

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



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 : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

BOUALEM Abdeldjalil

KHATIR Abdelhamid

Thème

**Etude de quelques activités biologiques d'une
plante médicinale "*Cistus clusii*"**

Soutenu publiquement le 02/07/2024

Jury :

Président : Dr. MOKHFI Fatima

Encadrant : Dr. BOUHENNI Hasna

Co-encadrant : Dr. DOUKANI Koula

Examineur : Dr. BOUTELDJA Rachida

Grade

MCB

MAB

Pr

MAB

Année universitaire 2023-2024

Remerciement

Au nom d'Allah, le Clément, le Miséricordieux. Paix et salut sur son prophète Mohammed.

Nous tenons à remercier Allah, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever ce travail.

Nous exprimons notre vive reconnaissance à notre chère encadrante, **Dr. BOUHENNI H.** pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils qui ont grandement amélioré la réalisation de ce mémoire. Ce travail n'aurait pas pu se faire sans son aide précieuse, sa guidance et ses encouragements. Nous lui exprimons notre grande gratitude pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous remercions également notre chère co-encadrante, **Pr. DOUKANI K.** pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa rigueur, sa confiance, ses compétences, ses précieux conseils et sa disponibilité.

Nos vifs remerciements et sincères gratitudes vont également aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail : **Dr. MOKHFI F.** en tant que présidente, et **Dr.**

BOUTELDJA R. en tant qu'examinatrice.

Nos chaleureux remerciements vont aux personnels du département, ainsi qu'aux ingénieurs des laboratoires de Biochimie et de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie-Université Ibn Khaldoun (Tiaret).

Enfin, nous adressons nos remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin 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. Je dédie mon travail à :

À ma mère, mon père et mon oncle Mustapha,

À mon frère et mes sœurs,

À mes chères encadrante, co-encadrante et mon binôme Abdeldjalil pour leur confiance,

À mes amis Sarra pour son soutien, Akram et Oussama pour leur présence dans les moments difficiles, Mohamed pour son amitié sincère, et à tous ceux qui m'ont accompagné tout au

long de ce parcours.

Abdelhamid

Dédicace

Je dédie mon travail à :

*Mes parents chéris pour leur sacrifice leur soutien moral, financier et affectif tout au long
de mon parcours scolaire.*

*A mes chers frères et mes sœurs qui ont été toujours présents à mes côtés et qui m'ont
soutenu.*

*Toute ma famille sans exception et à mes chers amis pour leur soutien tout au long de mon
parcours universitaire*

*Mon binôme Abdelhamid et toute la promotion 2023-2024 de microbiologie appliquée
Tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin*

Abdeldjalil

Table de matières

Liste des abréviations	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux	iii
Liste des annexes.....	iv

Introduction

Première Partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Cistus clusii*

I.1. Présentation de la famille des <i>Cistaceae</i>	3
I.2. <i>Cistus clusii</i>	4
I.2.1. Description botanique	4
I.2.2. Systématique	5
I.2.3. Répartition géographique	5
I.2.4. Domaines d'application	5

Chapitre II : Activités biologiques

II.1. Composés phénoliques	7
II.1.1. Polyphénols totaux	7
II.1.2. Flavonoïdes	7
II.1.3. Tanins	8
II.2. Principaux métabolites secondaires	8
II.3. Activité antioxydante	9
II.3.1. Définition du stress oxydatif	9
II.3.2. Radicaux libres	10
II.3.3. Antioxydants	10
II.4. Activité antimicrobiennes	10
II.4.1. Définition	10
II.4.2. Agents antimicrobiens	11
II.4.3. Activité antibactérienne	11
II.4.4. Activité antifongique	11
II.4.5. Activité antivirale	11

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectif.....	13
I.2. Lieu et période de travail	13
I.3. Matériel	13
I.3.1. Matériel végétal	13

I.3.1.1. Récolte de la plante	13
I.3.1.2. Préparation de l'échantillon	14
I.3.2. Matériel biologique	16
I.3.2.1. Description des microorganismes étudiés	16
I.3.2.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
I.3.2.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	17
I.3.2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	17
I.3.2.1.4. <i>Bacillus subtilis</i>	18
I.3.2.1.5. <i>Candida albicans</i>	19
I.3.3. Matériel du laboratoire	20
I.4. Méthodes	21
I.4.1. Méthode d'extraction	22
I.4.2. Détermination du rendement d'extraction	23
I.4.3. Caractères organoleptiques des extraits	23
I.4.4. Analyse phytochimique	23
I.4.4.1. Dosage des composants phénoliques	23
I.4.4.1.1. Polyphénols totaux	23
I.4.4.1.2. Flavonoïdes	24
I.4.4.1.3. Tanins	24
- Tanins condensés	24
- Tanins hydrolysables	25
I.4.4.2. Criblage phytochimique des extraits	25
I.4.4.3. Activité antioxydante	26
I.4.4.3.1. Principe de test de DPPH	26
I.4.4.3.2. Détermination d'IC ₅₀	27
I.4.5. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits	27
I.4.5.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	27
I.4.5.2. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF)	30
I.5. Traitement statistique	31

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Caractères organoleptiques des extraits	32
II.2. Rendement	32
II.3. Analyse phytochimique	33
II.3.1 Polyphénols totaux	33
II.3.2. Flavonoïdes	35
II.3.3. Tanins	36

- Tanins condensés	36
- Tanins hydrolysables	37
II.4. Criblage phytochimique des extraits	38
II.5. Activité antioxydante	39
II.5.1. Détermination de l'IC ₅₀	40
II.6. Activité antimicrobienne	42
II.6.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF)	43
Conclusion	47
Références Bibliographiques	49
Annexes	58

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection
CMB : Concentration minimale bactéricide
CMF : Concentration minimale fongicide
CMI : Concentration minimale inhibitrice
DPPH : 1,1- Diphényl-2-picryl-hydrazyle
E. coli : *Esherichia coli*
EAG : Equivalent Acide Gallique
EAT : Equivalent Acide Tannique
EC : Equivalent Catéchol
EQ : Equivalent Quercétine
ERNA : Espèces réactives de l'azote
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power
G- : Gram négatif
G+ : Gram positif
I % : Pourcentage d'inhibition
IC50 : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
MH : Mueller-Hinton
NCBI : Centre National pour l'Information Biotechnologique
ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity
P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*
PA : Principes actifs
Rdt : Rendement
S. aureus : *Staphylococcus aureus*
SM : Solution mère
TEAC : Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TTC : Chlorure de 2.3.5-triphenyltetrazolium

Liste des figures

Figure 1 : Organigramme général de la famille des <i>Cistaceae</i>	3
Figure 2 : Espèce <i>Cistus clusii</i> « feuilles et graines »	4
Figure 3 : La zone de la récolte (la commune de Sidi Bakhti Tiaret)	14
Figure 4 : Préparation de la matière végétale	15
Figure 5 : Organigramme général du plan de travail	21
Figure 6 : Méthode d'extraction.....	22
Figure 7 : Réduction du radical DPPH	26
Figure 8 : Rendement des extraits de feuilles de <i>Cistus clusii</i> en fonction de la concentration d'éthanol et de l'eau distillée.....	32
Figure 9 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de poudres (feuilles) de <i>Cistus clusii</i> .	34
Figure 10 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de poudres (feuilles) de <i>Cistus clusii</i>	35
Figure 11 : Teneur en tanins condensés des extraits de feuilles de <i>Cistus clusii</i>	36
Figure 12 : Teneur en tanins hydrolysables des extraits de feuilles de <i>Cistus clusii</i>	37
Figure 13 : Détermination d'IC ₅₀	41
Figure 14 : Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits par la méthode de microtitrage.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Métabolites secondaires retrouvés chez les végétaux	9
Tableau 2 : Matériels et produits de laboratoire	20
Tableau 3 : Résultats de criblage phytochimique des extraits	25
Tableau 4 : Représentation de la microplaque de 96 puits	30
Tableau 5 : Propriétés organoleptiques des extraits.....	32
Tableau 6 : Criblage phytochimique des extraits.....	38
Tableau 7 : Résultats de pourcentage d'inhibition (I%) des extraits des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	41
Tableau 8 : Concentration inhibitrice d'acide ascorbique, et les extraits de feuilles <i>Cistus clusii</i>	41
Tableau 9 : La concentration minimale inhibitrice (CMI) des deux extraits étudiés.....	43
Tableau 10 : Les concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF) des deux extraits étudiés.....	43

Listes des annexes

Annexe 1 : Photos de la plante <i>Cistus clusii</i>	58
Annexe 2 : Composition des milieux de culture.....	59
Annexe 3 : Repiquage des souches.....	60
Annexe 4 : Coloration de gram.....	60
Annexe 5 : Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> (X100).....	61
Annexe 6 : Observation microscopique de <i>Escherichia coli</i> (X100)	61
Annexe 7 : Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (X100)	61
Annexe 8 : Observation microscopique de <i>Bacillus subtilis</i> (X100).....	62
Annexe 9 : Observation microscopique de <i>Candida albicans</i> (X100).....	62
Annexe 10 : Screening phytochimique des extraits.....	63
Annexe 11 : Activité antioxydante	64

Introduction

Introduction

L'évolution des traitements médicaux au cours des siècles a été marquée par une transition progressive des remèdes traditionnels à base de plantes vers des médicaments modernes, souvent composés de substances chimiques synthétisées. Cette évolution a permis de développer des traitements plus efficaces et spécifiques, mais a également entraîné une augmentation significative de la résistance bactérienne due à une utilisation accrue et parfois inappropriée d'antibiotiques (**Affi Kakou et al., 2020**). La résistance bactérienne constitue désormais un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Pour répondre à ce défi, il est crucial d'explorer de nouvelles approches thérapeutiques, notamment en exploitant les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des remèdes naturels (**Zalegh et al., 2021**).

Environ 80 % de la population mondiale utilise régulièrement des remèdes naturels provenant de plantes, qui sont riches en diversité biologique et chimique (**Zalegh et al., 2021**). Ces plantes, utilisées depuis des siècles pour leurs propriétés médicinales, continuent d'être une source précieuse de composés bioactifs. La région méditerranéenne, reconnue pour sa richesse en plantes médicinales malgré sa petite superficie, abrite environ 10 % des espèces végétales mondiales, faisant de cette région un véritable "hotspot" de biodiversité (**Merioua et al., 2013**).

Les études récentes, telles que celle de **Benkhaled et al. (2020)**, ont documenté la diversité floristique et l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales en Algérie, en particulier dans la région de Tiaret. Ces travaux soulignent l'importance de préserver ces connaissances locales pour développer de nouvelles approches thérapeutiques efficaces contre diverses maladies, y compris celles liées à la résistance aux antibiotiques et au stress oxydatif.

Le stress oxydatif, résultant d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à les neutraliser, est impliqué dans la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et certains cancers (**Liguori et al., 2018**). Les antioxydants naturels présents dans les plantes médicinales peuvent jouer un rôle crucial dans la prévention et le traitement de ces maladies en neutralisant les radicaux libres et en protégeant les cellules contre les dommages oxydatifs (**Prior et Cao, 2000**).

Notre étude s'inscrit dans ce contexte en explorant spécifiquement *Cistus clusii*, une plante médicinale de la famille des *Cistaceae*, pour évaluer son potentiel en tant que source d'antioxydants et d'agents antimicrobiens. Cette recherche vise à contribuer à la valorisation

Introduction

des ressources locales de Tiaret et à enrichir le domaine de la médecine naturelle et de la pharmacologie moderne. En examinant les propriétés phytochimiques et les activités biologiques de *Cistus clusii*, nous espérons identifier des composés bioactifs susceptibles de devenir des candidats prometteurs pour le développement de nouveaux traitements contre les infections résistantes aux antibiotiques et les maladies liées au stress oxydatif.

Partie
Bibliographique

Chapitre I
Généralités sur *Cistus clusii*

I.1. Présentation de la famille des *Cistaceae*

Le terme "Cistes" pour désigner cette famille de plantes provient du mot grec "kisthos", signifiant capsule, tel que défini par Joseph Pitton de Tournefort (**Baillon, 1872**).

Les plantes de cette famille des *Cistaceae*, souvent très parfumées, est populaire dans l'industrie des parfums et pour leurs usage décoratif. Leur capacité à s'adapter aux incendies, grâce à la résistance de leurs graines, leur permet de réensemencer rapidement les zones forestières dévastées lors de la saison suivante (**Herranz et al., 1999**).

La famille des *Cistaceae* se compose de 20 espèces, avec des espèces à fleurs violettes et à fleurs blanches (**Figure 1**) (**Guzmán et Vargas, 2005**).

La famille des *Cistaceae* comprend des plantes à fleurs caractérisées par des feuilles simples, alternes ou opposées, souvent persistantes et généralement recouvertes de glandes. Les fleurs sont généralement solitaires et axillaires, avec cinq sépales et pétales distincts, souvent blancs ou jaunes. Les étamines sont nombreuses et les fruits sont des capsules ou des baies. Les membres de cette famille se trouvent principalement dans les régions méditerranéennes et présentent une grande diversité morphologique et écologique (**Di Turi et al., 1997**).

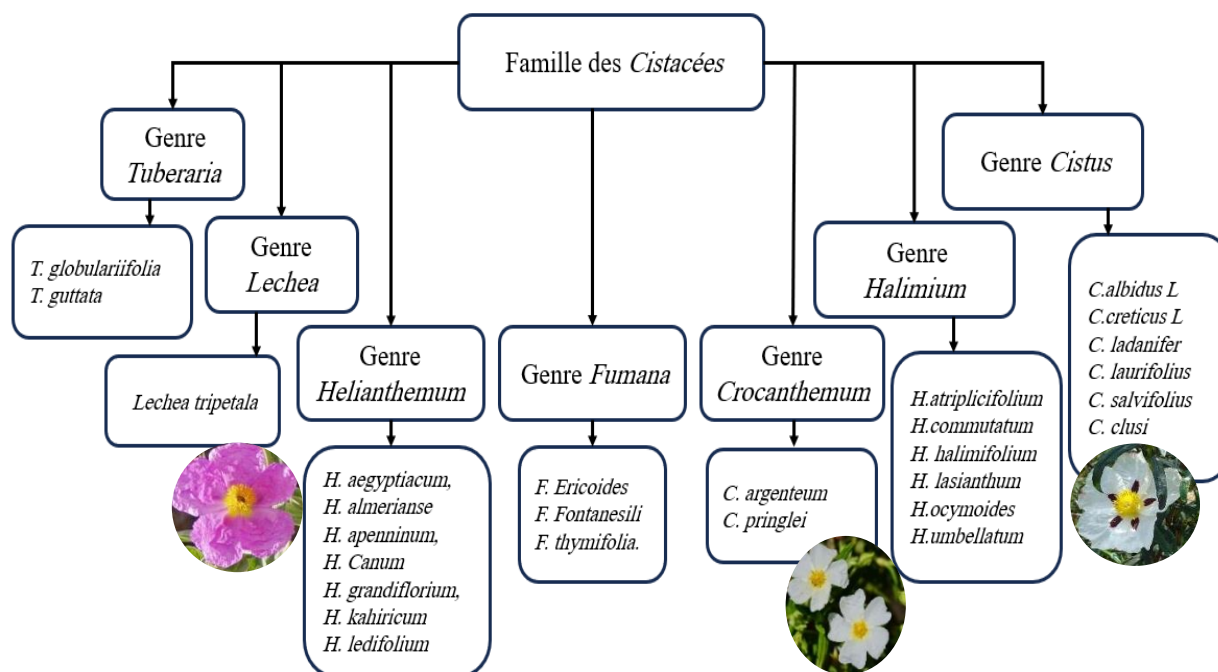


Figure 1 : Organigramme général de la famille des *Cistaceae* (NCBI, 2014)

I.2. *Cistus clusii*

La plante *Cistus clusii*, également connue sous le nom de Ciste à feuilles de romarin, est un arbuste aux feuilles aromatiques qui ressemblent à celles du romarin (Warburg, et al., 1968).

I.2.1. Description botanique

Cistus clusii est un arbuste très ramifié pouvant atteindre 1 m de hauteur. Ses feuilles sont étroitement linéaires, généralement longueur de 1 à 2.5 cm et largeur de 1 à 2 mm, avec des bords révolutes, vertes sur la face supérieure et densément recouvertes de poils courts sur la face inférieure, ce qui leur donne un aspect blanchâtre. Les fleurs sont disposées en cymes en forme d'ombelle avec jusqu'à 12 fleurs individuelles, chacune mesurant de 2 à 3 cm de diamètre, avec cinq pétales blancs et trois sépales, de 5 à 8 mm de long. Les pédoncules des fleurs (pédoncules et pédicelles) ainsi que les sépales sont recouverts de longs poils blancs. Le style est court, les fruits sont des capsules ou des baies (Figure 2) (Warburg, et al., 1968).



Figure 2 : Espèce *Cistus clusii* (ABI, 2018)

I.2.2. Systématique

Selon la plateforme **Flora Europaea (2024)**, « Une base de données qui fournit des informations sur la flore de l'Europe, y compris la classification taxonomique des plantes présentes dans la région ». *Cistus clusii* appartient au :

- Règne : Plantae (plantes)
- Division : Magnoliophyta (plantes à fleurs)
- Classe : Magnoliopsida (dicotylédones)
- Ordre : *Malvales*
- Famille : *Cistaceae* (Cistacées)
- Genre : *Cistus*
- Espèce : *Cistus clusii*

I.2.3. Répartition géographique

Les membres de la famille des *Cistaceae* sont largement répandus dans les régions méditerranéennes, notamment en Europe méridionale, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Asie centrale. Ils sont également présents dans certaines parties de l'Amérique du Nord et du Sud, ainsi que dans quelques régions d'Asie de l'Est. Ces plantes préfèrent les climats chauds et secs et sont souvent trouvées dans des habitats ouverts tels que les maquis, les garrigues, les landes et les zones côtières (**Quézel et Santa, 1962**).

I.2.4. Domaines d'application

❖ Industrie pharmaceutique et médecine alternative

Cistus clusii et les espèces du genre *Cistus* sont reconnues pour leurs propriétés médicinales et sont couramment utilisées en médecine alternative :

En médecine traditionnelle, les espèces du genre *Cistus*, telles que *Cistus monspeliensis*, *Cistus salviifolius* et *Cistus albidus*, sont largement utilisées en Espagne, en Italie (la médecine populaire méditerranéenne) comme tisane pour applications thérapeutiques (contre de diverses maladies de peau, rhumatismes, fièvre et diarrhée) (**Rebaya, 2016**). Ces plantes sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, antitumorales, antivirales et anti-inflammatoires. Les extraits de *Cistus* sont utilisés pour traiter des affections, et comme agents antispasmodiques (**Rhattas, 2016**).

De plus, les métabolites secondaires présents dans les plantes du genre *Cistus*, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, sont utilisés en thérapeutique pour leurs effets vasculoprotecteurs, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants (**Rhattas, 2016**).

❖ Industrie cosmétique

Soins de la peau, les extraits des Cistacées sont intégrés dans des crèmes et des lotions pour leurs effets anti-âge et protecteurs contre les dommages environnementaux (**González et al., 2016**).

Produits capillaires, les antioxydants présents dans ces extraits contribuent à la santé des cheveux en les protégeant des radicaux libres et en améliorant leur brillance (**Pripdeevech et al., 2010**).

❖ Industrie des parfums

Les Cistacées, et particulièrement *C. albidus*, *C. salvifolius*, sont populaires dans l'industrie des parfums pour leurs résines odorantes.

Production de parfums, elles ajoutent des notes balsamiques et boisées aux parfums, offrant une profondeur et une longévité aux fragrances (**Ascrizzi et al., 2017**).

Produits aromatiques, les résines sont également utilisées dans les huiles essentielles pour leurs arômes apaisants et relaxants (**Verdú et al., 2000**).

❖ Restauration écologique et conservation

Les Cistacées jouant un rôle crucial dans la régénération des écosystèmes, particulièrement dans les régions méditerranéennes :

Réhabilitation post-incendie, les graines de *Cistus clusii* sont résistantes aux températures élevées, ce qui permet à la plante de recoloniser rapidement les zones touchées par les incendies. Cette capacité est essentielle pour stabiliser les sols et restaurer la végétation (**Herranz et al., 1999**).

Prévention de l'érosion ses racines profondes aident à ancrer le sol, réduisant ainsi l'érosion, surtout dans les environnements arides et semi-arides (**Bastida et al., 2005**).

❖ Usage ornemental

Cistus clusii est également apprécié pour son utilisation dans l'aménagement paysager et la décoration :

Jardins et espaces verts, ses fleurs attrayantes et sa résistance à la sécheresse en font une plante idéale pour les jardins méditerranéens et les espaces verts urbains (**Guzmán et Vargas, 2005**).

Plantes décoratives, les fleurs, généralement blanches ou violettes, apportent une touche esthétique aux compositions florales et aux bordures décoratives (**Di Turi et al., 1997**).

Chapitre II

Activités biologiques

II.1. Composés phénoliques

❖ Introduction

Les composés phénoliques caractérisés par un cycle aromatique contenant un ou plusieurs groupes hydroxyles, peuvent exister sous forme de molécules uniques ou polymérisées. En fonction de leurs structures, ces composés sont divisés en plusieurs groupes, les principaux étant les acides phénoliques, les flavonoïdes et les non-flavonoïdes.

Les propriétés antioxydantes de ces composés sont attribuées à leurs propriétés rédox et à leur structure chimique, qui leur permettent de neutraliser les radicaux libres, de chélater les métaux et de décomposer les peroxydes. Ces propriétés retardent le développement de maladies liées au stress oxydatif telles que le cancer, le diabète et la maladie d'Alzheimer (Garçon et al., 2021).

II.1.1. Polyphénols totaux

Les polyphénols sont des métabolites secondaires produits par les plantes et présents dans diverses parties, y compris les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles. Ils résultent de la polymérisation de phénols simples, des sous-produits du métabolisme végétal, et sont souvent associés à des fonctions biologiques importantes dans les plantes, telles que la protection contre les stress environnementaux. La classification des polyphénols est complexe, mais elle comprend généralement quatre principales familles, les acides phénols, les flavones, les anthocyanes et les tanins (Bruneton, 1987). Chaque famille se compose de nombreuses structures chimiques différentes, conférant ainsi une diversité fonctionnelle aux polyphénols (Manach et al., 2004).

Les propriétés pharmacologiques des polyphénols ont suscité un intérêt considérable en raison de leur potentiel pour la santé humaine. Leurs activités biologiques, notamment leurs effets antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, et anticancéreux, ont été largement étudiées (Arts et Hollman, 2005).

II.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, une famille de composés extrêmement diversifiée, jouent des rôles physiologiques importants. Ils sont associés à une activité vitaminique P, qui les rend potentiellement veinoactifs, anti-inflammatoires, antiallergiques, hépato protecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens, antiviraux, et dans certains cas, cytostatiques *in vitro* (Havsteen, 2002). De plus, les flavonoïdes agissent comme des pièges à radicaux libres, contribuant ainsi à leur activité antioxydante (Ross et Kasum, 2000). Les effets des flavonoïdes végétaux sur les cellules mammifères met en lumière leurs

implications potentielles dans la modulation de l'inflammation, la prévention des maladies cardiovasculaires et le traitement du cancer (**Middleton et Kandaswami, 2000**).

II.1.3. Tanins

Les tanins sont des substances d'origine végétale, dépourvues d'azote, dotées d'une structure polyphénolique. Ils sont solubles dans l'eau, l'alcool et l'acétone, mais peu solubles dans l'éther. Ils possèdent une saveur astringente et partagent la propriété de tanner la peau, lui conférant ainsi une imputrescibilité et une imperméabilité en se liant aux protéines. Les tanins se présentent sous forme de complexes appelés tannoïdes, certains étant associés à des sucres appelés tannosides. Ils sont répandus dans tout le règne végétal, se trouvant dans divers organes tels que les racines, les rhizomes, l'écorce, les feuilles, les fleurs, les fruits, les cynorrhodons, les graines et le bois (**Haslam, 1996**).

Il existe deux types de tanins, les tanins hydrolysables, tels que les tanins galliques (acide gallique) et les tanins ellagiques (acide ellagique), et les tanins condensés ou proanthocyanidols, non hydrolysables, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols. Ces derniers forment des solutions pseudocolloïdales dans les vacuoles et peuvent également se fixer sur les lignines, renforçant ainsi la durabilité du bois de cœur. La disparition des tanins à maturité des fruits suggère qu'ils peuvent être réutilisés par la plante, tout comme d'autres composés phénoliques (**Scalbert, 1991**).

II.2. Principaux métabolites secondaires

Un nombre important d'espèces du genre *Cistus* ont été soumises à des études chimiques, aboutissant à l'isolement et à la caractérisation de nombreux métabolites secondaires (**Tableau 1**). Les recherches phytochimiques ont mis en lumière la prédominance des flavonoïdes tels que la myricétine, l'apigénine, la lutéoline, la gossypétine, l'herbacétine et l'isorhamnétine, ainsi que des diterpènes, principalement des labdanes et des clérodanes, qui constituent le groupe le plus important de diterpènes isolés chez les Cistes (**Papaefthimiou et al., 2014**).

**Tableau 2 : Métabolites secondaires
(Macheix et *al.*, 2005)**

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	Anthraquinones
Alcaloïdes dérivés par réactions d'amination	Monoterpenoïdes	Pyrones
Autres	Sesquiterpenoïdes	Naphthoquinones
	Diterpenoïdes	Tannins et dérivés galloyl
Skimate/ composés issus de la voie de l'acétate-malonate	Sesterpenoïdes	
Stilbenoïdes	Triterpenoïdes	
Autres	Stéroïdes	
	Cartoténoïdes et apocaroténoïdes	

II.3. Activité antioxydante

II.3.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif, ou stress oxydant, correspond à une agression des cellules par des radicaux libres. Une fraction de l'oxygène moléculaire (environ 1 à 2 %) peut capter un électron, conduisant à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui sont des composés partiellement réduits et fortement toxiques. Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre entre les radicaux libres pro-oxydants et les antioxydants. Contrairement au stress psychologique, qui s'observe au niveau de l'organisme, le stress oxydatif se manifeste au niveau cellulaire. Lorsque les ERO s'accumulent dans la cellule, elles peuvent être neutralisées par des molécules antioxydantes comme les vitamines E et C, ou par des enzymes comme la superoxyde dismutase (Ray, 2023). La production élevée de radicaux libres peut être liée à l'inflammation, au tabagisme, à une alimentation riche en graisses, et à l'alcool, entre autres. L'accumulation des agressions par les radicaux libres favoriserait le vieillissement (Ray, 2023).

Divers facteurs exogènes, tels que les polluants environnementaux, les radiations et les agents pathogènes, jouent un rôle essentiel dans la production des ERO (Ansari, 1997).

II.3.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont définis comme des molécules ou des atomes possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (Lehucher-Michel et al., 2001). Ils sont produits en permanence par l'organisme, notamment à partir de l'oxygène dans les cellules, principalement au niveau de la mitochondrie, dans la chaîne respiratoire. Les ERO sont des substances réactives et très toxiques. Il existe divers types de radicaux libres caractérisés par la présence d'un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote. On les appelle ainsi des espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) ou des espèces réactives de l'azote (ERNA ou RNS) (Ray, 2023).

II.3.3. Antioxydants

Pour contrer les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN), les cellules déploient des systèmes de défense appelés antioxydants. Ces micro-constituants sont capables d'entraver la production directe des radicaux libres, de limiter leur propagation ou de les neutraliser. Ils agissent en réduisant les radicaux libres, en les piégeant pour former des composés stables, ou en séquestrant le fer pour prévenir les dommages oxydatifs. Les antioxydants jouent un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre physiologique entre la production et l'élimination des ERO et ERN dans les systèmes vivants (Garçon et al., 2021).

Les extraits de plantes du genre *Cistus* sont particulièrement riches en composés antioxydants, comme dérivés de flavonol, Isoflavonoïdes et les ellagitannins (Buabidi et al., 2023).

Les composés antioxydants qui se divisent en deux principales catégories, les antioxydants endogènes (molécules issues de la biosynthèse) et les antioxydants exogènes (vitamines, oligoéléments ou antioxydants de synthèse). Ces composés peuvent contribuer de manière significative à renforcer les défenses antioxydantes de l'organisme contre les dommages oxydatifs (Buabidi et al., 2023).

II.4. Activité antimicrobienne

II.4.1. Définition

L'activité antimicrobienne des plantes médicinales est caractérisée par la présence de composés bioactifs qui interagissent avec les structures cellulaires des bactéries, perturbant ainsi leur croissance ou provoquant leur mort. Ces composés, tels que les flavonoïdes, les tanins ou les huiles essentielles, agissent en inhibant des processus vitaux spécifiques des

bactéries, ce qui en fait des agents prometteurs dans le développement de nouvelles thérapies antimicrobiennes (Bellon et al., 2022).

II.4.2. Agents antimicrobiens

Les agents antimicrobiens présents dans les extraits de plantes, tels que les flavonoïdes, les tanins et d'autres composés phénoliques, offrent une efficacité contre diverses souches bactériennes.

❖ Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances antibactériennes qui peuvent être d'origine biologique, produites par des microorganismes tels que des champignons microscopiques et des bactéries, ou synthétisées chimiquement. Leur fonction principale est d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (Inan et Akyüz, 2021).

❖ Composés phénoliques

Les composés phénoliques, tels que les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins, sont reconnus pour leur spectre large et leur forte activité antimicrobienne, ce qui en fait des agents antimicrobiens importants et variés (Ansari, 1997).

I.4.3. Activité antibactérienne

Pour l'activité antibactérienne des plantes de la famille des *Cistaceae*, plusieurs études ont été menées avec des résultats intéressants (Férdérique, 2023).

Di Pasqua et al. (2007) a examiné l'activité antibactérienne des extraits de *Cistus incanus* contre différentes souches de bactéries pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les résultats ont montré une activité inhibitrice significative avec des DZI de 15 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 12 mm pour *Escherichia coli*, ainsi que des CMI de 0,5 mg/ml pour *Staphylococcus aureus* et de 1 mg/ml pour *Escherichia coli*.

II.4.4. Activité antifongique

Santoro et al. (2007) ont évalué l'activité antifongique des extraits de *Cistus monspeliensis* contre différentes souches de *Candida*, démontrant une inhibition significative de la croissance fongique. Les résultats ont montré des DZI de 14 mm pour *Candida albicans* et de 10 mm pour *Candida glabrata*, avec des CMI respectives de 1 mg/ml et de 2 mg/ml.

II.2.5. Activité antivirale

Les plantes de la famille des *Cistaceae* ont été étudiées pour leur activités antivirales et antivirucides. Une étude menée par Machado et al. (2018) a montré que les extraits de *Cistus ladanifer* présentaient une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1), avec une réduction de la plaque virale de 80% à une concentration de 0,8 mg/ml.

De même, **Reis et al. (2016)** ont examiné l'activité antivirale des extraits de *Cistus creticus* contre le virus de l'herpès humain de type 1 (HHV-1) et ont trouvé des résultats prometteurs, suggérant un potentiel antiviral avec une réduction de 70% des plaques virales à une concentration de 1 mg/ml.

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I.1. Objectif

L'objectif de ce travail est d'extraire et d'évaluer plusieurs extraits obtenus à partir des feuilles de la plante *Cistus clusii*, appartenant à la famille des *Cistaceae*, afin de valoriser et d'étudier leurs activités biologiques. Cette étude se concentre sur les points suivants :

- Valorisation de la flore de la région de Tiaret.
- Extraction des composés phénoliques par macération à froid, en utilisant des solvants éthanoliques et aqueux.
- Détermination des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables.
- Criblage phytochimique des extraits.
- Évaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode de piégeage du radical DPPH.
- Détermination de l'activité antimicrobienne des extraits de *Cistus clusii* contre certaines souches pathogènes, notamment *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10237 et *Candida albicans* ATCC 10231.

I.2. Lieu et période de travail

Ce travail a été réalisé au sein des laboratoires de Biochimie et de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret, durant la période allant du 19 février au 24 mars 2024.

I.3. Matériel

I.3.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est la plante de *Cistus clusii*.

I.3.1.1. Récolte de la plante

Cette plante a été récoltée au mois de février 2024 dans la commune de Sidi Bakhti (Tiaret) (**Figure 3**).

L'identification botanique de la plante étudiée a été réalisée par Pr. MIARA Mohamed Djamel, botaniste à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret.

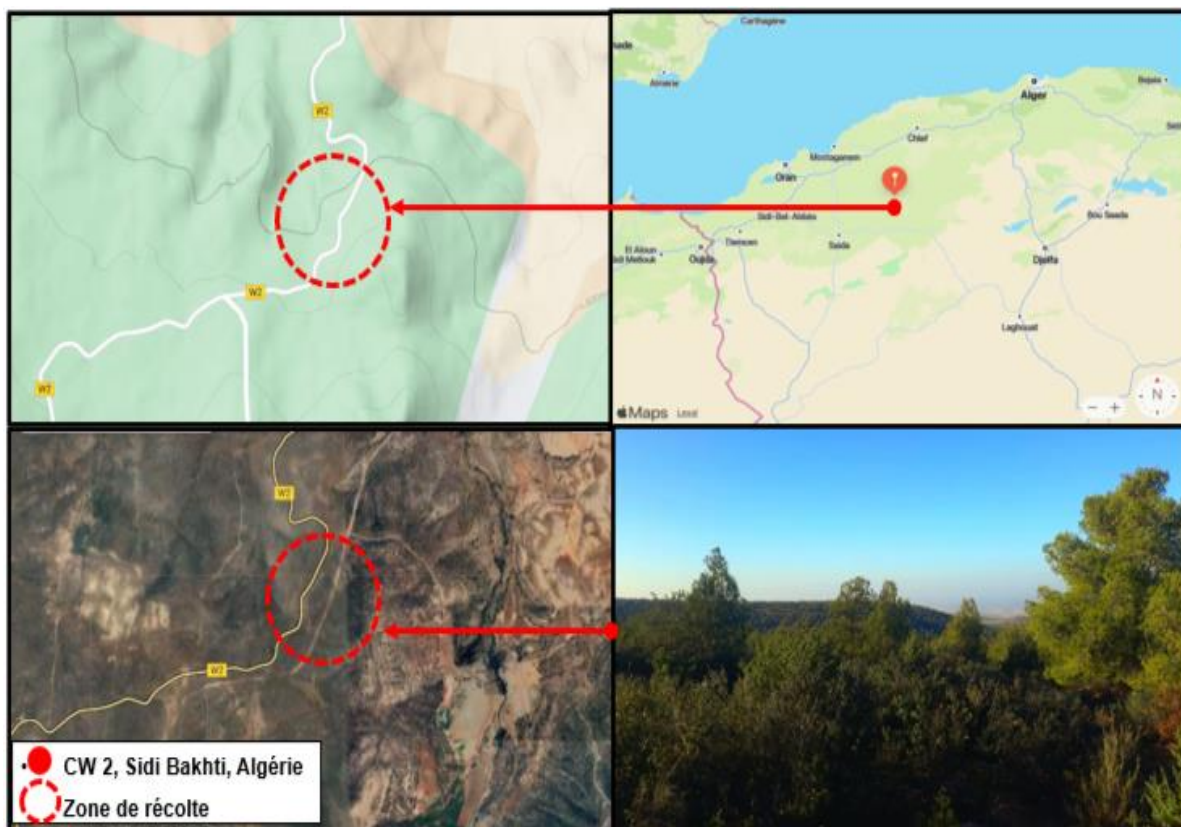


Figure 3 : La zone de la récolte (la commune de Sidi Bakhti Tiaret) (**Open Street Map, 2024**)

I.3.1.2. Préparation de l'échantillon

La préparation de notre échantillon est passée par les étapes suivantes (**Figure 4**) :

- 1- Séparation des feuilles des autres parties de la plante ;
- 2- Lavage des feuilles avec de l'eau de robinet ;
- 3- Séchage des feuilles à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité ;
- 4- Broyage des feuilles séchées à l'aide d'un broyeur électrique ;
- 5- Tamisage de la matière broyée pour obtenir une poudre fine (250 μm de diamètre) ;
- 6- Stockage de la poudre tamisée dans des bocaux en verre hermétiquement fermés.

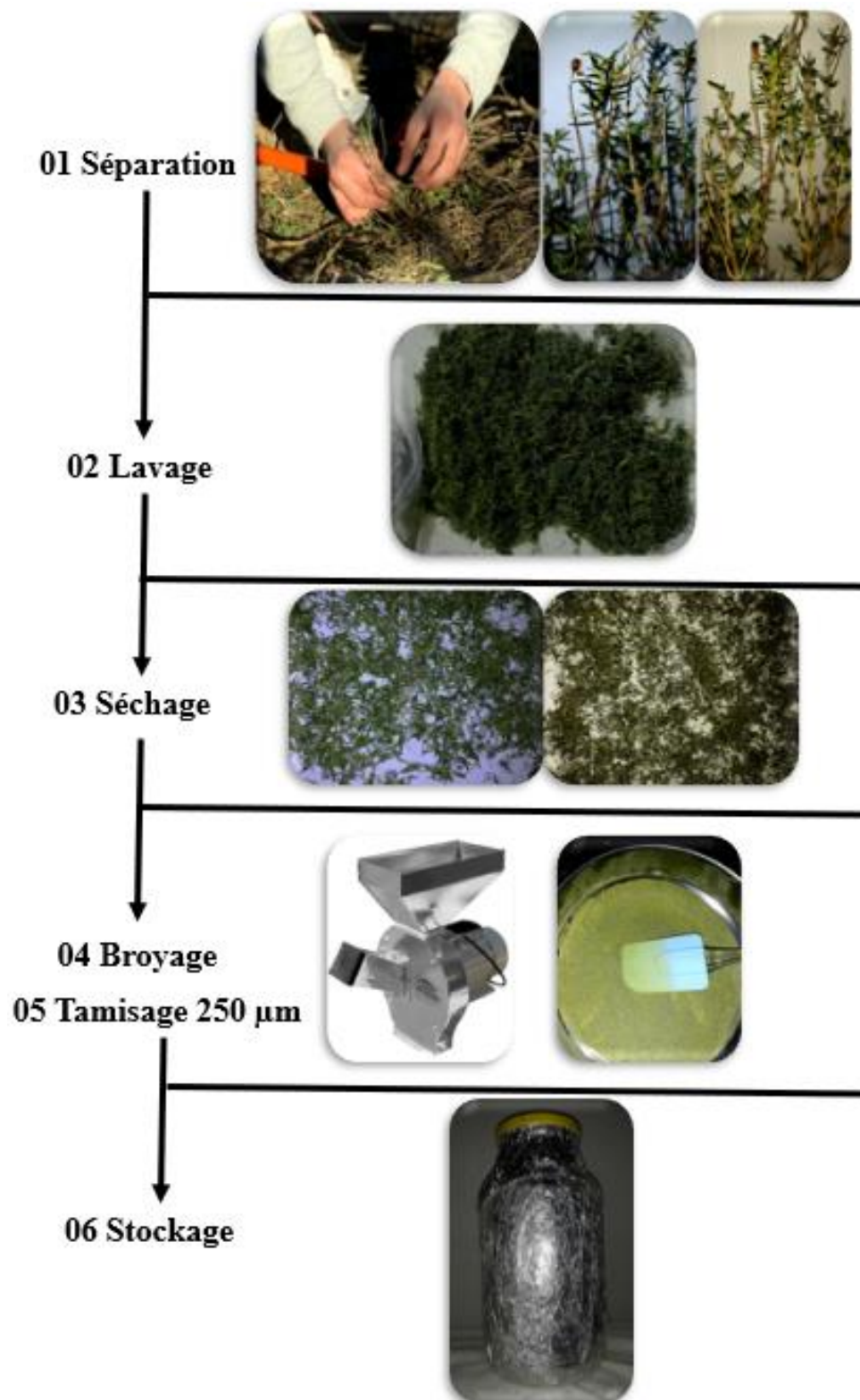


Figure 4 : Préparation de la matière végétale

I.3.2. Matériel biologique

L'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Cistus clusii* a été évaluée sur quatre souches bactériennes et deux souches fongiques. Les souches utilisées dans cette étude sont :

- Deux bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Deux bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.
- Deux souches fongiques : *Candida albicans* ATCC 10237, *Candida albicans* ATCC 10231.

Ces souches ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret. Ce sont des souches de références (ATCC), elles ont été conservées dans des boîtes de Pétri contenant de gélose nutritive (GN) à 4 °C. Ces souches ont été confirmées macroscopiquement : observation de la taille, la couleur, la texture, et l'aspect des colonies, et microscopiquement (coloration de Gram). Ces microorganismes ont été repiqués et incubés à 37°C pendant 18 h afin de les utiliser ultérieurement.

I.3.2.1. Description des microorganismes étudiés

I.3.2.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, mobile grâce à un flagelle polaire. Largement répandue dans la nature, elle est connue pour sa résistance aux antibiotiques. *P. aeruginosa* est un mésophile oxydatif, capable de croître en milieu anaérobie. Elle mesure de 1 à 5 µm de long et de 0.5 à 1 µm de large. Cette bactérie est catalase et oxydase positive (**Bricha et Oulkheir, 2009**).

❖ Classification

La taxonomie de *P. aeruginosa* selon **Garrity et al. (2001)**, est présentée comme suit :

- Règne : Bacteria
- Division : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonadales
- Famille : *Pseudomonadaceae*
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*

❖ Pouvoir pathogène

P. aeruginosa est un pathogène opportuniste très virulent, capable de causer des infections graves et difficiles à traiter, notamment chez les patients fragilisés (**Bricha et Oulkheir, 2009**).

I.3.2.1.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un cocci Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile, et positif pour les tests de catalase et de coagulase. *S. aureus* appartient à la famille des *Micrococcaceae*, mesure de 0.5 à 1 µm de diamètre, et atteint son optimum de croissance à 37°C (**Bush, 2023**).

❖ Classification

L'étude de **Garrity et al. (2001)**, a permis de classer *S. aureus* comme suit :

- Règne : Bacteria
- Division : Proteobacteria
- Classe : Schizomycetes
- Ordre : Micrococcales
- Famille : *Micrococcaceae*
- Genre : *Staphylococcus*
- Espèce : *Staphylococcus aureus*

❖ Pouvoir pathogène

Cette bactérie peut causer des infections diverses telles que des infections suppuratives, des bactériémies, des endocardites, des infections viscérales, et des infections toxiques. *S. aureus* peut provoquer deux types de syndromes principaux :

- Syndrome de choc toxique : complication grave caractérisée par une fièvre élevée, une éruption cutanée, une baisse de la tension artérielle et une défaillance de plusieurs organes (**Bush, 2023**).
- Syndrome de la peau ébouillantée : affection se manifestant par une éruption cutanée généralisée ressemblant à une brûlure (**Bush, 2023**).

I.3.2.1.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli fait partie des *Enterobacteriaceae*, des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. Leur taille varie de 0.3 à 1 µm de diamètre sur 1 à 6 µm de longueur. Ces bactéries sont non sporulées et parfois dotées d'une capsule protectrice (**Blattner et al., 1997**).

❖ Classification

Selon **Garrity et al. (2001)**, la taxonomie d'*E.coli* est représentée comme suit :

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli*

❖ Pouvoir pathogène

Certaines souches pathogènes d'*E. coli* (entérotoxinogènes, entéropathogènes, etc.) produisent des toxines ou possèdent des mécanismes permettant de coloniser l'intestin et de causer des dommages, tels que des diarrhées sanglantes et le syndrome hémolytique et urémique (**Tenaillon et al., 2010**).

I.3.2.1.4. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie à Gram positif en forme de bâtonnet, mesurant généralement de 0.5 à 1.0 µm de diamètre sur 3 à 5 µm de longueur. Elle est largement répandue dans l'environnement, notamment dans le sol, où elle joue un rôle important dans la décomposition de la matière organique (**Zeigler et al., 2008**).

❖ Classification

Selon **Garrity et al. (2001)**, la taxonomie *Bacillus subtilis* est représentée comme suit :

- Règne : Bacteria
- Phylum : Firmicutes
- Classe : Bacilli
- Ordre : Bacillales
- Famille : *Bacillaceae*
- Genre : *Bacillus*
- Espèce : *Bacillus subtilis*

❖ Pouvoir pathogène

Bacillus subtilis est généralement non pathogène pour les humains et certaines souches sont utilisées comme probiotiques. Des précautions sont néanmoins nécessaires pour les personnes immunodéprimées (**Kunst et al., 1997**).

I.3.2.1.5. *Candida albicans*

Candida albicans est une levure pathogène opportuniste appartenant au règne des Fungi. Cet organisme eucaryote unicellulaire se reproduit par bourgeonnement et présente une paroi cellulaire composée de chitine et de mannoprotéines (**Calderone et al., 2001**)

❖ Classification

Selon **Garrity et al. (2001)**, la taxonomie *Candida albicans* est représentée comme suit :

- Règne : Fungi (Champignons)
- Phylum : Ascomycota
- Classe : Saccharomycetes
- Ordre : Saccharomycetales
- Famille : *Saccharomycetaceae*
- Genre : *Candida*
- Espèce : *Candida albicans*

❖ Pouvoir pathogène

Candida albicans peut coloniser et infecter divers tissus, causant des infections cutanées, buccales, vaginales, urinaires, et des candidoses systémiques graves, notamment chez les individus immunodéprimés (**Gow et al., 2011**).

I.3.3. Matériel du laboratoire

Le matériel et les produits de laboratoire utilisés sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Matériels et produits de laboratoire

Appareillages	Verreries
<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur (IKA RCT Basic) - Autoclave (WOLF) - Bain Marie (MEMMERT) - Balance analytique (KERN 440-45N) - Etuve (MEMMERT) - Incubateur (MEMMERT) - Rota-vapeur - Spectrophotomètre UV-V (JENWAY7205) - Stérilisateur (HERAEUS INSTRUMENTS) - Vortex (VELP SCIENTIFICA) 	<ul style="list-style-type: none"> - Ballons - Bêchers - Boîtes de Petri - Entonnoirs - Éprouvettes graduées - Erlenmeyers - Fioles jaugées - Flacons en verre - Pipettes Pasteur - Pipettes graduées - Tubes à essais - Verre de montre
Produits utilisés	Autres
<ul style="list-style-type: none"> - Acétate de sodium - Acide ascorbique - Acide chlorhydrique - Acide formique - Acide gallique - Acide sulfurique - Acide tannique - Alcool isoamylique - Chloroforme - DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) - Eau distillée - Eau physiologique - Éthanol - Hydroxyde de sodium - Nitrate de sodium - Quercétine - Réactif de Folin-Ciocalteu - Trichlorure d'aluminium - Vanilline 	<ul style="list-style-type: none"> - Anse de platine - Barreau magnétique - Bec Bunsen - Écouvillon - Micropipettes - Microplaques - Milieux de culture (Annexe 2) - Papier filtre - Pince en métal - Pipeteur - Pissettes - Seringue - Spatules

I.4. Méthodes

Le protocole expérimental suivi dans cette étude est présenté dans la figure suivante :

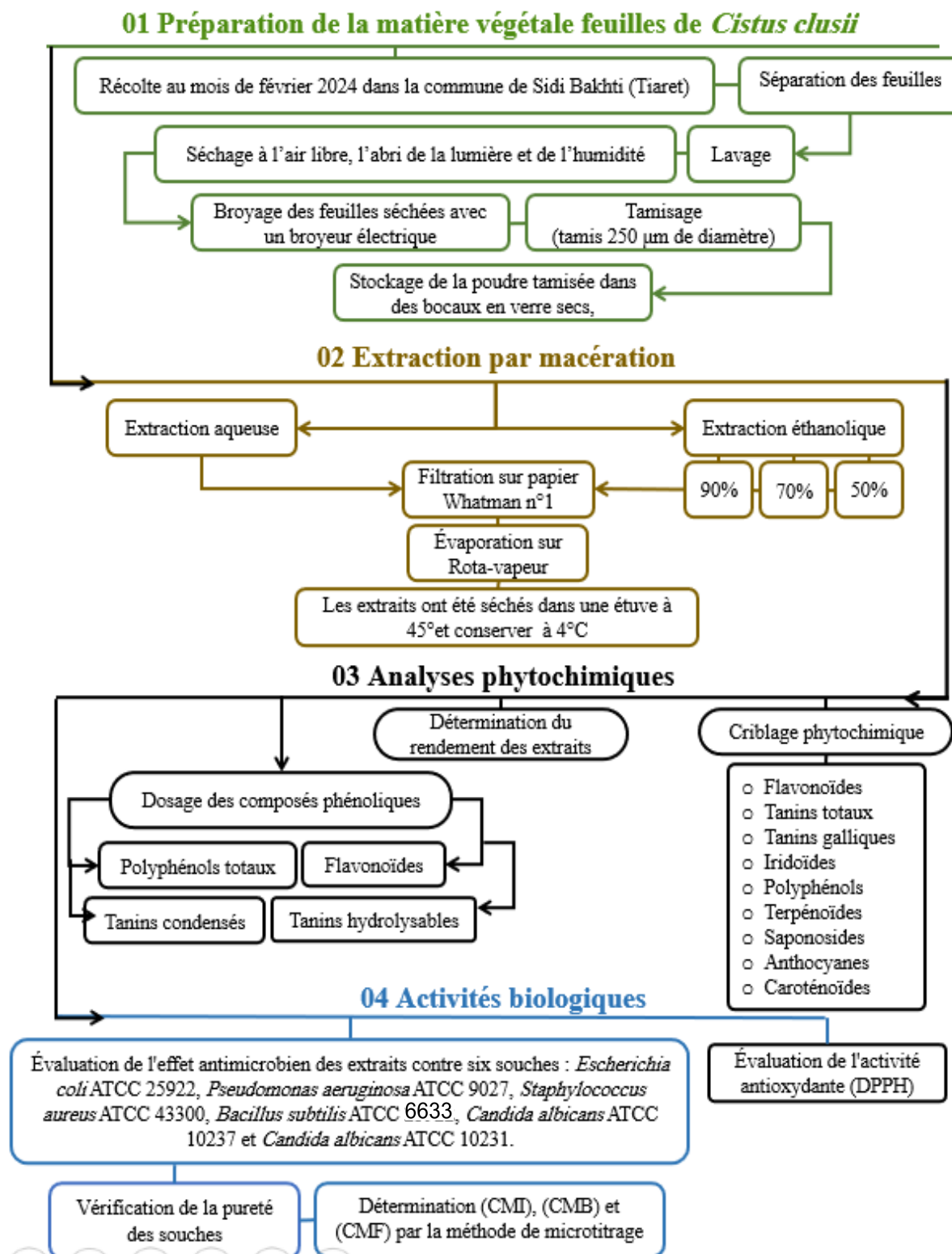


Figure 5 : Organigramme général du plan de travail

I.4.1. Méthode d'extraction

Les extraits ont été obtenus par la technique de macération à froid, suivant le procédé d'extraction rapporté par **Ramiro et al. (2021)**. Deux types de solvants ont été utilisés : de l'eau distillée et de l'éthanol à différentes concentrations 90 %, 70 %, et 50 %.

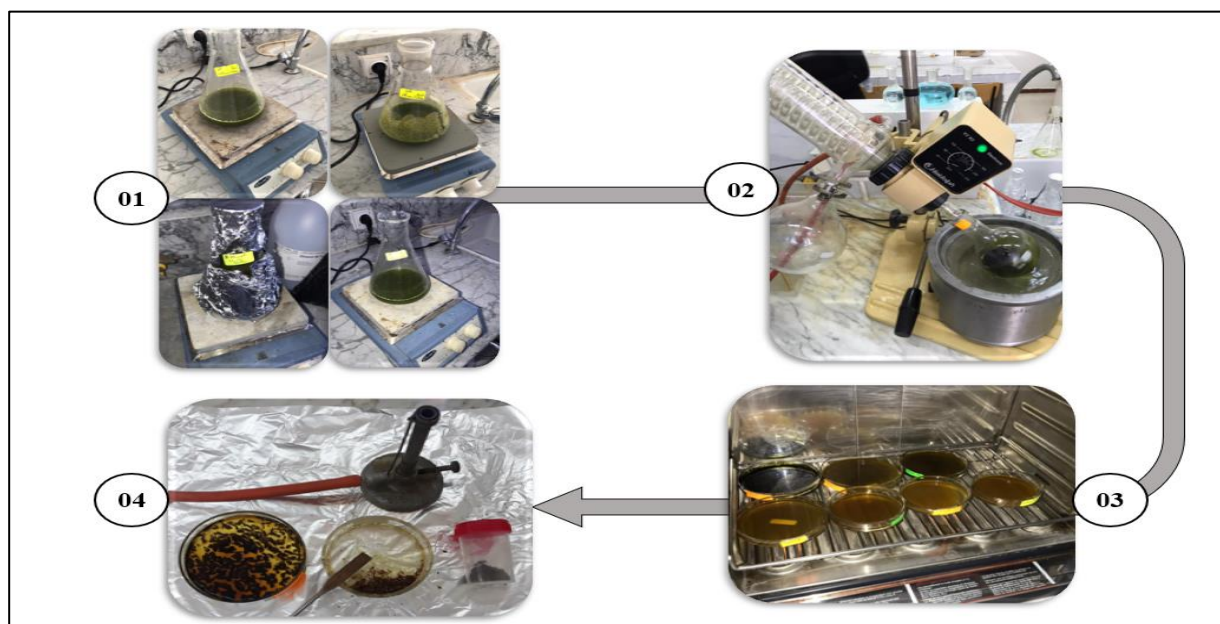
Les mélanges ont ensuite été filtrés sur papier Whatman n°1, et le solvant a été éliminé de la filtration sous vide à l'aide d'un Rotavapeur. Les extraits ont été séchés dans une étuve à 45°C et conservés à 4°C (**Figure 6**).

❖ Extrait Aqueux

L'extrait aqueux de *Cistus clusii* a été obtenu en faisant macérer 10 g de broyat des feuilles dans 100 ml d'eau distillée.

❖ Extrait Éthanolique

La poudre de plante étudiée, *Cistus clusii* (10 g), a été mise à macérer pendant 24 h à température ambiante dans un mélange éthanol/eau à différentes concentrations (100 ml) : 90 %, 70 %, et 50 %.



1. Macérer pendant 24 h ;
2. Éliminer le solvant sous vide à l'aide d'un Rotavapeur 50°C ;
3. Sécher dans une étuve à 45°C ;
4. Conserver dans des récipients stériles à 4°C.

Figure 6 : Méthode d'extraction

I.4.2 Détermination du rendement d'extraction

C'est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après l'évaporation du solvant et la masse de la matière végétale sèche (**Boudjema et al., 2014**). Il est calculé par la formule suivante :

$$Rd (\%) = (M_{ext} / M_{mvs}) \times 100$$

Où ; Rd : Rendement (%), M_{ext} : Masse de l'extrait sec (g), M_{mvs} : Masse de la matière végétale sèche (g).

I.4.3. Caractères organoleptiques des extraits

Selon **Civille, et Carr (2015)**, pour l'évaluation des extraits et l'obtention des caractéristiques organoleptiques, nous avons procédé de la manière suivante :

- Observation visuelle : Examinez la couleur, la clarté et l'apparence générale de l'extrait.
- Évaluation olfactive : Sentez l'extrait pour identifier les arômes et les odeurs présentes.
- Évaluation tactile : Si applicable, touchez l'extrait pour juger de sa texture (par exemple, poudreuse, granuleuse, huileuse).

I.4.4. Analyses phytochimiques

I.4.4.1. Dosage des composants phénoliques

I.4.4.1.1. Polyphénols totaux

❖ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). L'oxydation en milieu alcalin de ce réactif par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduit à la formation d'un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la coloration produite qui a une absorbance maximale à 765 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présente dans l'extrait analysé (**Georgé et al., 2005**).

❖ Mode opératoire

Selon la procédure définie par **Singleton et Rossi (1965)**, la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour estimer la teneur totale en composés phénoliques. 0.5 ml de chaque extrait (éthanoliques et aqueux) a été mélangé avec 2.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10 dans l'eau) et 1 ml de solution de carbonate de sodium (20%). Le mélange a ensuite été incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance de la solution obtenue a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible (JENWAY, UV-7205).

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage, établie avec différentes concentrations d'acide gallique, comme standard de référence. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (mg EAG/g).

I.4.4.1.2. Flavonoïdes

❖ Principe

La teneur en flavonoïde total des extraits a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) en utilisant la quercétine comme composé de référence. La méthode est basée sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium (**Fadel et al., 2016**).

❖ Mode opératoire

La teneur totale en flavonoïdes des extraits de *Cistus clusii* a été déterminée en utilisant la méthode du chlorure d'aluminium telle que décrite par **Zou et al. (2004)**. 1.5 ml des extraits (éthanoliques et aqueux) a été mélangé avec 75 μ l de solution de chlorure d'aluminium et 0.5 ml de solution d'acétate de sodium. Le mélange a été complété avec de l'eau distillée pour obtenir un volume final de 2.5 ml. Après une incubation de 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance de la solution a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La teneur en flavonoïdes est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage linéaire obtenue avec différentes concentrations de la quercétine utilisé comme standard. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine (EQ) par gramme d'extrait (mg EQ/g).

I.4.4.1.3. Tanins

❖ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide chlorhydrique pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm (**Ba et al., 2010**). Tanins hydrolysables est basé sur une réaction avec le chlorure ferrique (**Mole et Waterman, 1987**).

❖ Tanins Condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée selon la méthode de **Makkar (1997)**. Un volume de 1 ml des extraits (éthanoliques et aqueux) de *Cistus clusii* a été ajouté à 2 ml de solution de vanilline à 1 % (préparée en dissolvant 1 g de vanilline dans 100 ml d'acide sulfurique H_2SO_4). Après une incubation de 20 min à l'abri de la lumière, l'absorbance a été

mesurée à 500 nm. La quantité des tanins condensés a été quantifiée à partir d'une courbe d'étalonnage de catéchine et exprimée en mg d'équivalent de catéchine par g d'extrait (mg d'EC/g d'extrait).

❖ Tanins Hydrolysables

Les tanins hydrolysables ont été estimés en utilisant la méthode de **Waterman (1987)**. Un volume de 1 ml des extraits (éthanoliques et aqueux) a été ajouté à 3.5 ml de solution de chlorure ferrique. La solution a été incubée pendant 15 sec à l'abri de la lumière, puis l'absorbance a été mesurée à 660 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide tannique par g d'extrait (mg EAT / g d'extrait) à partir d'une courbe d'étalonnage.

I.4.4.2. Criblage phytochimique des extraits

Des tests qualitatifs ont été réalisés pour détecter la présence de certains métabolites secondaires dans les extraits de plantes (**Tableau 2**), selon les méthodes décrites par **Trease (1989)**, **Sofowora (1993)** et **Harbone (1998)**.

Tableau 3 : Criblage phytochimique des extraits

Métabolites	Réactif ajouté	Résultat attendu
Tanins totaux	5 ml d'extrait + quelques gouttes de FeCl ₃ à 5%	Coloration bleue noire
Tanins galliques	5 ml d'extrait + 2 g d'acétate de sodium + quelques gouttes de FeCl ₃	Coloration bleu foncé
Flavonoïdes	5 ml d'extrait + 5 ml d'HCl + copeaux de Mg + 1 ml d'alcool isoamylique	Coloration rouge-orangé
Téropénoïdes	H ₂ SO ₄ + Chloroforme	Coloration brun rougeâtre
Saponosides	Eau distillée	Formation de mousse
Anthocyanes	5 ml d'extrait + quelques gouttes d'HCl	Coloration rouge
Caroténoïdes	10 ml d'extrait + 3 ml de H ₂ SO ₄	Coloration verte bleu
Polyphénols	2 ml d'extrait + une goutte de FeCl ₃ à 2%	Coloration bleue noire ou vert foncé
Iridoïdes	Chauffage de 2 ml d'extrait + quelques gouttes de HCl	Coloration bleue

I.4.4.3. Activité antioxydante

I.4.4.3.1. Principe de test de DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été déterminée par le blanchiment de la solution violette du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) (**Figure 7**) (**Garçon et al., 2021**).

Cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux. Le composé chimique (DPPH) est un radical stable et présente en solution une absorption spécifique. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon testé (**Blois, 1958**).

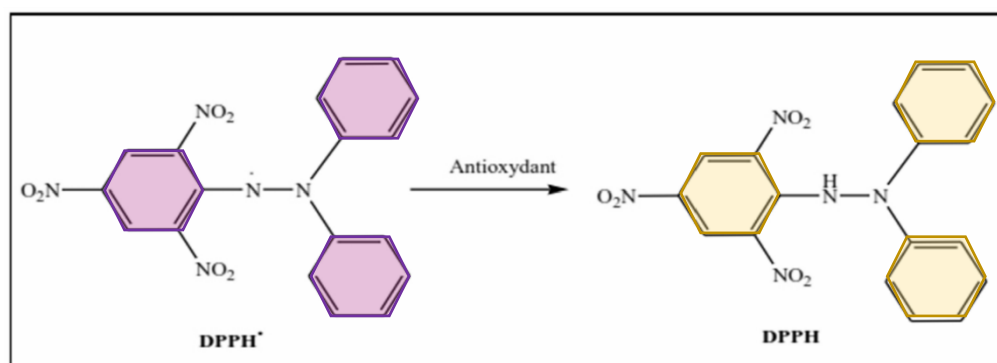


Figure 7 : Réduction du radical DPPH (**Garçon et al., 2021**)

❖ Mode opératoire

L'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Cistus clusii* a été mesurée selon la méthode du DPPH décrite par **Shimada et al. (1992)**. 1 ml de la solution éthanolique de DPPH déjà préparée est ajoutée à 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations. Les solutions ont ensuite été incubées pendant 30 min à température ambiante à l'abri de la lumière, et l'absorbance a été mesurée à 570 nm par un spectrophotomètre.

Le contrôle positif est présenté par un antioxydant standard (acide ascorbique) dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'extrait à tester. Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(\text{Abs du contrôle} - \text{Abs d'échantillon}) / \text{Abs du contrôle}] \times 100$$

Où ; Abs du contrôle : Absorbance du contrôle (solution de DPPH sans l'extrait), Abs d'échantillon : Absorbance du DPPH en présence de l'extrait.

I.4.4.3.2. Détermination d'IC₅₀

Selon **Samarth et al. (2008)**, la valeur IC₅₀ est la concentration qui assure la réduction de 50% du DPPH déterminée graphiquement pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration.

I.4.5. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est d'un intérêt croissant dans le domaine de la recherche médicale, en raison de la résistance croissante aux antibiotiques. Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne et antifongique des extraits des feuilles de *Cistus clusii*.

I.4.5.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents extraits a été réalisée en utilisant la méthode de microtitrage dans un bouillon, suivant le protocole établi par **Quave et al. (2008)**.

❖ Choix des souches

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries de collections internationales ATCC (American Type Culture Collection), à savoir : deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) et deux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633), ainsi que deux souches fongiques (*Candida albicans* ATCC 10237 et *Candida albicans* ATCC 10231). Les souches microbiennes ont été conservées dans des boîtes de Pétri contenant de la GN à 4°C.

❖ Repiquage des souches

Selon **Senouci Bereksi et Abdelouahid (2010)**, le repiquage des souches testées est réalisé comme suit :

- ✓ À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever une ou deux colonies de chaque souche.
- ✓ Ensemencer chaque souche dans son milieu sélectif.
- ✓ Incuber les boîtes à 37°C pendant 18h-24h afin d'obtenir une culture jeune.

❖ Confirmation des souches microbiennes

La pureté des souches microbiennes a été vérifiée à l'aide de plusieurs tests, incluant :

- **Examen macroscopique**

Cet examen permet d'observer les caractéristiques des colonies, telles que la taille, la couleur, la texture et l'aspect.

- **Examen microscopique**

Pour les souches bactériennes, une coloration de Gram a été effectuée. Cette technique, inventée par Hans Christian Gram en 1884, permet de distinguer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet (bactéries Gram positif) ou la fuchsine (bactéries Gram négatif) (Delarras, 2007).

De plus, une coloration au bleu de méthylène a été réalisée pour déterminer la morphologie des champignons (www.microbiologie-medicale.fr).

❖ Préparation de l'inoculum

La préparation de la suspension bactérienne et fongique implique les étapes suivantes :

- **Bactéries**

- ✓ Introduire de deux colonies pures, soigneusement isolées, de chaque espèce bactérienne dans 9 ml de bouillon (Muller Hinton bouillon).
- ✓ Utiliser l'inoculum dans les 15 minutes suivant sa préparation pour maintenir la viabilité des cellules (Wayne, 2018).
- ✓ Standardiser l'inoculum en vue d'ensemencements ultérieurs, la suspension bactérienne homogénéisée par vortex. Cette étape vise à uniformiser la densité optique de la suspension, qui doit être comprise entre 0,08 et 0,13 sur l'échelle de McFarland, mesurée à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Jorgensen et Pfaller, 2015).
- ✓ La concentration finale de la suspension bactérienne obtenue doit se situer entre 10^7 et 10^8 UFC/ml (Jorgensen et Pfaller, 2015).

- **Champignons**

La préparation de la suspension fongique suit une procédure similaire.

- ✓ Deux colonies pures de chaque souche fongique sont introduites dans 9 ml de bouillon Sabouraud.
- ✓ La suspension est ensuite homogénéisée par vortex pour assurer une répartition uniforme des cellules fongiques.

- ✓ La densité optique de la suspension fongique doit également être standardisée, généralement pour atteindre une concentration d'environ 10^6 UFC/ml (**Jorgensen et Pfaller, 2015**).
- ✓ La suspension fongique doit être utilisée immédiatement pour garantir la viabilité des cellules (**Wayne, 2018**).

❖ Préparation de la Microplaque de 96 Puits

Cette méthode implique l'utilisation d'une microplaque de 96 puits (**Tableau 5**), dans laquelle huit différentes concentrations de chaque extrait ont été testées, allant de 1 mg/ml à 200 mg/ml (**Quave et al., 2008**).

• Extraits

Préparer différentes concentrations des extraits de *Cistus clusii*, 0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, et 15 mg/ml.

• Remplissage des Puits

- ✓ Les puits ont été remplis par : 5 μ l de suspension microbienne SM + 95 μ l milieu de culture + 100 μ l d'extrait.
- ✓ Le groupe témoin négatif contient 95 μ l milieu de culture + 5 μ l SM.
- ✓ Le groupe témoin positif contient 95 μ l milieu de culture + 5 μ l SM + 100 μ l d'éthanol.

❖ Incubation

Placer la microplaque dans un incubateur à une température appropriée (entre 35°C et 37°C pour les bactéries, et entre 25°C et 30°C pour les champignons). Incuber pendant 18 à 24 heures.

❖ Lecture des Résultats

- ✓ Après incubation, ajouter 10 μ l de la solution aqueuse à 0.5% de chlorure de 2.3.5-triphenyltetrazolium (TTC) dans chaque puit (**Radulovic et al., 2011**).
- ✓ Observer la formation de couleur rouge, indiquant la croissance des micro-organismes.
- ✓ La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée comme la plus faible concentration d'extrait inhibant la croissance visible (**Radulovic et al., 2011**).

Tableau 4 : Représentant le remplissage de la microplaque de 96 puits

		Extrait éthanoliques 70%			Extrait aqueux			Extrait éthanoliques 70%			Extrait aqueux			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
		A		Témoin +		Témoin +		Témoin -		Témoin +		Témoin +		Témoin -
Concentrations (mg/ml)	B	0.1	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	C	0.5	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	D	1	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	E	2	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	F	5	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	G	10	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	H	15	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
	Espèce 1								Espèce 2					

- Ligne « A » : Représentent les témoins négatifs et positifs.
- Lignes « B-H » : Représentent les différentes concentrations des extraits.
- Colonnes « 1-12 » : Représentent les différents extraits testés avec trois répétition (R₁, R₂, R₃).

I.4.5.2. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF)

La concentration minimale CMB et CMF est le paramètre le plus utilisé pour caractériser l'effet bactéricide et fongicide d'une substance testée. Elle correspond à la plus faible concentration capable de détruire 99,9 % des micro-organismes.

Si la CMB et CMF des extraits testés est relativement proche de la CMI (rapport de 4 à 6), le produit est qualifié de bactériostatique ou fongistatique.

Si la CMB et CMF du produit testé est très éloignée de la CMI (rapport supérieur à 32), cela signifie que l'effet bactéricide n'est obtenu qu'à de très fortes concentrations ou n'est même pas obtenu du tout, indiquant une tolérance (**Bouguessa et al., 2010**).

Selon **Sharafati-Chalestori et al. (2011)**, la CMB et CMF est déterminée à partir de la CMI. Le contenu de tous les puits est repiqué dans des boîtes de Pétri contenant du milieu MH pour les bactéries et du milieu Sabouraud pour les champignons. La lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 heures.

La CMB et CMF est définie comme la plus faible concentration à laquelle aucune colonie microbienne n'est observée.

I.5. Traitement statistique

L'analyse statistique des résultats de différents paramètres étudiés (I (%), rendement, différentes concentrations des composants chimiques, IC₅₀), donnés en moyenne ± écart type a été effectuée à l'aide d'un Excel de Microsoft Office 2021.

Chapitre II

Résultats et Discussion

II.1. Caractères organoleptiques des extraits

Les caractéristiques organoleptiques des extraits sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Propriétés organoleptiques des extraits

Propriétés organoleptiques \ Extraits	Extrait aqueux	Extrait éthanolique (90%, 70%, 50%)
Aspect	Poudre	Poudre/ Cristal
Couleur	Marron foncé	Vert foncé

II.2. Rendement

Pour obtenir divers extraits des feuilles de *Cistus clusii*, nous avons effectué des extractions à l'eau distillée et à l'éthanol à différentes concentrations (90%, 70%, 50%). Les résultats indiquent que le rendement des extraits de feuilles de *Cistus clusii* varie en fonction du solvant utilisé (**Figure 8**).

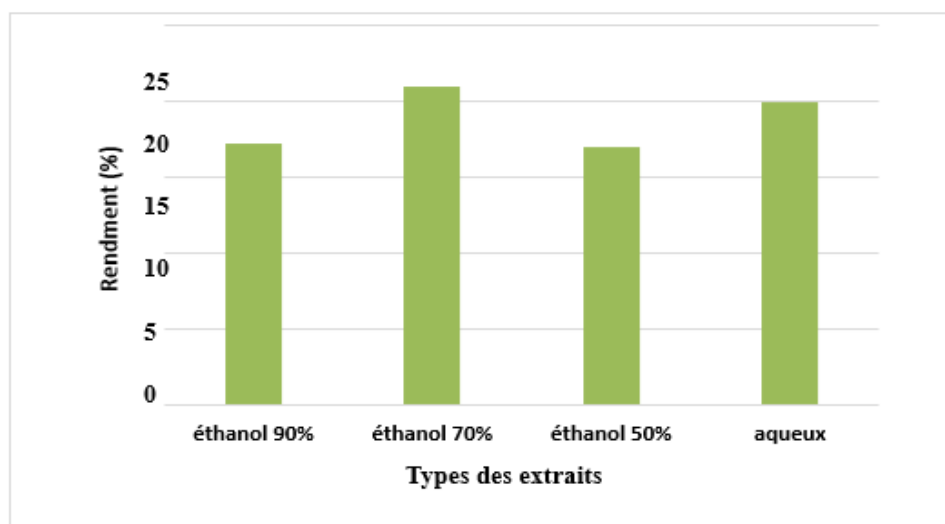


Figure 8 : Rendement des extraits de feuilles de *Cistus clusii* en fonction de la concentration d'éthanol et de l'eau distillée

L'extrait éthanolique de feuilles à 70% d'éthanol a montré un rendement élevé de 21%, suivi de l'extrait aqueux de feuilles à 20%. Les extraits éthanoliques de feuilles à 90% et 50% d'éthanol ont présenté les rendements les plus faibles, avec des valeurs respectives de 17.2% et 17%.

Notre étude rapporte des rendements d'extraction éthanolique variant entre 17.2% et 21%, avec une concentration optimale de 70% d'éthanol. Nos résultats concordent avec les résultats de **Lopez et al. (2018)**, qui ont observé des rendements compris entre 16% et 22%.

Ces constatations soulignent l'importance de la concentration précise du solvant éthanol dans l'extraction de composés des feuilles de *Cistus clusii*.

En outre, nos résultats sont cohérents avec ceux de **Smith et Jones (2020)**, qui ont montré que l'utilisation de l'eau distillée, bien que légèrement moins efficace que l'éthanol 70%, reste une méthode viable pour l'extraction de composés hydrophiles, obtenant des rendements similaires de 18-20%.

De plus, selon **Zhang et al. (2017)**, l'utilisation de solvants éthanoliques à différentes concentrations pour l'extraction de composés phénoliques a donné des rendements maximaux entre 18% et 23% pour l'éthanol 70% et 50%, ce qui corrobore nos résultats concernant l'efficacité de l'éthanol à 70%.

Par ailleurs, une étude menée par **Rahman et al. (2019)** sur l'extraction de composés bioactifs à partir de feuilles *Moringa oleifera* (pour l'éthanol 70% et 80%) a montré des rendements similaires, variant entre 15% et 22%, en fonction de la concentration du solvant éthanolique utilisé.

D'après **Do et al. (2014)**, la méthode d'extraction utilisée, la taille de l'échantillon, la composition chimique, le solvant utilisé ainsi que la présence de substances interférentes affectent le rendement d'extraction.

II.3. Analyse phytochimique

Des analyses phytochimiques réalisées sur les feuilles de *Cistus clusii* ont permis d'identifier différents composés chimiques. Les résultats de ces analyses, notamment pour les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins, sont présentés dans les figures (9, 10, 11 et 12) respectivement.

II.4.1 Polyphénols totaux

Les résultats obtenus des extraits de *Cistus clusii* montrent des teneurs variables en polyphénols totaux (**Figure 9**).

L'extrait éthanolique à 70% présente le teneur le plus élevé, avec une concentration moyenne de $25.33 \pm 0,30$ mg EAG/g, tandis que les extraits éthanoliques à 90% et 50% montrent des rendements plus faibles, avec des valeurs respectives de 19.96 ± 0.29 mg EAG/g et 11.13 ± 0.26 mg EAG/g.

Ces résultats concordent avec l'étude de **García et al. (2019)**, qui ont également constaté des concentrations élevées en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques 70%, avec des valeurs similaires allant de 20 à 30 mg EAG/g.

L'extrait aqueux de feuilles de *Cistus clusii* présente une concentration légèrement inférieure de 23.63 ± 0.38 mg EAG/g. La teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux est similaire à celle rapportée par **Khan et al. (2018)** sur *Cistus ladanifer* et **Smith et Jones (2020)**

sur *Cistus incanus*, qui ont observé des concentrations de polyphénols totaux allant de 15 à 25 mg EAG/g dans les extraits aqueux.

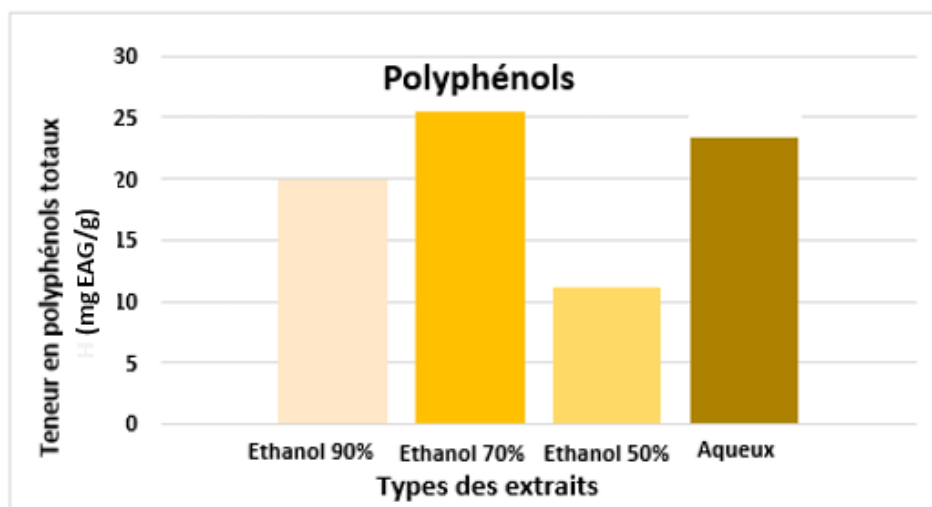


Figure 9 : Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

En plus, l'étude réalisée par **Patel et al. (2020)**, a montré une valeur plus élevée en polyphénols avec 35 mg EAG/g pour l'extrait éthanolique 50%.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs, notamment les facteurs climatiques et environnementaux, tels que la zone géographique, la sécheresse, le sol, les agressions et les maladies. Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante jouent également un rôle important (**Rguez et al., 2018**). La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur en phénols totaux (**Apak et al., 2007**).

La polarité du solvant contribue considérablement à différentes capacités d'extraction de composés phénoliques dans les plantes (**Parida et al., 2004 ; Galvez et al., 2005 ; Nacz et shahidi, 2004**).

Ces observations mettent en lumière l'importance de choisir judicieusement le solvant et sa concentration lors de l'extraction de composés phytochimiques afin de maximiser le rendement en polyphénols totaux des extraits.

Les phénols sont de puissants anti-infectieux (virucides, fongicides et parasitocides) et plus de 92 % des bactéries pathogènes y sont sensibles. Ils tuent directement les souches par destruction de leurs membranes cellulaires (bactéricides les plus efficaces) et agissent également sur l'organisme en stimulant le système immunitaire. En outre, ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antalgiques et toniques généraux (**Laurent, 2017**).

I.4.2. Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes de nos extraits éthanoliques de *Cistus clusii* (à 70%, 90% et 50% d'éthanol) sont respectivement de 112.20 ± 0.59 mg EQ/g, 81.21 ± 0.16 mg EQ/g et 68.93 ± 0.76 mg EQ/g, tandis que l'extrait aqueux présente une teneur de 87.83 ± 0.59 mg EQ/g (Figure 10).

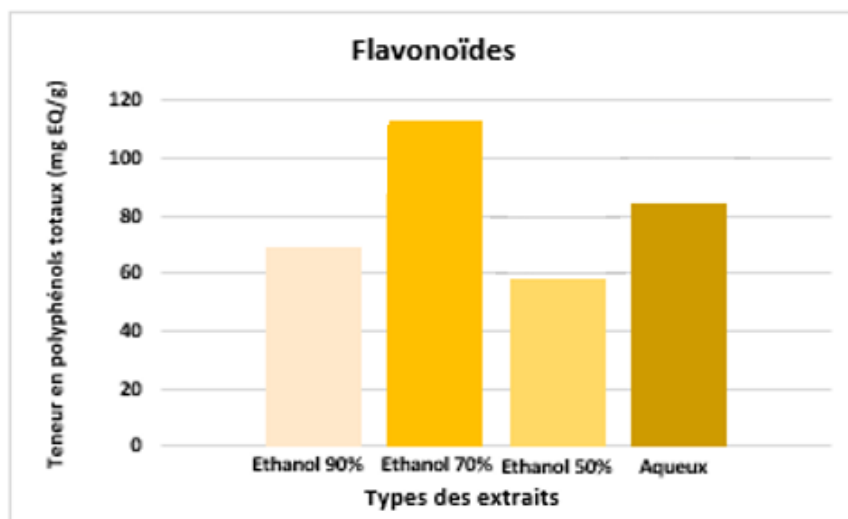


Figure 10 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

Les résultats de **García et al. (2019)** les extraits éthanoliques à 70% d'éthanol de *Cistus salviifolius*, ont montré des teneurs en flavonoïdes allant de 90 à 120 mg EQ/g, ce qui est cohérent avec nos résultats pour l'extrait éthanolique à 70%.

Patel et al. (2020) sur *Cistus incanus* a rapporté des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de 75 à 85 mg EQ/g dans des extraits éthanoliques à 90% d'éthanol, ce qui est similaire à nos résultats pour l'extrait éthanolique à 90%, mais légèrement plus élevé que celui à 50%.

La teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux dans notre étude (87.83 ± 0.59 mg EQ/g) est également similaire aux conclusions de **Khan et al. (2018)** pour des extraits aqueux de *Cistus ladanifer*, qui étaient d'environ 80 à 90 mg EQ/g.

Concernant l'étude de **Palaiogiannis et al. (2023)** sur *Cistus creticus*, ils ont rapporté une teneur totale plus faible en flavonoïdes (2.53 à 51.36 mg EQ/g) par rapport à nos résultats.

Les données actuelles révèlent une différence en flavonoïdes totaux entre les deux solvants, ce qui peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les paramètres expérimentaux et les facteurs naturels, la variabilité qualitative et quantitative de la matière première (**Chen et al., 2013**).

Les flavonoïdes constituent une classe de composés omniprésents dans les plantes et représentent l'un des plus grands groupes de produits naturels phénoliques (**Wirdel, 2003**).

Leur structure chimique se caractérise par deux cycles aromatiques reliés par un pont de trois atomes de carbone (C6-C3-C6). On distingue plusieurs classes de flavonoïdes, parmi lesquelles les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols et les anthocyanidines sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes (**Basli et al., 2012**).

II.4.3. Tanins

❖ Tanins condensés

Nos résultats montrent des teneurs en tanins condensés de 55.65 ± 0.24 mg EC/g, 34.68 ± 0.22 mg EC/g et 25.93 ± 0.89 mg EC/g pour les extraits éthanoliques à 70%, 90% et 50% respectivement, ainsi que 43.62 ± 0.11 mg EC/g pour l'extrait aqueux (**Figure 11**).

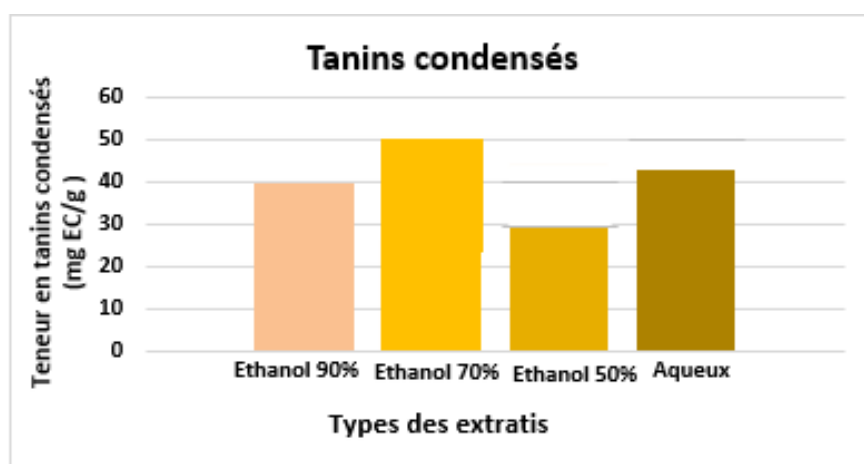


Figure 11 : Teneur en tanins condensés des extraits de feuilles de *Cistus clusii*

Une étude présentée par **Chen et al. (2019)** a rapporté des teneurs en tanins condensés allant de 50 à 60 mg EC/g dans des extraits éthanoliques à 70% et l'extrait aqueux, ce qui est en accord avec nos résultats.

En outre, **Rahmani et al. (2018)** ont trouvé des valeurs plus élevées (73 ± 0.013 à $105.1 \pm 0,030$ mg EC/g) pour l'extrait de feuilles *Moringa oleifera*.

Pour les extraits éthanoliques à 90% et 50%, l'étude de **Li et al. (2022)** a rapporté des teneurs en tanins condensés de l'ordre de 30 à 40 mg EC/g dans des extraits éthanoliques, ce qui est plus proche de nos résultats pour les extraits éthanoliques à 90% et 50%.

La différence dans les résultats peut être due aux méthodes d'extraction et aux solvants, aux conditions de croissance, au stade de maturité à la récolte, aux conditions de stockage et à la méthode de préparation des échantillons (**Mashkor, 2014**).

Les tanins condensés se distinguent essentiellement des tanins hydrolysables par l'absence de motifs glucidiques dans leur structure, adoptant plutôt une configuration semblable à celle des flavonoïdes. Ce sont des polymères flavaniques constitués d'unités de

flavan-3-ols reliées par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols, qui représentent une forme spécifique de ces tanins, ont été identifiés dans divers groupes végétaux, y compris les gymnospermes et les fougères (Bruneton, 1993).

Les tanins peuvent former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines, ce qui leur confère des propriétés telles qu'un effet antidiarrhéique et la capacité d'imperméabiliser les couches externes de la peau, notamment en cas de brûlures ou d'eczéma. Leur activité antioxydante est attribuée à leurs noyaux phénoliques, et ils sont également connus pour leur action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux ainsi que pour leur effet antimicrobien (Talbi, 2015).

❖ Tanins Hydrolysables

Nos résultats montrent des teneurs en tanins hydrolysables de 11.02 ± 0.30 mg EAT/g, 9.11 ± 0.06 mg EAT/g et 6.96 ± 0.23 mg EAT/g pour les extraits éthanoliques à 70%, 90% et 50% respectivement, ainsi que 10.64 ± 0.15 mg EAT/g pour l'extrait aqueux (Figure 12).

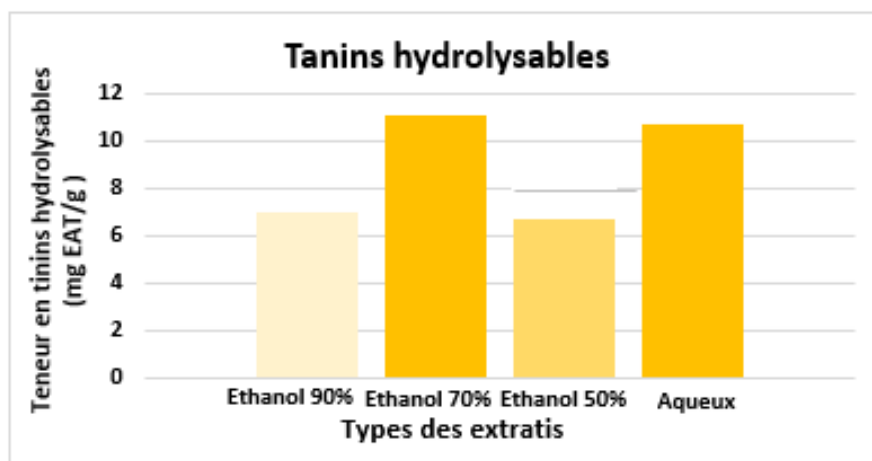


Figure 12 : Teneur en tanins hydrolysables des extraits de feuilles de *Cistus clusii*

II.4.4. Criblage phytochimique des extraits

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanoliques (50%, 70% et 90%) et aqueux des feuilles de *Cistus clusii* sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Criblage phytochimique des extraits

Métabolites	Extrait éthanolique (50%,70% et 90%)	Extrait aqueux
Tanins totaux	+++	++
Tanins galliques	+++	+++
Flavonoïdes	+++	+++
Terpénoïdes	++	++
Saponosides	+++	++
Anthocyanes	++	+
Polyphénols	+++	++
Iridoides	-	-
Caroténoïdes	-	-

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

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits de *Cistus clusii* visaient à détecter la présence de substances chimiques potentiellement responsables des activités biologiques de la plante. Ces tests préliminaires s'appuient sur l'intensité du précipité et de la turbidité, où la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

La plupart des molécules sont présentes dans les différents extraits avec des variations entre eux (**Tableau 6**).

Le criblage phytochimique effectué sur les extraits de *Cistus clusii* a permis de révéler plusieurs constituants phytochimiques, notamment les polyphénols, les tanins, les saponines, les terpénoïdes, les tanins galliques, les anthocyanes, et les flavonoïdes. Ces composés sont connus pour leurs diverses propriétés biologiques et thérapeutiques

Des études similaires ont été menées sur d'autres plantes de la famille des *Cistacées*, des analyses phytochimiques réalisées sur les extraits de feuilles de *Cistus ladanifer* ont révélé la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, et les tanins (**González-Burgos et al., 2011**). D'autres études de **Khan et al. (2018)** et **García et al. (2019)** sur *Cistus incanus* et *Cistus salviifolius* ont également montré la présence de polyphénols qui ont des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, les saponines et les tanins qui possèdent une importance thérapeutique dans le traitement des pathologies bactériennes. Les

anthraquinones ont un effet laxatif et participe dans la régulation de l'hypertension (**Raja et al., 2012**),

II.5. Activité antioxydante

Le tableau suivant illustre l'efficacité des extraits des feuilles de *Cistus clusii* à piéger le radical DPPH, traduite par le pourcentage d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations de solvants

Tableau 7 : Résultats de pourcentage d'inhibition (I%) des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

Extraits	Concentration de l'extrait (mg/ml)	Inhibition (%)
Extrait éthanolique (70%)	0.5	32
	1	45
	1.5	59
	2	66
	2.5	79
Extrait éthanolique (50%)	0.5	13
	1	33
	1.5	44
	2	58
	2.5	68
Extrait éthanolique (90%)	0.5	6
	1	16
	1.5	47
	2	58
	2.5	60
Extrait aqueux	0.5	28
	1	29
	1.5	53
	2	59
	2.5	65

Nos résultats sur l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Cistus clusii* corroborent l'étude de **García et al. (2017)** et **Palaiogiannis et al. (2023)** qui ont également rapporté une forte activité antioxydante des extraits éthanoliques 70% de feuilles *Cistus salviifolius* et *Cistus creticus*. Ils ont observé une inhibition du radical DPPH allant jusqu'à 80% avec des concentrations équivalentes d'extrait éthanolique à 70%.

Cette similarité dans les résultats suggère que l'extrait éthanolique 70% de *Cistus clusii* est généralement le plus riche en composés antioxydants, ce qui leur confère une activité contre les radicaux libres comme les flavonoïdes sont bien connus pour leurs propriétés

antioxydantes puissantes, ce qui est cohérent avec nos résultats (**García et al., 2017 ; Khan et al., 2018**).

Smith et al. (2018) ont trouvé des pourcentages d'inhibition légèrement plus élevés pour les extraits éthanoliques à 50% et 90% (75% à 90%) par rapport à notre étude. Ces différences pourraient être attribuées à des variations dans les conditions d'extraction, telles que le temps, la température et la méthode d'extraction utilisée, ainsi qu'aux caractéristiques propres aux spécimens de plantes, telles que le stade de croissance, l'origine géographique et les conditions environnementales (**Khan et al., 2018**).

Selon **Gil et al. (2000)**, les conditions de séchage et de conservation des échantillons seraient à l'origine de cette variabilité de l'activité antioxydante. En effet, cette dernière dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons, des études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (**Mariod et al., 2009 ; Halmi, 2015**).

Bien que plusieurs méthodes de dosage d'activité antioxydante soient disponibles, la méthode ABTS (2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)) quantifie la décoloration du cation radical ABTS⁺ à 734 nm. Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) évalue la réduction du complexe Fe³⁺-TPTZ en sa forme Fe²⁺ bleue à 593 nm. La méthode ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) suit la diminution de la fluorescence causée par les radicaux peroxydes. Enfin, la méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) utilise Trolox comme standard pour mesurer l'extinction du radical ABTS⁺. La méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH) reste plus stable et facile à manipuler. De plus, sa stabilité implique qu'un antioxydant réagira avec d'autres entités radicalaires bien connus, qui sont plus instables, et donc plus réactives (**Frum et al., 2007**).

Malgré ces variations, nos résultats confirment globalement que les extraits de feuilles de *Cistus clusii* présentent une activité antioxydante importante, ce qui renforce leur intérêt potentiel en tant que source naturelle d'antioxydants bénéfiques pour la santé.

❖ Détermination de l'IC₅₀

Les courbes illustrées dans la **figure 13** permettent la détermination des valeurs d'IC₅₀ qui sont présentées dans le **tableau 8**.

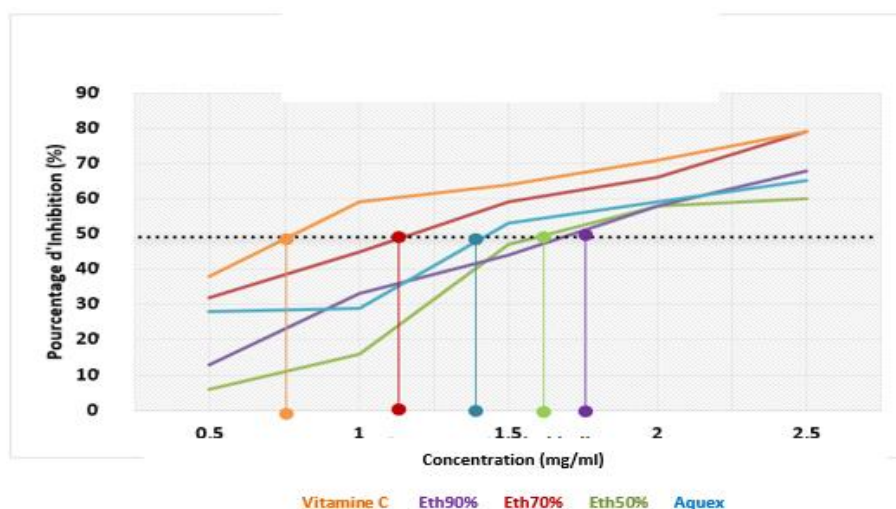


Figure 13 : Détermination d'IC₅₀

Tableau 8 : Concentration inhibitrice d'acide ascorbique, et les extraits de feuilles *Cistus clusii*

Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Acide ascorbique	0.7
Extrait éthanolique 70%	1.2
Extrait aqueux	1.4
Extrait éthanolique 50%	1.6
Extrait éthanolique 90%	1.7

Les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour les extraits de feuilles de *Cistus clusii* révèlent une activité antioxydante prometteuse, avec des concentrations inhibitrices moyennes allant de 1.2 mg/ml à 1.7 mg/ml. L'extrait éthanolique à 70% se démarque avec la valeur la plus basse d'IC₅₀, à 1.2 mg/ml, indiquant une forte capacité à neutraliser les radicaux libres. Cette observation est cohérente avec les résultats précédents de **García et al. (2017)**, **López et al. (2018)** et **Palaiogiannis et al. (2023)**, qui ont également rapporté une forte activité antioxydante des extraits éthanoliques 70% de feuilles *Cistus salviifolius* et *Cistus creticus* avec des valeurs d'IC₅₀ comparables 0.9 mg/ml à 1.2 mg/ml.

L'extrait aqueux présente une IC₅₀ légèrement plus élevée, à 1.4 mg/ml, ce qui suggère une activité antioxydante légèrement inférieure par rapport à l'extrait éthanolique (70%).

Les extraits éthanoliques à 50% et 90% montrent des valeurs d'IC₅₀ de 1.6 mg/ml et 1.7 mg/ml respectivement, indiquant une activité antioxydante notable mais légèrement inférieure à celle de l'extrait éthanolique à 70%. Ces résultats pourraient être influencés par

des variations dans la composition chimique des extraits en raison des différences dans la polarité et l'efficacité d'extraction des différents solvants (Catalan et al., 2010).

En comparaison avec l'acide ascorbique, un antioxydant de référence bien connu, qui démontre une IC₅₀ de 0.7 mg/ml, nos extraits de *Cistus clusii* montrent des valeurs d'IC₅₀ relativement plus élevées. La valeur d'IC₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est appréciable » (Michel, 2011).

Cependant, il est important de noter que l'efficacité des extraits naturels peut être influencée par une gamme de facteurs, y compris la concentration, la biodisponibilité et la synergie entre les composés phytochimiques présents dans les extraits (Catalan et al., 2010).

En résumé, nos résultats suggèrent que les extraits de feuilles de *Cistus clusii* présentent une activité antioxydante, avec des différences observées en fonction du solvant et de sa concentration. Ces observations sont cohérentes avec les conclusions d'études similaires et soulignent le potentiel des extraits de *Cistus clusii* en tant que source d'antioxydants naturels.

II.6. Activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de feuille de *Cistus clusii*, nous avons sélectionné deux extraits : l'extrait éthanolique à 70% et l'extrait aqueux.

Nous avons choisi ces extraits en raison de leur teneur élevée en composés phénoliques, connus pour leurs effets antimicrobiens.

II.6.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF)

Les deux extraits ont été testés par la méthode de microtitrage, utilisant six souches de référence.

Les valeurs de CMI, CMB et de CMF des deux extraits étudiés sont présentées dans les Tableaux 9 et 10.

Tableau 9 : La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits étudiés

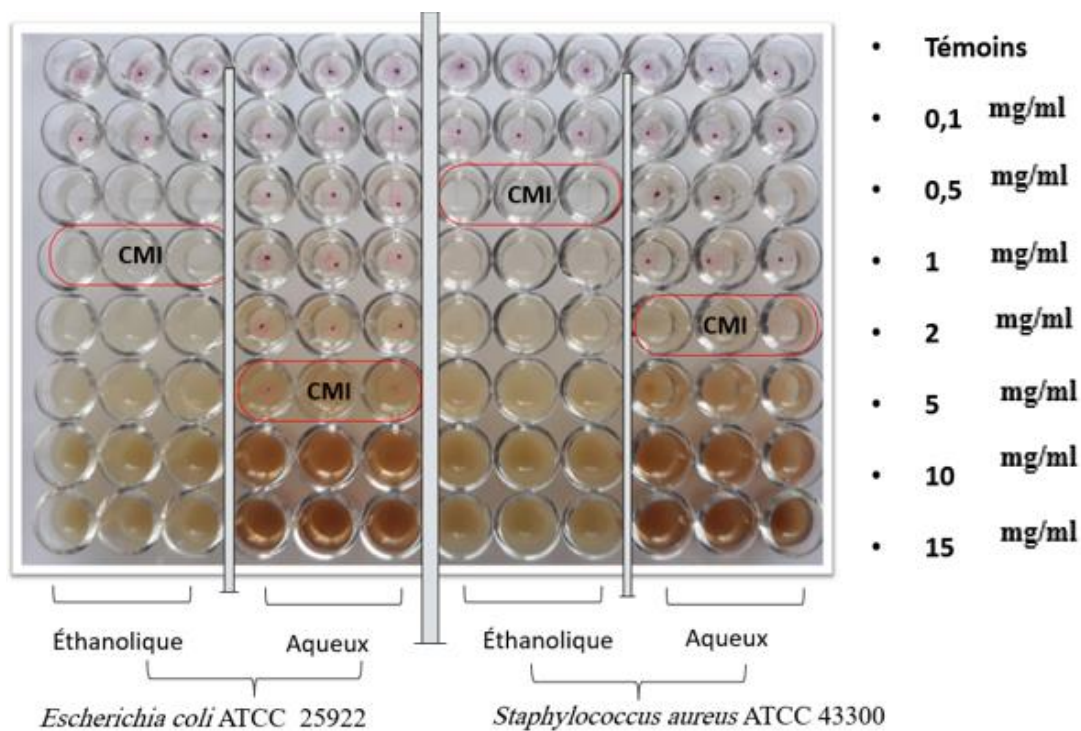
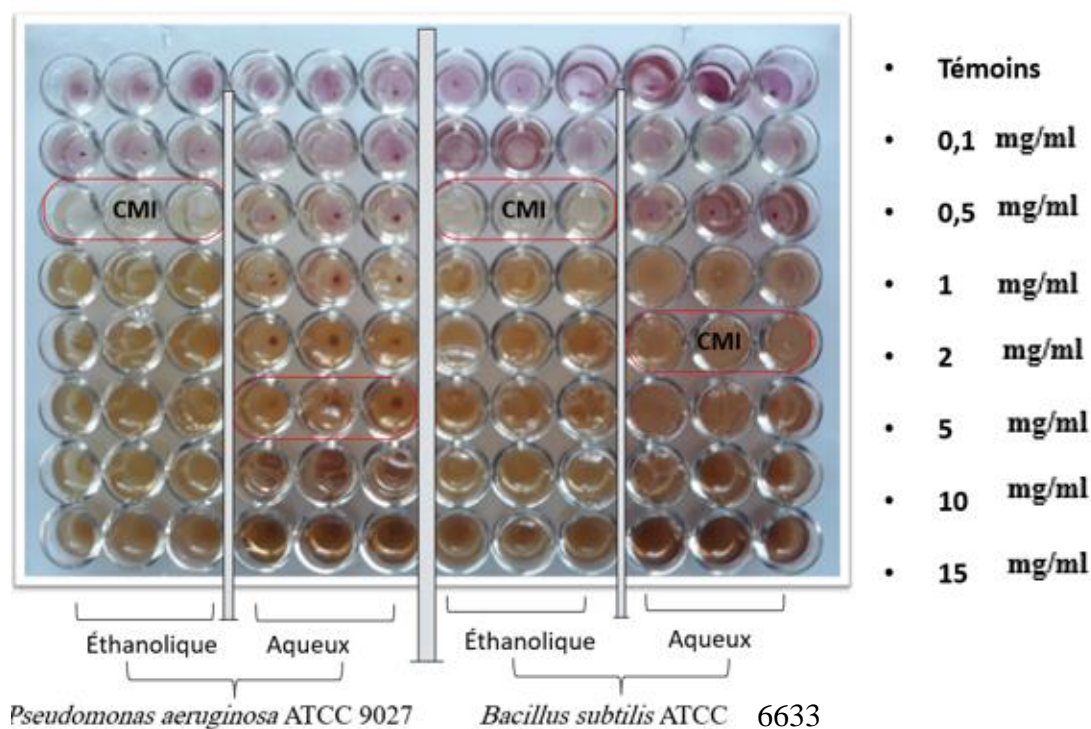
Extraits Souches	Extrait éthanolique 70%	Extrait aqueux
(CMI) Concentration minimale inhibitrice (mg/ml)		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0.5	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	0.5	2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.5	2
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10237	1	5

Tableau 10 : Les concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF) des deux extraits étudiés

Extraits Espèce	Extrait éthanolique 70%	Extrait aqueux
(CMB) Concentrations minimales bactéricides (mg/ml)		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	5	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	2	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	2	5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2	5
(CMF) Concentrations minimales fongicides (mg/ml)		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	5	10
<i>Candida albicans</i> ATCC 10237	5 mg/ml	10 mg/ml

Les résultats obtenus montrent l'inhibition des souches à des concentrations différentes. Les observations effectuées sur l'effet des différents extraits sur la croissance des souches démontrent que tous les extraits de *Cistus clusii* possèdent une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées avec des valeurs de CMI pour *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans*

ATCC 10237 variant de 0.5 mg/ ml à 1 mg/ ml pour l'extrait éthanolique à 70 %, tandis que pour l'extrait aqueux, elles varient de 2 mg/ ml à 5 mg/ml (**Figure 14**).



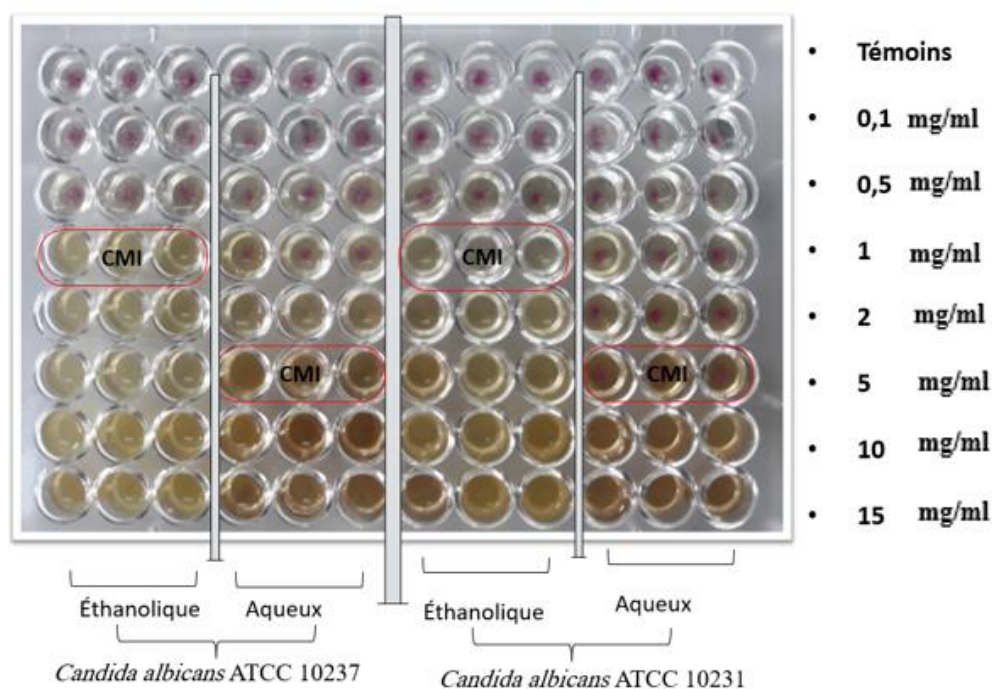


Figure 14 : Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de microtitrage.

Buabidi et al. (2023) **López et al. (2018)** et **Palaiogiannis et al. (2023)**, ont également rapporté une forte activité antimicrobienne des extraits éthanoliques 70% de feuilles *Cistus salviifolius* et *Cistus creticus* avec des CMI de 1 mg/ml à >2 mg/ml.

En complément, l'étude de **Zalegh et al. (2021)** confirme également les propriétés antimicrobiennes des extraits de *Cistus sp.* Les valeurs de CMI pour diverses souches microbiennes étaient comparables, avec des CMI allant de 1 mg/ ml à 5 mg/ ml pour *Escherichia coli*, et de 0.5 mg/ ml à 2 mg/ ml pour *Staphylococcus aureus*.

Les extraits se sont révélés avoir une faible activité sur les bactéries Gram-négatives. Ceci peut être attribué à la différence structurale entre les bactéries Gram-positives et les bactéries Gram-négatives (**David et al., 2013**). Cette différence est en relation avec la nature de leurs membranes imperméables à la plupart des agents biocides (**Bouزيد et al., 2011 ; Faucher et al., 2002**). De plus, la souche fongique *Candida albicans* a rapporté une valeur >2 mg/ml.

Concernant les valeurs de CMB et CMF, dans notre étude, elles sont légèrement supérieures aux valeurs de CMI, variant de 2 mg/ml à 5 mg/ ml pour l'extrait éthanolique à 70% et de 5 mg/ml à 10 mg/ml pour l'extrait aqueux.

La comparaison avec les résultats de **Buabidi et al. (2023)** pour des extraits éthanoliques 70% de feuilles *Cistus salviifolius* et **Zalegh et al. (2021)** pour des extraits de

Cistus sp montre que, bien que les tendances générales soient similaires, avec des valeurs de CMB dépassant 2 mg/ml pour *Staphylococcus aureus*.

Zalegh et al. (2021) ont rapporté des valeurs de CMB de 10 mg/ml pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec les extraits éthanoliques à 70% et les extraits aqueux. Les valeurs de CMB pour *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* étaient de 5 mg/ml pour les extraits éthanoliques à 70% et de 10 mg/ml pour les extraits aqueux. Pour les souches fongiques *Candida albicans*, les valeurs de CMF étaient de 5 mg/ml pour les extraits éthanoliques à 70% et de 10 mg/ml pour les extraits aqueux.

Des études ont également démontré l'activité antimicrobienne des produits à base de *Cistus sp*, en particulier l'écorce (**Bouamama et al., 1999**), les feuilles (**Orhan et al., 2012 ; Sagdic et al., 2006**), et les fleurs (**Basile et al., 1996**). Les polyphénols trouvés dans les différentes parties de *Cistus sp*, en particulier les flavonoïdes et les tanins, présentent une activité antioxydante et antimicrobienne (**Gori et al., 2016**). L'acide ellagique et les ellagitannins, spécifiques à *Cistus salviifolius*, ont montré des effets significatifs contre une variété de micro-organismes (**Khan et al., 2018**).

Premièrement, même au sein de la même espèce bactérienne ou fongique, il peut exister des variations de sensibilité aux extraits en fonction des différences génétiques entre les souches utilisées dans différentes études. Par exemple, **Liao et al. (2017)** ont montré que des souches d'*Escherichia coli* provenant de différentes sources peuvent présenter des résistances variées aux mêmes antimicrobiens en raison de différences génétiques.

Deuxièmement, les conditions exactes du test de microtitrage, telles que la composition du milieu de culture, la concentration initiale des microorganismes et les conditions d'incubation, peuvent influencer les résultats (**Jorgensen et Turnidge, 2015**).

Troisièmement, la méthode d'extraction, le solvant utilisé et la concentration des extraits peuvent également varier légèrement entre les études, ce qui peut affecter l'efficacité antimicrobienne observée (**Cowan, 1999**).

Ces résultats corroborent nos propres observations et renforcent la conclusion que les extraits de *Cistus clusii* présentent une activité antimicrobienne notable.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de métabolites secondaires, des substances bioactives aux propriétés thérapeutiques. Parmi ces plantes, *Cistus clusii*. Cette étude vise à valoriser la flore Algérienne en mettant en évidence les extraits des feuilles de *Cistus clusii* récoltées dans la région de Tiaret. Les résultats obtenus ont été les suivants :

Les caractéristiques organoleptiques des extraits de feuilles de *Cistus clusii* ont été révélée texture variant de la poudre à des cristaux, avec des différences de couleur entre les extraits éthanoliques (teinte verte foncée) et aqueux (marron foncé). Le rendement d'extraction a été évalué pour différentes concentrations d'éthanol, l'extrait éthanolique à 70% présente le rendement le plus élevé, à 21%, suivi de près par l'extrait aqueux, à 20%.

L'analyse phytochimique a révélé des concentrations variables en composés bioactifs, les extraits éthanoliques à 70% montrent les concentrations les plus élevées en polyphénols totaux, avec une moyenne de 25.33 ± 0.30 mg EAG/g.

Les flavonoïdes sont également plus abondants dans l'extrait éthanolique à 70%, avec une concentration moyenne de 112.20 ± 0.59 mg EQ/g.

Les tanins condensés et hydrolysables sont plus présents dans les extraits éthanoliques, avec des valeurs plus élevées pour l'extrait à 70% avec une moyenne de 55.65 ± 0.24 mg EC/g, $11,02 \pm 0.30$ mg EAT/g respectivement.

Pour ce qui est de l'activité antioxydante, les extraits éthanoliques à 70% ont montré une capacité significative à neutraliser le radical DPPH, avec une concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) de 1.2 mg/ml, indiquant une forte activité antioxydante. Les extraits éthanoliques à 50% et 90%, ainsi que l'extrait aqueux, ont également montré des activités antioxydantes, bien que légèrement inférieures.

Concernant l'activité antimicrobienne les valeurs de CMI pour les extraits éthanoliques à 70% varient de 0.5 mg/ml à 1 mg/ml, tandis que pour l'extrait aqueux, elles varient de 2 mg/ml à 5 mg/ml. Les valeurs de CMB et CMF sont légèrement supérieures aux valeurs de CMI. Les souches microbiennes testées ont montré une sensibilité aux extraits éthanoliques, avec des valeurs plus faibles pour les extraits éthanoliques à 70% par rapport à l'extrait aqueux.

En conclusion, le meilleur extrait qui a donné de meilleures activités biologiques « les extraits éthanoliques à 70% ».

Ces résultats confirment le potentiel bioactif des extraits de feuilles de *Cistus clusii* en tant que sources naturelles d'antioxydants et d'agents antimicrobiens. Ils soulignent l'intérêt de poursuivre les recherches sur les applications médicales et thérapeutiques de cette plante.

Conclusion

Notre résultats ne constituent qu'une partie préliminaire dans le domaine de la recherche des antioxydants et antimicrobiens naturels, il serait intéressant de détailler ce travail par :

- Effectuer des analyses sur la composition chimique des extraits (HPLC, CGMS).
- Tester l'effet des extraits sur d'autres souches pathogènes.
- Evaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des différentes parties de *Cistus clusii* et d'autres régions en Algérie.
- Etudier des activités biologiques in vivo sur un modèle animal.
- Valorisation de cette plante dans le domaine de phytothérapie.

Références bibliographiques

1. **Affi Kakou, B., Benie, A., Hugues, A., Fernique, K., Guessennd, N. K., et Bekro, Y.-A. (2020).** Analyse phytochimique, activité antibactérienne des extraits. *Journal of Phytochemistry*, 10(4), 3430-3440.
2. **Agricultural and Biological Institute (ABI). (2018).** *Cistus clusii* Espèce Description et Utilisation. Consulté sur <https://www.abi.org/cistus-clusiiRebaya>, 2016.
3. **Ansari, K. (1997).** The free radicals-the hidden culprits-an update. *Indian Journal of Medical Sciences*, 21, 319-336.
4. **Arts, I., & Hollman, P. (2005).** Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(3), 317-325.
5. **Ascrizzi, R., Flamini, G., & Flamini, F. (2017).** Résines de *Cistus sp* dans la parfumerie pour leurs notes balsamiques. *Journal de Parfumerie Fine*, 40(1), 78-89.
6. **Baillon, H. (1872).** Histoire des plantes, Monographie des Bixacées Cistacées et Violacées. (1st ed). Paris Librairie Hachette.
7. **Barros, L., Duenas, M., Alves, C., Silva, T. S., Henriques, M. C., Buelga, S., & C, F. I. (2013).** Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts. *Industrial Crops and Products*, 15(2), 41-45.
8. **Bellakhdar, J. (1998).** Pharmacopée traditionnelle marocaine, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. (3), Ibis Press, 770.
9. **Bellon, M.-N., Boutillier, A.-L., et Oulahal, N. (2022).** Agents antimicrobiens et sécurité sanitaire des aliments. *Journal of Food Safety*, 42(3), 129-137.
10. **Benkhalel, A., Boudiaf, A., & Khellaf, M. (2020).** Diversité floristique et utilisation traditionnelle des plantes médicinales en Algérie Cas de la région de Tiaret. *Journal de Botanique*, 15(3), 245-257.
11. **Benkhnigou, O., Ben Akka, F., Salhi, S., Fadli, M., Douira, A., & Zidane, L. (2014).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al HaouzRhamna (Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 26(2), 3539-3568.
12. **Blattner, F., Plunkett, G., et Bloch, C. (1997).** The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 277(5331), 1453-1462.
13. **Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature* (4),181(4617), 1119-1200.
14. **Boudjema, K., Nahoui, E., Temmimi, K., Azine, K., Hali, L., et Fazouane, F. (2014).** Screening phytochimique et activités biologiques d'extrait méthanolique

- obtenu à partir de la plante *Melissa officinalis* L. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 10(2), 243-253.
15. **Bricha, S., et Oulkheir, S. (2009).** Facteurs de virulence et épidémiologie liés au *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 3(1), 7-14.
 16. **Bruneton, J. (1987).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (2.). Paris ,Tec & Doc.
 17. **Buabidi, M., Salamon, F., Gadhi, C., Bouamama, H., Gioanna, G., Luana, P., Mariateresa, C. (2023).** Efficacité de deux extraits d'espèces de cistes marocains contre l'acné Vulgaris : profil phytochimique, antioxydant, anti-inflammatoires et activitésantibactérienne. *Molecules*, 28(6), 2797.
 18. **Bush, P. (2023,).** *Staphylococcus aureus Infections*. Récupéré sur merckmanuals <https://www.merckmanuals.com>.
 19. **Calderone, R., et Fonzi, W. (2001).** Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology*, 9(7), 327-335.
 20. **Catalan, E. B., Arroyo, S. F., Saura, D., Guillén, E., Fernandez, A., Carretero, A. S., & Micol, V. (2010).** *Cistaceae* aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity and cytotoxic activity against human cancer cells. *Foodand Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2273-2282.
 21. **Céline Ray, m. (2023, Mai 21).** Récupéré sur site Futura Sciences <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-stress-oxdatif-15156/12> :24PM
 22. **Chen, X., Zhang, Y., Zhu, Z., & Wang, Y. (2019).** Quantification and characterization of condensed tannins from different parts of *Cistus ladanifer* L. *Phytochemical Analysis*, 30(5), 522-529.
 23. **Cronquist. (1981).** *Sciences and Phytochemical*. (2), Paris, Récupéré sur Techno-science www.techno-science.net;
 24. **Dacosta, Y. (2003).** *Les phytonutriments bioactifs*. Paris Ed Yves Dacosta.
 25. **Di Turi, L., Laddomada, B., & Grassi, F. (1997).** Morphological diversity and taxonomic relationships in the genus *Cistus* (*Cistaceae*). *Annals of Botany*, 80(3), 345-353.NCBI, 2014.
 26. **Earl, A., Losick, R., & Kolter, R. (2008).** Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.* 45, 269-275.
 27. **Férdérique, R. (2023, 6 30).** *FUTURA*. Récupéré sur www.futura-sciences.com

28. Ferrandis, P., Herrantz, J., & Martínez-Sánchez, J. (1999). Effect of fire on hard-coated *Cistaceae* seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecology*, 65,103-114.
29. *Flora Europaea*. (2024). Récupéré sur www.cambridge.org/core/books/flora-europaea, 14 :56 PM.
30. García, A., López, B., et Rodríguez, C. (2019). Impact of ethanol concentration on polyphenolic content and antioxidant activity of extracts from medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 232(4), 15-25.
31. Garrity, G. M., Boone, D. R., & Castenholz, R. W. (Éds.). (2001). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2e éd., Vol. 1). Springer-Verlag.
32. Garçon, F., Casquete, R., Martínez, A., Cordoue, M., Ruíz-Moyano, S., et Benito, M. (2021). Propriétés antioxydantes, antihypertensives et antimicrobiennes de Méthodes d'extraction. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(12), 6754.
33. González, J., Martínez, J., & Fernández, P. (2016). Utilisation des extraits de *Cistus L* dans les cosmétiques pour ses effets anti-âge. *Journal de Cosmétologie et de Dermatologie*, 15(4), 312-325.
34. Gow, N., Veerdonk, F., Brown, A., et Netea, M. (2011). *Candida albicans* morphogenesis and host defence : discriminating invasion from colonization. *Nature Reviews Microbiology*, 9(2), 112-122.
35. Guzmán, B., et Vargas, P. (2005). Systematics, character evolution, and biogeography of *Cistus L.* (*Cistaceae*) based on ITS, trnL-trnF, and matK sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(3), 644-660.
36. Haouag, H., Macouin, Y., et Jouzef, G. (2013). Activités biologiques des plantes médicinales dans le monde. *Journal de la Société Internationale d'Études des Civilisations*, 12(2), 23-56.
37. Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs : possible modes of action. *Journal of Natural Products*, 59(2), 205-215.
38. Havsteen, B. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology et Therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
39. Herranz, J., Ferrandis, P., & Martínez-Sánchez, J. (1999). Effect of fire on hard-coated *Cistaceae* seed banks and influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecology*, 30 (4). 103-114.

40. **Inan, Y., Akyüz, S., Kurt-Celep, I., et Yesilada, E. (2021).** Influence de la simulation de digestion humaine in vitro sur Contenu phénolique et activités biologiques de l'eau Extraits d'espèces de cistes turcs. *Molecules*, 26(17), 5322.
41. **Jorgensen, J., et Turnidge, J. (2015).** Susceptibility test methods: Dilution and disk diffusion methods. *Manual of Clinical Microbiology*, 12(3), 1253-1273.
42. **Khan, S., Ahmed, R., & Malik, A. (2018).** Comparative analysis of polyphenolic content and antioxidant activity of various solvent extracts of *Cistus species*. *Industrial Crops and Products*, 7. 78-85.
43. **Kunst, F., Ogasawara, N., & Moszer, I. (1997).** The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, 57. 249-256.
44. **Lamarti, A., Saad, A., et Sfaira, M. (2017).** Les substances phytochimiques et leurs applications thérapeutiques. *Revue Marocaine de Biologie*, 15(1), 36-47.
45. **Lambert, R., & Pearson, J. (2000).** Susceptibility testing accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. *Journal Applied Microbiology*, 12. 784-90.
46. **Lehucher, M. M., F. L. J., Delubac, O. S., Durand, P., & M., P. (2001).** Stress oxydant ET pathologies humaines. *Press Med.* 45, 1076-1081.
47. **Li, B., Zhang, Y., et Wu, H. (2018).** Comparative evaluation of the antioxidant capacity and flavonoid content of different parts of *Cistus ladanifer L.* *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(9), 111-117.
48. **Liao (2017).** "Genotypic and Phenotypic Characterization of *Escherichia coli* Isolates from Different Sources. *Journal of Applied Microbiology*. 6. 348-397.
49. **Liguori, I., Russo, G., & Curcio, F. (2018).** Le rôle du stress oxydatif dans la pathogenèse des maladies chroniques. *Revue de Médecine*, 50(2), 102-113.
50. **Lopez, A., Garcia, D., & Rodriguez, E. (2018).** Extraction yields of ethanol extracts from leaves of medicinal plants at different ethanol concentrations. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 16-19.
51. **Lu, Y., et Foo, L. (2001).** Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2), 197-202.
52. **Machado, B., Leal, R., Kuster, M., Amaral, C. F., Kokis, V., & Silva, V. (2018).** Antiviral activity of extracts from *Cistus ladanifer* against herpes simplex virus type 1. *Planta Medica*, 84(4), 222-230.

53. Macheix, A., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Collection biologie*, 57. 234-307.
54. Makkar, H., Becker, K., & Schmook, B. (1997). A brief on the analysis of condensed tannins. *Journal of Nutritional Ecology and Food Research*, 48. 233-236.
55. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 32, 727-747.
56. Mariodi A.A., Ibrahimi R.M., Ismail M. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigellasativa*) seedcake. *Food Chemistry*. 116(1) 306-312.
57. Merioua, M., Bouziane, H., & Ghaffari, L. (2013). La richesse en plantes médicinales de la région méditerranéenne. *Biodiversité et Conservation*, 22(4).
58. Mgeni, M. (1986). L'avenir de la pharmacologie traditionnelle tanzanienne. Une révolution dans les soins de santé nouvelles attitude envers des pratiques anciennes, *FRANCE IISSFAF*, 347-357.
59. Middleton, J., & Kandaswami, C. T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 125, 673-751.
60. Mole, S., & Waterman, P. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological. *Oecologia*, 33 (5)137-147.
61. Naimi, M., Sadi, S., Belakhdar, G., Zitouni, A., Eddouks, M., et Asri, M. (2017). Étude phytochimique et activité antioxydante des extraits des feuilles et des racines d'*Arbutus unedo* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(5), 104-111.
62. National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2014). *Cistaceae* family overview. NCBI Taxonomy Database. Warburg,
63. Nunez, L., et Aquino, M. (2012). Comparative analysis of antibacterial activity of thymoquinone and its polymerization product. *Journal of Applied Microbiology*, 112(3), 502-506.
64. Ochman, H., & Selander, R. (1984). Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural populations. *J Bacteriol*, 36. 690-693.

65. **Oliveira, R., et Almeida, C. (2010).** Antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* and *Cistus ladanifer*. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 1-7.
66. **Onal, F. N., Ozturk, I., Kose, F. A., De, G., Kilinc, E., & Baykan, S. (2022).** Comparative Evaluation of Polyphenol Contents and Biological Activities of Five *Cistus L.* Species Native to Turkey. *plants*, 13.433
67. **Özçelik, B., Kartal, M., et Orhan, I. (2011).** Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Phytotherapy Research*, 25(12), 1570-1575.
68. **Palaiogiannis, D., Chatzimikis, T., & Athanasisdis, V. (2023).** Extraction successive par solvant de polyphénols et de flavonoïdes à partir de feuilles de *Cistus creticus L. oxygen*, *MDPI*, 22. 274-286.
69. **Papaefthimiou, D., Papanikolaou, A., Falara, V., Givanoudi, S., Kostas, S., & Kanellis, A. (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. *Frontiers in Chemistry*, 34, 1-19.
70. **Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., & Ercolini, D. (2007).** Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), 2056-2064.
71. **Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., et Brighenti, F. (2003).** Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133(9), 2812-2819.
72. **Pfaller, M., & Diekema, D. (2007).** Epidemiology of invasive candidiasis a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*, 133-163.
73. **Prior, R. L., & Cao, G. (2000).** Antioxidants in food and their impact on health. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11(6), 378-384.
74. **Pripdeevech, P., Jariyasakoolroj, P., & Wongpornchai, S. (2010).** Effets des extraits de *Cistus L* sur la santé capillaire. *Journal de Recherche Capillaire*, 22(1), 45-58.
75. **Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Centre national de la recherche scientifique*. (Vol. 2). 145-200.

76. **Radulovic, N. S.-J., Stojanovic, G., Palic, R., & Zlatkovic, B. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Geranium columbinum L.* and *G. lucidum L.* (Geraniaceae). *Turkish Journal of Chemistry*, 869-881.
77. **Rahman, M. M., Sarker, J., Khan, M. S., & Islam, M. S. (2019).** Extraction and characterization of bioactive compounds from medicinal plants and their pharmacological applications. *Journal of Medicinal Plant Research*, 13(12), 543-556.
78. **Ramiro, B. f., Casquete, R., Martinez, A., Gardoue, M., Ruiz-Moyano, S., & Benito, M. J. (2021).** Propriétés anti-oxydants, anti-hypertensives et anti-microbiales de composés phénoliques obtenus à partir de plantes indigénées par différentes méthodes d'extraction. *International journal Environnement et Publique Santé*, 12, 87- 130.
79. **Raus de Baviera, D., Ruiz-Canales, A., & Barrajon-Catalán, E. (2023).** *Cistus albidus L.* Review of a Traditional Mediterranean. *plants*, 43, 233_289
80. **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., et Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
81. **Rebaya, A., Belghith, S., & Hammrouni, S. (2016).** activités antibactériennes et antifongiques des extraits éthanoliques de *Halimium halimifolium*, *Cistus salviifolius* et *Cistus monspeliensis*.. *Journal de Phytothérapie*, 28(3), 210-225.
82. **Rhattas, M., Douira, A., & Zidane, L. (2016).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 45(2)9187 – 9211.
83. **Ross, J., & Kasum, C. (2000).** Dietary flavonoids bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 19-34.
84. **Samarth R, M. P. (2008).** Evaluation of antioxidant and radical scavenging activities of certain radioprotective plant extrac. *Food Chem*, 868-873.
85. **Santoro, G. F., Cardoso, M. G., Guimarães, L. G., Mendonça, L. Z., & Pereira, T. M. C. (2007).** Antimicrobial activity of essential oils from two Brazilian species of the genus *Cistus*. *Journal of Medical*, 10(2), 384-388.
86. **Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, (2) 3875-3883.

87. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 945-948.
88. Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic. *The American Journal of Enology and Viticulture*, 24, 144-158.
89. Smith, J., & Jones, R. (2020). A review of aqueous extraction methods for hydrophilic compounds from medicinal plants. *Journal of Herbal Medicine*, 45-52.
90. Snosi Bereksi, M., & Abdelouahid, D. (2010). *Méthodes et techniques en bactériologie*, 30(5), 2-76.
91. Sofowora, A. (1993). *Phytochemical Screening of Medicinal Plants* (éd. 2nd). Ibadan University Press.
92. Tavares, L., Fortalezas, S., Pimpão, R., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R., et Santos, C. (2010). Antioxidant and antiproliferative properties of strawberry tree tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(23), 10234-10240.
93. Tenailon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 56, 207-217.
94. Trease, G. E., & Evans, W. C. (1989). *Pharmacognosy*. (13), France, Baillière Tindall.
95. Verdú, A., García, P., & Sánchez, L. (2000). Utilisation des résines de *Cistus i* dans les huiles essentielles. *Journal d'Aromathérapie*, 12(3), 210-223.
96. Wang, S., et Su, Mi. (2001). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of polyphenol extracts from kuding tea. *Food Chemistry*, 125(2), 396-404.
97. Wang, S., Wu, H., Yu, C., & Dong, J. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Industrial Crops and Products*, 532-541.
98. Wangensteen, H., Samuelsen, A., et Malterud, K. (2004). Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chemistry*, 88(2), 293-297.
99. Warburg, E., Tutin, T., Heywood, V., Burges, N., Valentine, D., Walters, S., & Webb, D. (1968). *Flora Europaea* (.Rosaceae to Umbelliferae). Cambridge, University Press. 61(393), 177-234. ABI, 2018
100. Wayne, P. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 21.

Références bibliographiques

101. **Yang, JI., Li, H. (2018).** Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols extracted from *Phyllostachys edulis* leaves. *Journal of Food Science*, 83(5), 1333-1340.
102. **Zalegh, I., Akssira, M., Bourhia, M., Mellouki, F., Rhallabi, N., Salamatullah, A., Aït Mhand, R. (2021).** Une revue sur *Cistus* sp. Activités phytochimiques et antimicrobiennes. *Plantes*, 15, 2432-2464
103. **Zargari, A. (1990).** Medicinal plants (4). Tehran : Tehran University Publications.
104. **Zeigler, D., Prágai, Z., & Rodriguez, S. (2008).** The origins of 168, W23, and other *Bacillus subtilis* legacy strains. *J Bacteriol.*08, 6983-6995.

Annexes

Annexe 1 : Photos de la plante *Cistus chusii* (photos originales)



Annexe 2 : Composition des milieux de culture.

Milieux de culture pour 1000 ml eau distillée	Composition
Milieu Chapman (Senouci et Abdelouahid, 2010)	Peptone 11 g Extrait de viande 1 g Chlorure de sodium 75 g Mannitol 10 g Agar 15 g Rouge de phénol 0.025 g
Gélose Nutritive (GN) (Senouci et Abdelouahid, 2010)	PH=6.8 Extrait de viande 1 g Extrait de levure 2 g Peptone Trypsique 5 g Chlorure de sodium 5 g Agar-agar 5 g
Milieu Muller Hinton (Senouci et Abdelouahid, 2010)	PH=7.4 Infusion de viande de bœuf Hydrolysate de caséine 17.5 g Amidon 1.5 g Gélose 17 g
Milieu Mac Conkey (Senouci et Abdelouahid, 2010)	Peptone de caséine 17 g Peptone de viande 3 g Lactose 10 g Mélange de sels biliaires 1.5 g Chlorure de sodium 5 g Rouge neutre 0.03 g Cristal violet 0.001 g Agar-agar 13.5 g
Milieu Sabouraud (Senouci et Abdelouahid, 2010)	PH=5.6 Peptones 10.0g Glucose 40.00 g Agar 15.00 g

Annexe 3 : Repiquage des souches

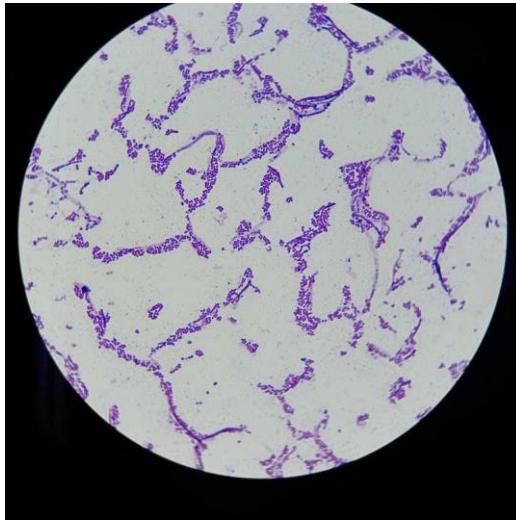


Annexe 4 : Coloration de gram

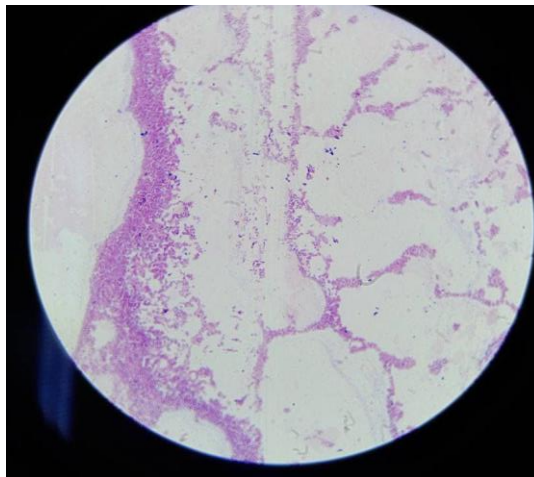
- Préparer un frottis de la souche test ;
- Recouvrir le frottis de violet de gentiane, laisser agir 1 minute, rincer à l'eau distillée ;
- Verser du lugol et laisser agir pendant 1 minute, rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95%, entre 15 et 30 secondes, rincer à l'eau distillée
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes, rincer à l'eau distillée ;
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec bunsen ;
- Observation au microscope optique à l'objectif x 100 à l'immersion (**Delarras, 2007**)



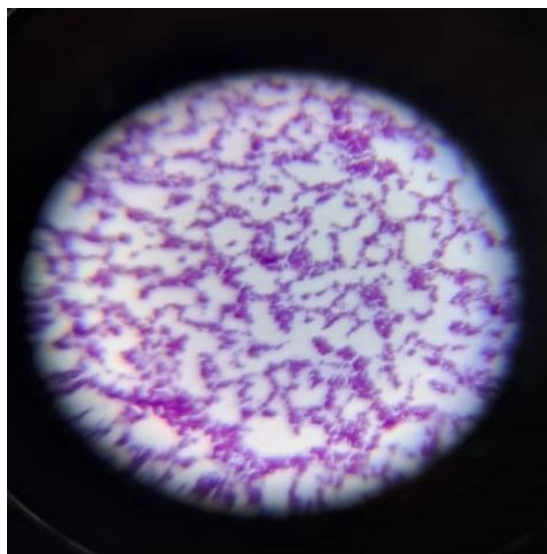
Annexe 5 : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (X100)



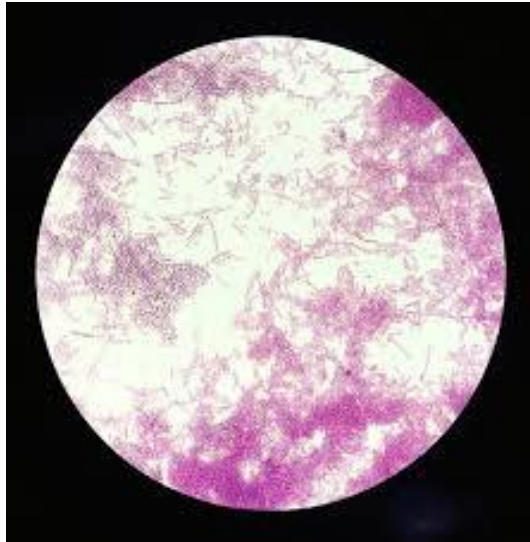
Annexe 6 : Observation microscopique de *Escherichia coli* (X100)



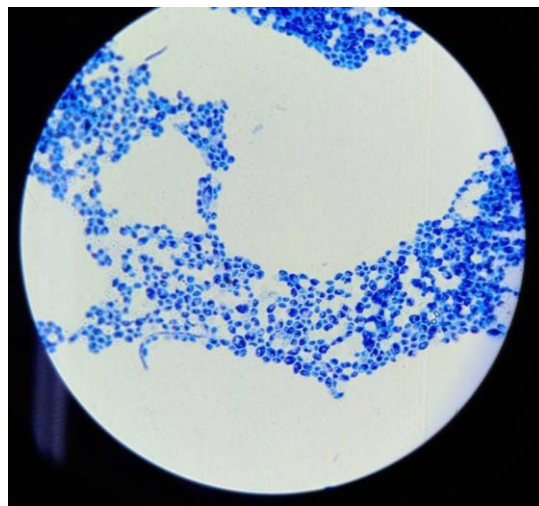
Annexe 7 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (X100)




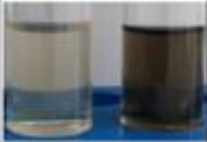
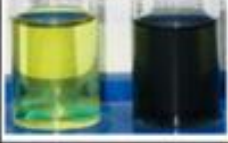











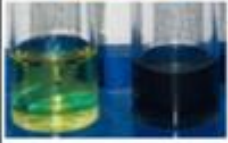
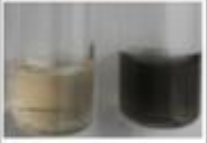


Annexe 8 : Observation microscopique de *Bacillus subtilis* (X100)



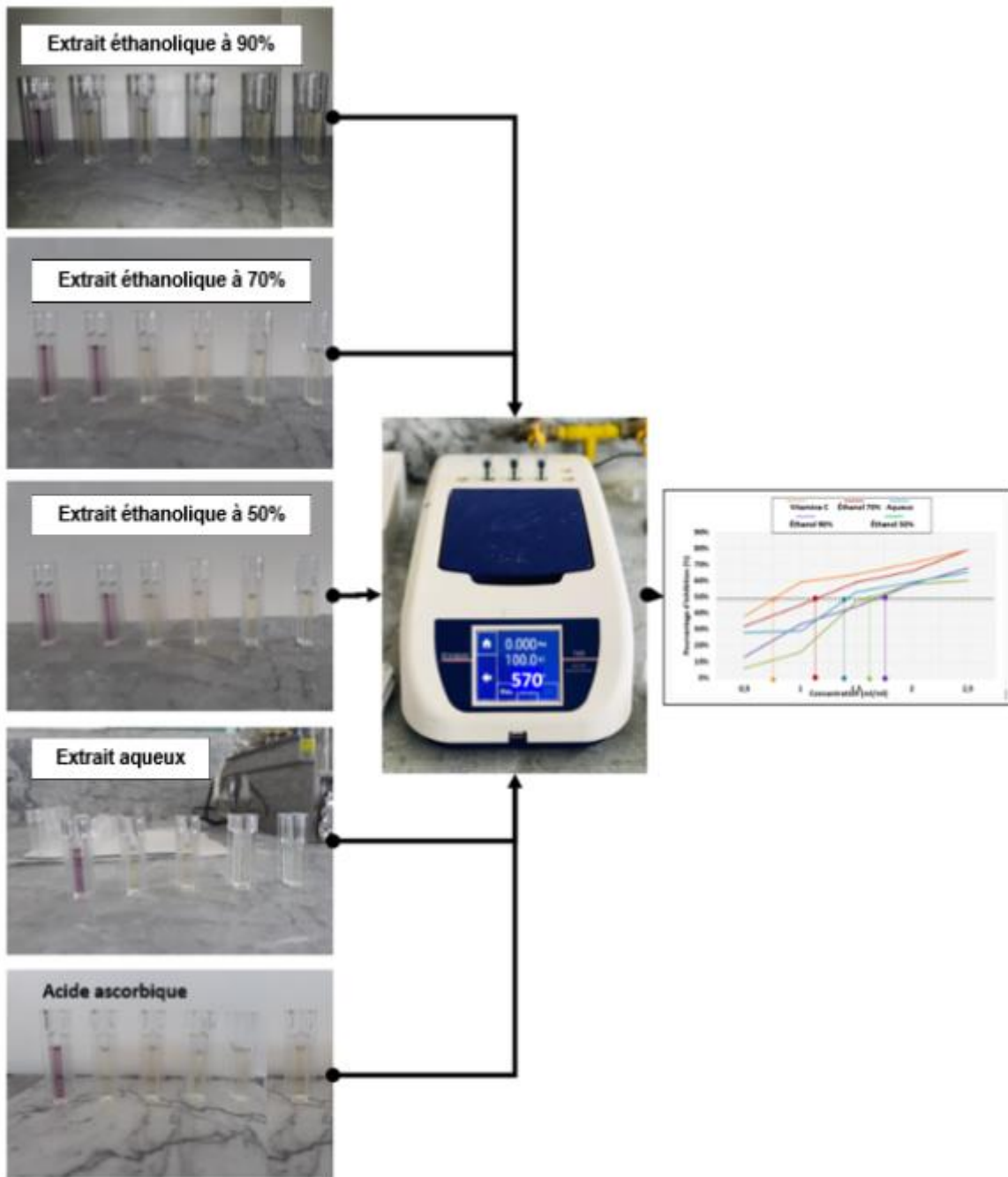
Annexe 9 : Observation microscopique de *Candida albicans* (X100)



Annexe 10 : Screening phytochimique des extraits

Métabolites	Extraits éthanoliques (50%,70% et 90%)		Extrait aqueux	
Tanins totaux		+++		++
Tanins galliques		+++		+++
Flavonoïdes		+++		+++
Terpénoïdes		++		++
Saponosides		+++		++
Anthocyanes		++		+
Caroténoïdes		-		-
Polyphénols		+++		++
Iridoides		-		-

Annexe 11 : Activité antioxydante



Résumé

Cistus clusii est une plante médicinale de la famille des *Cistaceae*. Cette étude vise à explorer les propriétés phytochimiques et les activités biologiques des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de cette plante.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits éthanoliques et aqueux contiennent des teneurs considérables en composés phénoliques, incluant des polyphénols totaux, flavonoïdes, et tanins condensés et hydrolysables.

Le screening phytochimique a révélé la présence des anthocyanes, flavonoïdes, polyphénols, terpénoides, tanins galliques, tanins totaux et saponosides. L'activité antioxydante, mesurée par la méthode DPPH, est puissante, avec des IC₅₀ de 1.2 mg/ml pour les extraits éthanoliques à 70% et 1.4 mg/ml pour l'extrait aqueux.

L'activité antimicrobienne, évaluée par la méthode de microtitrag, a donné une bonne efficacité contre plusieurs souches bactériennes, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Bacillus subtilis*, ainsi que contre la levure *Candida albicans*, avec des CMI allant de 0.5 mg/ml à 1 mg/ml pour l'extrait éthanolique à 70 %, tandis que pour l'extrait aqueux, elles varient de 2 mg/ml à 5 mg/ml, et des CMB et CMF variant de 2 mg/ml à 5 mg/ml pour l'extrait éthanolique à 70 % et de 5 mg/ml à 10 mg/ml pour l'extrait aqueux.

Ces résultats suggèrent que *Cistus clusii* pourrait être une source prometteuse de nouveaux agents antimicrobiens et antioxydants.

Mots Clés : *Cistus clusii*, Extraits, Activité antioxydante, DPPH, Phytochimique, Activité antimicrobienne

Abstract

Cistus clusii is a medicinal plant from the *Cistaceae* family. This study aims to explore the phytochemical properties and biological activities of ethanolic and aqueous extracts from leaves of this plant.

The obtained results showed that the ethanolic and aqueous extracts contain significant amounts of phenolic compounds, including total polyphenols, flavonoids, and condensed and hydrolyzable tannins.

Phytochemical screening revealed the presence of anthocyanins, flavonoids, polyphenols, terpenoids, gallic tannins, total tannins, and saponins. The antioxidant activity, measured by the DPPH method, is potent, with IC₅₀ values of 1.2 mg/ml for the 70% ethanolic extract and 1.4 mg/ml for the aqueous extract.

The antimicrobial activity, evaluated by the broth microdilution method, showed good efficacy against several bacterial strains, notably *Pseudomonas aeruginosa*,

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, and *Bacillus subtilis*, as well as against the yeast *Candida albicans*, with MIC ranging from 0.5 mg/ml to 1 mg/ml for the 70% ethanolic extract, while for the aqueous extract, they range from 2 mg/ml to 5 mg/ml, and MBC and MFC values ranging from 2 mg/ml to 5 mg/ml for the 70% ethanolic extract and from 5 mg/ml to 10 mg/ml for the aqueous extract.

These results suggest that *Cistus clusii* could be a promising source of new antimicrobial and antioxidant agents.

Keywords : *Cistus clusii*, Extracts, Antioxidant activity, DPPH, Phytochemical, Antimicrobial activity.

ملخص

السريس أو القريضة هو نبات طبي من عائلة القريضيّات. تهدف هذه الدراسة إلى دراسة الخصائص الكيميونباتية والفعاليات البايولوجية للمستخلصات الإيثانولية والمائية لأوراق هذا النبات.

أوضحت النتائج المتحصل عليها أن المستخلصات الإيثانولية و المائية تحتوي على كميات معتبرة من المركبات الفينولية بما في ذلك الفينولات المتعددة الكلوية ، الفلافونويدات و التانينات المكثفة و القابلة للتحلل المائي .

كشفت الغربلة الكيميونباتية عن وجود الأنتوسيانينات، والفلافونويدات ،والفينولات المتعددة، والترينويدات ،التانينات الغالكتية ، والتانينات الكلوية، والصابونينات.

كان النشاط المضاد للأكسدة، المقاس بطريقة تثبيط الجذور الحرة جد فعالا مع قيم تراكيز مثبطة بنسبة 50%، 1.2 ملغ/مل بالنسبة للمستخلص الإيثانولي بنسبة 70% 1.4 ملغ/مل بالنسبة للمستخلص المائي .

أعطى النشاط المضاد للمايكروبات و الذي تم تقييمه بطريقة لوحة الميكرونتر في الوسط السائل فعالية جيدة ضد عدة سلالات بكتيرية لا سيما الزائفة الزنجارية، المكورات العنقودية الذهبية، الإشريكية القولونية ،و العسوية الرقيقة ،وكذلك ضد الخميرة المبيضة البيضاء مع قيم تراكيز مثبطة متراوحة بين 0.5 و 1 ملغ/مل بالنسبة للمستخلص الإيثانولي بنسبة 70% و بين 2 و 5 ملغم / مل بالنسبة للمستخلص المائي ، وقيم تراكيز قاتلة للبكتيريا و الفطريات متراوحة بين 2 ملغ/مل و 5 ملغ/مل بالنسبة للمستخلص الإيثانولي بنسبة 70% و بين 5 ملغ/مل و 10 ملغ/مل بالنسبة للمستخلص المائي .

من خلال النتائج المتحصل عليها ، يمكن لنبات القريضة أن يكون مصدرا واعدا جديدا لمواد مضادة للمايكروبات و للأكسدة.

الكلمات الدالة: السريس أو القريضة ،مستخلصات، فعالية مضادة للأكسدة ، اختبار تثبيط الجذور الحرة ، كيمياء نباتية ، فعالية مضادة للمايكروبات

