



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques Spécialité :

Génétique et amélioration des plantes

Présenté par :

BENKHADIR TOUFIK SIDAHMED

Thème

Caractérisation phytochimique et activités biologiques de *Cistus halimifolius* L. native d'Algérie

Soutenu publiquement le 04 juillet 2023

Jury:

Président : Mr AIT HAMMOU MOHAMED

MCA Faculté SNV Tiaret

Examinatrice : Mme TABAK. S

MAB Faculté SNV Tiaret

Encadrant : Mr MIARA MOUHAMED DJAMEL

MCB Faculté SNV Tiaret

Co-encadrante: Mme BOURIAH NACIRA

Dr Faculté SNV Tiaret

Remerciements

Tout d'abord, je remercie «ALLAH » le Tout Puissant de m'avoir donné le pouvoir et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Au terme de ce travail, je tiens à remercier tout particulièrement : Mr MOUHAMED DJAMEL MIARA, pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour toute l'attention qu'il m'a accordé, sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience et ses précieux conseils. Ma co-encadrante Mme BOURIAH NACERA . qui bien voulu de nous encadrer et nous encadrer et nous accueillir dans ce laboratoire et dans son équipe pendant ce projet. Mes remerciements les plus sincères s'adressent aux membres de jury: Le présidente..... Assistante A au département de Biologie des Populations et Organismes à l'université TIARET 1,. Mes remerciements vont également à tous mes enseignants pour ses informations et ses aides. En fin, un grand remerciement à tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, ont participé à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Tout d'abord, je remercie mon «Dieu» tout puissant de m'avoir donné la volonté, le courage et la patience pour réaliser ce travail de recherche.

Ce mémoire est dédiée...

A ma mère et mon père,

A toute ma famille

Table des matières

Table des matières	i
Liste des tableaux	iv
Liste des figures	v
Liste d'abréviations	v
Introduction	i
<i>Partie bibliographique</i>	i
<i>Partie I : Description de la Plante</i>	2
1- Généralité sur les cistes	2
2-Distribution géographique de la famille <i>Cistaceae</i>	3
3-Presentation de la plante <i>halimium</i>	4
3-1 Description morphologique de la plante : Selon (Julve, 2021) in (Tela botanica)	4
3-2 Description Baseflor	6
3-4 Ecologie de la plante	7
3-4-1 Caractéristiques climatiques	8
3-4-2 Caractéristiques du sol	8
3-5 Utilisation traditionnelle de <i>Cistaceae</i>	8
<i>Partie II : Métabolites secondaires</i>	2
Métabolites secondaires	8
1-Classification des métabolites secondaires	10
1-1 Terpenes (Terpenoïdes)	11
a- Les terpènes proprement dits ou monoterpènes ou huiles essentielles (C10)	11
b- Les sesquiterpènes (C15)	11
c- Les diterpènes (C20)	11
d - Les triterpènes (C30) dérivés (Stéroïdes)	12
e- Tétraterpènes (C40) (Caroténoïdes)	12
f- Polyterpènes (C4000) (Caoutchouc naturel)	12
1-2 Composés phénoliques ou polyphénols	12
a) Acide phénolique	14
b) Flavonoïdes	
c) Tanins	16
c-1: Tanins hydrolysables	16
c-2 : Tanins condensés ou catechiques	16
d) Lignines	17
e) Quinones	18
f) Anthraquinones	18

1-3 Composés contenant de l'azote (les alcaloïdes)	18
2-Métabolites secondaires chez la famille <i>cistaceae</i>	21
2-1 Flavonols et flavones	22
2-2 Acides phénoliques dans le genre <i>Cistus</i>	23
2-3 Les tanins dans le genre <i>Cistus</i>	24
2-4 Terpènes	24
2-5 Composés volatils	24
3-Conclusion	25
<i>Partie expérimentale</i>	i
<i>Partie I : Matériel et méthodes</i>	i
1- Objectifs :	24
3- Matériel	27
3-1 Instruments et réactifs	27
3-2 Matériel biologique	27
3-2-1 Matériel végétal	27
3-2-2 Critères de sélection des plantes	28
Récolte de la plante	28
3-2-3 Identification botanique	28
3-2-4 Préparation des échantillons	28
4- Méthode d'analyse	29
4-1 Criblage phytochimique	29
4-1 1 L'épuisement du matériel végétal avec Le Méthanol (MTOH)	29
4-1 2 Tests phytochimiques	29
a. Composés phénoliques	29
b. Flavonoïdes	29
c. Tanins	29
d. Les quinones	30
e. Les anthraquinones	30
f. Les terpenoïdes	30
g. les saponosides	30
h. Composés réducteurs	30
5- Les analyses quantitatives	30
5-1 Dosage des polyphénols	30
5- 2 Dosage des flavonoïdes	31
6- Préparation des extraits	31
6-1 Extrait méthanolique	31
7- Détermination du rendement des extraits	31
8- Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits	32
8-1 Souches microbiennes étudiées et milieux de culture utilisés	32

8-2 Préparation de l'inoculum	32
8-3 Préparation des extraits	32
8-4 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (Méthode de diffusion en puits sur gélose)	32
<i>Partie II : Résultats et discussion</i>	34
1- Détermination du rendement de l'extraction	32
2- Composition chimique	32
2-1. Résultats du screening phytochimique	32
3- Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux	33
4- Analyse quantitative des composés phénoliques	33
4-1 Dosage des polyphénols totaux	33
5- Activité antimicrobienne	35
Conclusion	38
Références bibliographiques	39
Résumé	45

Liste des tableaux

Tableau n°01 : les différents genres et espèces de la famille des cistacées	2
Tableau n° 02 : Distribution géographique des huit taxons des <i>cistaceae</i>	3
Tableau n°03 : classification scientifique de la plante <i>Cistus halimifolius</i>	6
Tableau n°04 : Métabolites secondaires retrouvés chez les végétaux	10
Tableau n°05 : Principales classes de composés phénoliques	13
Tableau n°06 :quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé	20
Tableau n°07 : Distribution des flavonols et flavones dans le genre <i>Cistus</i>	22
Tableau n°08 : Distribution des acides phénoliques dans le genre <i>Cistus</i>	23
Tableau n° 09 : Distribution des tanins dans le genre <i>Cistus</i>	24
Tableau n°10 : Rendement de L'extraction	32
Tableau n°11 : Resultats du test phytochimique.....	32
Tableau n°12 : Teneur on polyphénoles et flavonoides totaux.....	33
Tableau n°13 : Diamètres de zones d'inhibition des souches microbiennes testées.	36

Liste des figures

Figure n°01 : Distribution mondiale de la famille des <i>Cistaceae</i> .	4
Figure n°02 : Plante <i>Cistus</i> .	5
Figure n°03 : Fleur de <i>Cistus halimifolius</i> .	5
Figure n°04 : Caractéristiques climatiques de la plante <i>Cistus halimifolius</i> .	8
Figure n°05 : Caractéristiques du sol de la plante <i>Cistus halimifolius</i> .	8
Figure n°06 : Métabolisme végétal (métabolites primaires/secondaires) .	8
Figure n°07 : Classification des métabolites secondaires. .	9
Figure n°08 : Classification et structure chimique Composés phénoliques .	14
Figure n° 09 : Structures de l'acide benzoïque et acide cinnamique .	14
Figure n°10 : Structure de base d'un flavonoïde .	16
Figure n°11 : Deux exemples de lignanes .	18
Figure n°12: Structure chimique de quelque métabolites secondaires des plantes .	21
Figure n°13 : Protocole expérimental.....	25
Figure n°14 : Partie aérien de <i>cistus halimifolius</i> . (a : avant le broyage, b : après le broyage)	27
Figure n°15 : Feuilles de <i>cistus halimifolius</i> (a : avant le broyage, b : après le broyage).....	28
Figure n°16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	34
Figure n°17: Courbe d'étalonnage de la quercétine .	35
Figure n°18 :Test de sensibilité des souches microbiennes (<i>Echerichia coli</i>) à l'extrait méthanolique de la plante <i>Cistus halimifolius</i>	37
Figure n°19 : Test de sensibilité des souches microbiennes (<i>Bacillus cereus</i>) à l'extrait méthanolique de la plante <i>Cistus halimifolius</i>	37
Figure n°20 : Test de sensibilité des souches microbiennes (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) à l'extrait méthanolique de la plante <i>Cistus halimifolius</i> .	38
2Figure n°21 : Test de sensibilité des souches microbiennes (<i>Staphylococcus aureus</i>) à l'extrait méthanolique de la plante <i>Cistus halimifolius</i>	38
Figure n°22 : Test de sensibilité des souches microbiennes (<i>Candida albicans</i>) à l'extrait méthanolique de la plante <i>Cistus halimifolius</i>	39

Liste d'abréviations

GIDFA : guide illustrée de la flore algérienne

PA : partie aérienne

MG : milligramme

DPPH : 2,2-diphénylpicrylhydrazyl

HCL : acide chlorhydrique

DMSO : diméthylsulfoxyde

E.coli : *Escherichia coli*

Introduction

Introduction

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au Taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400'000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents (Hostettmann et al., 1998b). in (Waridel2003).

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (**Dutertre 2011**).

L'Algérie, en raison de son climat diversifié (méditerranéen, semi-aride et saharien) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche et variée en plantes aromatiques, médicinales, toxiques et condimentaires, dont la plupart existe à l'état spontané. Cette flore compte environ 3000 espèces réparties dans 150 familles botaniques parmi lesquelles 15 % sont endémiques (**Quezel et Santa 1963**).

Grand nombre de la population algérienne utilise la médecine et la pharmacopée traditionnelles pour des raisons d'ordre socio-culturel, socio-économique et sanitaire. Pour ces raisons, l'opportunité offerte par la recherche sur l'ethno-médecine algérienne, qui utilise une grande variété de plantes pour le traitement des pathologies les plus fréquentées dans notre pays (**Kerbab 2017**).

En Algérie, *H. halimifolium* est communément appelée « El-méllia », les feuilles de cette plante sont utilisées en médecine traditionnelle sous forme d'infusé afin de traiter des maladies digestives et gastro-intestinale (**Kerbab 2017**).

Malgré l'apparition de nombreuses monographies et de très nombreux travaux de détail, la famille des cistacées est l'une des plus difficiles à étudier (**ISERIN. P., 1997**) ce qui a engendré un manque de données sur la composition phytochimique de *Cistus halimifolius* et l'activité biologique de ses extraits.

Ce qui nous a conduit à faire cette étude qui vise à mettre en exergue sa composition chimique et à évaluer le pouvoir antimicrobien de ses extraits contre certaines souches microbiennes.

Partie bibliographique

Partie I : Description de la Plante

1- Généralité sur les cistes

Les *Cistaceae* sont une famille indigène méditerranéenne de près de 200 espèces d'arbustes¹. Cette famille connue pour ses beaux arbustes est formée de différents genres, dont *Halimium* et *Cistus* (Ahlem et al., 2017) (Tableau 1).

Selon le (GIDFA, 2012) le nom de genre *Cistus* vient du grec *kistos* qui signifie capsule ou panier en allusion aux fruits capsulaires.

La famille des Cistacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend moins de 200 espèces et maximum dix (10) genres ; selon le centre national de l'information biotechnologique (NCBI), cette famille présente (genres incluant, *Cistus*, *Crocanthemum*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea*, *Tuberaria*. Ce sont des arbustes, des plantes herbacées, poilues ou velues, pérennes ou annuelles, à feuilles simples souvent opposées, à fleurs solitaires ou en cymes, à cinq pétales libres des régions tempérées à subtropicales surtout présents autour du bassin méditerranéen (Bouzerkoune, 2003).

Selon NCBI, la famille des cistacées comporte les genres et les espèces suivants :

Tableau n°01 : les différents genres et espèces de la famille des cistacées

Le genre <i>Cistus</i>	comporte les espèces suivantes : <i>C. albidus</i> L., <i>C. creticus</i> L., L'espèce <i>C. creticus</i> (synonyme : <i>C. incanus</i>), <i>C. creticus</i> L, <i>C. heterophyllus</i> , <i>C. monspeliensis</i> , <i>C. ladanifer</i> , <i>C. laurifolius</i> , <i>C. populifolius</i> , <i>C. salvifolius</i> , <i>C. clusi</i> , <i>C. inflatus</i> (synonyme <i>Cistus hirsutus</i>).
Le genre <i>Halimium</i>	le genre <i>Halimium</i> comporte les espèces suivantes : <i>Halimium alyssoides</i> , <i>H. atriplicifolium</i> , <i>H. commutatum</i> , <i>H. halimifolium</i> , <i>H. lasianthum</i> , <i>H. ocymoides</i> , <i>H. umbellatum</i> , <i>H. verticillatum</i> , et <i>H. viscosium</i> .
Le genre <i>Crocanthemum</i>	comporte deux espèces <i>C. argenteum</i> et <i>C. pringlei</i>
Le genre <i>Fumana</i>	comporte trois espèces <i>F. ericoides</i> , <i>F. fontanesili</i> , et <i>F. thymifolia</i> .
Le genre <i>Helianthemum</i>	comporte les espèces <i>H. aegyptiacum</i> , <i>H. almerianse</i> , <i>H. apenninum</i> , <i>H. canum</i> , <i>H. grandiflorum</i> , <i>H. kahiricum</i> , <i>H. ledifolium</i> , <i>H. marifolium</i> , <i>H. nummularium</i> , <i>H. oelandicum</i> , <i>H. scopulicola</i> , <i>H. squamatum</i> , ; <i>Hudsonia</i> , et <i>tomentosa</i> .
Le genre <i>Lechea</i>	comporte une seule espèce <i>lechea tripetala</i> .
Le genre <i>Tuberaria</i>	comporte deux espèces <i>T. globulariifolia</i> , <i>T. guttata</i>

2-Distribution géographique de la famille *Cistaceae*

Les plantes de la famille *Cistaceae* sont en général des arbustes, sous-arbrisseaux et plus rarement des plantes herbacées. Elles peuvent être vivaces ou annuelles et sont caractéristiques des milieux secs et ensoleillés. Selon Beatriz Guzman, cette famille compte environ 200 espèces réparties en 8 genres que sont *Cistus*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Tuberaria*, *Crocانthemum*, *Hudsonia* et *Lechea*. Les espèces qui caractérisent tous ces genres sont principalement localisées dans les zones tempérées du nord, particulièrement dans la région méditerranéenne (Tableau 02). En effet, toutes les espèces relevant des cinq premiers genres mentionnés ci-dessus, sont distribuées presque exclusivement dans le bassin méditerranéen. Les espèces constituant les trois derniers genres cités se rencontrent dans les régions tempérées de l'Amérique (Figure n°01). (Laraoui.,2016).

L'Algérie constitue avec le Maroc et la péninsule ibérique, le territoire de prédilection des Cistacées de l'ancien monde (Ozenda,1977).

Tableau n° 02 : Distribution géographique des huit taxons des *cistaceae* (Laraoui,2016) :

Taxon	Nombre d'espèces	Localisation
<i>Helianthemum</i>	110	-Europe centrale et méridionale, Russie, Asie centrale, Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Lybie,...), Amérique
<i>Cistus</i>	21	- Régions méditerranéennes, Afrique du Nord.
<i>Crocانthemum</i>	20	- Côtes atlantiques d'Amérique (Californie et Mexique)
<i>Lechea</i>	17	-Amérique du Nord
<i>Tuberaria = Xolantha</i>	12	-Régions méditerranéennes occidentales et méridionales du Nord
<i>Fumana</i>	9	-Europe méridionale, régions méditerranéennes
<i>Halimium</i>	8	-Europe méridionale, Afrique du Nord, région méditerranéenne occidentale.
<i>Hudsonia</i>	2	- Amérique du Nord.

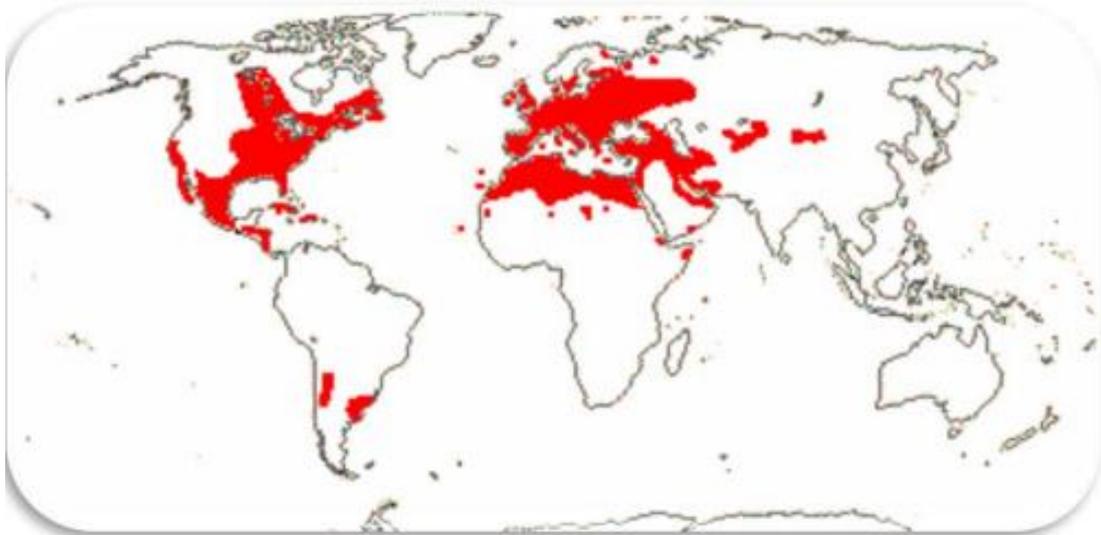


Figure n°01 : distribution mondiale de la famille des *cistaceae* (Laraoui ,2016).

3-Présentation de la plante *halimium*

Halimifolium Halimium (L.) Willk. (*Cistaceae*) ; est un arbuste (Figure n°02) qui pousse sur les sols sableux intérieures et côtières dans la région méditerranéenne. Il est de taille moyenne, à hauteur de la couronne entre 60 et 120 cm. Les fleurs sont grandes et jaunes. Les feuilles sont elliptiques, tomenteux blanches sur les deux surfaces, couvertes de poils blancs, trichomes, qui fournissent réluctance élevée de la feuille (**Khawla ,2017**).

HALIMIUM halimifolium est un arbuste d'origine méditerranéenne. Redonnant une couleur éclatante à vos massifs par sa floraison jaune intense sur un fond de feuillage gris, cet arbuste est aussi apprécié pour son feuillage persistant et son port buissonnant à étaler. Il conviendra parfaitement pour embellir vos massifs de plein soleil (**Pépinère,2016**).

3-1 Description morphologique de la plante : Selon (Julve, 2021) in (Tela botanica)

C'est une plante ligneuse ou herbacée a :

a- Feuilles entières parfois ondulées crispées généralement opposées et persistantes, ovales-oblongues, planes, blanches-argentées et couvertes sur les 2 faces d'un duvet court et velouté, sans stipules.

b- Tige de 30-60 cm, ligneuse, à rameaux dressés, tomenteux (couvert d'une pubescence cotonneuse, entrecroisée, feutrée : jeunes Coings, *Cistus albidus*).



Figure n°02 : La plante *cistus* (Liliane ,2008)

c- Fleurs de 2-3 cm, jaunes, tachées de violet à la base, peu nombreuses en grappe corymbiforme

d- 5 pétales très caducs (durée de vie : 1 jour), contournés dans le bouton floral,
3 sépales , égaux, tomenteux avec écailles jaunes, 1-2 fois plus courts que le pédicelle.



Figure n°03 : La fleur de *Cistus Halimifolius* (Liliane,2008).

e- Etamines très nombreuses sur plusieurs rangs à filets filiformes.

f- 1 seul style. Ovaire libre donnant un fruit capsulaire à 2, 3, 5 ou 10 loges et autant de valves

g- Capsule ovale, tomenteuse.

h- Graines nombreuses, fortement tuberculeuses.

3-2 Description Baseflor

Type Biologique : Chaméphytes (≥ 1 m) frutescents	
Formation végétale : parvochaméphytaie	
Chorologie : méditerranéen occidental	
Inflorescence : cyme unipare hélicoïde Fruit : capsule Couleur de la fleur : jaune Macule : bleu Floraison : de avril à juin	sexualité : hermaphrodite Pollinisation : entomogame Dissémination : épizoochore

3-3 Taxinomie et classification

Tableau n°03 : Classification scientifique de la plante *Cistus halimifolius* (Benoit et al ., 2021).

Rang	Nom Scientifique
<i>Cladus</i>	<i>Plantae</i>
<i>Cladus</i>	<i>Plasmodesmophytes</i>
<i>Cladus</i>	<i>Embryophytes</i>
<i>Cladus</i>	<i>Stomatophytes</i>
<i>Cladus</i>	<i>Hemitracheophytes</i>
<i>Cladus</i>	<i>Tracheophytes</i>
<i>Cladus</i>	<i>Euphyllophytes</i>
<i>Cladus</i>	<i>Spermatophytes</i>

<i>Cladus</i>	<u>Angiospermes</u>
<i>Cladus</i>	<u>Eudicotyledones</u>
<i>Cladus</i>	<u>Dicotyledones Vraies Superieures</u>
<i>Cladus</i>	<u>Dicotyledones Vraies Superieures</u>
<i>Cladus</i>	<u>Rosidees</u>
<i>Cladus</i>	<u>Malvidees</u>
<i>Ordre</i>	<u>Malvales</u>
<i>Famille</i>	<u>Cistaceae</u>
<i>Genre</i>	<u>Cistus</u>
<i>Espèce</i>	<u>Cistus halimifolius</u>
<i>Variété</i> Cistus	<i>Halimifolius var. halimifolius</i>

3-4 Ecologie de la plante

Les Cistes sont des arbrisseaux appartenant à la famille des *Cistaceae* et au genre *Cistus*, qui rassemble une vingtaine d'espèces originaires des bords de la Méditerranée. Ils poussent spontanément dans les garrigues et talus du Midi aux sols secs, bien ensoleillés, que le sol soit caillouteux, pauvre, acide ou calcaire. Ils forment de petits buissons de 0,30 à 1,50 m environ de haut (**Quezel et Santa, 1962**).

Tous les *Cistes* poussent en climat sec et en terrain pauvre, mais ils s'adaptent aux climats océanique et semi-continentale. Ils sont semi-rustiques, supportant le gel jusqu'à -10 ou -15°C selon les variétés et les emplacements plus ou moins abrités (**Quezel et Santa, 1962**).

3-4-1 Caractéristiques climatiques

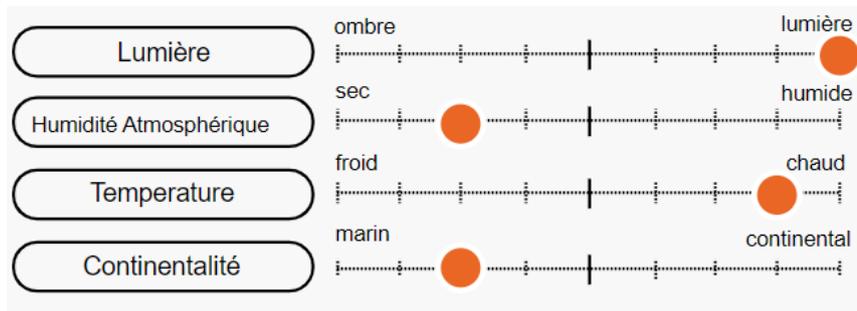


Figure n°04 : Caractéristiques climatiques de la plante *Cistus Halimifolius* (Julve,2021).

3-4-2 Caractéristiques du sol

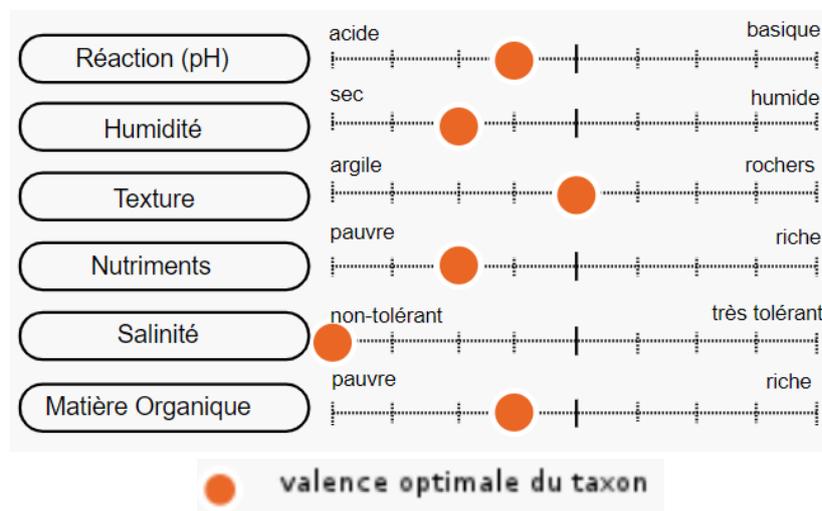


Figure n°05 : Caractéristiques du sol de la plante *Cistus Halimifolius* (Julve ,2021).

3-5 Utilisation traditionnelle de *Cistaceae*

Plusieurs espèces et hybrides de genre *Cistus*, *Halimium* et *Helianthemum* sont cultivés comme plantes ornementales .Les feuilles de plusieurs espèces de genre *Cistus* produisent le *ladanium*, une résine aromatique utilisée en médecine . Le genre *Cistus* est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques comme : *Cistus albidus* : les feuilles sont utilisées à Rabat sous forme de tisanes comme agent digestif (Khawla ,2017).

A Marrakech, les graines de quelques espèces du genre *Cistus* sont mélangées avec des épices, s'emploient comme aliment apéritif. On les prescrit aussi comme aphrodisiaque (Seraoui ,2019).

En plus des espèces de *Cistus* sont employées en Italie, en Grèce, en Espagne et en Turquie pour le traitement de la diarrhée et des ulcères gastriques, en tant que remèdes généraux pour traiter plusieurs maladies de peau, comme agents anti-inflammatoires et antispasmodiques

. Dans le nord du Maroc (douar Agan, région de Talambot), les fruits des cistes (âmerîl) servent à confectionner le HARKOUS (fard à tatouage) (**Seraoui 2019**).

Un certain nombre d'espèces de *Cistus* ont été utilisées dans la médecine populaire méditerranéenne sous forme d'infusions pour soigner les problèmes digestifs et les rhumes, sous forme d'extraits pour le traitement de maladies et sous forme de parfums. La résine, ladano, sécrétée par les trichomes glandulaires de certaines espèces de *Cistus* contient un certain nombre de substances phytochimiques aux propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et anticancéreuses. En outre, les extraits aqueux de feuilles totales possèdent une activité antigrippale. Toutes ces propriétés ont été attribuées à des substances phytochimiques telles que des *terpénoïdes*, notamment des diterpènes, des diterpènes de type *labdane* et des *clérodanes*, des *phénylpropanoïdes*, notamment des flavonoïdes et des ellagitannins, plusieurs groupes d'alcaloïdes et d'autres types de métabolites secondaires (**Papaefthimiou et al ., 2014**).

Partie II : Métabolites secondaires

Métabolites secondaires

D'après (LABBANI, 2022), un métabolite est un composé organique intermédiaire ou issu du métabolisme.

Le métabolisme est l'ensemble des réactions biochimiques qui se déroulent au sein de la cellule et qui conduisent à la synthèse des molécules nommées métabolites. Chez les végétaux, on distingue deux classes de métabolismes/métabolites :

Métabolisme primaire, qui produit des métabolites primaires

Métabolisme secondaire, qui produit des métabolites secondaires .

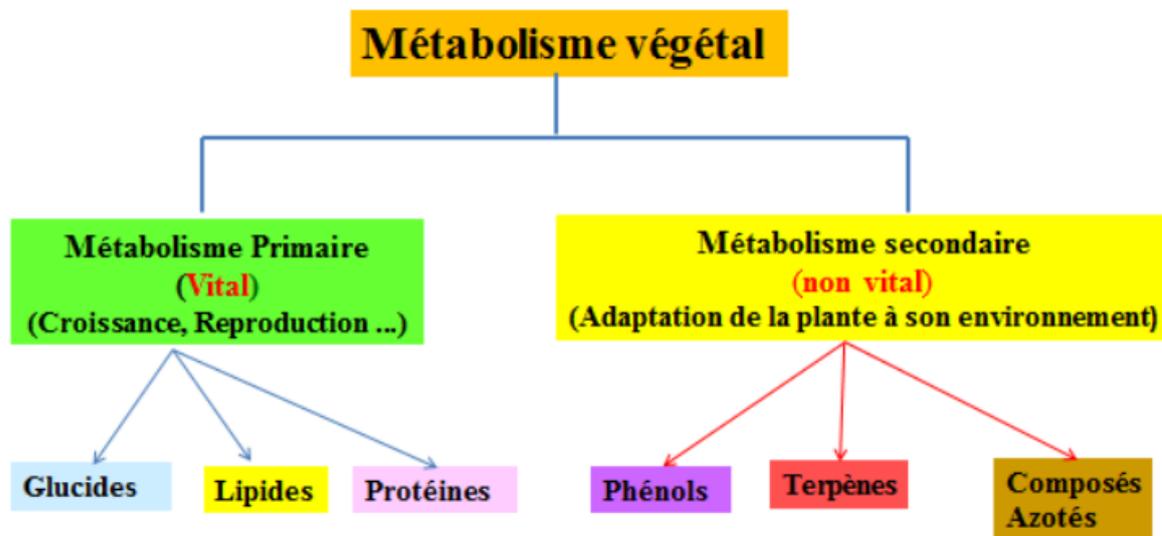


Figure n°06 : Le métabolisme végétal (métabolites primaires/secondaires)

(LABBANI, 2022).

Les métabolites secondaires sont contrairement aux métabolites primaires des composés phytochimiques non directement impliqués dans les processus vitaux de base (la croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, la reproduction).

Les métabolites secondaires sont composés de 3 principales catégories qui sont les terpènes, les composés phénoliques et les alcaloïdes (ou composés azotés).

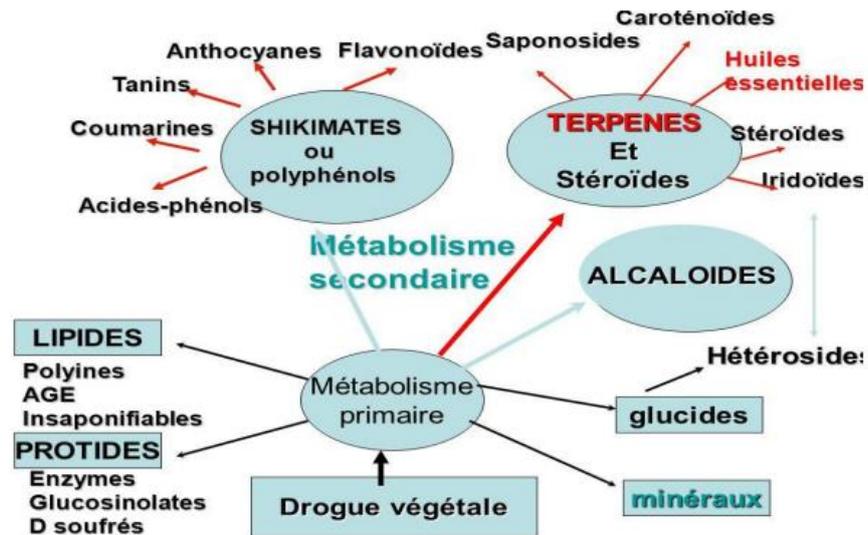


Figure n°07 : Classification des métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Muanda, 2018).

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les *phénylpropanoïdes*, les anthocyanes et les tannins.

- Les alcaloïdes, renferme un atome d'azote dans la structure. Parmi ces derniers, certains relarguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.
- Les mucilages: Ces sont des polymères complexes de fructose, d'acide *glucorinique* et d'acide *manuronique*. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent avec l'eau (agar agar).
- Les gommes et les résines: Ces sont des substances produites par la plante à la suite d'une blessure.
- Les huiles essentielles: Ces sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau.

Les latex: Ces sont des substances sécrétées ou fabriquées par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) et qui ont la particularité de se solidifier au contact de l'air. Dans cette étude, nous nous intéresserons plus particulièrement aux composés phénoliques dont nous présenterons quelques exemples ainsi que leur biosynthèse(**Muanda,2018**).

1-Classification des métabolites secondaires

Selon (**Bendjabeur,2020**), on estime à plusieurs centaines de milliers les métabolites secondaires (200.000), de structure et de fonction très diverses. Il existe donc un grand nombre de classification selon les sources.

Il ressort que la classification la plus élémentaire des métabolites secondaires inclue trois groupes:

- Les terpènes (par exemple : les substances volatiles des plantes, les glycosides, les caroténoïdes, les stérols, ...).
- Les composés phénoliques (par exemple : les acides phénoliques, les coumarines, les -lignanes, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins, la lignine, ...).
- Les composés contenant de l'azote (par exemple : les alcaloïdes, les glucosinolates, ...)

Tableau n°04: Métabolites secondaires retrouvés chez les végétaux (Bendjabeur, 2020**).**

Alcaloïdes	Flavonoïdes	Phényl-propanoïdes
Alcaloïdes dérivés de l'ornithine	Flavonoïdes	Monolignols
Alcaloïdes dérivés de la lysine	Isoflavonoïdes	Lignanes
Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotique	Flavonoïdes complexes	Coumarines
Alcaloïdes dérivés du tryptophane et de l'acide anthranilique	Terpenoïdes	Polycétides
anthranilique Alcaloïdes dérivés de l'histidine	Hemiterpenoïdes (C5)	Anthraquinones
Alcaloïdes dérivés par réactions d'amination	Monoterpenoïdes (C10)	Pyrones
Autres	Sesquiterpenoïdes (C15)	Autres
	Diterpenoïdes (C20)	
Skimate/ composés issus de la voie de l'acétate-malonate	Sesterterpenoïdes (C25)	Autres
Stilbenoïdes	Triterpenoïdes	Naphthoquinones
Autres	Stéroïdes	Tannins et dérivés galloyl
	Caroténoïdes et apocaroténoïdes	

Composés dérivés d'acides aminés	Autres	
Betalaines		
Glucosides cyanogéniques		
Glucosinolates		

1-1 Terpenes (Terpenoïdes)

Les *terpénoïdes*, également connus sous le nom d'*isoprénoïdes*, sont les produits naturels les plus nombreux et les plus diversifiés sur le plan structurel que l'on trouve dans de nombreuses plantes. Plusieurs études *in vitro*, précliniques et cliniques ont confirmé que cette classe de composés présente un large éventail de propriétés pharmacologiques très importantes. La diversité des structures et des fonctions des terpénoïdes a suscité un intérêt accru pour leur utilisation commerciale, si bien que certains d'entre eux, dont les applications médicales sont établies, ont été enregistrés comme médicaments sur le marché. (Ludwiczuk, 2017).

Selon (Merghem) les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène d'où le nom d'*isoprénoïdes* sous lequel ils sont parfois désignés. Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue:

a- Les terpènes proprement dits ou monoterpènes ou huiles essentielles (C10)

Ce sont des produits généralement odorants obtenus par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux entiers ou d'organes de végétaux. Beaucoup de monoterpènes réguliers (C10) se trouvent sous formes cyclisées. Ils constituent une part importante des huiles essentielles.

Beaucoup de plantes contenant des huiles essentielles sont utilisées en nature pour leurs propriétés médicinales et en alimentation comme épices ou aromates.

b- Les sesquiterpènes (C15)

Ce sont des hydrocarbures de formule $C_{15}H_{24}$ ($n=3$), soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes vrais (en $C_{10}H_{16}$). • Composés acycliques: on peut citer le farnésène et le farnésol (alcool correspondant du farnésène, essence de Tilleul, baumes du Pérou). • Composés monocycliques: *Le zingibérène* (du Gingembre) et L'humulène (du Houblon) • Composés bicycliques: *Le cadinène* (du goudron de Cade: Genévrier du midi).

c- Les diterpènes (C20)

Ce sont des dérivés des hydrocarbures en $C_{20}H_{32}$ ($n=4$). Le phytol, la vitamine A, les

acides résiniques des conifères, les gibbérellines sont des exemples de diterpènes. La vitamine A est rencontrée de façon exceptionnelle chez les végétaux, le persil par exemple en est bien pourvu. Les animaux savent la synthétiser à partir du carotène.

d - Les triterpènes (C30) dérivés (Stéroïdes)

Ces composés en C30 (n=6) sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre (*phytosterols*), estérifiés, ou sous forme *hétérosidiques* (saponosides):

-Stérols: stigmastérol, sistostérol.

-Stéroïdes: diosgénine, digitoxigénine.

-Limonine: principe amer du citron et des oranges.

-L'acide oléanolique (Olivier, Aubépine).

-L'acide glycyrrhétic uni à l'acide glycuronique dans la glycyrrhizine de la réglisse).

Exmple : Les saponosides :

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène . La saponine de soja.

e- Tétraterpènes (C40) (Caroténoïdes)

Les seuls représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substances colorées en jaune, orange ou rouge auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs. Leur nom dérive du carotène qui a été isolé pour la première fois de la racine de la carotte (*Daucus carota*).

f- Polyterpènes (C4000) (Caoutchouc naturel)

Les *polyisoprénoïdes* présentent une structure linéaire. Les gommés les plus exploitées sont celles d'*Hevea brasiliensis* (Euphorbiacées) et du *Gutta percha* (*Sapatacées*).

1-2 Composés phénoliques ou polyphénols

Les composés phénoliques (polyphénols) sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils sont largement présents dans tous les organes de la plante . L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est

directement lié un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester,...) . Les composés phénoliques possèdent une grande diversité structurale et sont classés en flavonoïdes et non flavonoïdes (**Laraoui ,2016**).

Les polyphénols sont souvent associés en structures complexes généralement de haut P.M. et sont le plus souvent solubles dans l'eau (hydrosolubles). Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. Ils présentent près de 8000 molécules divisées en une dizaine de classes chimiques (**Stalikas, 2007**). Chaque classe est caractérisée par la présence d'un noyau benzoïque auquel un ou plusieurs groupes hydroxyles sont directement liés (**Macheix et al., 2005**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois). Ils sont synthétisés par les plantes soumises à des conditions difficiles (infections, blessures, radiation UV, ...) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. Leurs localisation au sein de la plante est à peu près homogène entre tiges, feuilles, racines et graines. A l'échelle cellulaire, ces molécules sont stockées dans des vacuoles cytoplasmiques mais seulement dans les cellules périphériques des épidermes de la plante in (**Labbani,2022**).

Tableau n°05 : Principales classes de composés phénoliques (Laraoui, 2016).

Squelette carboné	Classe	Exemple
Non flavonoïde		
C6	Phénols simples	Catéchol
C6-C1		p-hydroxybenzoïque
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique et férulique Scopolétine, esculetine
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol
(C6-C3)n	Lignines	Matairésinol
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés	prodelphinidine
(C6-C1)n	Tanins hydrolysables	Castalagine
Flavonoïdes		
C6-C3-C6	Flavonoïdes → Flavonols → Anthocyanes → Flavanols → Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pèlargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine

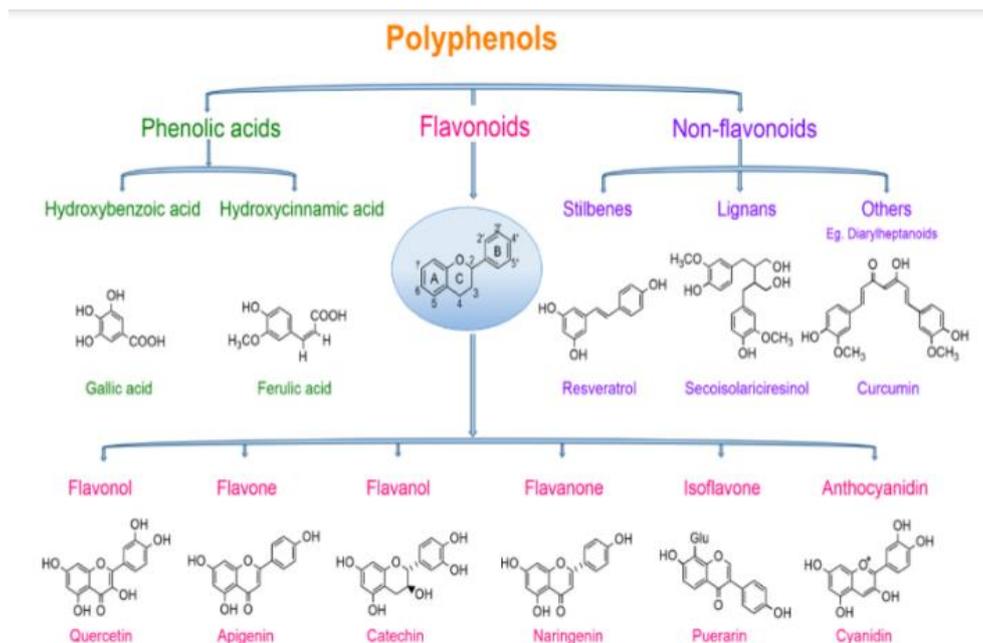


Figure n°08 : Classification et structure chimique Composés phénoliques (LABBANI,2022).

a) Acide phénolique

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïques et cinnamiques (**Bruneton, 1993**).

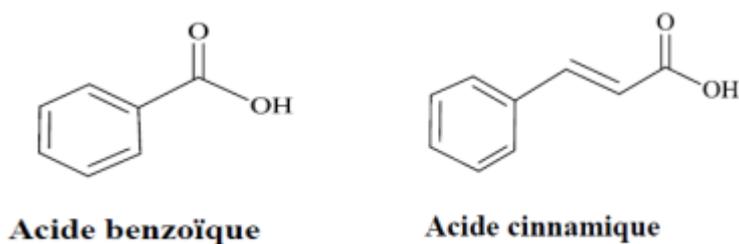


Figure n° 09 : Structures de l'acide benzoïque et acide cinnamique (**Laguerre et al., 2007**).

b) Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques.

Au sens strict, sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, très répandus chez les végétaux ; ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone (flavones vraies).

Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieure particulièrement

dans certaines familles : *Polygonaceae*, *Rutaceae*, *Fabaceae*, *Apiacea* et *Asteraceae*. Les flavonoïdes sont aussi présents chez les Bryophytes, Ptéridophytes (fougères) et les Gymnospermes. Présents dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeune (feuilles et boutons floraux) (**Ben Moussa MT**).

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavones (telle que, l'apigénol) et flavonols (comme le quercétol), incolores ont un rôle de co-pigment et de protection alors que les flavonoïdes jaunes (chalcones comme l'isoliquiritigénine, aurones dont l'hispidol, et flavonols jaunes) et les anthocyanosides bleus et rouges sont directement visibles. Certains ne sont visibles que par les insectes, assurant la signalisation pour les pollinisateurs. Ces composés sont considérés comme responsables de l'activité antioxydante ; ils peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes , soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres . Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibition de la lipoxygénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols) (**Khawla ,2017**).

Les flavonoïdes présentent une diversité structurale très importante. Ils sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemple les activités antivirale, anti-inflammatoire, et anticancéreuse. Ces activités sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{H}$) et superoxydes ($\text{O}_2 \bullet -$) (**Bouzeroune ,2003**).

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (Schéma 1). Les flavonoïdes sont des cristaux présentant des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon

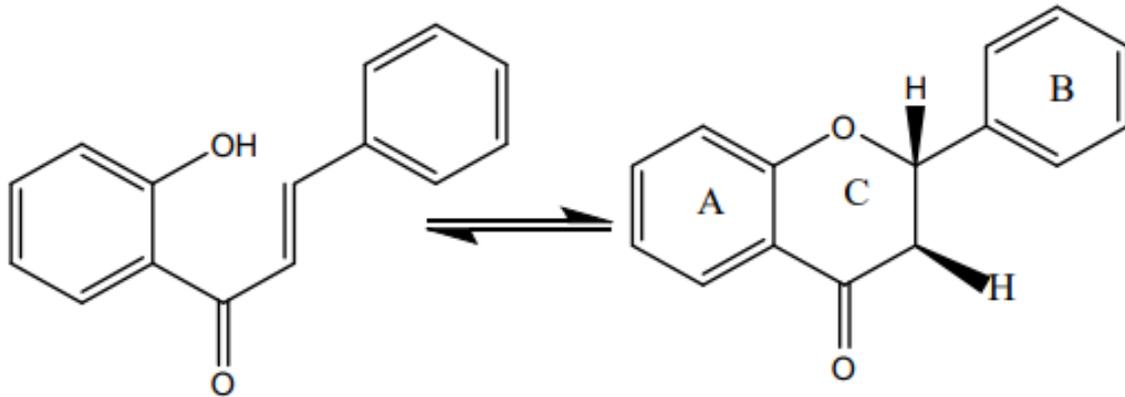


Figure n°10 : Structure de base d'un flavonoïde (Seraoui, 2019).

les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones aurones. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à-dire liée à des oses et autres substances (HELLER et FORKMANN, 1993) in (R.Seraoui, 2019).

c) Tanins

Les tanins constituent un autre groupe de substances phénoliques, qui ont un caractère oligomérique ou polymérique. Les tanins sont aussi communément appelés agents tannants et peuvent complexer les protéines et les glucides polymères. Basé sur la structure chimique des blocs de construction monomères, les tanins sont divisés en quatre groupes : tanins condensés (proanthocyanidines), phlorotannins, tanins hydrolysables et Le quatrième groupe décrit les polymères mélangés des éléments structurels des tanins et d'autres macromolécules (Peer, 2014).

c-1: Tanines hydrolysables

Qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Cowan., 1999 ; Bruneton., 1993).

c-2 : Tanines condensés ou catechiques

Qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons

carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (**Bruneton, 1999**).

d) Lignines

Les *lignanes* résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignanes (liaison entre deux carbones ;des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone est en jeu), les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17.

Les *néolignanes* sont surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales) alors que les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes (**Kerbab,2017**).

La lignine est un polymère complexe aromatique, hydrophobe, de haut poids moléculaire formé à partir d'unités dérivées de l'acide cinnamique. La lignine est de formule brute $(C_6-C_3)_n$. Elle renforce les parois végétales et limite fortement la digestibilité des tissus lignifiés. La composition des lignines est différente entre les gymnospermes (100% coniférylique), les dicotylédones (coniférylique + sinapylique) et les monocotylédones(coniférylique + sinapylique + coumarylique) (**LABBANI,2022**).

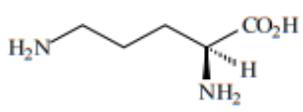
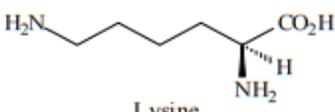
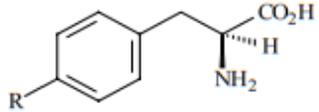
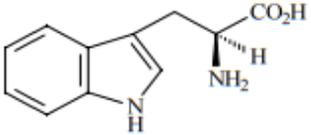
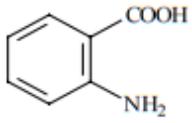
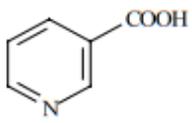
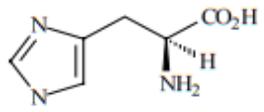
l'opium par Derosne 1803; de la quinine par Pelletier et Caventou en 1821; *hémisynthèse* de la vincamine par LeMen et Levy en 1975; hémisynthèse du taxol par Potier en 1992 ...). On connaît, à l'heure actuelle plus de 5500 alcaloïdes et leur liste s'allonge continuellement. Tous les alcaloïdes contiennent de l'azote "N", le plus souvent inclus dans un hétérocycle.

Les alcaloïdes sont des composés d'origine naturelle azotés basiques à forte activités biologiques, toxiques pour la plupart, qui sont extrait en majorité de plante à fleurs (8,7% de Phanérogames, Dicotylédones).

Les alcaloïdes sont utilisés comme antalgiques majeurs (morphine), antipaludéen (quinine). pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante/stimulante (curare, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaine, mescaline), comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine, vincristine).

L'atome d'azote dans les alcaloïdes provient, en général, d'un acide aminé dont la structure carbonée reste souvent intacte dans la structure finale de l'alcaloïde. Une façon raisonnable est alors de classer les alcaloïdes en groupes, selon leur précurseur biosynthétique. Il existe cependant un grand nombre d'alcaloïdes qui n'ont pas forcément un acide aminé comme précurseur. Dans ces cas-là, l'atome d'azote est incorporé à un stade avancé de la biosynthèse par réactions d'amination sur des intermédiaires aldéhydes ou cétones. (**N. mourou, 2006**)

Tableau n°06 : quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé (N.mourou,2006).

Acide aminé	Type d'alcaloïde
 <p>Ornithine</p>	Pyrolidines, pyrrolizidines, tropanes
 <p>Lysine</p>	Pipéridines, quinolizidines, indolizidines
 <p>R = H , Phénylalanine R = OH , Tyrosine</p>	Alcaloïdes du type éphédrine, isoquinoléines
 <p>Tryptophane</p>	Indoles
 <p>Acide anthranilique</p>	Quinoléines, quinazolines, acridines
 <p>Acide nicotinique</p>	Pyridines
 <p>Histidine</p>	Imidazoles
Via aminations	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens

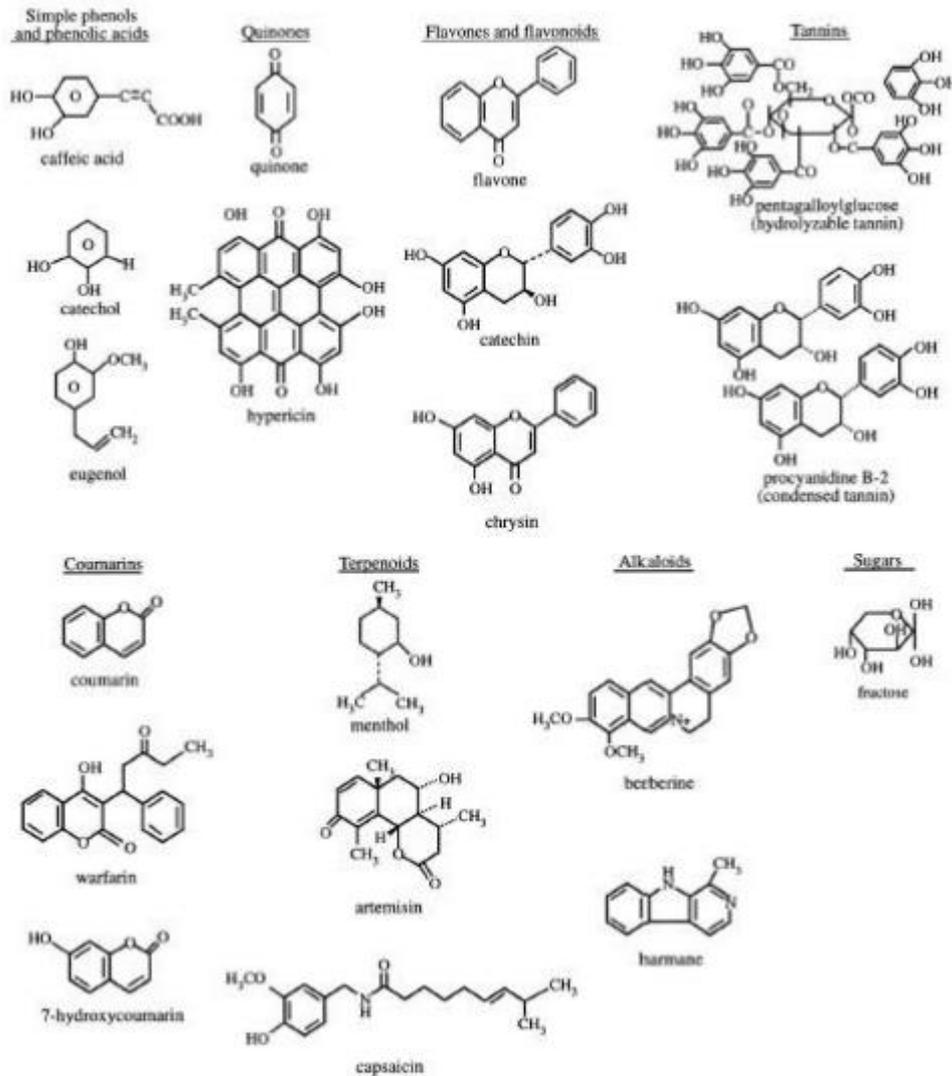


Figure n°12: Structure chimique de quelques métabolites secondaires des plantes (Bendjabeur, 2020).

2-Métabolites secondaires chez la famille *cistaceae*

Une grande variété de métabolites secondaires est présente dans les différents tissus des 10 espèces de *Cistus*. Au total, 733 substances chimiques ont été rapportées, dont 397 sont des terpènes (101 monoterpènes, 178 sesquiterpènes et 118 diterpènes), 162 sont de nature phénylpropanoïde (128 flavonoïdes, 17 phénoliques et 12 tanins), 24 hydrocarbures, 35 acides gras, 36 composés carbonyliques et 18 phytohormones et vitamines. En particulier, *C. albidus* est l'une des espèces les plus étudiées et contient 140 terpènes (34 monoterpènes, 101 sesquiterpènes et 5 diterpènes), 24 phénylpropanoïdes (18 flavonoïdes, 2 phénols et 4 tanins), 9 hydrocarbures, 24 acides gras, 7 composés carbonyliques et 18 phytohormones et vitamines. (D.Papaefthimiou et al., 2014)

2-1 Flavonols et flavones

Les flavonoïdes isolés ou mis en évidence dans les plantes *Cistaceae* sont constitués essentiellement de flavonols O-méthoxylés et/ou O-glycosylés, flavanols et flavones. Bien que des génines de type myricétine, apigénine, lutéoline, gossypétine, herbacétine et isorhamnétine ont été isolées, la présence de flavonoïdes dérivés du kaempférol et quercétine est particulièrement remarquable dans cette famille (H,laraoui ,2016).

Tableau n°07 : Distribution des flavonols et flavones dans le genre *Cistus*.

	Flavonols et flavones	Espèce	pays	Références
1	Apigénine	<i>C. ladanifer</i>	Espagne	Christina et al, 2016.
2	3-méthyléther de kaempférol			
3	3-méthyléther de kaempférol			
4	7-méthyléther d'apigénine			
5	3,7-di- O -méthyléther de kaempférol			
6	Myricétine	<i>C. monspeliensis</i>	Espagne	Dimitra et al, 2014.
7	Apigénine-6-C-glucoside	<i>C. ladanifer</i>	Espagne Portugal	Barros et al, 2013.
8	Apigénine-6-C-rutinoside			
9	quercétin-3-O-rhamnoside	<i>C. creticus sub sp</i>	Italie	Filippo et al, 2016.
10	tricétin-4'-O-β-D glucopyranoside			
11	tricétine-4'-O-β-D rutinoside			
12	3'-méthoxy-quercétine- 3-O-(3-β-d-glucopyranosyl-2-rhamnopyranosil-4-glucopyranosyl-2-rhamnopyranosil) -glucoside			
13	3', 4'-diméthoxyquercétine-3-O-rhamnopyranoside			
14	Epicatéchine-(4β→6)-catéchine	<i>C. incanus</i>	Allemagne	Laraoui, 2016.
15	Epigallocatechine-3-O-gallate- (4β→6)-			

	<i>gallocatéchine</i>			
16	<i>Epigallocatechine-(4β→8)-catéchine</i>			
17	<i>Epigallocatechine-(4β→8)-gallocatéchine</i>			
18	<i>Epigallocatechine-3-O-gallate-(4β→8)-gallocatéchine</i>			
19	<i>Gallocatechine-(4α→8)-Gallocatechine-(4α→8)-gallocatéchine</i>			

2-2 Acides phénoliques dans le genre *Cistus*

Tableau n°08 : Distribution des acides phénoliques dans le genre *Cistus*.

	Acides phénoliques	Espèce	Pays	Références
1	L'acide salicylique	<i>C. incanus C. albidus</i>	Allemagne	Peer, 2014
2	l'acide gentisique			
3	l'acide protochatéchuique			
4	l'acide vanillique			
5	l'acide caféique			
6	l'acide sinapinique			
7	l'acide néochlorogénique			
8	l'acide cryptochlorogénique			
9	l'acide chlorogénique			
10	l'acide gallique	<i>C. monspeliensis C. populifolius C. salviifolius C. laurifolius C. ladanifer C. incanus C. crispus C. albidus C. cranus C. clusii</i>	Espagne	Dimitra et al, 2014

2-3 Les tanins dans le genre *Cistus*

Tableau n° 09 : Distribution des tanins dans le genre *Cistus*

	Tanins	Espèce	Pays	Références
1	Proanthocyanidines	<i>C. incanus</i>		Peer, 2014.
2	Phlorotannins(1,3,5-trihydroxybenzène)			
3	Gallotannin			
4	Ellagitannine	<i>C. monspeliensis</i> <i>C. populifolius</i> <i>C. salviifolius</i> <i>C. laurifolius</i> <i>C. ladanifer</i> <i>C. incanus</i> <i>C. crispus</i> <i>C. albidus</i> <i>C. cranus</i> <i>C. clusii</i>	Espagne	Dimitra et al, 2014.

2-4 Terpènes

La teneur en métabolites et les substances volatiles dans le Ciste sont influencées par plusieurs facteurs, notamment les phénomènes diurnes, saisonniers, écologiques, la sécheresse, la température, l'âge de la plante et les précipitations (**Dimitra et al., 2014**).

De plus, en fonction du type de trichome qu'elles contiennent, les espèces de Ciste peuvent être fortement productrices de monoterpènes et de sesquiterpènes, alors que d'autres de diterpènes (**Dimitra et al., 2014**).

2-5 Composés volatils

La composition générale des huiles essentielles extraites de quelques plantes Cistaceae est un mélange de terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes labdaniques) et leurs dérivés esters (**Dimitra et al., 2014**).

3-Conclusion

Les exemples mentionnés ci-dessus illustrent la richesse et la diversité des métabolites secondaires offerts par la nature. Malgré les avancées significatives dans le domaine de la chimie et de la biologie, une grande part des plantes reste encore inexplorée. Cette réalité ouvre des perspectives prometteuses pour la découverte de traitements contre des maladies dévastatrices, ainsi que pour le développement de thérapies présentant un minimum d'effets secondaires indésirables. L'exploration de ces plantes inconnues représente donc une opportunité passionnante et cruciale pour l'avenir de la recherche méd

Partie expérimentale

Partie I : Matériel et méthodes

1- Objectifs :

Durant ce travail ayant pour objectifs :

- Mettre en exergue la composition chimique de *C. halimifolius*.
- Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits de *C. halimifolius* contre certaines souches microbines

Nous avons procéder suivant les étapes cité ci-dessous :

- Etude bibliographique
- Récolte du matériel végétal
- Préparation des extraits bruts (extraits méthanoliques) de parties aériennes et des feuilles de *Cistus halimifolius*
- Etude phytochimique de la plante
- Évaluation « *in vitro* » de l'activité antimicrobienne des extraits de *Cistus halimifolius*.

2- Lieu et période de l'étude

Nos essais expérimentaux se sont étalés sur la période du 04 juin au 22 juin 2023 (période de floraison Mai-Juin). Ils ont été réalisés au niveau des laboratoires de biotechnologie, laboratoire de protection des végétaux et de Microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université IBN Khaldoun de Tiaret.

Le protocole expérimental suivi pour réaliser cette étude est mentionné dans la **figure 13**.

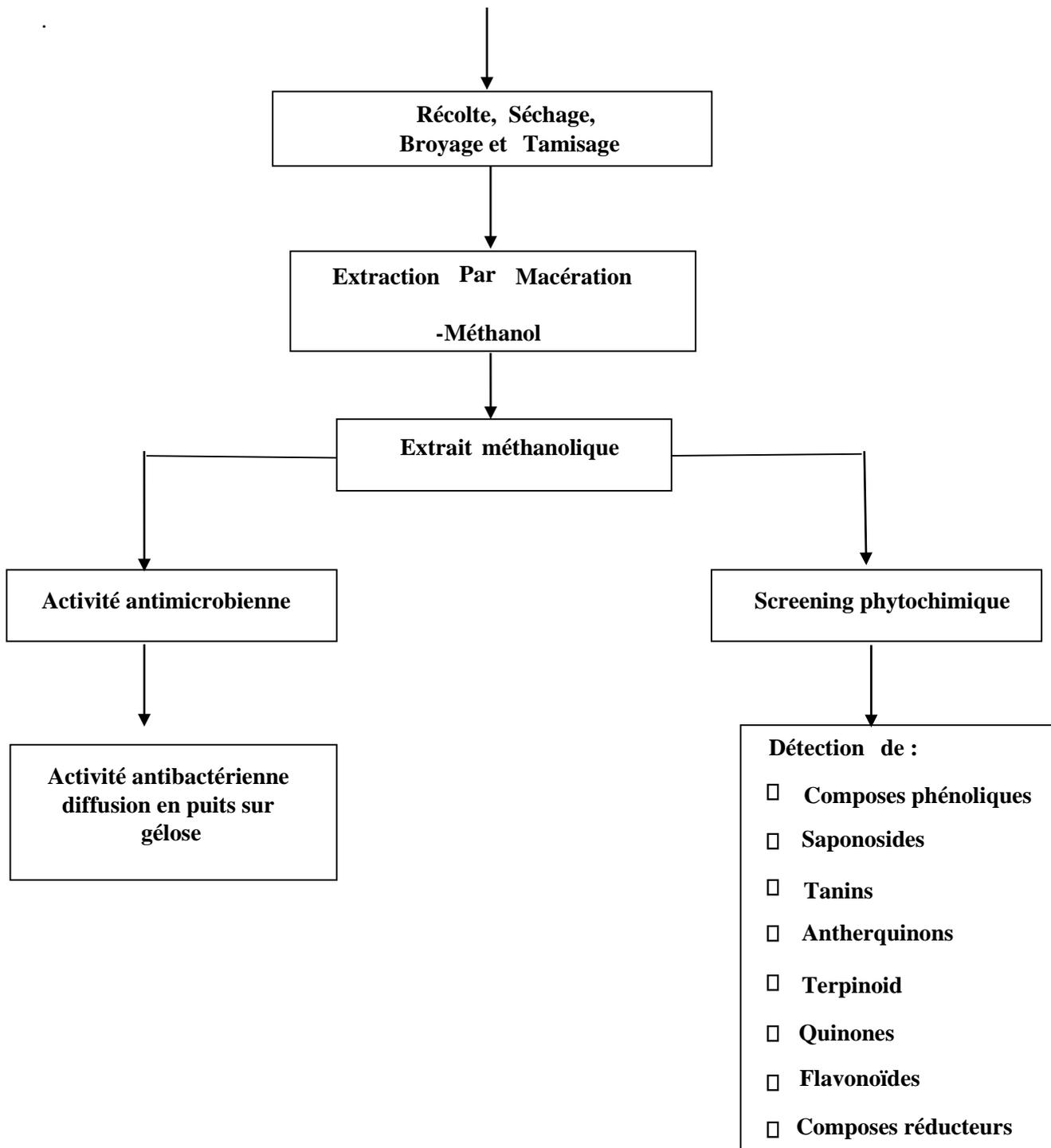
Cistus halimifolius (feuilles, fleurs, graines et branches)

Figure n°13 : Protocole expérimental

3- Matériel

3-1 Instruments et réactifs

(Annexe A: Tableau n°0)

3-2 Matériel biologique

3-2-1 Matériel végétal

Halimifolium Halimium (L.) Willk. (*Cistaceae*) est un arbuste qui se développe dans les régions méditerranéennes, tant sur les sols sableux intérieurs que côtiers. Il présente une taille moyenne, avec une hauteur de couronne variant entre 60 et 120 cm. Les fleurs de *Halimifolium Halimium* sont de couleur jaune et de grande taille. Ses feuilles, de forme elliptique, sont recouvertes d'un duvet blanc sur les deux surfaces, formé par des poils blancs appelés trichomes, qui confèrent une résistance élevée à la feuille.



Figure n°14 : Partie aérien de *cistus halimifoluis*. (**a** : avant le broyage, **b** : après le broyage)



Figure n°15 : Feuilles de *cistus halimifolius* (a : avant le broyage, b : après le broyage)

3-2-2 Critères de sélection des plantes

Pour la sélection de la plante, nous avons considéré un certain nombre de critères comme l'apport de la littérature, pour le présent travail, nous avons sélectionné une plante médicinale d'Algérie ayant un fort potentiel d'activité du fait de leurs usages traditionnels largement répandus, aussi le manque des études sur cette plante.

Récolte de la plante

Le matériel végétal a été récolté au mois de mai au niveau de la forêt du Djebel Guezoul au Nord-ouest de la ville de Tiaret.

3-2-3 Identification botanique

-L'identification botanique a été faite par Dr. MIARA Mohamed Djamel (Maitre de Conférences A au département de biologie, faculté des SNV, Université de Tiaret) par le biais de la flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Quézel et Santa, 1962-1963).

3-2-4 Préparation des échantillons

Après récolte le matériel végétal, nous avons procédé au séchage à la température ambiante (20 – 25°C) pendant environ un mois à l'air libre, jusqu' à la stabilisation de leur masse afin d'éviter d'éventuelles risques d'oxydation des polyphénols et de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Ensuite, les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l'abri de la lumière et d'humidité.

4- Méthode d'analyse

4-1 Criblage phytochimique

La première étape était la recherche des grandes classes de composés chimiques appartenant aux métabolismes secondaires des plantes étudiées.

En effet, le criblage phytochimique consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs.

4-1 1 L'épuisement du matériel végétal avec Le Méthanol (MTOH)

Une quantité de 5g du matériel végétal est mise en contact avec 50 mL d'MTOH dans un bécher, l'ensemble est agité pendant une heure à l'air ambiant, le mélange est filtré, et l'extrait méthanolique est soumis aux différents tests.

4-1 2 Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont pour but de détecter les différentes familles de métabolites secondaires existant dans notre extrait, en se référant à des réactions qualitatives de caractérisation, basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les résultats ont été évalués comme suit (**annexe1**)

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

a. Composés phénoliques

Un volume de 10 ml de chlorure d'hydrogène (HCl) est ajouté à 10 ml d'infusé méthanolique. Un test positif est révélé par la coloration vert en présence de polyphénols.

b. Flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 2,5 ml de l'extrait méthanolique avec 0,5 ml d'HCl concentré et quelques copeaux de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est mise en évidence si la couleur rose ou rouge se développe après 3 min (**Bruneton, 1993**) .

c. Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1ml de l'extrait méthanolique ,2ml d'eau et entre 2 à 3 gouttes de chlorure de fer (FeCl₃) diluée. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (Tanins galliques), vert ou bleu-verte (Tanins

catéchique) (**Trease et Evans ., 1987**).

d. Les quinones

Une solution de 1 ml d'extrait à analyser à laquelle on ajoute quelques gouttes de lessive de soude (NaOH à 10%) vire au jaune, indiquant la présence de quinones (**Edeoga et al., 2005**).

e. Les anthraquinones

A 1ml d'extrait à analyser, on introduit quelques gouttes de KOH à 10% ; après agitation la solution vire au rouge, ce qui traduit la présence des anthraquinones (**Edeoga et al., 2005**).

f. Les terpenoïdes

A 5ml d'extrait sont ajoutés 2ml de Chloroforme et 3ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence de terpenoïdes (**Edeoga et al., 2005**).

g. les saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant 1ml d'extrait à 2ml d'eau chaude, après agitation (20min) l'apparition d'une mousse persistante plus de 5 min, indique la présence de saponosides (**Trease et Evans., 1987**).

h. Composés réducteurs

La détection des composés réducteurs consiste à traiter 1mL de l'extrait méthanolique avec 2 mL d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffé. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

5- Les analyses quantitatives

5-1 Dosage des polyphénols

Les polyphénols ont été déterminés spectrophotométriquement par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Heilerova et al., 2003**).

Le principe : 0.2 ml de l'extrait ont été additionnés avec 2.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué. Le mélange est laissé reposer 2 minutes à l'obscurité. Par la suite, 2 ml de la solution Na₂CO₃ (7.5%) a été ajouté à l'ensemble. Tout le mélange est chauffé à 60 °C pendant 20 minutes, par la suite laissé refroidir (glace) afin de lire l'absorbance qui a été mesurée à 750 nm contre un blanc sans extrait. La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = aX + b$) réalisée par un extrait étalon, l'acide gallique, à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon.

5- 2 Dosage des flavonoïdes

La méthode au AlCl_3 a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes (**Huang et al., 2004**).

-Le principe : Un millilitre et demi de l'extrait ont été ajoutés à un volume égal d'une solution de 2% AlCl_3 . Le mélange a été vigoureusement agité (agitation pendant 24h à l'aide d'un agitateur magnétique), et l'absorbance a été lue à 430 nm, après 30 minutes d'incubation à température ambiante. Une courbe d'étalonnage ($Y = aX + b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations pratiquées dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons a servis pour la quantification des flavonoïdes.

6- Préparation des extraits

Le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur avec un tamis de 2 mm. Cette poudre est conservée à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à l'extraction. Le solvant d'extraction a été choisi de manière à solubiliser un maximum de composés.

Le solvant d'extraction qui a ainsi été testé est : le Méthanol (MtOH) qui possède la polarité et qui va permettre d'obtenir des extraits polaires.

6-1 Extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de ces plantes étudiées a été préparé à partir de 10 g de broyat , qui ont été mis à macérer dans 100 ml de méthanol à la température ambiante pendant 24 heures, avec agitation à froid. Ensuite le mélange est filtré sur papier Whatman .

-L'opération est répétée deux fois sur le marc avec 100 ml de méthanol. Les filtrats obtenus sont additionnés et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température de 40 - 50 °C. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (**Bendif et al ., 2017**).

7- Détermination du rendement des extraits

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le rendement a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

Avec : M : la masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M_0 : la masse en gramme de la plante étudiée.

8- Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

8-1 Souches microbiennes étudiées et milieux de culture utilisés

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de Méthanoliques de *cistus halimifolius* sont les suivants :

-Quatre souches bactériennes de collections internationales ATCC (American Type Culture Collection) : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 *Bacillus cereus* ATCC 14579 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027.

- Une souche fongique : une levure de référence *Candida albicans* ATCC 102331.

-Deux milieux de culture ont été utilisés :

- Muller-Hinton pour les bactéries ;

- Sabouraud pour les levures ;

8-2 Préparation de l'inoculum

Les suspensions microbiennes ont été effectuées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques d'une culture jeune de 18 h pour les bactéries et 72 h pour les champignons, les mettre ensuite dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La lecture de la densité optique est effectuée en utilisant un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm. Les suspensions sont ajustées à 10^5 spores/ml pour les moisissures et 10^8 germes/ml pour les bactéries.

8-3 Préparation des extraits

A l'issue de notre expérimentation, nous avons respectivement repris nos extraits méthanolique de *cistus halimifolius* partie aérienne et feuilles de chaque extrait avec 1ml de DMSO à des concentrations de 200 mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml et 25 mg/ml.

8-4 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (Méthode de diffusion en puits sur gélose)

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en puits sur gélose, décrite par **Güven et al., 2006** avec quelques modifications. Le milieu gélose Mueller Hinton est coulé sur boîte de pétri à une épaisseur de 15 mm, après inoculation par écouvillonnage d'une dilution du 100 µl de microorganisme à tester réalisée suivant une échelle de Mac Ferland, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés de manière concentrique sur les milieux puis, mètre 0.1 ml de chaque concentration dans chaque puits au centre. Après une pré-diffusion de 45 minutes à température ambiante, les souches sont incubées à 37C° pendant 24

heures. La sensibilité a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition (exprimés en mm). Des disques imprégnés de DMSO et de méthanol (témoins négatifs) sont aussi utilisés. Toutes les déterminations sont faites triplicata.

L'interprétation de nos résultats s'est faite par la comparaison avec ceux de l'échelle de mesure mises en place par **PONCE et al. (2003)** :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

Partie II : Résultats et discussion

1- Détermination du rendement de l'extraction

Pour l'obtention de différents extraits secs bruts préparés à partir des poudres (partie aérienne, feuilles) de *cistus halimifolius*, nous avons réalisé des extractions organique (avec le méthanol).

Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait méthanolique de feuilles a montré une rentabilité importante (27.61%), suivi par l'extrait métanolique de PA (20.49%).

Tableau n°10 : Rendement de L'extraction

Extrait methanolique	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Feuilles	Cristal	Marron	27.61
Partie aérienne	Cristal	Marron	20.49

2- Composition chimique

2-1. Résultats du screening phytochimique

L'analyse quantitative des poudres de la plante de plusieurs parties (partie aériennes et feuilles), qui a pour but la mise en évidence de la présence de certains types de métabolites secondaires par des réactions de caractérisations qualitatives et des réaction basées sur des phénomènes de coloration, par des réactives spécifiques présenté dans le tableau

Les résultats sont indiqué dans le **tableau n°11**.

Tableau n°11 : Resultats du test phytochimique.

Groupe chimique	Résultats	
	Partie aérienne	Feuilles
Composes phénolique	+++	++
Flavonoïdes	+++	+++
Tanins	+++	+++
Quinones	+++	+++

Anthraquinones	+++	+++
Terpenoïdes	+++	+++
Saponosides	+++	+++
Composés réducteur	+++	+++

+++ : Fortement positif, ++ : Moyennement positif, + : Faiblement positif, - : Négatif.

3- Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux

La teneur des composés phénoliques totaux d'extraits méthanolique de *cistus halimifolius* qui a été broyé à l'aide d'un broyeur avec un tamis de 2 mm. Cette teneur a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance à 760 nm en fonction de la concentration d'acide gallique ($\mu\text{g/ml}$) (Figure 16). La teneur en composés phénoliques totaux du partie aérienne et feuilles de la plante (Tableau 12).

Tableau n°12 : Teneur on polyphénoles et flavonoides totaux.

La plante	Teneur Polyphénols totaux mg EAG/g	Teneur Flavonoïdes mg EQ/g
Partie aérienne	187,44	96,99
Feuilles	187,44	96,57

4- Analyse quantitative des composés phénolique

4-1 Dosage des polyphénols totaux

Spectrophotométrie est une méthode couramment utilisée pour quantifier les polyphénols présents dans des extraits méthanoliques de partie aérienne de plantes. Pour établir une courbe d'étalonnage, on utilise souvent l'acide gallique à différentes concentrations connues. - La courbe d'étalonnage permet de corréler l'absorbance mesurée à une longueur d'onde spécifique avec la concentration en polyphénols dans l'échantillon.

La composition phénolique est rapporté en μg équivalent acide gallique/mg(EAG/g).

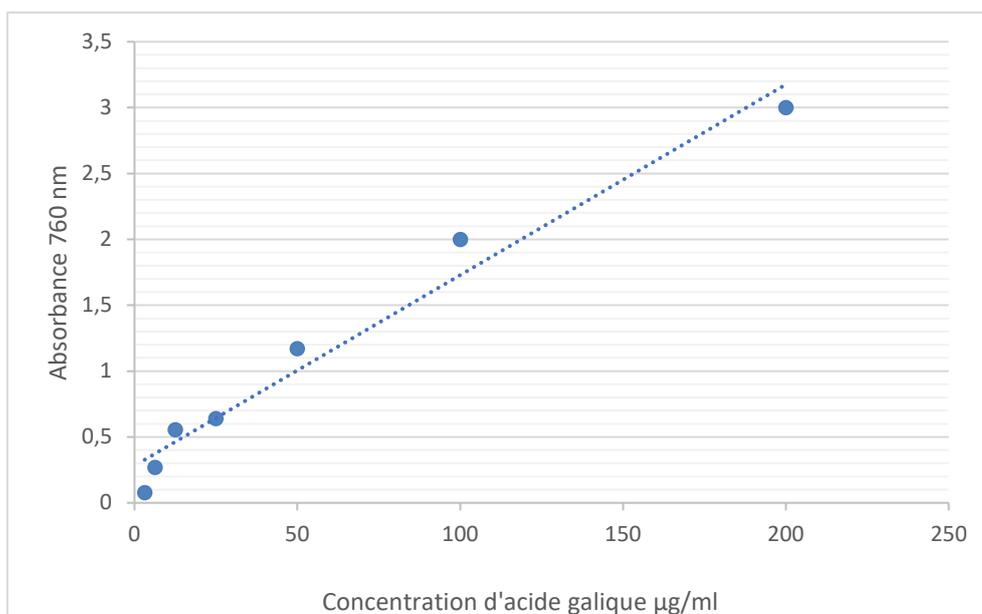


Figure n°16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats indiquent que l'extrait de *cistus halimifolius*, présente une composition phénolique qui est de 1.874mg EAG/g d'extrait.

La valeur obtenue serait inférieure à celle obtenue par (korchi ,2016), qui a travaillé sur *cistus monspeliensis L.*, leur extrait contient 3.616 mg EAG/g d'extrait

La différence des résultats obtenus serait liée à la distribution des métabolites secondaires qui peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié également aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh et al., 2008).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh et al., 2008); (Podsdek, 2007).

4-2 Dosage quantitative des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes contenant deux extraits méthanoliques (partie aérienne et feuilles) de la plante a été estimée par la méthode d'ALCL3. La courbe d'étalonnage est effectuée par quercétine à différentes concentrations.

La teneur en flavonoïdes est rapportée en µg équivalent quercétine/mg (EQ/g) d'extrait de notre plante.

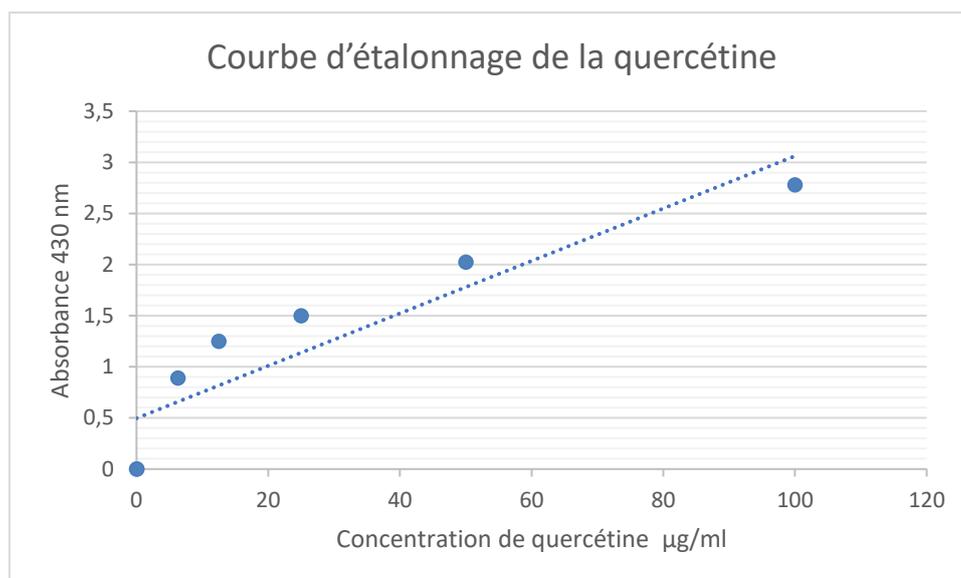


Figure n°17: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats obtenus montrent que *Cistus halimifolius*, présente une teneur en flavonoïdes de l'ordre de 0,0965mg EQ/g d'extrait pour les feuilles et 0,0969 mg EQ/g d'extrait pour la partie aérienne.

Nos résultats sont supérieurs à celles trouvées par (Korchi .,2016), qui ont travaillé sur *Cistus monspeliensis L.* dont les valeurs sont 0,2084mg EQ/g d'extrait, Cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

La différence observée dans les résultats de dosage des flavonoïdes peut être attribuée à l'utilisation de différents standards lors des analyses. Les standards sont des substances de référence utilisées pour quantifier la concentration des composés dans un échantillon donné. Dans le cas des flavonoïdes, il existe plusieurs standards disponibles sur le marché, et ils peuvent différer en termes de pureté, de composition chimique ou de méthode de préparation. Ces variations peuvent entraîner des différences dans les résultats obtenus lors du dosage des flavonoïdes.

5- Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne selon la méthode de diffusion en puits sur gélose des extraits méthanoliques a montré que notre plante possède une activité antimicrobienne due à la variation de leurs composés (métabolites secondaires).

Pour les deux parties de la plante (partie aérienne et feuilles) les souches *Escherichia coli* et *Bacillus cereus* on étaient très sensibles vis-à-vis de nos extraits, ce qui dénote d'une activité biologique inhibitrice avérée.

Pour les deux parties de la plante (partie aérienne et feuilles) les souches *pseudomonas aeruginosa* se révèlent presque résistantes vis-à-vis de nos extraits, par contre *staphylococcus aureus* était très sensible vis à vis de ces extraits.

Pour la souche fongique *candida albicans* dans les deux parties de la plante, nous avons constaté une sensibilité vis-à-vis de nos extraits.

Les résultats sont exprimés dans le tableau et la Figure suivantes :

Tableau n°13 : Diamètres de zones d'inhibition des souches microbiennes testées.

Extrait méthanoliques Souches	Zone d'inhibition en (mm)							
	Partie aérienne				feuilles			
	25	50	100	200	25	50	100	200
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	13 ± 2	14,66 ± 2,51	15,66 ± 3,21	15,66 ± 3,05	14 ± 1,73	16 ± 1	16,6 ± 0,57	19,33 ± 2,08
<i>Echerichia coli</i> ATCC25922	16,33 ± 1,15	17,33 ± 0,33	19 ± 0	20,33 ± 0,57	8,66 ± 7,67	14,33 ± 1,52	15,66 ± 1,52	16 ± 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027	5 ± 8,66	13,66 ± 4,16	6,33 ± 10,96	16 ± 4	8 ± 6,08	8,33 ± 6,35	14 ± 1	15 ± 1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	16 ± 1	17,33 ± 0,57	19,33 ± 0,57	19,66 ± 1,52	17,33 ± 1,15	17,66 ± 1,57	19,33 ± 0,57	21 ± 1
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	2,66 ± 4,61	13,33 ± 2,33	16,66 ± 1,52	16,33 ± 1,52	2,66 ± 4,68	8,66 ± 7,55	15,66 ± 0,57	17 ± 1

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm

- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm

-Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm

- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm



Figure n°18 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*Echerichia coli*) à l'extrait méthanolique de la plante *cistus halimifolius*



Figure n°19 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*Bacillus cereus*) à l'extrait méthanolique de la plante *cistus halimifolius*



Figure n°20 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*Pseudomonas aeruginosa*) à l'extrait méthanolique de la plante *cistus halimifolius*



1Figure n°21 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*) à l'extrait méthanolique de la plante *cistus halimifolius*



Figure n°22 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*Candida albicans*) à l'extrait méthanolique de la plante *Cistus halimifolius*

Conclusion

Conclusion

L'Algérie, en raison de sa diversité géographique et de son climat varié, abrite une richesse botanique remarquable. De nombreuses plantes indigènes poussent dans des écosystèmes uniques, des montagnes aux déserts en passant par les régions côtières. Malheureusement, en raison du manque de recherches approfondies, bon nombre de ces espèces végétales restent encore largement méconnues sur le plan pharmacologique.

Cistus halimifolius (*Cistaceae*) ; est un arbuste qui pousse sur les sols sableux intérieures et côtières dans la région méditerranéenne. L'analyse bibliographique que nous avons menée a montré un manque de travaux concernant cette plante, ce qui nous a motivé à l'étudier dans le présent travail.

Le criblage phytochimique de L'extrait méthanoliques des différents partie de la plante (partie aérienne et feuilles) avec des tests spécifiques a permis de caractériser les flavonoïdes, les tanins, les terpenoïdes, les saponosides, les quinones et les anthraquinones . Ces métabolites secondaires ont de grandes valeurs thérapeutiques.

Les polyphénols sont une classe de molécules caractérisées par la présence de multiples groupes phénoliques organisés en structures complexes. Leur rôle dans la structure, les arômes et les couleurs, ils se retrouvent en réalité dans de nombreuses substances végétales.

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau des fleurs, des fruits, des feuilles et des graines d'un grand nombre de végétaux. Leur accumulation confère des avantages écologiques et physiologiques majeurs. Ils assurent en premier lieu une protection contre un éventail de stress abiotiques. Les résultats obtenus montrent que *Cistus halimifolius* présente une teneur en flavonoïdes de l'ordre de 0,0965 µg EQ/mg d'extrait pour les feuilles et 0,0969 µg EQ/mg d'extrait pour la partie aérienne.

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits méthanolique dans les deux parité de la plant (partie aeriennne et feuilles) des valeurs respectivement de 20,49 % et de 27,61 %

L'évaluation du pouvoir antimicrobienne de l'extraits de *Cistus halimifolius* par la méthode de diffusion en puits sur gélose a révélé que ces derniers possèdent une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albican*.

Conclusion

En perspectives, nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

1. Tester d'autres méthodes d'extractions et leurs influences sur la composition chimique et les effets antioxydants et antimicrobiens ;
2. Isolement et caractérisation des composés actifs dans les différents extraits par des méthodes plus spécifiques ;
3. Évaluation d'autres effets biologiques in vitro et in vivo des extraits et de leur composé actif en utilisant différentes techniques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- A.,Ponce , R.,Fritz , C.del Valle , S.,Roura (2003) Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.
- A.,Rebaya , S.,Igueld , S.,Hammrouni , A., Maaroufi , M.,Ayadi , J.,Chérif (2016) Antibacterial and Antifungal Activities of Ethanol Extracts of *Halimium halimifolium*, *Cistus salviifolius* and *Cistus monspeliensis* .
- Barros L., Dueñas M., Alves CT., Silva S., Henriques M., Santos-Buelga C., et al. 2013. Activité antifongique et caractérisation chimique détaillée des extraits phénoliques de *Cistus ladanifer*. *Cultures Ind. Prod.*
- Ben Moussa MT
- Bendif.,h, M.,Boudjeniba , M., Miara , L.,Biqiku , M.,Bramucci , G.,Caprioli , G.,Lupidi , L.,Quassinti , G.,Sagrati, L.,Vitali , S.,Vittori , F.,Maggi (2017) *Rosmarinus eriocalyx*: An alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds.
- Bendjabeur Rachid (2020) Cours de biochimie-végétale L3 biochimie Service de Télé-Enseignement Université Oran 1 Ahmed Ben Bella.
- Benoît Bock (2021) Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine et régions avoisinantes.
- Bouzergoune fouzia (2003) Etude phytochimique de la plante *HELIANTHEMUM KAHIRICUM*.
- Bruneton J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4).
- Cristina V., Juan C., Natividad Ch., Teresa S., 2016. Intra-population variation of secondary metabolites in *Cistus ladanifer* L.molécule.
- Dimitra P., Antigoni P.,Vasiliki F., Stella G., Stefanos K., Angelos K.,2014. Genus *Cistus*: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. *De face .chem*.
- Edeoga 2005 Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants, *Afr. J. Biotechnol.*

Références bibliographiques

- Falleh *et al.*, (2008) ,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, C. R. Biol.
- Filippo M., Domenico L., Fabrizio P., Gregorio P., Stefano D.,2016. Phytochemical analysis of *Cistus creticus* subsp., Poor in labdanum. *eriocephalus* (Viv.) Greuter and Burdetgrowing in central Italy. *Systématique biochimique et écologie*.
- GIDFA : guide illustré de la flore algerienne.
- Güven K, Yücel E, Çetintaş F (2006). Antimicrobial Activities Of Fruits Of *Crataegus* And *Pyrus* Species. *Pharm Biol*.
- Heilerova L., Buckova M., Silhar S., & Labuda J., 2003. Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosynthesis. *Czech J. Food Sci*.
- Huang D., OuB. and Prior R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays.*J of Agr Food chem*.53:1841-1856.
- J.,Duval ^a, V.,Pecher ^b, M.,Poujol , E.,Lesellier (2016) Research advances for the extraction, analysis and uses of anthraquinones: A review.
- Julve, Ph., (2021) Tela botanica *Cistus halimifolius* var. *halimifolius* .
- Kerbab khawla (2017) : Validation scientifique de l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales elle des plantes médicinales algériennes :*Halimium halimifolium* *Halimium halimifolium* (L.)Wilk et *Thymelaea microphylla* Coss.et Dur., composition chimique composition chimiqueet activité biologique.
- korchi et Nassima ., (2016) Etude phytochimique et évaluation des quelques activitésbiologiques de *Cistus monspeliensis* L.
- Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P., 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges.
- Laraoui habiba (2016) Métabolites secondaires de *Fumana montana* et *Fumana thymifolia* (Cistaceae).
- Liliane Roubaudi (2008) tela botanica *Cistus halimifolius* L.Ciste jaune, *Halimium* jaune
- MAURO NEVES MUNIZ (2006) Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine.

Références bibliographiques

- Merghem. ,R Génie Biochimiques : Valorisation des substances Végétales. chapitre 3 : les terpenes et leurs derives Support de cours Licence Biochimie Département de Biochimie.
- Muanda François Nsemi (2010) Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques.
- Ozenda paul (1977): Flore du Sahara, 2eme edition
- Papaefthimiou.,D , A.,Papanikolaou, V.,Falara , S.,Givanoudi , S.,Kostas , K., Kanellis (2014) Genus cistus : a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties .
- Peer R., 2014. Phenolische Inhaltsstoffe in Cistus incanus Tee – Charakterisierung und Stabilität innerhalb der Teezubereitung. Thèse de doctorat: Lebensmittelchemie. Universität Hamburg,
- Pépinières Lepage Val de Loire (2016) HALIMIUM halimifolium Hélianthème à feuille d'arroche - Ciste jaune Chemin du Portu, 49130 Les Ponts-de-Cé.
- Podsedek A (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables. A review. LWT. food science and technology.
- Pr. LABBANI (2022) Biochimie végétale Chapitre 03 Métabolisme secondaire FSNV/UFMC.
- Seraoui rofia (2019) ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DE DEUX ESPECES DE PLANTES DE LA FLORE DE L'EST ALGERIEN :Calamintha baborensis Batt et Cistus villosus.
- Stalikas C. D., 2007. Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of Separation Science.
- TRASE ,E., EVANS, W. C(1987)Pharmacognosie,Billiaire Tindall .London 13 th Edition. P61- 62.I
- Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principesactifs de l'extrait de feuilles de M. balsamia (Baume du pomme). Journal of Medicine and scintific.vol.
- Waridel Patrice(2003)Investigation phytochimique des plantes aquatiques Potamogeton pectinatus L., P. lucens L., P. perfoliatus L. et P. crispus L. (Potamogetonaceae)

Annexe A

Tableau A1 : Appareillage, milieu de culture, verrerie, et réactifs

Matériel et appareillage	Produits chimiques et réactifs
<ul style="list-style-type: none">• Broyeur électrique• Micropipettes• Balance électrique• Papier wattman• Spectrophotomètre• Bain de marie• Etuve• Incubateur• Agitateur• Vortex• Tubes à essais• Boite de pétri• Bec Bunsen	<ul style="list-style-type: none">• Méthanol• NaOH• Ether de pétrole• FeCl₃• HCl• NH₄OH• Acide sulfurique• HCl• Réactif de Mayer• Liqueur de Fehling• DMSO• Muller-Hinton• Sabouraud

Annexe b

B1. Screening phytochimique des extraits bruts de de *cistus halimifolius*

Tests partie aérienne	Résultats
<ul style="list-style-type: none"> • Anthraquinones • Saponosides • Composes réducteur • Quinones • Tanis • Flavonoides • Terpenoides • Composes phénoliques 	

B2 . Screening phytochimique des extraits bruts de de *cistus halimifolius*

Tests partie feuilles	Résultats
<ul style="list-style-type: none"> • Anthraquinones • Saponosides • Composes réducteur • Quinones • Tanis • Flavonoides • Terpenoides • Composes phénoliques 	

Annexe

Composition des différents milieux de culture

□ Milieu Mueller Hinton (g/l)

PH=7.4

Infusion de viande de bœuf 300.30 g

Hydrolysate de caséine 17.50 g

Amidon 1.50 g

Agar 17.00 g

□ Milieu Sabouraud (g/l)

PH=5.6

Peptones 10.0g

Glucose 40.00 g

Agar 15.00 g

□ Gélose nutritive (g/l)

PH=6.8

Extrait de bœuf 3.0g

Peptone 5.00 g

Chlorure de sodium 8.00 g

Agar 15.00 g

B3 Photos de l'activité antimicrobienne



Résumé

Notre travail porte sur l'étude et la caractérisation phytochimique ainsi que l'effet antimicrobien des extraits méthanolique de *cistus halimifolius* (partie aérienne et feuilles) appartenant de la famille de *cistaceae*, communément appelée « El Méllia ». La détermination des rendements en extraits bruts a montrée une rentabilité importante en extraits méthanolique de feuilles et de la partie aérienne avec des valeurs respectivement de 27,61 % et de 20,49 %. Le screening phytochimique des extraits de la plante a mis en évidence une richesse en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les anthraquinones, les saponosides, les quinones, et les terpenoïdes. La teneur en polyphénols 187,44mg EAG/g et flavonoïdes 96,99mg EQ/g totaux, L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des extraits de *cistus halimifolius* vis-à-vis les 5 souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*) a montrée que la plante détient d'une activité antimicrobienne importante de part la sensibilité de ces souches envers les extraits utilisés.

Mots clés: *cistus halimifolius*., extrait méthanolique, screening phytochimique, activité antimicrobienne .

ملخص

يركز عملنا على دراسة وتوصيف المواد الكيميائية النباتية والتأثير المضاد للميثانوليك لمستخلصات *cistus halimifolius* (الجزء الجوي والأوراق) التي تنتمي إلى عائلة *cistaceae*، والمعروفة باسم «El Méllia». أظهر تحديد الغلات في المستخلصات الخام ربحية كبيرة في مستخلصات الميثانول من الأوراق والجزء الجوي بقيمة 27، على التوالي، 61% و 20.49%. كشف الفحص الكيميائي النباتي للمستخلصات النباتية عن ثروة من المستقلبات الثانوية مثل الفلافونويد والعفص والأنتراكينونات والصابونوسيدات والكينونات والتربينويدات. المحتوى على البوليفينول 187,44 mg EAG/g و 96,99 mg EQ/g flavonoides المجموع، في المختبر تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات *cistus halimifolius* مقابل السلالات الميكروبية 5 (*Staphylococcus aureus*) أظهر أن المبيضات البوسروية كولي، *Paschicericia*، *pericia coli*، *pli pliude* إلى المستخلصات المستخدمة.

الكلمات الرئيسية: *cistus halimifolius*، مستخلص الميثانول، فحص *pytochismic*، نشاط.

.Abstract

Our work focuses on the study and characterization of phytochemicals and the antimicrobial effect of the methanolic extracts of *cistus halimifolius* (aerial part and leaves) belonging to the family of *cistaceae*, commonly known as «El Méllia». The determination of yields in raw extracts showed a significant profitability in the methanol extracts of leaves and the aerial part with values of 27, respectively, 61% and 20.49%. Phytochemical screening of plant extracts revealed a wealth of secondary metabolites such as flavonoids, tannins, anthraquinones, saponosides, quinones, and terpenoids. The content on polyphenols 187,44mg EAG/g and flavonoides 96,99mg EQ/g total, In vitro evaluation of antimicrobial activity of extracts of *cistus halimifolius* vis-à-vis the 5 microbial strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*) showed that the plant possesses an important antimicrobial activity due to the sensitivity of these strains to the extracts used.

Keywords: *cistus halimifolius*, methanol extract, *pytochismic* screening, antimicrobial activity.