ **Bentamène A, Benayache S, Crèche J, Petit G, Bermejo J, Leon F, Benayache F., 2005.** A new guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Centaurea acaulis* L. (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* p : 33, 1061-1065.
- ❖ **Benwqhi K, 2001.** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon dactylon* L chiendent, mémoire de magister. Université d'Ouargla. P : 15 - 17.
- ❖ **Berendes J. 1902.** Des Pedianos Diaskurides aus Anazarbos Arzneimittellehre, Stuttgart. Réédité par Dr. Martin Sandig. Wiesbaden 1970. p : 90.
- ❖ **Bernard, D et collaborateurs. 2004.** Médecine vasculaire. deuxième édition, p : 498.
- ❖ **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 (caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2): P 217-225.
- ❖ **Booth N.L, Dejan N, Richard B, Stoci E., 2004.** New lanthanide complexes of four methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. P : 50, 120-123.
- ❖ **Bouabdallah A, 2014.** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europaea sylvestris*). Mémoire de Master en biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen. P : 48
- ❖ **Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M.C et Ayachi A., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits de *L'Aubepine Monogyne*. Lebanese. *Science Journal*, 12 (1) : p 59 - 69.
- ❖ **Bruneton J, 1993.** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC, Paris. 2ème édition. P : 15.
- ❖ **Bruneton J, 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Edition. Lavoisier. Paris, p : 274-285.
- ❖ **Bruneton J, (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, Lavoisier, Paris.
- ❖ **Burt S, 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology*, 94: 223-253.

C

- ❖ **Carnoy A, 1959.** Dictionnaire étymologique des noms grecs de plantes. Bibliothèque du Muséon Louvain. 46, p : 70.

- ❖ **Catherine K, George D.G, Helen, S., 2006.** A simulation study of the interaction of sulfhydryl nucleophiles with several antifungal sesquiterpene lactones isolated from Greek *Centaurea* sp, Journal of Molecular Structure, 759, 215–224.
- ❖ **Cavalli, J.F, 2002.** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone 13 d’huiles essentielles de Madagascar, Thèse Université de Corse Pascal Paoli.
- ❖ **Caquet R, 2004.** 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation. 9ème Ed, Masson. Paris, p: 388-389.
- ❖ **Chahnez Sanaa, 2012.** Effet de l’Irradiation sur les propriétés antioxydante, antimicrobiennes et cytoprotectrices de l’écorce de *Punica granatum*, Mémoire de master professionnel en sécurité sanitaire des aliments, université de Carthage, page : 43.
- ❖ **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.
- ❖ **Chen C.N, Weng M.S, Wu C.L, Lin J.K., 2004.** Comparison of Radical Scavenging Activity, Cytotoxic Effects and Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Taiwanese Propolis from Different Sources. CAM. 1(2), 175-185.
- ❖ **Crete P, 1965.** Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2, 429.

D

- ❖ **Diagne M, 1998.** Contrôle biologique du traitement anticoagulant (chez 100 malades recrutés à la clinique cardiologique de l’hôpital Aristide le Dantec). Thèse de doctorat. Université cheikh Anta Diop de Dakar. P : 3.
- ❖ **Decourcelle P, 2009.** Les anticoagulants : mise au point en 2009. Thèse de doctorat. Université Henri Poincare - Nancy 1. P : 23
- ❖ **Demange C, Disandro I, Coince F., 1999.** Observation des prescriptions des héparines de bas poids moléculaire en médecine. Journal of Pharmacie Clinique ; 18(2) ; 156 - 160.

E

- ❖ **K.A Esra, A Reyhan, E Fatma, Y Erdem., 2009.** Sesquiterpene lactones with antinociceptive and antipyretic activity from two *Centaurea* species, Journal of Ethnopharmacology: 122, 210 - 215.

F

- ❖ **Flamini G, Bulleri C, Bulleri C, Morelli I , Manunta A., 2000.** A New Flavonoid Glycoside from *Centaurea horrida*, J. Nat. Prod., 63, 622- 663.
- ❖ **Fleuriet A, Jay-Allemand C, Macheix J., 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique, Presses polytechniques et universitaires romandes. 121-216.
- ❖ **Fortuna A. M, Riscala E.C, Catalan C.A.N, Gedris T.E, Herz W. 2001.** Sesquiterpene Lactones from *Centaurea Tweediei*, Biochemical Systematics and Ecology, 29, 967-971.
- ❖ **Fressinaude et Meyer D, 1994.** Maladie de Willebrand, Editions techniques, Encyclopédie Médico-chirurgicale, (Paris- France), Hématologie p : 9.

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 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.
- ❖ **Gerhard R, 1993.** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. *Lavoisier Tec and Doc*, 333-339.
- ❖ **Gosselin J, Barrelier MT, Derlon A, 1995.** Pour une meilleure utilisation des méthodes physiques de prévention des thromboses veineuses profondes des membres. *Phlébologie ; 48(3) : 371 - 375.*
- ❖ **Gousiadou C, Skaltsa H, 2003.** Biochemical Systematics and Ecology, 31, 389-396.
- ❖ **Girondon E, Ganzengel C, Ghanem N, Gossen M, 1995.** Aspect moléculaire des hémophilies, Encyclopédie Médico-chirurgicale (Paris, France), Hématologie, F.a 13. 021- B -10 ,8p.
- ❖ **Gresele P, Cerletti C, Guglielmini G, Pignatelli P, De Gaetano G et Violi F, 2011.**
- ❖ **Guilin M.C, 1985.** La coagulation : physiologie et exploration, Encyclopédie Médicochirurgicale, (Paris, France), Sang, 13000 C 404, 8p.
- ❖ **Gustafsson D, Bylund R, Antonsson T, Nilsson I, Nyström J.E, Eriksson U., 2004.** A new oral anticoagulant: the 50-year challenge. *Nat Rev Drug Discov*, p 49 - 59.
- ❖ **Guignard J.L, 1994.** Abrégé botanique, 9ème édition, 203-204.

H

- ❖ **Hall I.H, Lee K.H, Mar E.C, Starnes C.O, Wadell T.G., 1977.** Antitumor agents.21. A proposed mechanism for inhibition of cancer growth by tenulin and helenalin and related cyclopentenones. *J. Med. Chem.* 20, 333– 337.
- ❖ **Harborne J.B, 1989.** Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* P 85-109.
- ❖ **Harborne J.B, 1998.** *Phytochemical Methods: A guide to modern technics of plant Analysis* 3e Ed: Chapman and hill. P 303.
- ❖ **Harborne J.B. and Williams C.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*.55 : 481-504.
- ❖ **Hellwig F.H, 2004.** Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean - history of ecogeographical radiation. *Plant Syst. Evol*, 246: 137-162.
- ❖ **Hesse M, 2002 .**Alkaloids: Nature’s Curse of Blessing? ; Ed: Wiley-VCH; p: 1-12.
- ❖ **Hermans C, Dessomme B, Lambert C, Deneys V., 2006.** Venous malformations and Coagulopathy. *Annales de chirurgie Plastique Esthétique*, 51: 388 - 393.

I

- ❖ **Ikram Atti, 2014.** Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d’un mélange d’épices « Ras el hanout », Mémoire de master en Biochimie, université kasdi Marbah - Ouargla.

J

- ❖ **Judd W.S, Campbell C.S, Kellogg E.A, Stevens P., 2002.** *Botanique Systématique : une perspective phylogénétique* ; Ed 1 : Deboeck ; p : 84 - 336.
- ❖ **Joseph, E. 1998.** *Maladie des vaisseaux*, 379 pages.
- ❖ **Julies A; Christin M, 2002.** Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and Safety. *Annual Review of Nutrition*; 22: 19 - 44.

K

- ❖ **Kamanzi K, Raynaud J, Voirin B., 1983.** The C-glycosyl flavonoids from flowers of *Centaurea malitensis*. *Plantes Médicinales et Phytothérapie* 17, 47–51.
- ❖ **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.
- ❖ **Kaguelidou F, 2012.** Anticoagulants, Antiagrégants plaquettaires. P: 1.

- ❖ **Kose Y.B, İçsan G, Demirci B, Başer K.H.C, Celik S., 2007.** Antimicrobial activity of the essential oil of *Centaurea aladagensis* *Fitoterapia*, 78, 253 - 254.
- ❖ **Kalemba D et Kunicka A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813 - 829.
- ❖ **Kueny-Stotz M, Chassaing S, Brouillard R, Nielsen M, Goeldner M. 2008.** Flavylium salts as in vitro precursors of potent ligands to brain GABA-A receptors. *Bioorg Med Chem Lett*; 18:4864 - 4867.
- ❖ **Kupchen S.M, Eakin M.A, Thomas, A.M., 1971.** Structure cytotoxicity relationship among the sesquiterpen lactones, *J of Med Chem*, 14, 1147- 1152.
- ❖ **Kuresh A, Youdim A, Jeremy P.E, Spencer, Hangen S, Rice-Evans C., 2002.** *Dietary Larousse*, p 767.

L

- ❖ **Ladhem Nour El Houda, 2016.** Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux de *Tetraclinis articulata* (Thuya de Berbérie), Mémoire de master en Sciences des aliments, Université-Abou Bakr Belkaid - Tlemcen.
- ❖ **Laguerre M, Lopez-Giraldo L, Lecomte J, Pina M, Villeneuve P., 2007** .utiles d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Oxford College of London*, 14 (5) : 278-292.
- ❖ **Lamarti A, Badoc A, Deffieux J, Carde J., 1994.** Biogenèse des monoterpènes. *Journal de pharmacologie*, 13 : p 69-118.
- ❖ **Lemaoui Afaf, 2011.** Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa*.L Algérienne. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. 72 pp.
- ❖ **Lemaoui Afaf, 2010.** Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa*.L algérienne, Mémoire de magister en biochimie, université Ferhat Abbes - Sétif, p 19.
- ❖ **Leitão G.G, Leitão S. G, Vilegac W., 2002.** Quick Preparative Separation of Natural Naphthopyranones with Antioxidant Activity by High-Speed Counter-Current Chromatography. *Z. Naturforsch*, 57, 1051-1055.
- ❖ **Lee H.J, Kim N.Y, Son H.J, Kim K.M, Sohn D.H, Lee S.H, Ryu J.H., 1999.** A sesquiterpene, dehydrocostus lactone, inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase and TNF-alpha in LPS-activated macrophages. *Planta Med.*65, 104 - 108.

M

- ❖ **Mabberley D.J, 1987.** The Plant Book, 110, Cambridge University Press.
- ❖ **Masso J.L, Bertran M, Adzet T., 1979.** Contribution to the chemical and pharmacological study of some species of *Centaurea*, Plant Med. Phytother, 13, 41 - 45.
- ❖ **Macheix J.J, Fleuriet A, Jay-Allemand. C, 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p 4 - 5.
- ❖ **Matthew TR, Robert CP, Michelle W, 2007.** The treatment of venous thromboembolism in special populations. Thrombosis Research; 119(4): 391- 402.
- ❖ **Mieszczanek J, Harrison L. M, Vlasuk G.P, Cappello M., 2004.** Anticoagulant peptides from *Ancylostoma caninum* are immunologically distinct and localize to separate structures within the adult hookworm. *Molecular et Biochemical Parasitology*, 133, 319 - 323.
- ❖ **Mohammad S, Sezgin C, Marcel J, Yashodharan K, Stephen M.M, Lutfun N., Paul K.T, Satyajit D.S., 2005.** Isolation, structure elucidation and bioactivity of schischkiniin, a unique indole alkaloid from the seeds of *Centaurea schischkini*, Tetrahedron, 61, 9001–9006.
- ❖ **Mourad Boudjouref, 2011.** Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L, Mémoire de magister en Biochimie, Université Ferhat Abbes de Sétif.
- ❖ **Moufida Adjadj, 2009.** propriétés antioxydante et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Ajuga iva* (L) Schreber, Mémoire de magister en biologie, Université Mentouri Constantine.
- ❖ **Mouffok Soumia, Haba Hamada, Catherine Lavaud, 2012.** Christophe Long et Benkhalel Mohammed, Rec. Nat. Prod. 6 (3), 292-295.
- ❖ **Molyneux P, 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26 (2), 211-219.
- ❖ **Murry R.D.H., Mendez J., Brown S. A., 1982.** The natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England, 702.

N

- ❖ **Nathalie Chahine, 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique, thèse de doctorat en Physiopathologie, l'Université de Reims Champagne-Ardenne et l'Université Libanaise. Pages : 11,14.

O

- ❖ **Ozenda P, 2004.** Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. CNRS Edit.
- ❖ **Omulokoli E., Khan B. and Chhabra S.C., 1997.**Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants J. Ethnopharmacology; 56, 133-137.
- ❖ **Orallo F, Lamela M , Camiña M, Uriate E , Calleja J. M., 1998.** Preliminary Study of the Potential Vasodilator Effects on Rat Aorta of Centaurein and Centaureidin, Two Flavonoids from *Centaurea corcubionensis*, Planta Medica, 64(2): 116-119.
- ❖ **Oloyede O.I, 2005.** Chemical profile of Unripe Pulp of Carica papaya. Pak J Nutr; 4. P 379 - 381.
- ❖ **Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1957.** In Asselah F, 2007. Bases anatomo-pathologiques des maladies.

P

- ❖ **Privas E, 2013.** Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. 166 p.
- ❖ **Pibiri M.C, 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, 177 p.
- ❖ **Picher M.T, Seon E, and Tortadjada A, 1984.** *Phytochemistry*, 23 (9); 1995-1998.
- ❖ **Pawlaczyk I, Czerchawski L, Kuliczowski W, Karolko B, Pilecki W, Witkiewicz W, Gancarz R ., 2011.** Anticoagulant and anti-platelet activity of polyphenolic polysaccharide preparation isolated from the medicinal plant *Erigeron Canadensis* *thrombosis Research*, 127: 328 - 340.

Q

- ❖ **Quezel. P and Santa. S, 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques.

R

- ❖ **Romero C, Brenes M, García P, García A, Garrido A., 2004.** Polyphenol changes during fermentation of naturally black olives. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (7): P 1973-1979.

- ❖ **Ribereau-Gayou J.B, 1968.** The phenolic compounds of vegetals, Edition Dunod, Paris

S

- ❖ **Sarni-Manchado P et Cheynier V, 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398.
- ❖ **Salem E et Ashok K, 2012 .**Preliminary Phytochemical and Antibacterial studies of *Olea europaea* and *Polygonum maritimum* Libyan Plants. (IJSR) 2319-7064: 3-358.
- ❖ **Scalbert A, Williamson G, 2000.** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition. Vol. (130): 2073-2085.
- ❖ **Silva S, Gomes L, Leitão F, Coelho A.V, Vilas Boas., 2005.** Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Apartado 12–2780–901 Oeiras, Portugal, ISSN: 1082-0132.
- ❖ **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.
- ❖ **Shaghghi M.A, Harding S.V, Jones P. J. H., 2014.** Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. Journal of functional foods, 6: P 280 - 289.
- ❖ **Sharma B, Viswanath G, Salunke R, Roy P., 2008.** Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* L. Food Chem. 110, 697-705.
- ❖ **Shoeb M, Celik S, Jaspars M, Kumarasamy Y, MacManus S. M, Nahar L, Paul K. T, Sarker S. D., 2005.** Montamine, a unique dimeric indole alkaloid, from the seeds of *Centaurea montana* (Asteraceae), and it is *in vitro* cytotoxic activity against the CaCo2 colon cancer cells, *Tetrahedron* 61, 9001 - 9006.
- ❖ **Shoeb M, Rahman R, Nahar L, Delazar A, Jaspars M, Macmanus M, Sarker S.,2004.** Bioactive Lignans from the Seeds of *Centaurea macrocephala*, DARU, p: 87-93.

T

- ❖ **Trease G. F, Evans W. C., 1983.** Pharmacognosy, 225, 514, Bailliére, Tindall, London, Philadelphia, Toronto, Mexico City, Rio De Janero, Tokyo, Hong Kong.
- ❖ **Taniguchi M, Kataoka T, Suzuki H, Uramoto M, Ando M, Arao K, Magae J, Nishimura T, Otake N, Nagai K., 1995.** Costunolide and dehydrocostus lactone as inhibitors of killing function of cytotoxic T lymphocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 59, 2064–2067.

- ❖ **Tamboura B, 2001.** Intérêt du bilan standard d'hémostase dans les examens préopératoires de chirurgie orthopédique et traumatique, Thèse Pharmacie, Bamako, 13, 33 p.
- ❖ **Trease G.E et Evans W.C, 1989.** A textbook of Pharmacognosy, Bacilluere Tinal, London.
- ❖ **Takuo O, 2005.** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. US National Library of medicine, P: 2012 - 2031.
- ❖ **Tripodi A, 2009.** Tests of Coagulation in Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 13: 55-61.

V

- ❖ **Vasse M, 2007.** Exploration d'exploration de la coagulation la coagulation plasmatique.

W

- ❖ **Wai K.H, Graeme J.H, Clindy H.L., 2002.** Venous thromboembolism: diagnosis and management of deep venous thrombosis. *The Medical Journal of Australia*, 182(9): 476-481

Y

- ❖ **Yesilada E, 2002.** *Biodiversity in Turkish Folk Medicine*. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, UK, pp. 119–135.
- ❖ **Yemeda Ladoh, S.D. Dibong , M.A. Nyegue, R.P Djembissi Talla, B.Lenta Ndjakou, E.Mpondo, J.Yinyang, J.D.Wansi., 2014.** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*, *Journal of Applied Biosciences*, ISSN 1997–5902, page : 7637.
- ❖ **Yoon S. J. Pereira M. S, Pavao M. S.G, Hwang J.K, Pyun Y.R, Mourao, P.A.S., 2002.** The medicinal plant *Porana volubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II. *Thrombosis Research*, 106:51- 58.
- ❖ **Yi Z, Yan Y, Liang Y, Zeng B., 2008.** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. *LWT*, 41: 597-603
- ❖ **Zhou H.Y, Hong J.L, Shu P, Juan Ni Y, Qin M. J ., 2009.** A new coumarin and anticoagulant activity from *Viola yedoensis* Makino. *Fitoterapia*, 80: 283–285.

Annexe

Annexe I : Matériel de laboratoire

Tableau I : le matériel de laboratoire

Verreries et matériel en plastique	Solvants
- Pipettes	- éthanol C_2H_6O
- Micro pipette (1000 μ l, 200 μ l)	- L'eau distillée
- Tubes à essai	- Acide chlorhydrique(HCl)
- Flacons (250 ml)	- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Erlenmeyer	- chloroforme
- Papier aluminium	- Chlorure de fer ($FeCl_3$)
- Béchers	- Hydroxyde l'ammonium (NH_4OH)
- Spatule	- Acide sulfurique (H_2SO_4)
- Anse de platine	- Folin-Ciocalteu
- Entonnoir	- Acide gallique
- Parafilm	- DPPH
- Tube en plastiques citratés	
- Eprouvette	

➤ Réactifs utilisés

- Réactif de Wagner

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.

- Réactif de Liqueur de Fehling

- Réactif de thromboplastine

➤ Appareillage :



PH mètre



Balance de précision



Agitateur



Bain marie



Centrifugeuse



Chambre UV



Spectrophotomètre

Annexe II : L'analyse de la variance pour les caractères quantitatifs.

ONEWY TQ CONCENTRATION 100% BY ORGANE

/MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
TQ pour concentration 100%	Inter-groupes	1.500	1	1.500	0.188	0.687
	Intra-groupes	32.000	4	8.000		
	Total	33.500	5			

ONEWY TQ CONCENTRATION 75% BY ORGANE

/MISSING ANALYSIS

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
TQ pour concentration 75%	Inter-groupes	1.500	1	1.500	0.281	0.624
	Intra-groupes	21.333	4	5.333		
	Total	22.833	5			

ONEWY TQ CONCENTRATION 50% BY ORGANE

/MISSING ANALYSIS

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
TQ pour concentration 50%	Inter-groupes	73.500	1	73.500	13.781	0.021
	Intra-groupes	21.333	4	5.333		
	Total	94.833	5			

ONEWY TQ CONCENTRATION 100% BY ORGANE
/MISSING ANALYSIS

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
TQ pour concentration 25%	Inter-groupes	2.667	1	2.667	0.640	0.469
	Intra-groupes	16.667	4	4.167		
	Total	19.333	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 30 MIN CONCENTRATION 0.1g/ml BY ORGANE
/MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 30min C = 0.1ml	Inter-groupes	2783.830	1	2783.830	416.218	0.000
	Intra-groupes	26.754	4	6.688		
	Total	2810.583	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 30 MIN CONCENTRATION 0.2g/ml BY ORGANE
/MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 30min C = 0.2 ml	Inter-groupes	2043.522	1	2043.522	493.414	0.000
	Intra-groupes	16.566	4	4.142		
	Total	2060.086	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 30 MIN CONCENTRATION 0.3g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 30min C = 0.3 ml	Inter-groupes	1027.303	1	1027.303	95.931	0.001
	Intra-groupes	42.835	4	10.709		
	Total	1070.138	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 30 MIN CONCENTRATION 0.4g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 30min C = 0.4 ml	Inter-groupes	1333.849	1	1333.849	212.432	0.000
	Intra-groupes	25.116	4	6.279		
	Total	1358.964	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 30 MIN CONCENTRATION 0.5g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 30min C = 0.5 ml	Inter-groupes	749.284	1	749.284	138.142	0.000
	Intra-groupes	21.696	4	5.424		
	Total	770.980	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 30 MIN CONCENTRATION 0.6g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 30min C = 0.6 ml	Inter-groupes	279.484	1	279.484	25.702	0.007
	Intra-groupes	43.496	4	10.874		
	Total	322.980	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 45 MIN CONCENTRATION 0.1g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.1 ml	Inter-groupes	1276.333	1	1276.333	295.065	0.000
	Intra-groupes	17.302	4	4.326		
	Total	1293.636	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 45 MIN CONCENTRATION 0.2 g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.2 ml	Inter-groupes	1037.535	1	1037.535	193.379	0.000
	Intra-groupes	21.461	4	5.365		
	Total	1058.996	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 45 MIN CONCENTRATION 0.3 g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.3 ml	Inter-groupes	1203.034	1	1203.034	236.343	0.000
	Intra-groupes	20.361	4	5.090		
	Total	1223.394	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 45 MIN CONCENTRATION 0.4 g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.4 ml	Inter-groupes	881.366	1	881.366	180.623	0.000
	Intra-groupes	19.518	4	4.880		
	Total	900.885	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 45 MIN CONCENTRATION 0.5 g/ml BY ORGANE /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.5 ml	Inter-groupes	765.236	1	765.236	66.012	0.001
	Intra-groupes	46.370	4	11.592		
	Total	811.606	5			

ONEWY ANTIOXIDANT ACTIVITY TIME 45 MIN CONCENTRATION 0.6 g/ml BY ORGANE
/MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.6 ml	Inter-groupes	742.594	1	742.594	337.558	0.000
	Intra-groupes	8.800	4	2.200		
	Total	751.393	5			

ONEWY POLPH BY ORGANE
/MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	signification
Polyphénols	Inter-groupes	1385.632	1	1385.632	2890.246	0.000
	Intra-groupes	1.918	4	0.479		
	Total	1387.550	5			

Annexe III : Matrice de corrélation entre les caractères quantitatifs.

		Organe	TQ pour concentration 100%	TQ pour concentration 75%	TQ pour concentration 50%	TQ pour concentration 25%
TQ pour concentration 100%	Corrélation de Pearson Sig N	0.212 0.687 6	1 6	0.127 0.811 6	-0.275 0.598 6	0.079 0.882 6
TQ pour concentration 75%	Corrélation de Pearson Sig N	-0.256 0.624 6	0.127 0.811 6	1 6	0.512 0.299 6	0.111 0.834 6
TQ pour concentration 50%	Corrélation de Pearson Sig N	-0.880 0.21 6	-0.275 0.598 6	0.512 0.299 6	1 6	0.031 0.953 6
TQ pour concentration 25%	Corrélation de Pearson Sig N	-0.371 0.469 6	0.079 0.882 6	0.111 0.834 6	0.031 0.953 6	1 6

		Organe	TQ1AZIZ	TQ2AZIZ	TQ3AZIZ	TQ4AZIZ
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.1 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.995 0.000 6	-0.194 0.713 6	0.311 0.548 6	0.875 0.022 6	0.388 0.447 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.996 0.000 6	-0.145 0.784 6	0.249 0.634 6	0.846 0.034 6	0.420 0.408 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.980 0.001 6	-0.119 0.823 6	0.127 0.810 6	0.793 0.060 6	0.378 0.459 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.991 0.000 6	-0.147 0.781 6	0.264 0.613 6	0.857 0.029 6	0.352 0.494 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.986 0.000 6	-0.123 0.816 6	0.249 0.634 6	0.861 0.028 6	0.305 0.557 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.6 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.930 0.007 6	0.052 0.921 6	0.037 0.944 6	0.720 0.107 6	0.362 0.480 6
Activité antioxydante temps 45min C = 0.1 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.993 0.000 6	-0.139 0.793 6	0.196 0.709 6	0.831 0.041 6	0.401 0.431 6
Activité antioxydante temps 45min C = 0.2 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.990 0.000 6	-0.214 0.684 6	0.279 0.593 6	0.927 0.008 6	0.262 0.616 6
Activité antioxydante temps 45min C = 0.3 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.992 0.000 6	-0.168 0.750 6	0.289 0.579 6	0.842 0.035 6	0.439 0.383 6
Activité antioxydante temps 45min C = 0.4 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.989 0.000 6	-0.127 0.811 6	0.368 0.472 6	0.882 0.020 6	0.400 0.433 6
Activité antioxydante temps 45min C = 0.5 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.971 0.001 6	-0.074 0.889 6	0.371 0.469 6	0.886 0.019 6	0.288 0.579 6
Activité antioxydante temps 45min C = 0.6 ml	Corrélation de Pearson Sig N	-0.994 0.000 6	-0.176 0.739 6	0.271 0.604 6	0.910 0.012 6	0.293 0.574 6

		polyphénols
Organe	Corrélation de Pearson	0.999
	Sig	0.000
	N	6

		Activité antioxydante temps 30 min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.6 ml
TQ pour concentration 100%	Corrélation de Pearson Sig N	-0.194 0.713 6	-0.145 0.784 6	-0.119 0.823 6	-0.147 0.781 6	-0.123 0.816 6	0.52 0.921 6
TQ pour concentration 75%	Corrélation de Pearson Sig N	0.311 0.548 6	0.249 0.634 6	0.127 0.810 6	0.264 0.613 6	0.249 0.634 6	0.037 0.944 6
TQ pour concentration 50%	Corrélation de Pearson Sig N	0.875 0.022 6	0.846 0.034 6	0.793 0.060 6	0.857 0.029 6	0.861 0.08 6	0.720 0.107 6
TQ pour concentration 25%	Corrélation de Pearson Sig N	0.388 0.447 6	0.420 0.408 6	0.378 0.459 6	0.352 0.494 6	0.305 0.557 6	0.362 0.480 6

		Activité antioxydante temps 30 min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Activité antioxydan te temps 30 min C = 0.6 ml
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.1 ml	Corrélation de Pearson Sig N	1 6	0.995 0.000 6	0.976 0.001 6	0.995 0.000 6	0.989 0.000 6	0.916 0.010 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.995 0.000 6	1 6	0.988 0.000 6	0.994 0.000 6	0.989 0.000 6	0.948 0.004 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.976 0.001 6	0.988 0.000 6	1 6	0.988 0.000 6	0.988 0.000 6	0.974 0.001 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.995 0.000 6	0.994 0.000 6	0.988 0.000 6	1 6	0.998 0.000 6	0.941 0.005 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.989 0.000 6	0.989 0.000 6	0.988 0.000 6	0.998 0.000 6	1 6	0.948 0.004 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.6 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.916 0.010 6	0.948 0.004 6	0.974 0.001 6	0.941 0.005 6	0.948 0.004 6	1 6

		Activité antioxydante temps 30 min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Activité antioxydan te temps 30 min C = 0.6 ml
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.1 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.989 0.000 6	0.998 0.000 6	0.995 0.000 6	0.993 0.000 6	0.990 0.000 6	0.962 0.002 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.2 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.978 0.001 6	0.977 0.001 6	0.958 0.003 6	0.974 0.001 6	0.975 0.001 6	0.915 0.010 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.3 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.998 0.000 6	0.996 0.000 6	0.981 0.001 6	0.994 0.000 6	0.986 0.000 6	0.925 0.008 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.4 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.996 0.000 6	0.992 0.000 6	0.967 0.002 6	0.991 0.000 6	0.985 0.000 6	0.914 0.011 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.5 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.983 0.000 6	0.975 0.001 6	0.962 0.002 6	0.989 0.000 6	0.991 0.000 6	0.915 0.010 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.6 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.985 0.000 6	0.987 0.000 6	0.971 0.001 6	0.984 0.000 6	0.985 0.000 6	0.933 0.007 6

		Activité antioxydante temps 45 min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.5 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.6 ml
TQ pour concentration 100%	Corrélation de Pearson Sig N	-0.139 0.793 6	-0.214 0.684 6	-0.168 0.750 6	-0.127 0.811 6	-0.074 0.889 6	-0.176 0.739 6
TQ pour concentration 75 %	Corrélation de Pearson Sig N	0.196 0.709 6	0.279 0.593 6	0.289 0.579 6	0.368 0.472 6	0.371 0.469 6	0.271 0.604 6
TQ pour concentration 50%	Corrélation de Pearson Sig N	0.831 0.041 6	0.927 0.008 6	0.842 0.035 6	0.882 0.020 6	0.886 0.019 6	0.910 0.012 6
TQ pour concentration 25%	Corrélation de Pearson Sig N	0.401 0.431 6	0.262 0.616 6	0.439 0.383 6	0.400 0.433 6	0.021 0.969 6	0.121 0.819 6

		Activité antioxydante temps 45 min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.5 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.6 ml
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.1 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.989 0.000 6	0.978 0.001 6	0.998 0.000 6	0.996 0.000 6	0.983 0.000 6	0.985 0.000 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.998 0.000 6	0.977 0.001 6	0.996 0.000 6	0.992 0.000 6	0.975 0.001 6	0.987 0.000 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.995 0.000 6	0.958 0.003 6	0.981 0.001 6	0.967 0.002 6	0.962 0.002 6	0.971 0.001 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.993 0.000 6	0.974 0.001 6	0.994 0.000 6	0.991 0.000 6	0.989 0.000 6	0.984 0.000 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.990 0.000 6	0.975 0.001 6	0.986 0.000 6	0.985 0.000 6	0.991 0.000 6	0.985 0.000 6
Activité antioxydante temps 30 min C = 0.6 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.962 0.002 6	0.915 0.010 6	0.925 0.008 6	0.914 0.011 6	0.915 0.010 6	0.933 0.007 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.1 ml	Corrélation de Pearson Sig N	1 6	0.975 0.001 6	0.992 0.000 6	0.984 0.000 6	0.970 0.001 6	0.985 0.000 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.2 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.975 0.001 6	1 6	0.966 0.002 6	0.975 0.001 6	0.964 0.002 6	0.998 0.000 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.3 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.992 0.000 6	0.966 0.002 6	1 6	0.994 0.000 6	0.911 0.001 6	0.977 0.001 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.4 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.984 0.000 6	0.975 0.001 6	0.994 0.000 6	1 6	0.988 0.000 6	0.983 0.000 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.5 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.970 0.001 6	0.964 0.002 6	0.977 0.001 6	0.988 0.000 6	1 6	0.974 0.001 6
Activité antioxydante temps 45 min C = 0.6 ml	Corrélation de Pearson Sig N	0.985 0.000 6	0.998 0.000 6	0.977 0.001 6	0.983 0.000 6	0.974 0.001 6	1 6

		Activité antioxydante temps 30min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.5 ml	Activité antioxydante temps 30 min C = 0.6 ml
POLY	Corrélation de Pearson Sig N	-0.389 0.446 6	-0.995 0.00 6	0.994 0.000 6	-0.976 0.001 6	-0.988 0.000 6	0.022 0.967 6

		Activité antioxydante temps 45 min C = 0.1 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.2 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.3 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.4 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.5 ml	Activité antioxydante temps 45 min C = 0.6 ml
POLY	Corrélation de Pearson Sig N	-0.991 0.000 6	-0.987 0.000 6	-0.992 0.000 6	-0.987 0.000 6	-0.965 0.002 6	-0.990 0.000 6

		TQ pour Concentration 100%	TQ pour Concentration 75%	TQ pour Concentration 50%	TQ pour Concentration 25%
Polyphénols	Corrélation de Pearson Sig N	0.999 0.000 6	0.238 0.650 6	-0.257 0.623 6	-0.877 0.022 6

Résumé

L'objectif de notre travail est voir différents familles bioactives existants dans la plante *Centaurea macrocephala* puis l'évaluation de pouvoir antioxydant et anticoagulant d'extraits obtenus des graines et feuilles prélevées de la région Mechtat Seraghna wilaya Mila (Algérie).

L'extrait éthanoliques brut a été obtenu par une macération avec un rendement de 49.4 % dans les graines et 38.2 % dans les feuilles.

L'étude de la teneur en polyphénols totaux est effectuée par le test de Folin-Ciocalteu.

Les différents tests de screening phytochimique utilisées dans notre expérimentation ont permis la détection de plusieurs molécules bioactives : flavonoïdes ; tanins ; quinones libres ; glucosides ; coumarines ; anthraquinones ; triterpènes et stéroïdes.

Le pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques a été évalué in vitro par le test du DPPH, les résultats obtenus, il ressort que les deux extraits (graines et feuilles) ont une capacité importante de piéger le radical DPPH avec EC 50 égale 0.336 mg/ml dans les graines et 0.316 mg/ml dans les feuilles.

L'activité anticoagulante des extraits de *Centaurea macrocephala* a été également évaluée in vitro en utilisant le test, taux de prothrombine (TQ), les résultats obtenus sur un plasma chez normal en présence de l'un des deux extraits indiquent qu'elles exercent une activité anticoagulante très importante sur la voie exogène de la coagulation.

Mots clés : antioxydant, anticoagulant, *Centaurea macrocephala*, extrait éthanolique, métabolites secondaires

Abstract :

The objective of our work is to see different bioactive families existing in the plant *Centaurea macrocephala* then the evaluation of antioxidant and anticoagulant capacity of the extract obtained from seeds and leaves of *Centaurea macrocephala* taken from Mechtat Seraghna, State of Mila (Algeria).

The crude ethanol extract was obtained by maceration with a yield of 49.4% in the seeds and 38.2% in the leaves.

Study of the total polyphenol content is carried out by the Folin-Ciocalteu test.

The different phytochemical screening tests used in our experiment allowed the detection of several bioactive molecules: flavonoids; tannins; free quinones; glucosides; coumarins; anthraquinones; triterpenes and steroids.

The antioxidant power of ethanolic extracts was evaluated in vitro by the DPPH test, the results obtained, it appears that the two extracts (seeds and leaves) have a significant capacity to trap the radical DPPH with EC 50 equal 0.336 mg / ml in seeds and 0.316 mg / ml in the leaves.

The anticoagulant activity of extracts of *Centaurea macrocephala* was also evaluated in vitro using prothrombin test (TQ), the results obtained on a normal plasma in presence of the extract indicate that they exert a very important anticoagulant activity on the exogenous pathway of coagulation.

Key words: antioxidant, anticoagulant, *Centaurea macrocephala*, ethanolic extract, secondary metabolites.

الملخص

تهدف دراستنا إلى الاطلاع على مختلف الأسر النشطة بيولوجيا الموجودة في نبتة قنطريون ثم تقييم القدرة المضادة للأكسدة والمضادة للتخثر الدموي لمستخلصات بذور وأوراق القنطريون المستخلصة من مشتة السراغنة بولاية ميله.

تم التحصل على مستخلصي الايثانول الخام من البذور والاوراق باستخدام طريقة النقع بعائد قدره 49.4 % في البذور و 38.2 % في الأوراق.

تم دراسة محتوى البوليفينول الكلي بواسطة اختبار Folin-Ciocalteu.

سمحت اختبارات الفرز الكيميائي المختلفة المستخدمة في تجربتنا بالكشف عن العديد من الجزيئات النشطة بيولوجيا: فلافونويدات. عفصيات. كينونات حرة جليكوسيدات. الكومارينات. أنثراكوينونات. ثربينات ثلاثية وستيرويدات.

تم تقييم القوة المضادة للأكسدة من مستخلصي الايثانول في المختبر عن طريق اختبار DPPH، ومن الواضح من خلال النتائج المحصل عليها أن كلا من المستخلصين (بذور وأوراق) لديهما قدرة عالية على اعتراض جذر DPPH بحيث EC_{50} تساوي 0.336 ملغ / مل في البذور و 0.316 ملغ / مل في الأوراق.

تم تقييم النشاط المضاد للتخثر للمستخلصين المتحصل عليهما من نبتة قنطريون أيضا في المختبر باستخدام اختبارات وقت البروثرومبين (TQ)، ونتائج بلازما عادية في وجود أحد المستخلصين مستخلص تشير إلى أنها تؤدي نشاطا مانع للتجلط مهم جدا على المسار الخارجي للتخثر.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة، مضادات التخثر، نبات القنطريون، مستخلص إيثانولي، ايض ثانوي.