



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريبيج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Intitulé :

**Etude phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de *Cistus albidus***

## Présenté par :

CHARIFI Oumelkheir, FITAS Amira & ILIKTI Karima

Soutenu le 24/06/2023, Devant le Jury :

**Président :** Mme. BOUMERFEG Sabah

**Professeur**

Université de B.B.A.

**Encadreur :** M. BELLIK Yuva

**Professeur**

Université de B.B.A.

**Examineur :** Mme. BENOUADAH Zohra

**MCB**

Université de B.B.A.

Année universitaire : 2022/2023

## **Remerciements**

Avant toute chose, nous remercions **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience d'achever cette réalisation.

Nous exprimons nos profondes gratitudee à nos parents pour leurs soutiens, leurs encouragements et pour les sacrifices qu'ils ont endurés.

Toutes nos gratitudee s'adressent au **Pr. BOUMERFEG Sabah** qui nous a fait l'honneur d'évaluer ce travail et de présider le jury

Nous avons eu le privilège d'être parmi l'équipe du **Pr. BELLIK Yuva**, à qui nous adressons nos sincères remerciements pour avoir accepté de nous encadrer, nous le remercions d'abord pour l'attention qu'il nous a accordée à la direction, ainsi que pour ses judicieux conseils constructifs, son dévouement et sa disponibilité tout au long de ce travail et surtout pour ces encouragements, qui nous ont été d'une précieuse aide. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

Nous remercions aussi **Dr. BENOUADAH Zohra** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire. Nous leurs adressons nos respectueux remerciements.

On exprime nos profondes reconnaissances aux responsables du laboratoire.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs, nos enseignants et toutes les personnes qui ont contribué à notre formation tout au long de notre chemin d'étude.

Nos remerciements vont enfin à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

## Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

**À ma très chère mère**, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

**À mon cher père**, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

**À mes chères sœurs** : Meriem et Assia.

**À mes chers frères** : Zakaria et Moncef.

**À toute ma famille**, source d'espoir et de motivation.

**À tous les enseignants** qui m'ont guidé durant les 5 ans passés.

**À tous les personnes** qui m'ont aidé et compulsé ce modeste travail.

Enfin, je remercie mes chères collègues : Amira et Karima qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.

*Oum elkheir*

## Dédicaces

À **DIEU** Tout-puissant, Merci de m'avoir tout donné pour réussir dans la vie.  
Je dédie ce modeste travail, tout d'abord à ma mère (Meriem), la flamme de ma vie, à celle  
qui a tout fait pour ma réussite, pour sa douceur, sa présence, ses sacrifices et ses  
encouragements.

À **mon père**(Abdelhamid), le premier homme de ma vie, la lumière qui m'a toujours guidé  
vers le bon chemin, mon exemple éternel, et source de joie et de bonheur, celui qui s'est  
toujours sacrifié pour me voir réussir.

À **mon cher frère** Abd Raouf mon bras droit qu'Allah me le protège.

À **mes chers collègues** Karima et Oumelkheir pour les soutiens moraux et les bons moments.

À **mes chères cousines** Lilia, Milissa, Sidra, Meriem, Nour.

À **mes chères amies** Malak, Wissem, Walae.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous  
dis Mercie énormément.

*Amira*

## Dédicaces

Du profond de mon cœur et avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce travail a ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leurs exprimer mon amour sincère.

**A mon cher père...**Décidé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, j'aurais tant aimé que tu me vois en ce jour. Tu m'as quitté avant que je puisse t'exprimer l'amour, la gratitude et le respect que j'ai pour toi. Je suis fière de toi vivant et mort et je resterai fière et reconnaissante à DIEU de m'avoir créé ta fille, une fille pour le meilleur père du monde. Tous les mots sont insuffisants pour exprimer ce que je ressens. Tu es une bénédiction du DIEU et tu es revenu vers lui, paix à ton âme.

**A ma chère mère ...**A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Que DIEU le tout puissant te garde, t'accorde la santé le bonheur et une longue vie à mes côtés.

**A mes chers frères...** mon cher Hacen paix ton âme tu es le symbole de la bonté et personne ne peut te remplacer, tu as laissé un grand vide dans notre vie.

A mes chers Kamel, Wahab, Brahim, Moussa, Sofiane, Hamza, Samir et Ayoub. Vous êtes la lumière de ma vie, je remercie DIEU jour et nuit de vous avoir dans ma vie je vois dans chaqu'un de vous une partie de mon père. Merci d'être toujours à mes côtés que DIEU vous garde pour moi.

**A mes chères sœurs ...**Dalila, Souad, Hayet et Sarah. Quoi que je dise je ne saurais pas vous expliquer ce que vous êtes pour moi, vous êtes la vie pour moi et une partie de mon cœur, merci d'être là pour moi. Que DIEU nous garde unies toujours.

**A mes chères nièces ...**Meriem, Warda, Fatima, Asma, Meriem, Aya, Rania, Amina, Takoua, Souhila, Chaima et Maroua. Vous êtes les fleurs de la famille.

**A mes chers neveux ...**Oussama, Marwan, Adam, Daoud, Omar, Yaakoub, Aissa, Ishak, Nouh, Souleymane et Mohammed. Je vous aime mes adorables.

**A mes chères belles sœurs** Nora, Hakima, Hassina, Karima, Oum elaz, Marjolaine, Narimane et **mes chers beaux-frères** Abd elrezak et Farhet merci pour votre encouragement.

### **A toute la famille ILIKTI**

**A mes chères** Oumeima, Asma et Asma qui m'ont appris le vrai sens de l'amitié et comment donner sans attendre une chose en retour merci pour illuminer ma vie.

**A mes chères collègues** Amira et Oum elkheir qui ont partagé ce travail avec moi.

A toutes les personnes que je porte dans mon cœur.

## Sommaire

Liste des figures

Liste des abréviations

<b>I. Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>II. Matériel et méthodes .....</b>	<b>03</b>
<b>II.1 Matériel .....</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1 Matériel végétal .....</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1.1 Description botanique .....</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1.2 Répartition géographique .....</b>	<b>04</b>
<b>II.1.1.3 Classification botanique .....</b>	<b>05</b>
<b>II.2 Méthodes.....</b>	<b>05</b>
<b>II.2.1 Séchage .....</b>	<b>05</b>
<b>II.2.2 Broyage et tamisage.....</b>	<b>05</b>
<b>II.2.3 Analyses physico-chimiques.....</b>	<b>06</b>
<b>II.2.3.1 Détermination du taux d'humidité .....</b>	<b>06</b>
<b>II.2.3.1.1 Teneur en eau .....</b>	<b>06</b>
<b>II.2.3.1.2 Humidité de la poudre (H%) .....</b>	<b>07</b>
<b>II.2.3.2 Détermination du taux de cendre (Tc%) .....</b>	<b>07</b>
<b>II.2.4 Etude phytochimique .....</b>	<b>08</b>
<b>II.2.4.1 Préparation des extraits .....</b>	<b>08</b>
<b>II.2.4.2 Calcul du rendement .....</b>	<b>08</b>
<b>II.2.4.3 Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>08</b>
<b>II.2.4.4 Dosage des flavonoïdes .....</b>	<b>09</b>
<b>II.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante .....</b>	<b>09</b>
<b>II.2.5.1 Activité anti-radicalaire .....</b>	<b>09</b>
<b>II.2.5.2 Pouvoir réducteur.....</b>	<b>10</b>
<b>II.2.5.3 Capacité antioxydante totale.....</b>	<b>10</b>
<b>II.2.6 Analyse statistique.....</b>	<b>11</b>
<b>III. Résultats et discussion .....</b>	<b>12</b>

<b>III.1 Résultats et discussion de l'étude physicochimique.....</b>	<b>12</b>
<b>III.1.1 Teneur en eau.....</b>	<b>12</b>
<b>III.1.2 Taux d'humidité.....</b>	<b>12</b>
<b>III.1.3 Taux de cendre.....</b>	<b>13</b>
<b>III.2 Résultats et discussion de l'étude phytochimique.....</b>	<b>14</b>
<b>III.2.1 Rendements d'extraction.....</b>	<b>14</b>
<b>III.2.2 Teneurs en polyphénols totaux.....</b>	<b>15</b>
<b>III.2.3 Teneurs en flavonoïdes totaux.....</b>	<b>16</b>
<b>III.3 Résultats et discussion de l'activité antioxydante.....</b>	<b>17</b>
<b>III.3.1 Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH.....</b>	<b>18</b>
<b>III.3.2 Pouvoir réducteur.....</b>	<b>19</b>
<b>III.3.3 Capacité antioxydante totale.....</b>	<b>20</b>
<b>IV. Conclusion.....</b>	<b>22</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Photographie originale de <i>Cistus albidus</i> .....	03
<b>Figure 2:</b> Images montrant la partie aérienne (fruit, feuilles, tige et fleurs) de <i>Cistus albidus</i> . .....	04
<b>Figure 3:</b> Répartition géographique des plantes Cistaceae. ....	04
<b>Figure 4:</b> Structure de <i>Cistus albidus</i> .....	05
<b>Figure 5:</b> Opération de séchage. ....	05
<b>Figure 6:</b> Opération de tamisage.....	06
<b>Figure 7:</b> Teneur en eau des feuilles fraîches de <i>Cistus albidus</i> .....	12
<b>Figure 8:</b> Taux d'humidité de la poudre de <i>Cistus albidus</i> . ....	13
<b>Figure 9:</b> Taux de cendre de <i>Cistus albidus</i> . ....	14
<b>Figure 10:</b> Histogramme montrant le rendement d'extraction de <i>Cistus albidus</i> en fonction du solvant. ....	14
<b>Figure 11:</b> Histogramme montrant les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Cistus albidus</i> . ....	15
<b>Figure 12:</b> Histogramme montrant les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits de <i>Cistus albidus</i> . ....	17
<b>Figure 13:</b> Histogramme montrant l'activité scavenger des différents extraits de <i>Cistus albidus</i> à l'égard du radical DPPH.....	18
<b>Figure 14:</b> Histogramme montrant le pouvoir réducteur des extraits de <i>Cistus albidus</i> .....	19
<b>Figure 15:</b> Histogramme montrant l'activité antioxydante totale des extraits de <i>Cistus albidus</i> . .....	20



**Liste des abréviations**

**Abs** : Absorbance.

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.

**AOAC** : Association des Chimistes analytiques officiels (Association of Official Analytical Chemists).

**CAT** : Capacité antioxydante totale.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**EAA** : Equivalent acide ascorbique.

**EAG** : Equivalent acide gallique.

**EC** : Equivalent catéchine.

**EQ** : Equivalent quercétine.

**ES** : Extrait sec.

**EXT** : Extrait.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique.

**h** : Heure.

**H%** : Humidité en pourcentage.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50 %.

**K<sub>3</sub>Fe(CN) 6** : Ferricyanure de potassium.

**min** : Minute.

**M** : Molarité (1mol/l).

**nm** : Nanomètre.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**P** : Poids.

## Liste des abréviations

**pH** : Potentiel d'hydrogène.

**TCA** : Acide trichloroacétique.

# **Introduction**

### I. Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme a souvent recouru à la nature pour subvenir à ses besoins de base (nourriture, abris, ...) et particulièrement ses besoins médicaux (**Hossain, 2019**). La grande majorité des pays en voie de développement (80 %) utilise les plantes médicinales à des fins thérapeutiques (**Miara et al., 2019**).

Une plante médicinale est une plante dont un de ses organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise (**Jean, 2010**). L'utilisation des plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les civilisations les plus anciennes et encore bien conservée depuis de nombreux siècles partout dans le monde (**Bouasla et Bouasla, 2017**). En effet, ces plantes constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaire et leurs subsistances. De nos jours, les études ethnopharmacologiques explorant les médecines traditionnelles à base de plantes représentent une approche alternative intéressante pour la découverte de nouvelles substances médicamenteuses en raison de leurs bonnes propriétés pharmacologiques, l'absence (ou moins) d'effets secondaires et leur utilisation à moindre coût (**Sayah et al., 2017 ; Taïbi et al., 2021**). Par ailleurs, le développement d'outils analytiques de plus en plus performants au cours des dernières décennies a permis une grande avancée dans l'identification des métabolites secondaires (**Chohra et al., 2020**).

L'Algérie est réputée pour sa richesse en plantes médicinales en raison de son long littoral méditerranéen et de son espace géographique très particulier. Sa flore comporte plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques, alors que le reste est très peu exploré sur le plan phytochimique et pharmacologique. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique fondamental dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais aussi un intérêt scientifique appliqué dans le domaine de la valorisation des substances naturelles (**Bouزيد et al., 2017**).

Parmi les espèces de plantes à intérêt thérapeutique, l'espèce *Cistus albidus* qui appartient à la famille des Cistacée qui sont des plantes herbacées vivaces composés de 8 genres et environ 175 espèces (**Fadel et al., 2020**).

*Cistus albidus* est un arbuste largement répandu dans le bassin méditerranéen (**Qa'dan et al., 2003**). Il est connu pour ses propriétés antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires (**Fadel et al., 2020**). C'est aussi un préventif contre les maladies cardiovasculaires. Malgré sa pléthore d'utilisation pour le traitement de diverses maladies, il n'a suscité jusqu'à présent que très peu d'intérêt scientifique, notamment en Algérie (**Bendifallah et al., 2012**). La décoction des feuilles est utilisée pour le traitement hypoglycémiant et des douleurs gastriques. En cataplasme, les feuilles sont utilisées pour traiter les abcès (**Lahsissene et al., 2009**). De plus les feuilles infusées dans du thé sont utilisées comme digestif (**Bammi et Douira, 2002**).

C'est dans cet objectif de valorisation du patrimoine végétal local que s'inscrit notre travail de recherche et qui consiste en :

- L'analyse physicochimique de la plante (détermination du taux d'humidité, taux de cendre, et de la teneur en eau)
- L'extraction des substances actives par différents solvants (méthanol, éthanol, acétone et l'eau distillée).
- Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes des différents extraits de la plante.
- L'évaluation des propriétés antioxydantes *in vitro* des différents extraits à travers différents tests : l'activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur, et la capacité antioxydante totale (CAT).

# Matériel et Méthodes

## II. Matériel et méthodes

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Cistus albidus*, récoltées le 6 mars 2023 au niveau de la région d'El Mansoura, Wilaya de Borj Bou-Arreidj (**Fig. 1**). L'échantillonnage est effectué dans un endroit éloigné afin de réduire au minimum les risques de pollution liés aux activités humaines et industrielles.



**Figure 1** : Photographie originale de *Cistus albidus*.

##### II.1.1.1. Description botanique

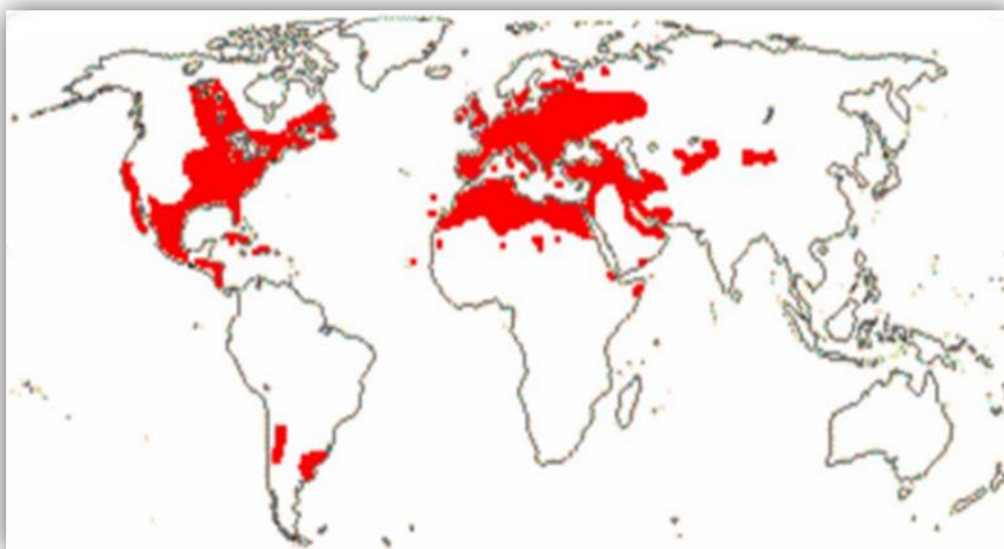
L'espèce *Cistus albidus*, ou Ciste cotonneux, à faible odeur, se présente sous forme d'arbuste de 40cm à 1m de hauteur. Les feuilles d'un beau gris duveteux sont sessiles, semi embarrassantes, ovales oblongues, opposées et très velues sur les deux côtés. Les fleurs de 4 à 6cm de long, d'un rose vif et brillant sont pédonculées et en ombelle au sommet des rameaux. Les sépales, au nombre de 5 sont largement ovales, acuminés et velus. Les pétales, deux à trois fois plus longs que le calice, ont un aspect plissé. Le fruit quant à lui, se présente sous forme de capsule ovoïde à 5 loges, velu, plus court que le calice. *Cistus albidus* dont la période de floraison va de mai à juin, pousse dans les garrigues et sur les coteaux surtout calcaires (**Fig. 2**). On le retrouve aux quatre coins méditerranéens : Sardaigne, Italie, Portugal et Algérie (**Julien, 2005**).



**Figure 2 :** Images montrant la partie aérienne (fruit, feuilles, tige et fleurs) de *Cistus albidus*. (<https://www.quelleestcetteplante.fr/>)

### II.1.1.2 Répartition géographique

*C. albidus* est un petit arbuste persistant distribué principalement dans les endroits arides (0 à 1400 m d'altitude) y compris l'Algérie (**Fadel et al., 2020**). Le genre *Cistus* est très représenté dans cette zone géographique étant distribué des îles Canaries aux montagnes du Caucase, avec une abondance particulière dans la zone méditerranéenne occidentale (**Fig. 3**). Il est présent, selon les conditions climatiques et pédologiques, dans la péninsule ibérique, les îles Canaries, le nord-ouest de l'Afrique, la Grèce et la Turquie (**Bechlaghem et al., 2019**).



**Figure 3 :** Répartition géographique des plantes cistacées (**Laraoui, 2016**).



### II.1.1.3. Classification botanique

Selon MNHN et OFB (2003), la classification de *C. albidus* est la suivante :

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Viridiplantae,
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Diléniidées
- Ordre : Violales
- Famille : Cistacées
- Genre : *Cistus*
- Espèce : *Cistus albidus* L



Figure 4 : Structure de *Cistus albidus*.

(<https://gardenatlas.net/>)

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Séchage

Les feuilles de *Cistus albidus* ont été séchées pendant 15 jours à l'abri de la lumière et à une température ambiante afin d'éliminer toute trace d'humidité (Fig. 5).

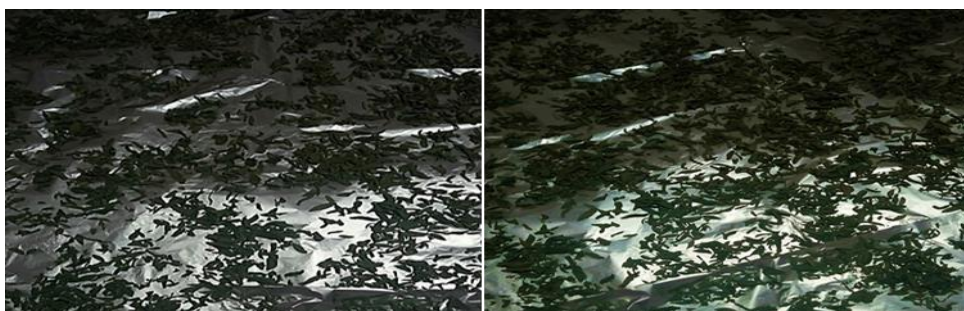


Figure 5 : Opération de séchage

### II.2.2. Broyage et tamisage

Les feuilles de *C. albidus* ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique, afin d'obtenir une poudre, de façon que les particules puissent passer à travers un tamis.

Une poudre très fine a été récupérée à la fin du tamisage en utilisant un tamis de diamètre de 0,2µm (**Fig. 6**). La poudre obtenue est conservée dans des flacons en verre étiquetés fermés hermétiquement pour la protéger contre l'humidité et l'attaque par les moisissures, et dans l'obscurité afin d'empêcher la photo-oxydation jusqu'à utilisation.



**Figure 6** : Opération de tamisage.

### II.2.3. Analyses physico-chimiques

#### II.2.3.1. Détermination du taux d'humidité

##### II.2.3.1.1. Teneur en eau

Le test de la teneur en eau est réalisé afin de déterminer la quantité d'eau existante dans la plante fraîche. Pour déterminer la teneur en eau de la plante, une quantité précise des feuilles de *Cistus albidus* fraîches est pesée immédiatement après la récolte, ensuite, ces mêmes feuilles ont été pesées une deuxième fois après séchage à l'air libre, à température ambiante et à l'ombre pendant environ 15 jours. La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

Avec :

$$H\% = [(P1-P2) / P1] \times 100\%$$

- ✓ **H%** : taux d'humidité exprimé en pourcentage.
- ✓ **P1** : poids (g) de l'échantillon "plante fraîche".
- ✓ **P2** : poids (g) de l'échantillon "plante sèche".

### II.2.3.1.1. Humidité de la poudre (H%)

L'humidité de la poudre a été déterminée par la méthode de séchage à l'étuve selon **AOAC (2000)**. Une masse de 2g de poudre de plante est mise dans un creuset préalablement taré. L'ensemble du creuset et de la poudre est ensuite placés dans une étuve universelle (Mettler type-ONE 7, Schutzart DIN EN 60529-IP 20. Germany) à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 24 h. Après refroidissement dans un dessiccateur renfermant un desséchant (gel de silice), le creuset a été pesé. L'expérience a été répétée trois fois. L'humidité est calculée selon la formule suivante :

$$\text{H}\% = [(m1 - m2) / m1] \times 100\%$$

Avec :

- ✓ **m1** : masse de l'échantillon en poudre avant le séchage.
- ✓ **m2** : masse de l'échantillon en poudre après le séchage.

### II.2.3.2. Détermination du taux de cendre (Tc%)

Le taux de cendres a été déterminé selon la méthode **AOAC (2000)**. Une quantité de 1g de la poudre est mise dans un creuset préalablement taré. L'ensemble du creuset et de la poudre a été placé dans le four à moufle à  $800^\circ\text{C}$  pendant 6 heures. Au bout du temps d'incinération, l'ensemble est retiré du four et déposé dans un dessiccateur pour le refroidissement, ensuite les pesées sont effectuées. Le taux de cendre est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Cendre \%} = (M_{cc} - M_{cv}) / M \times 100$$

Avec :

- ✓ **M<sub>cc</sub>** : masse de creuset + cendres (g).
- ✓ **M<sub>cv</sub>** : masse de creuset vide (g).
- ✓ **M** : masse de poudre (g).

### II.2.4. Etude phytochimique

#### II.2.4.1. Préparation des extraits

Dans la présente étude, la préparation des différents extraits de plante a été effectuée par la méthode de macération avec agitation en utilisant quatre solvants : Méthanol 70%, Ethanol 70%, Acétone 70%, et Eau distillée. Une quantité de 5g de poudre fine est macérée dans 75ml de chaque solvant, le mélange obtenu est mis sous agitation pendant 3h à une température ambiante à l'aide d'un agitateur magnétique, puis filtré par la méthode de filtration sous vide. Après filtration, une deuxième extraction est réalisée sur le résidu dans les mêmes conditions. Les deux filtrats obtenus sont mélangés et le solvant est éliminé à pression réduite à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les extraits ainsi obtenus sont séchés à l'étuve portée à 40°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec qui sera conservé au frigidaire. La reconstitution de chaque extrait est réalisée avec de l'eau distillée avant chaque test.

#### II.2.4.2. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après évaporation et la masse de la matière première végétale après séchage. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = (M1 / M0) \times 100$$

Avec :

- ✓ **R** : rendement de l'extraction en %.
- ✓ **M1** : masse en gramme de l'extrait obtenu (boite et extrait- boite vide).
- ✓ **M0** : masse en gramme de la matière végétale initiale.

#### II.2.4.3. Dosage des composés phénoliques

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par spectrophotométrie selon le protocole décrit par **Singleton et Rossi (1965)** avec quelques modifications. Un volume de 200µl de chaque extrait ou standard à différentes concentrations est mélangé avec un volume de 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4min, 800µl d'une solution de carbonate de sodium (7,5%) est ajoutée dans chaque tube. Après 30min d'incubation du mélange à une température ambiante et à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à 760 nm.

La concentration a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (20–120 µg/ml) dans les mêmes conditions, et exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'ES) ... Toutes les opérations sont répétées trois fois.

### II.2.4.4. Dosage des flavonoïdes

Pour la quantification des flavonoïdes dans les différents extraits, la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) décrite par **Jain et al. (2011)** a été utilisée. Un volume de 1 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% est ajouté à 1 ml de chaque extrait. Ensuite, le mélange est incubé à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc composé d'une solution de 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> et 1 ml de solvant de reconstitution. La quantification des flavonoïdes des extraits de *Cistus albidus* est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (2,5-25 µg/ml) réalisée dans les mêmes conditions que les extraits. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de l'extrait sec (mg EQ/g d'ES). Toutes les opérations sont répétées trois fois.

### II.2.5. Évaluation de l'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant d'un extrait peut être effectuée selon plusieurs tests. Au cours de cette étude nous avons choisi d'évaluer l'activité antioxydante par trois tests complémentaires soit le test au DPPH, le pouvoir réducteur, et la capacité antioxydante totale.

#### II.2.5.1. Activité antiradicalaire

La capacité des extraits à réduire le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été déterminée par la méthode spectrophotométrique décrite par **Bouyahya et al. (2017)** avec quelques modifications. Ainsi, une solution mère de DPPH a été préparée par la dissolution d'une quantité de poudre de DPPH dans un volume de méthanol, ensuite, une solution méthanolique diluée de DPPH a été préparée en ajoutant du méthanol à la solution mère pour avoir une absorbance de  $0,98 \pm 0,2$  à 517 nm contre un blanc. A 0,2 ml de chaque extrait de *Cistus albidus* à différentes concentrations (1–600 µg/ml), 1,8 ml de la solution méthanolique diluée de DPPH a été additionnée. Ensuite, le mélange est bien agité et maintenu à une température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à 517 nm

contre un blanc. Toutes les opérations sont répétées trois fois. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence.

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\%(\text{AA}) = [(\text{Abs C} - \text{Abs EXT})/\text{Abs C}] \times 100$$

**Avec :**

- ✓ **%(AA)** : activité antiradicalaire exprimée en pourcentage.
- ✓ **Abs C** : absorbance du contrôle (absorbance du solvant avec seulement le DPPH contre un blanc).
- ✓ **Abs EXT** : absorbance de l'extrait.

La concentration de l'extrait qui inhibe 50% (IC<sub>50</sub>) du radical DPPH est calculée à partir de la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait en utilisant l'équation de la régression.

### II.2.5.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits de *Cistus albidus* est déterminé selon la méthode de **Oyaizu. (1986)** avec quelques modifications. Cette méthode consiste à mélanger 100µL de la solution de chaque extrait à différentes concentrations avec 500µL de tampon phosphate (0,2 M ; pH = 6,6) et 500µL de solution de ferricyanure de potassium à 1 % (K<sub>3</sub>Fe(CN) 6). Le mélange obtenu est incubé à 50°C pendant 20 minutes. Après incubation, 500µL d'acide trichloroacétique à 10 % (TCA) est ajouté, et le mélange est centrifugé à 650 tr/min pendant 10 minutes. Ensuite, 500µL du surnageant sont additionnés à 500µL d'eau distillée et de 100µL FeCl<sub>3</sub> à 0,1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc où l'extrait est remplacé par le solvant de reconstitution. L'activité des extraits est enfin comparée à celle de l'acide ascorbique (vitamine C). Les résultats sont exprimés en A<sub>0.5</sub> qui correspond à la concentration qui donne une absorbance de 0,5.

### II.2.5.3. Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale des extraits de *Cistus albidus* a été mesurée par le test du phosphomolybdène selon le protocole décrit par **Prieto et al. (1999)**. Dans un tube, un volume de 0,3ml de chaque extrait ou standard est mélangée avec 3ml du mélange réactionnel (0,6M d'acide sulfurique, 28mM de phosphate de sodium et 4mM de molybdate

d'ammonium). Ensuite, le tube est bien fermé et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 695 nm. L'activité antioxydante est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (mg EAG/g d'ES).

### II.2.6. Analyse statistique

Tous les essais réalisés dans la présente étude ont été répétés au moins trois fois et les résultats ont été exprimés par la moyenne  $\pm$  la déviation standard. Les graphes sont mis en forme par EXCEL. L'étude statistique est réalisée à l'aide d'un logiciel statistique (Stat View 5.0). Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec le test Student t ou les tests ANOVA. Les différences ont été jugées significatives à  $p < 0,05$ .

# Résultats et discussion

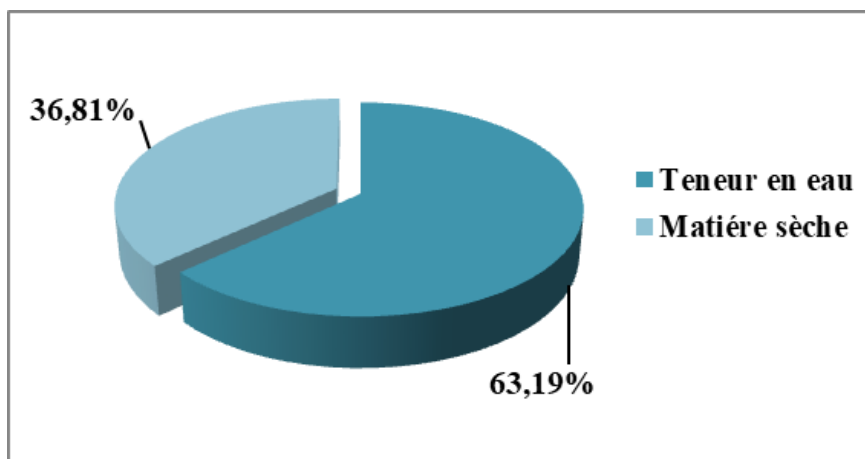


### III. Résultats et discussion

#### III.1. Résultats et discussion de l'étude physicochimique

##### III.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau de la plante étudiée est exprimée en pourcentage (%) (**Fig. 7**). Selon les analyses effectuées, l'espèce *Cistus albidus* possède une forte teneur en eau qui est de l'ordre de  $63,19 \pm 0,75\%$ .

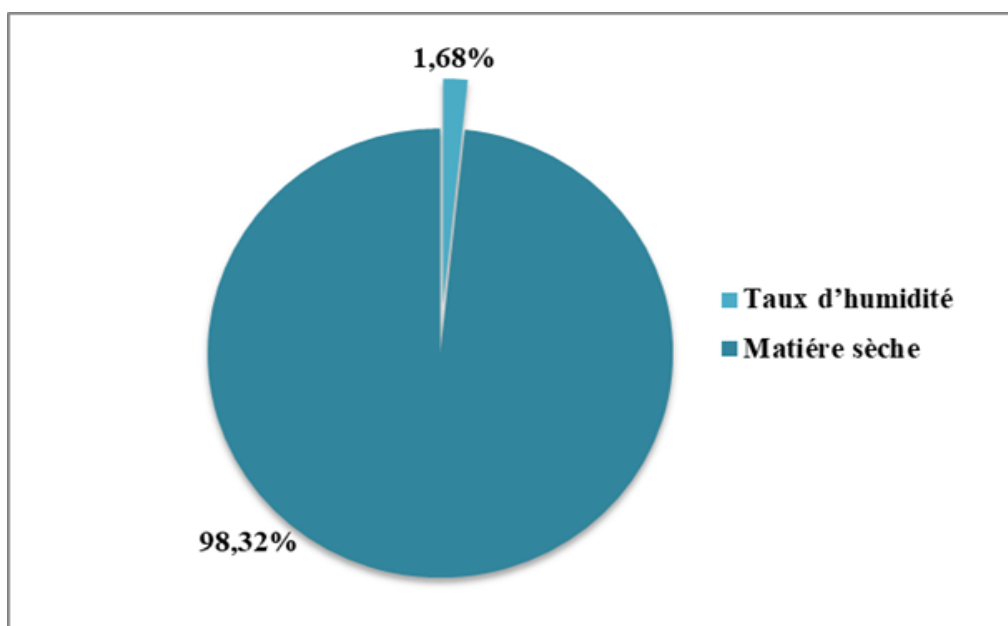


**Figure 7** : Teneur en eau des feuilles fraîches de *Cistus albidus*.

La teneur en eau d'une plante dépend de plusieurs facteurs, tel que les conditions environnementales, le stade de croissance de la plante et ses caractéristiques particulières. Une quantité appropriée d'eau est nécessaire au bon fonctionnement des processus physiologiques des plantes, comme la photosynthèse, le transport des nutriments et la régulation de la température interne (**Pallardy, 2010**).

##### III.1.2. Taux d'humidité

Les résultats obtenus montrent que la matière végétale sèche utilisée dans cette étude a un taux d'humidité très faible ( $1,68 \pm 0,37\%$ ) (**Fig. 8**). Ces résultats sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne (humidité inférieure à 10%).



**Figure 8 :** Taux d'humidité de la poudre de *Cistus albidus*.

Le taux d'humidité de la poudre végétale peut varier selon un certain nombre de facteurs, y compris le type de plante, les conditions de récolte et d'entreposage, ainsi que l'environnement dans lequel est stockée.

Généralement, la poudre végétale est obtenue à partir de plantes séchées afin de préserver l'intégrité des composés actifs présents dans les plantes tout en diminuant leur contenu hydrique. Le but est d'obtenir une poudre avec une faible teneur en humidité afin d'assurer une meilleure conservation (**Brossa et al., 2015**).

### III.1.3. Taux de cendre

D'après les résultats obtenus (**Fig. 9**), *Cistus albidus* présente un taux de cendre de 11,74 ± 0,15%. Ce résultat est conforme également aux normes décrites dans la pharmacopée européenne (taux de cendres inférieur à 14%).

Les cendres végétales sont essentiellement constituées de minéraux comme le calcium, le potassium, le magnésium, le phosphore, le sodium, le fer, le zinc, etc. Ces minéraux sont indispensables à la croissance et au développement des plantes et jouent un rôle crucial dans plusieurs processus biologiques. Le taux de cendre dans les plantes est important car il peut fournir également des indications sur la composition minérale des tissus végétaux (**Salah, 2016**).

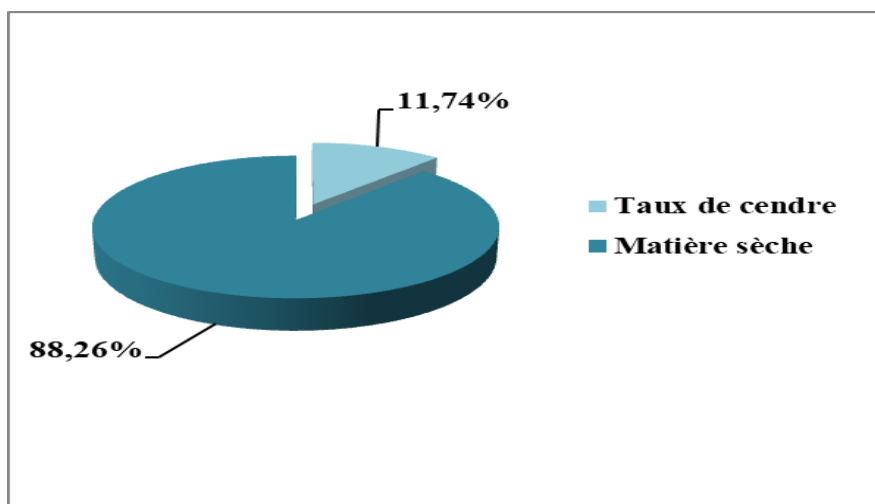


Figure 9 : Taux de cendre de *Cistus albidus*.

## III.2. Résultats et discussion de l'étude phytochimique

### III.2.1. Rendements d'extraction

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des principes actifs dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction. Il est déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche réduit en poudre. Les résultats sont représentés dans la figure 10.

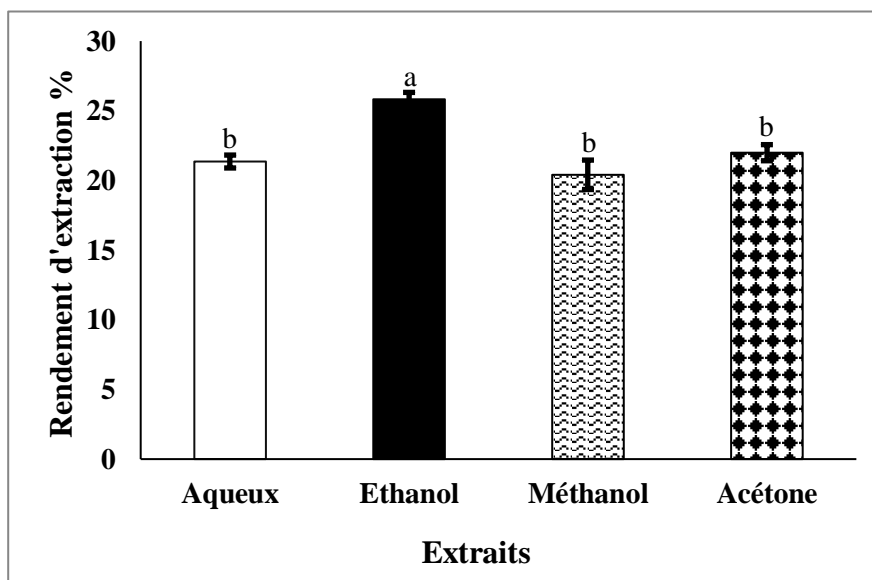


Figure 10 : Histogramme montrant le rendement d'extraction de *Cistus albidus* en fonction du solvant. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à  $p \leq 0.05$ .

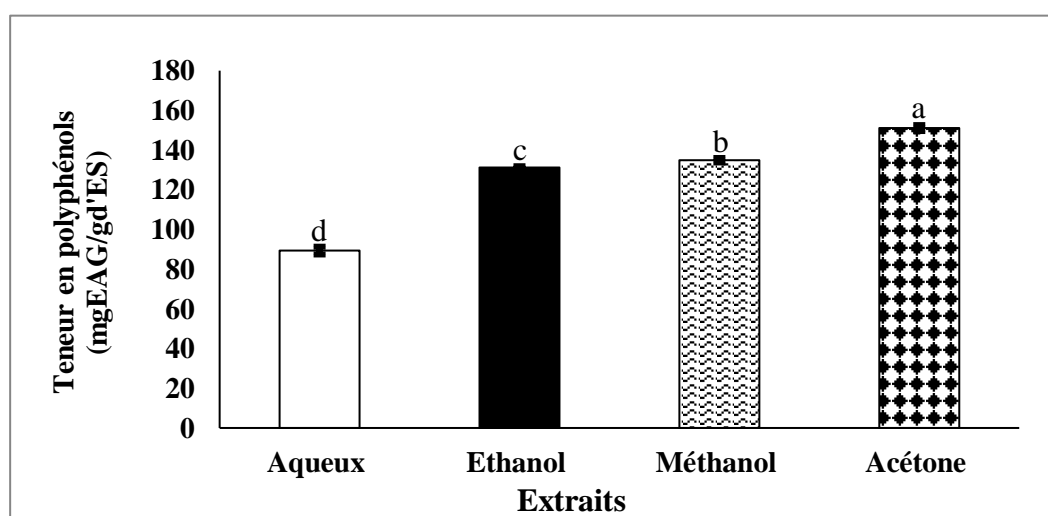
D'après les résultats obtenus, Nous avons constaté que le rendement de l'extrait éthanolique représente le rendement le plus élevé ( $25,82 \pm 0,49\%$ ), suivi par le rendement de l'extrait acétonique ( $21,99 \pm 0,58\%$ ), puis par l'extrait aqueux qui a donné un rendement de  $21,36 \pm 0,46\%$ . L'extrait méthanolique a montré le rendement le plus bas ( $20,40 \pm 1,06\%$ ) ( $p \leq 0.05$ ).

Les résultats obtenus sont similaires à ceux rapportés par **Merck (2017)** qui a utilisé la même méthode d'extraction en utilisant le solvant éthanolique à 70%, son rendement d'extraction était de 21,1%, et par **Boubekeur et al. (2022)** qui ont eu un rendement de 19,1% pour l'extrait méthanolique de l'espèce *Cistus salviifolius*.

Le rendement d'extraction dépend du degré de solubilité des composés dans le solvant utilisé lors du processus d'extraction. L'extraction à température ambiante et sous agitation continue permet d'extraire le maximum de composés bioactifs et d'éviter leur dégradation (**Lahmar et al., 2017**). Il faut prendre en considération l'impact du climat sur le rendement et la qualité et aussi celui de la zone géographique ainsi que la période et le moment de la récolte, qui influent sur la production des métabolites secondaires au niveau des plantes (**Bechlaghem, 2020**). Par ailleurs, le temps d'extraction, la température, le solvant et le nombre d'extractions sont des facteurs essentiels affectant le rendement d'extraction (**Kheyar-Kraouche et al., 2018**).

### III.2.2. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols des différents extraits de *Cistus albidus* sont représentées dans la figure 11.



**Figure 11** : Histogramme montrant les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de *Cistus albidus*. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à  $p \leq 0.05$ .

D'après **La figure 11**, les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait acétonique semble être le plus riche en polyphénols ( $151,08 \pm 1,49$ mg EAG/g d'ES) suivi des extraits méthanolique et éthanolique avec des valeurs élevées de  $134,88 \pm 1,13$  et  $131,20 \pm 0,65$ mg EAG/g d'ES. Tandis que l'extrait aqueux présente la valeur la plus basse des polyphénols avec une valeur moyenne de  $89,37 \pm 1,95$ mg EAG/g d'ES ( $p \leq 0,05$ ).

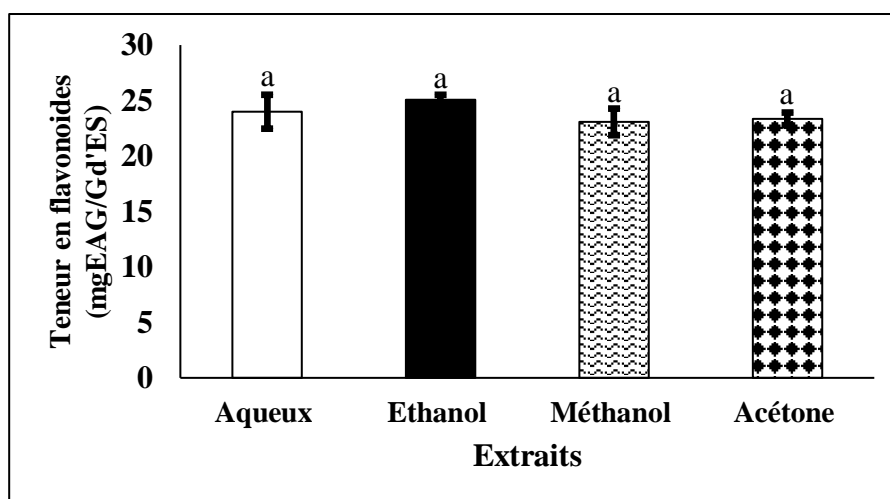
En comparant nos résultats du dosage des polyphénols avec ceux des études précédentes, les extraits étudiés montrent des valeurs supérieures à celles obtenues par **Mahmoudi et al. (2016)**, qui ont utilisé l'éthanol à 100% et l'eau distillée comme solvants d'extraction et qui ont obtenu  $49,98 \pm 3,93$  et  $45,61 \pm 0,47$ mg EAG/g d'ES, respectivement pour *Cistus salviifolius* et  $56,40 \pm 1,64$  et  $37,39 \pm 3,43$ mg EAG/g d'ES, respectivement pour *Cistus monspeliensis*.

Par contre, nos résultats semblent être inférieurs à ceux rapportés par **Sayah et al. (2017)**, qui ont utilisé le méthanol à 80% pour les deux espèces *Cistus salviifolius* et *Cistus monspeliensis*, et qui ont obtenues des valeurs de  $336,51 \pm 1,22$  et  $282,53 \pm 0,58$ mg EAG/g d'ES, respectivement.

Les recherches ont montré que le choix du solvant joue un rôle crucial dans l'obtention d'un contenu élevé en composés phénoliques (**Agnieszka et al., 2018**). En effet, la teneur phénolique peut changer selon un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008**).

### III.2.3. Teneurs en flavonoïdes totaux

Les résultats représentés dans **la figure 12** montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient entre les différents extraits. L'extrait éthanolique enregistre la teneur la plus élevée en flavonoïdes ( $25,07 \pm 0,45$ mg EQ/g d'ES) suivi par l'extrait aqueux ( $23,99 \pm 1,53$ mg EQ/g d'ES), l'extrait acétonique ( $23,35 \pm 0,57$ mg EQ/g d'ES) et l'extrait méthanolique ( $23,07 \pm 1,20$ mg EQ/g d'ES).



**Figure 12 :** Histogramme montrant les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits de *Cistus albidus*. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à  $p \leq 0.05$ .

Ces valeurs sont également supérieures à celles obtenues par **Mahmoudi et al. (2016)**, où l'espèce *Cistus salviifolius* de la région de l'est du Maroc a montré des teneurs en flavonoïdes de  $7 \pm 1,80$  mg EC/g d'ES pour l'extrait éthanolique 100%,  $5,27 \pm 0,85$  mg EC/g d'ES pour l'extrait aqueux, alors que *Cistus monspeliensis*, de la même région a montré des teneurs de  $7 \pm 0,72$  mg EC/g d'ES pour l'extrait éthanolique et  $5,27 \pm 0,45$  mg EC/g d'ES pour l'extrait aqueux ( $p \leq 0.05$ ).

Toutefois nos résultats restent inférieurs à ceux de **Sayah et al. (2017)** qui ont obtenu des teneurs de  $140 \pm 1,15$  mg ER/g d'ES avec l'extrait méthanolique et  $188,66 \pm 2,90$  mg ER/g d'ES avec l'extrait aqueux de *Cistus salviifolius*. Tandis que les résultats de l'espèce *Cistus monspeliensis*, sont de  $78 \pm 1,15$  mg ER/g d'ES pour l'extrait aqueux et de  $154 \pm 2,30$  mg ER/g d'ES pour l'extrait méthanolique.

La teneur en flavonoïdes varie également en fonction du type de solvant utilisé, de l'indice de polarité et de la solubilité de composés flavonoïdiques dans les solvants d'extraction. En effet la solubilité des flavonoïdes est liée principalement à la présence et à la position des groupes hydroxyles ainsi que la taille moléculaire et la longueur des chaînes hydrocarbonées constitutives (**Iloki-Assanga et al., 2015**).

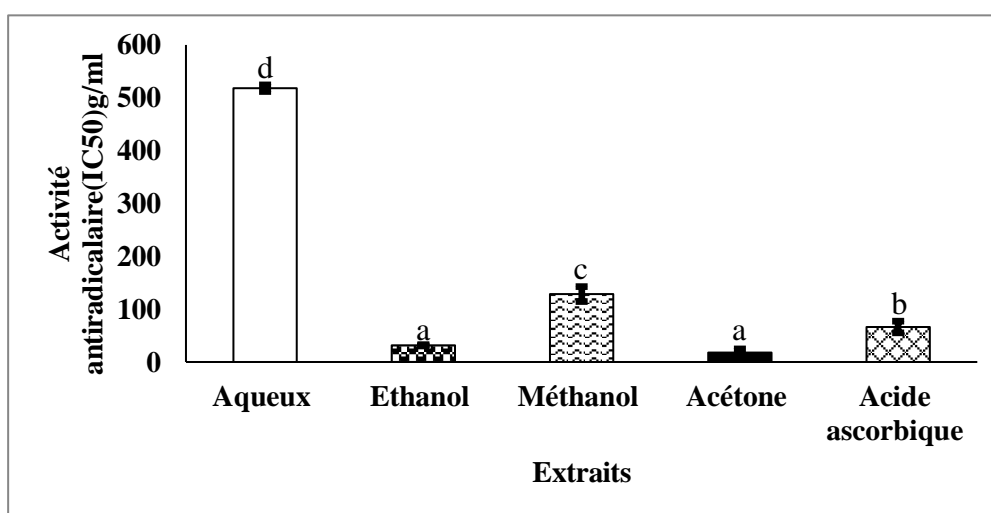
### III.3. Résultats et discussion de l'activité antioxydante

Les composés phénoliques sont un groupe de substances naturelles synthétisées dans les plantes (**Djamilatou et al., 2021**). Bien que la plupart des allégations relatives aux propriétés antioxydantes des composés phénoliques proviennent d'études *in vitro*, de plus en plus

d'évidences suggèrent qu'ils peuvent, d'une manière ou d'une autre, agir en tant qu'antioxydant (Altay et al., 2019). Cette propriété est due principalement à la teneur en phénols, en raison de leurs groupes hydroxyles, et/ou aux flavonoïdes qui peuvent servir comme donneur d'atomes d'hydrogène (Calliste et al., 2001 ; Akkol et al., 2012 ). En effet, il existe une relation entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur activité antioxydante. La capacité de ces molécules à piéger les radicaux libres dépend en premier lieu de leurs structures, les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui possèdent des groupements 3'-4'dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3OH sur le cycle C (Cai et al., 2006 ; Zbadi et al., 2018).

### III.3.1. Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH sont présentés dans la figure 13.



**Figure 13 :** Histogramme montrant l'activité scavenger des différents extraits de *Cistus albidus* à l'égard du radical DPPH. Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à  $p \leq 0.05$ .

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH ont révélés que l'extrait acétonique est le plus puissant avec la plus petite valeur d'IC<sub>50</sub>  $17,84 \pm 6,90 \mu\text{g/ml}$ , suivi par les extraits éthanolique et méthanolique avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de  $31,56 \pm 1,24 \mu\text{g/ml}$  et  $128,53 \pm 14,12 \mu\text{g/ml}$ , respectivement ( $p \leq 0.05$ ). L'extrait aqueux a montré la plus faible activité antiradicalaire avec une IC<sub>50</sub> de  $518,10 \pm 6,26 \mu\text{g/ml}$  (Fig. 13).

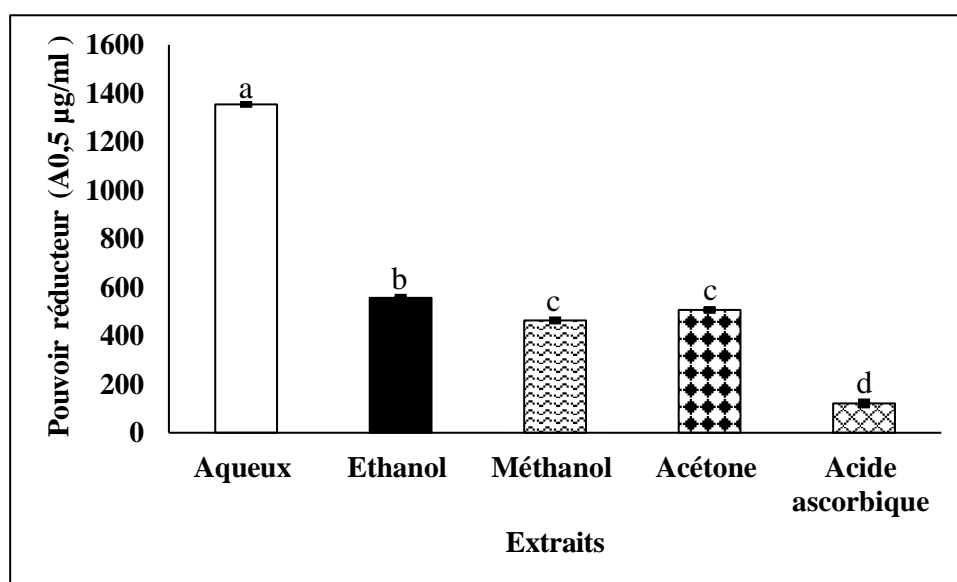
L'acide ascorbique qui est utilisé comme standard à des fins comparatives à montrer une bonne activité anti- radicalaire avec une IC<sub>50</sub> de  $66,21 \pm 11,03 \mu\text{g/ml}$ .

Les résultats obtenus montrent que l'effet scavenger des extraits étudiés sont supérieurs à ceux décrits par **Boy et al. (2021)** qui ont obtenu une valeur moyenne d'IC<sub>50</sub> de 187,13 ± 1,02µg/ml avec *Cistus multiflorus*, alors que nos résultats semblent inférieurs lorsqu'on les compare avec *Cistus albidus* (IC<sub>50</sub> = 30,37 ± 0,76µg/ml) et *Cistus ladanfier* (IC<sub>50</sub> = 11,27 ± 0,87µg/ml) (**Boy et al., 2021**).

**Sayah et al. (2017)** ont obtenu des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 3,30 ± 0,25µg/ml avec l'extrait méthanolique 80% et de 4,10 ± 0,85µg/ml avec l'extrait aqueux de l'espèce *Cistus salviifolius*. Ces résultats sont supérieurs à ceux de la présente étude.

### III.3.2. Pouvoir réducteur

Les résultats de ce test montrent que le pouvoir réducteur des extraits étudiés varie en fonction du solvant utilisé.



**Figure 14** : Histogramme montrant le pouvoir réducteur des extraits de *Cistus albidus*. Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à  $p \leq 0.05$ .

L'extrait méthanolique semble être le plus actif avec une valeur A<sub>0,5</sub> de 463,25 ± 3,63 µg/ml, suivi de l'extrait acétonique et de l'extrait éthanolique avec des valeurs de A<sub>0,5</sub> de 506,56 ± 8,06µg/ml, et 556,38 ± 4µg/ml, respectivement ( $p \leq 0.05$ ). L'extrait aqueux a montré la plus faible activité réductrice (A<sub>0,5</sub> = 1354,33 ± 4,28µg/ml) (**Fig. 14**).

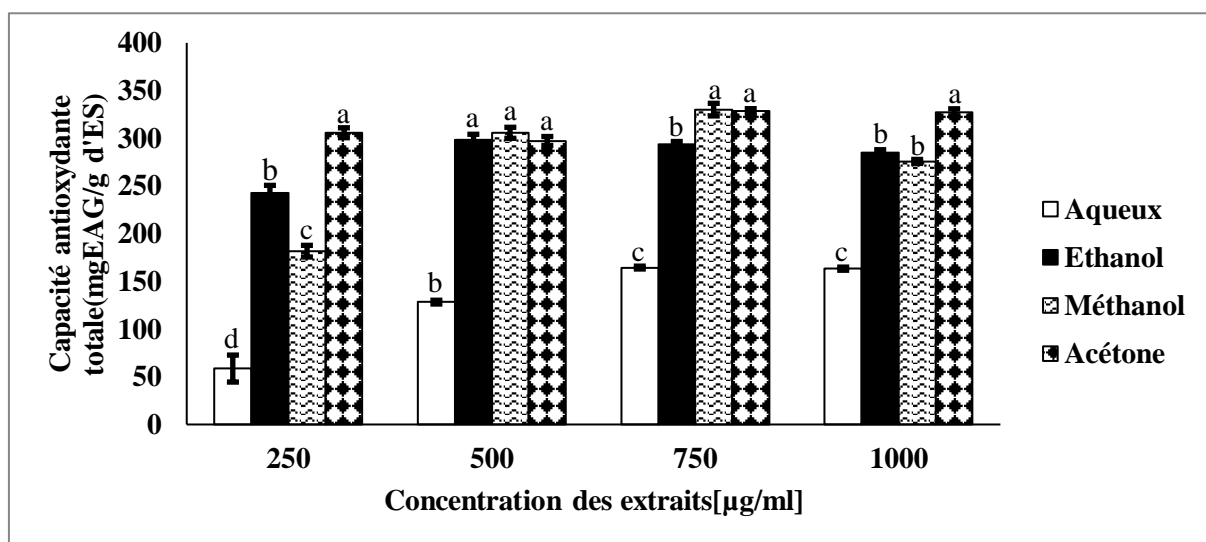
Ces résultats semblent faibles lorsqu'on les compare à d'autres espèces du même genre. **Nicoletti et al. (2015)** ont rapporté des valeurs d'A<sub>0,5</sub> de 142 ± 12,46µg/ml et de 80 ± 0,57 µg/ml, avec l'extrait méthanolique de *Cistus monspeliensis* et *Cistus villosus*, respectivement.



Il importe de noter que le pouvoir réducteur d'un composé peut être utilisé comme un indicateur significatif de son potentiel antioxydant (Gülcin, 2005).

### III.3.3. Capacité antioxydante totale

D'après les résultats illustrés dans la figure 15, nous avons constaté que la capacité antioxydante totale diffère également en fonction de la concentration et du solvant utilisé.



**Figure 15 :** Histogramme montrant l'activité antioxydante totale des extraits de *Cistus albidus*. Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à  $p \leq 0.05$ .

Dans la présente étude, on remarque que pour la concentration 250µg/ml, l'extrait acétonique a donné l'activité antioxydante la plus élevée (305,78 ± 5,20mg EAG/g d'ES) suivi par l'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique 242,45 ± 8,16 et 181,64 ± 6,10 mg EAG/g d'ES, respectivement. Tandis que l'extrait aqueux a montré la plus faible activité antioxydante avec une valeur de 58,59 ± 14,13mg EAG/g d'ES ( $p \leq 0.05$ ).

Pour l'extrait aqueux nous avons constaté que les plus fortes capacités (164,46 ± 1,47 et 163,29 ± 1,63mg EAG/g d'ES) ont été enregistrées avec les concentrations 750 et 1000µg/ml, respectivement. La concentration 500µg/ml donne une valeur moyenne de 128,24 ± 1,96mg EAG/g d'ES, alors que la plus basse capacité (58,59 ± 14,13mg EAG/g d'ES) a été enregistré avec la concentration 250µg/ml.

Ce pouvoir antioxydant est probablement lié aux teneurs en polyphénols des extraits principalement les flavonoïdes et la structure chimique des molécules bioactives (Akkol et

**al., 2012).** La différence dans cette activité antioxydante peut être liée aux différentes polarités des composés bioactifs dans chaque extrait (**Jayaprakasha et Patil, 2007**).

# Conclusion

### IV. Conclusion

Au cours de ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'extraction et l'utilisation des antioxydants naturels. De nombreuses recherches ont été focalisées sur l'étude des composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes. Notre travail a été axé sur le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux ainsi que la détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanolique, éthanolique, acétonique et aqueux de *Cistus albidus*, qui sont obtenus par la méthode de macération sous agitation. D'après les résultats de l'étude phytochimique, il a été constaté que les deux extraits acétonique et éthanolique sont les plus riches en polyphénols et en flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante, réalisée par trois méthodes complémentaires à savoir le DPPH, le pouvoir réducteur et la CAT, a montré que les extraits possèdent un important pouvoir antioxydant.

Au terme de ce travail, nous pouvons retenir que la plante étudiée possède probablement des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants et peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques. Ces résultats préliminaires ouvrent des perspectives intéressantes :

- Mener une étude plus approfondie pour isoler, purifier, et identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante en utilisant l'HPLC.
- Etudier les mécanismes d'action des composés phénoliques impliqués dans l'activité antioxydante sur des modèles cellulaires *in vitro*.
- Evaluer d'autres activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, anticancéreuse, anti-inflammatoire, antidiabétique, anticoagulante, ....
- Il serait fort intéressant d'extraire et de tester les activités biologiques des huiles essentielles de cette plante.

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques

**Agnieszka Stepień, A., David Aebisher, D., & Dorota Bartusik-Aebisher, D. (2018).** Biological properties of *Cistus* species. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*, (2), 27-132.

**Akkol, E. K., Orhan, I. E., & Yeşilada, E. (2012).** Anticholinesterase and antioxidant effects of the ethanol extract, ethanol fractions and isolated flavonoids from *Cistus laurifolius* L. leaves. *Food Chemistry*, 131(2), 626-631.

**Altay, A., Tohma, H., Durmaz, L., Taslimi, P., Korkmaz, M., Gulcin, I., & Koksai, E. (2019).** Preliminary phytochemical analysis and evaluation of in vitro antioxidant, antiproliferative, antidiabetic, and anticholinergics effects of endemic *Gypsophila* taxa from Turkey. *Journal of food biochemistry*, 43(7), e12908.

**AOAC. (2000).** Official Methods of Analysis (13th edn). Association of Official Analytical Chemist: Washington, D C. Agron. Fr (1), p12.

**Bammi, J., & Douira, A. (2002).** Les plantes médicinales dans la forêt de l'achach (plateau central, Maroc).

**Bechlaghem, K., Allali, H., Benmehdi, H., Aissaoui, N., & Flamini, G. (2019).** Chemical analysis of the essential oils of three *Cistus* species growing in North-West of Algeria. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 84(3), 283-293.

**Bechlaghem k. (2020).** Etudes Chimiques Et Biologiques Des Extraits Préparés à partir de Quelques Espèces De Cistacées Poussant En Algérie. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences, discipline: Chimie organique appliquée. Université Abou –Beker Belkaid. Tlemcen. 144p.

**Bendifallah, L., Alouan, S., Drah, S., & Dougarem, F. Z. (2011, July).** Phytochemical study of *Cistus albidus* (Cistaceae) in a northern mountainous region of Algeria. In I International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas (MAP-Mountain 2011) 955 (pp. 79-82).

**Bouasla, A., & Bouasla, I. (2017).** Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 36, 68-81.

**Boubekeur, S., Messaoudi, M., Awuchi, C. G., Otekunrin, O. A., Sawicka, B., Idjeri-Mecherara, S., & Rebiai, A. (2022).** Biological properties and polyphenols content of Algerian *Cistus salviifolius* L. aerial parts. *European Journal of Biological Research*, 12(2), 163-180.

**Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379-383.

**Boy, F. R., Casquete, R., Martínez, A., Córdoba, M. D. G., Ruiz-Moyano, S., & Benito, M. J. (2021).** Antioxidant, antihypertensive and antimicrobial properties of phenolic compounds obtained from native plants by different extraction methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 2475.

**Bouzi, A., Chadli, R., & Bouzi, K. (2017).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 15(6), 373-378.

## Références bibliographiques

- Brossa, R., Pintó-Marijuan, M., Francisco, R., López-Carbonell, M., Chaves, M. M., & Alegre, L. (2015).** Redox proteomics and physiological responses in *Cistus albidus* shrubs subjected to long-term summer drought followed by recovery. *Planta*, *241*, 803-822.
- Cai, Y. Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q., & Corke, H. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life sciences*, *78*(25), 2872-2888.
- Calliste, C. A., Trouillas, P., Allais, D. P., Simon, A., & Duroux, J. L. (2001).** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(7), 3321-3327.
- Chohra, D., Ferchichi, L., Cakmak, Y. S., Zengin, G., & Alsheikh, S. M. (2020).** Phenolic profiles, antioxidant activities and enzyme inhibitory effects of an Algerian medicinal plant (*Clematis cirrhosa*L.). *South African Journal of Botany*, *132*, 164-170.
- Djamilatou Z.S., Djibo A.K. Sahabi B. & Seini S.H. (2021).** Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes anti-hypertensives du Niger. *European Scientific Journal*, *ESJ*, *17*(17), 335.
- Fadel, H., Kebbia, S., Chalchat, J. C., Figueredo, G., Chalard, P., Benayache, F., ... & Benayache, S. (2020).** Identification of volatile components and antioxidant assessment of the aerial part extracts from an Algerian *Cistus albidus* L. of the Aures region. *J N. Technol Mater*, *10*, 38-46.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*, *331*(5), 372-379.
- Gülcin, İ. (2006).** Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life sciences*, *78*(8), 803-811.
- Hossain, M. A. (2019).** A phytopharmacological review on the Omani medicinal plant: *Ziziphus jujube*. *Journal of King Saud University-Science*, *31*(4), 1352-1357.
- Iloki-Assanga, S.B., Lewis-Luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L. et al.** Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum* . *BMC Res Notes* **8**, 396 (2015).
- Jain D.P., Pancholi S.S., Rakesh Patel R. (2011).** Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* *2*, 177–183.
- Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2007).** In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food chemistry*, *101*(1), 410-418.
- Jean-Yves C. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat. Faculté de Pharmacie. Université Henri Poincaré, NANCY 1.184p.

## Références bibliographiques

**Julien P. (2005).** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM(IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Asteraceae endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *Doronicum corsicum*. These de doctorat. . Faculté des Sciences et Techniques, discipline: Chimie organique et analytique.université de corse pascal paoli.france.343p.

**Kheyar-Kraouche, N., da Silva, A. B., Serra, A. T., Bedjou, F., & Bronze, M. R. (2018).** Characterization by liquid chromatography–mass spectrometry and antioxidant activity of an ethanolic extract of *Inula viscosa* leaves. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 156, 297-306.

**Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F. et Belghith, K. (2017).** Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa*. *L Bio Med Research International*, 9; 1-9.

**Lahssissene H., Kahoudji A., Tijane M.,Hseini S., 2009.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (MAROC occidental). *LEJEUNIA*, N° 186\_2: p 22.

**Laraoui H., 2016.** Métabolites secondaires de *Fumana montana* et *Fumana thymifolia* (Cistaceae). Thèse de doctorat : Chimie Organique. Université Hadj Lakhdar-BATNA, 205 p.

**Mahmoudi H., Aouadhi Ch., Kaddour R., Greuber M., Zargouni H., Zaouali W., Ben Hamida N., Ben Nasri M., Ouerghi Z., Hosni K., 2016.** Comparaison of antioxydant and antimicrobial activities of two cultivated *Cistus* Species from Tunisia. *Biosci. J., Uberlândia*, v. 32, n. 1, p. 226-237, Jan./Feb.

**Merck F., 2017.** La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels : Etude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extrait végétaux et développement d'unconservateur pour l'industrie cosmétique. Thèse de doctorat : Chimie. Ecole doctorale sciences fondamentales et appliquées –NICE, 321 p.

**Miara, M. D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M. A., & Maggi, F. (2019).** Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *Journal of Herbal Medicine*, 16, 100262.

**M. Laguna y Villanueva, P. de Avilla y Zumarán (1890).**Garden Atlas :

<https://gardenatlas.net/garden/jardin-cosmopolita/species/cistus-albidus/?filter=all>. Consulté le 30 mars 2023 22 :15.

**MNH and OFB (Ed). 2003-2022. Inventaire national du patrimoine naturel (INPN):**  
[https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/91630/tab/taxo](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/91630/tab/taxo). Consulté le 30 mars 2023 22 :30.

**Nicoletti, M., Toniolo, C., Venditti, A., Bruno, M., & Ben Jemia, M. (2015).** Antioxidant activity and chemical composition of three Tunisian *Cistus*: *Cistus monspeliensis* *Cistus villosus* and *Cistus libanotis*☆. *Natural product research*, 29(3), 223-230.



## Références bibliographiques

**Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* 44, 307–315.

**Pallardy, S. G. (2010).** *Physiology of woody plants*. academic press.

**Prieto P., Pineda M., Aguilar M.M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of Antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337-341.

**Qa'Dan, F., Petereit, F., & Nahrstedt, A. (2003).** Prodelphinidin trimers and characterization of a proanthocyanidin oligomer from *Cistus albidus*. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58(6), 416-419.

**R. Culos, T. Royo, Christine et A. Amic(2013).**quelle est cette plante : [https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Cistus&variete=albidus#:~:text=Le%20Cistus%20albidus%20\(Ciste%20cotonneux,'Ard%C3%A8che%20et%20l'Aveyron](https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Cistus&variete=albidus#:~:text=Le%20Cistus%20albidus%20(Ciste%20cotonneux,'Ard%C3%A8che%20et%20l'Aveyron). Consulté le 30 mars 2023 21 :30.

**Salah D. (2016).** Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). Thèse de doctorat. Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar, Annaba 174p.

**Sayah K., Marmouzi I., NaceiriMrabeti H., CherrahY., Mon et Abess F., 2017.** Activité antioxydante et potentiel inhibiteur de *Cistus Salviifolius*(L).et de *Cistus monspeliensis* (L). Extrait de parties aériennes contre des enzymes clés liées à l'hyperglycémie. *Biomed*, : p7. <http://dx.doi/10.1155/2017/2789482>.

**Singleton V.L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acids reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.

**Taïbi, K., Abderrahim, L. A., Boussaid, M., Taïbi, F., Achir, M., Souana, K., ... & Said, K. N. (2021).** Unraveling the ethnopharmacological potential of medicinal plants used in Algerian traditional medicine for urinary diseases. *European Journal of Integrative Medicine*, 44, 101339.

**Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018).** Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.

# **Annexes**

## Annexe 1: les courbes d'étalonnage.

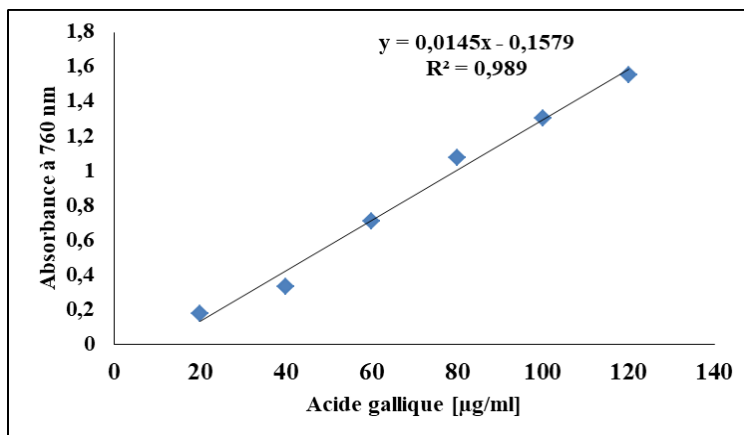


Figure 1a : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

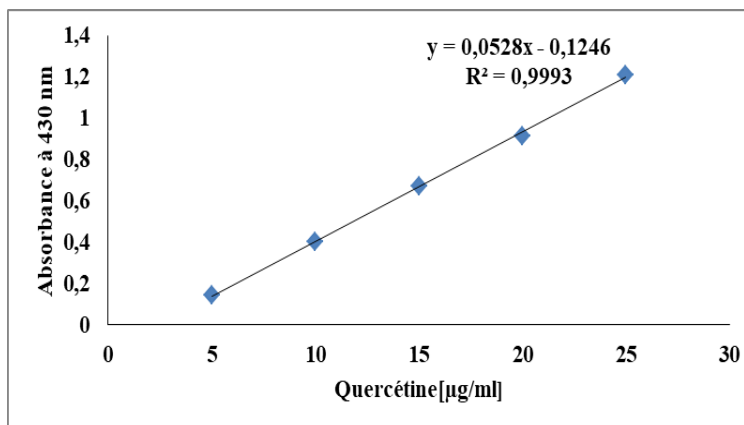


Figure 1b : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

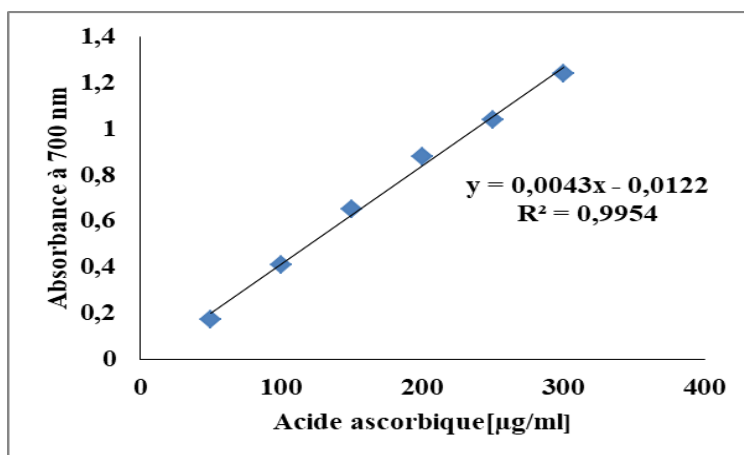
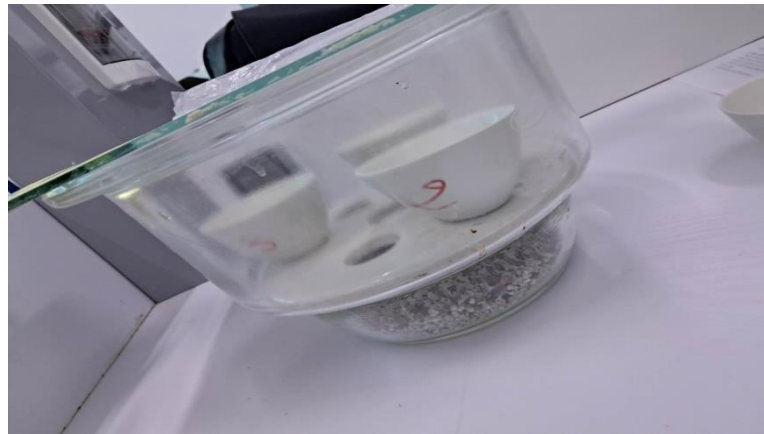


Figure 1c : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

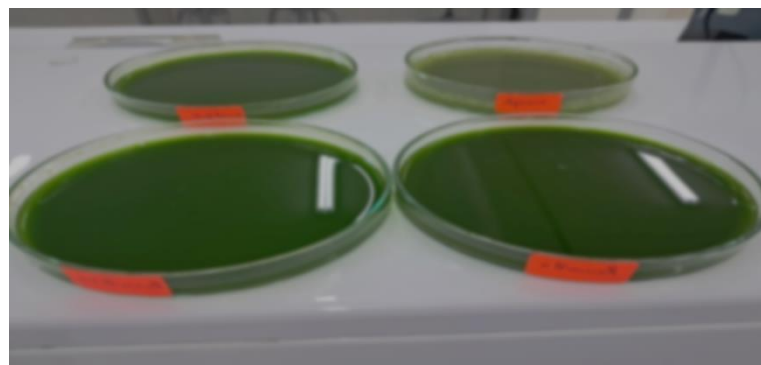
**Annexe 2 : Refroidissement de la poudre dans le dessiccateur.**



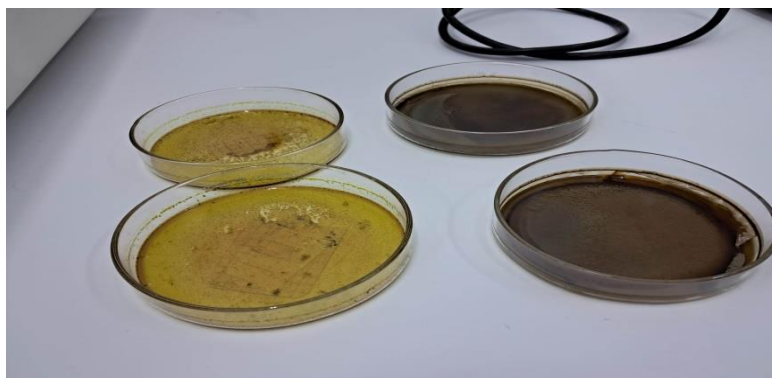
**Annexe 3 : Agitation et filtration des extraits.**



**Annexe 4 : Les extraits obtenus après filtration.**



**Annexe 5 : les extraits aqueux et éthanolique après séchage.**



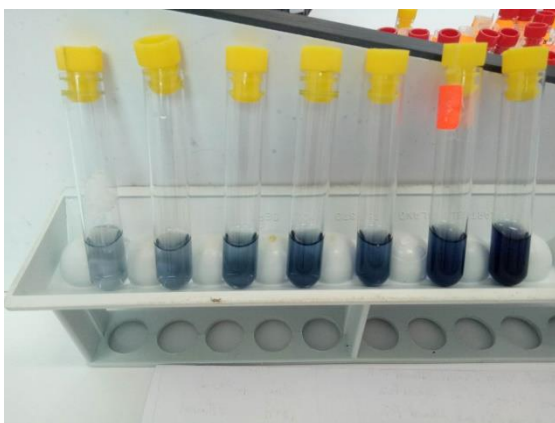
**Annexe 6 : Opération de centrifugation.**



**Annexe 7 : Incubation dans le bain marie.**

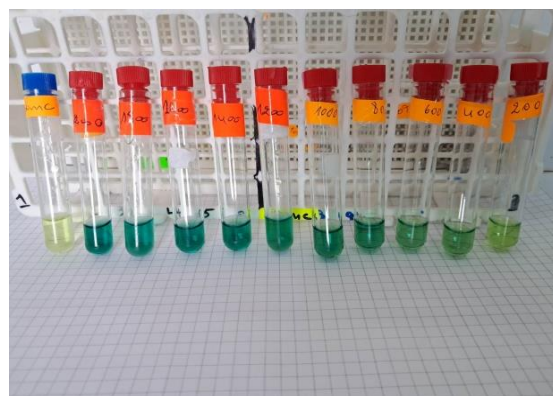
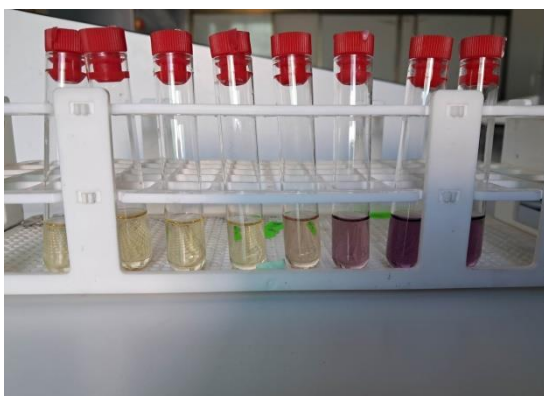


**Annexe 8 : Photos de la partie phytochimique.**



**Figure 8a :** Gamme d'étalonnage des polyphénols.

**Figure 8b :** Gamme d'étalonnage des flavonoïdes.



**Figure 8c :** Gamme d'étalonnage du test DPPH

**Figure 8d :** Gamme d'étalonnage du pouvoir réducteur.



**Figure 8 e :** Gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique



## Résumé

*Cistus albidus* est une plante qui appartient à la famille des Cistaceae, elle est très répandue dans les régions méditerranéennes, principalement l'Algérie, où elle est utilisée en médecine traditionnelle. La présente étude vise à déterminer quelques paramètres physicochimiques (teneur en eau, taux d'humidité et le taux de cendre) et de quantifier les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de cette plante. Cette étude a également pour but d'évaluer l'activité antioxydante par différents tests (DPPH, pouvoir réducteur, CAT). La partie aérienne (les feuilles) a été soumise à une macération par agitation dans quatre solvants (méthanol 70%, éthanol 70%, acétone 70% et l'eau). Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique présente le rendement le plus important ( $25,82 \pm 0,49$  %). La concentration la plus élevée en polyphénols a été obtenue avec l'extrait acétonique ( $151,08 \pm 1,49$ mg EAG/g d'ES), tandis que la teneur la plus élevée en flavonoïdes a été obtenue avec l'extrait éthanolique ( $25,07 \pm 0,45$ mg EQ/g d'ES). L'extrait acétonique a montré la plus forte activité antiradicalaire ( $17,84 \pm 6,90$ µg/ml) alors que l'extrait méthanolique exprime le pouvoir réducteur le plus élevé ( $463,25 \pm 3,63$ µg/ml). Les extraits (acétonique, méthanolique et éthanolique) de *Cistus albidus* ont montré les meilleures CAT à différentes concentrations.

**Les mots clés :** *Cistus albidus*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

## الملخص

*Cistus albidus* هو نبات ينتمي إلى عائلة Cistaceae ، وينتشر بصفة كبيرة في مناطق البحر الأبيض المتوسط والجزائر بشكل أساسي، حيث يستخدم في الطب التقليدي. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد بعض المتغيرات الفيزيوكيميائية (محتوى الماء، نسبة الرطوبة ونسبة الرماد) وتبسيط الضوء من خلال دراسة كيميائية نباتية على قياس كمية البوليفينول والفلافونويد لهذا النبات. وكذلك تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال ثلاثة اختبارات (DPPH، pouvoir réducteur، CAT). تم تعريض الجزء العلوي (الأوراق) للنقع مع التحريك في أربعة مذيبات (ميثانول 70%، إيثانول 70%، أسيتون 70% و الماء). أظهرت النتائج أن المستخلص الإيثانولي قدم أعلى مردود ( $25,82 \pm 0,49$  %). تم الحصول على أعلى تركيز من البوليفينول مع مستخلص الأسيتون ( $151,08 \pm 1,49$  ملغ مكافئ من حمض الغاليك / غ من المستخلص) بينما في الفلافونويد تم الحصول عليها بالمستخلص الإيثانولي ( $25,07 \pm 0,45$  ملغ مكافئ من حمض الغاليك / غ من المستخلص). في النشاط المضاد للجذور الحرة DPPH ، يبدو أن مستخلص الأسيتون هو الأقوى ( $17,84 \pm 6,90$  ميكروغرام/مل). أما بالنسبة لقوة الارجاع ، تم تسجيل أقوى نشاط بواسطة المستخلص الميثانولي ( $463,25 \pm 3,63$  ميكروغرام/مل). أعطت مستخلصات الأسيتون والميثانول والإيثانول أفضل قيم TACs في تراكيز مختلفة.

**الكلمات المفتاحية:** *Cistus albidus*، البوليفينول، الفلافونويد، نشاط مضادات الأكسدة.

## Abstract

*Cistus albidus* is a plant belonging to the Cistaceae family, very popular in the Mediterranean regions and mainly Algeria, where it is used in traditional medicine. This study aims to determine some physicochemical parameters (water content, humidity rate and ash content) and to quantify the total polyphenols and flavonoids content of this plant. The main goal of the study is to evaluate the antioxidant activity by three tests (DPPH, reducing power, TAC). The aerial part (the leaves) was submitted to maceration by agitation using four solvents (70% methanol, 70% ethanol, 70% acetone and aqueous). The results showed that ethanolic extract presented the highest yield ( $25,82 \pm 0,49$ %). The highest concentration of polyphenols was obtained with acetone extract ( $151,08 \pm 1,49$ mg GAE/g DE), while, ethanolic extract recorded important contents of flavonoids ( $25,07 \pm 0,45$  mg QE / g DE). In terms of DPPH free radical activity, acetone extract displayed the most powerful scavenging activity ( $17,84 \pm 6,90$ µg/ml), while, methanolic extract exhibited the strongest reducing power ( $463,25 \pm 3,63$  µg/ml). Acetonic, methanolic and ethanolic extracts of *Cistus albidus* gave the best TACs for all tested concentrations.

**Key words:** *Cistus albidus*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.