

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté 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 : Infectiologie

Présenté par :

BENBRAHIM Louiza Amira

KHELIFA Khadidja

Thème

Etude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* d'une plante
médicinale « *Cistus clusii* »

Soutenu publiquement le 02/07/2025

Jury:

Présidente: Dr. MOKHFI Fatima

Encadrante: Dr. DOUKANI Koula

Co-encadrante: Dr. BOUHENNI Hasna

Examinatrice: Dr. BOUTELDJA Rachida

Grade

MCA

Pr

MCB

MCB

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Au nom d'Allah, le Clément et le Miséricordieux que la paix et le salut soient sur Son Prophète Mohammed.

Nous rendons grâce à « Allah », le Puissant, d'avoir mis dans notre cœur la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude la plus sincère et notre profonde reconnaissance à notre Encadrante dévouée **Pr. DOUKANI K.** pour avoir accepté de nous encadrer. Nous sommes particulièrement reconnaissantes pour la qualité exceptionnelle de sa supervision, sa rigueur, et les sacrifices qu'elle a consentis pour nous offrir le meilleur de son expertise. Sa confiance, ses encouragements, ses précieux conseils et ses recommandations ont été déterminants dans l'amélioration significative de la rédaction de notre mémoire.

Nous tenons également à exprimer nos plus sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre co-Encadrante **Dr. BOUHENNI H.** pour ses précieuses orientations, son soutien continu et sa présence inestimable à toutes les étapes de la préparation de notre mémoire. Ses commentaires perspicaces et ses conseils avisés ont été le moteur essentiel qui nous a permis de mener à bien ce travail avec succès et compétence.

Nous tenons aussi à exprimer notre vive reconnaissance et nos sincères remerciements 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.

Nous axons nos chaleureux remerciements aux personnels du Département, ainsi qu'aux ingénieurs des laboratoires de Biochimie et de Microbiologie et Sciences alimentaires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie-Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Enfin, nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont œuvré à nous former tout au long de nos études.

Dédicace

A la jeune fille que j'étais, fragile mais animée d'un rêve et d'une force intérieure.
A la femme que je deviens, forgée par chaque épreuve, portée par chaque espoir.
Je dédie ce mémoire à cette aventure humaine, à cette persévérance silencieuse, à ces nuits où
l'on doute et pourtant avancé.

A la mémoire de mon père MOURAD

Mon modèle, mon pilier, mon repère
Il est difficile de trouver les mots, justes pour exprimer tout ce que tu représentes pour
moi, et à quel point ton absence m'a marqué depuis ton départ, chaque jour est un défi,
Mais c'est ton image, ton courage, ta sagesse et ton amour qui me donnent la force d'avancer.
Je te dédie ce projet avec une immense émotion. Tu n'es plus là physiquement, mais
ton esprit m'accompagne dans chaque étape de ma vie.
Ton souvenir est une lumière qui éclaire mes pas. Tu vis en moi dans mes choix dans mes
efforts, dans mes réussites.
J'espère de tout cœur que, là où tu es, tu peux voir ce que je suis devenue, et que t'es fière de
moi.

A ma très chère mère FARIDA

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière
et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace
ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les
sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, jusqu'à maintenant.

A mon unique frère MOHAMMED SAID

Pour ton soutien, tes encouragements et ta présence rassurante. Merci d'être toujours là pour
moi.
Mes dédicaces sont également adressées à toute la famille **BENBRAHIM** et **MESBAHI** sans
exception.

À ma chère binôme KHADIDJA

Je tiens à te remercier du fond du cœur pour ta précieuse collaboration, ta patience et ta
générosité tout au long de ce travail. Ton soutien constant, ton écoute et ta confiance ont fait
de cette aventure bien plus qu'un simple projet académique. Je suis profondément
reconnaissante d'avoir partagée ces moments avec toi. Puisse cette complicité et cette belle
amitié perdurer bien au-delà de ces pages.
A tous mes amis en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments
agréables que nous avons passés ensemble. Merci de votre présence, soutien et de m'avoir
encouragée à aller plus loin.

LOUIZA AMIRA

Dédicace

Mes premiers mots sont pour remercier **Allah** le Très-Haut, sans qui ce travail n'aurait pu être accompli.

Ma gratitude s'étend également à toutes les personnes qui m'ont entourée de leur soutien précieux durant cette année ; c'est à eux que je dédie ce mémoire, aux individus les plus précieux du monde.

À ma mère adorée, **Azouza**, ta tendresse, ta bienveillance et ton esprit de sacrifice ont éclairé mon chemin. Je te dois tout.

À mon père, **Saad**, pour m'avoir transmis le courage et l'espoir, ton aide précieuse et ta présence ont été mon plus grand soutien dans les moments de doute.

"Que la protection divine soit toujours avec vous. De mon côté, je demande à Dieu la réussite, non pour moi-même, mais pour avoir le privilège de vous rendre heureux."

"Pour mes frères que j'aime, **Mostapha**, **Benouda**, **Abdelkader**, et **Abdelrazak**, et pour ma jolie cousine **Amal**. Je prie pour que Dieu vous comble de ses bienfaits : la santé, le bonheur et le succès."

Mes plus chaleureux remerciements vont à mon binôme **Louiza Amira**. Elle n'est pas seulement une amie chère, mais aussi une collègue exceptionnelle. Son apport actif et son soutien continu ont été incroyablement motivants, et au-delà de tout notre travail, je suis reconnaissante pour sa merveilleuse amitié.

Le soutien et l'encouragement continu de mes proches ont été inestimables durant toutes mes années d'études, c'est pourquoi je leur adresse mes plus vifs remerciements. Je tiens aussi à remercier particulièrement tous mes amis.

Khadija

Sommaire

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

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Inflammation

I.1. Inflammation	2
I.1.1. Facteurs déclenchant l'inflammation	2
I.1.2.Types d'inflammation	3
I.1.2.1.Inflammation aiguë	3
I.1.2.2. Inflammation chronique	4
I.1.3. Cellules de l'inflammation	4
I.1.4. Médiateurs de l'inflammation	5
I.1.5. Implications pathologiques de l'inflammation	6
I.2. Anti-inflammatoires	7
I.2.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	7
I.2.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens	7
I.2.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale	8

Chapitre II : Généralités sur *Cistus Clusii*

II .1. Présentation de la famille des <i>Cistaceae</i>	10
II .2. <i>Cistus clusii</i>	10
II .2.1. Description botanique	11
II .2.2. Systématique	11
II .2.3. Répartition géographique	12
II .2.4. Domaines d'application	13
II.2.5 Composition phytochimique	13
II.3. Effets biologiques	14
II.3.1. Activité antioxydante	14
II.3.2. Activité antimicrobienne	14
II.3.3. Activité anti-inflammatoire	15

Partie II: Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectif	19
I.2. Lieu et période de travail	19
I.3. Matériel	19
I.3.1. Matériel végétal	19
I.3.1.1. Récolte de la plante	19
I.3.1.2. Préparation de l'échantillon	20
I.3.2. Matériel de laboratoire	22
I.4. Méthodes	23
I.4.1. Extraction des composés phénoliques à partir de <i>Cistus chusii</i>	24
I.4.2. Analyses phytochimiques	25
I.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux	25
I.4.2.2. Dosage des flavonoïdes	26
I.4.2.3. Dosage des tanins	26
a) Tanins condensés	26
b) Tanins hydrolysables	27
I.4.3. Screening Phytochimique	27
I.4.4. Evaluation de l'activité antioxydante	28
I.4.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in-vitro</i>	28
I.4.5.1. Test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	28
I.4.5.2. Méthode de stabilisation des membranes érythrocytaires (HRBC)	29
I.5. Analyse statistique	31

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Résultats des analyses phytochimiques des extraits de <i>Cistus chusii</i>	33
II.1.1. Rendement	33
II.1.2. Dosage des polyphénols totaux	34
II.1.3. Dosage des flavonoïdes	36
II.1.4. Dosage des tanins	37
a) Tanins condensés	37
b) Tanins hydrolysables	38
II.2. Screening phytochimique	39
II.3. Evaluation de l'activité Antioxydante par DPPH	40
II.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	43
II.4.1. Test de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	43
II.4.2. Test de stabilisation des membranes érythrocytaires (HRBC)	44

Conclusion	47
-------------------------	----

Références bibliographiques	50
--	----

Annexes	60
----------------------	----

Résumé

Liste des abréviations

5-LOX: 5-lipoxygénase

AINS : Anti-Inflammatoire non stéroïdien

AIS : Anti-Inflammatoire stéroïdien

BSA : Bovin serum albumin (Albumin sérique bovine)

COX : Cyclo-oxygénase

DPPH : 1,1- Diphényl-2-picryl-hydrazyle

EAG : Equivalent acide gallique

EAT : Equivalent acide tannique

EC : Equivalent catéchol

EQ : Equivalent quercétine

FRAP: Ferric reducing antioxidant power (Pouvoir réducteur antioxydant de fer)

GR: Globules rouges

HRBCs: Human red blood cells (Cellules des globules rouges humains)

I % : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : Concentration d'inhibition de 50%

IL : Interleukine

INF- α : Interférons- α

LB : Lymphocytes B

LPS: lipopolysaccharides

LT : Lymphocytes T

MOA/ Monoxyde d'azote

ORAC: Oxygen radical absorbance capacity (Capacité d'absorbance des radicaux oxygenés)

PBS: Phosphate buffer salin (Tampon phosphate salin)

SOD: Superoide dismutase (Superoxyde dismutase)

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances (Substances r&actives à l'acide thiobarbiturique)

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity (Capacité antioxydante équivalente en Trolox)

TNF: Tumor necrosis factor

XOD: Xanthine oxidase (xanthine oxydase)

Liste des figures

Figure 1: Etapes du déroulement de l'inflammation aigue	3
Figure 2: Cellules de la réaction inflammatoire	4
Figure 3: <i>Cistus clusii</i>	11
Figure 4: Répartition géographique des plantes <i>Cistaceae</i>	12
Figure 5: Zone de récolte de la plante <i>Cistus clusii</i> (Commune de Mecheraa Asfa-Tiaret)...	20
Figure 6: Préparation de la matière végétale	21
Figure 7: Organigramme général du plan de travail	23
Figure 8: Méthode d'extraction des composés phénoliques de la plante <i>Cistus clusii</i>	24
Figure 9: Rendement des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	33
Figure 10: Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	34
Figure 11: Teneur en flavonoïdes totaux des extraits des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	36
Figure 12: Teneur en tanins condensés des extraits des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	37
Figure 13: Teneur en tanins hydrolysables des extraits des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	38
Figure 14: Résultats de pourcentage d'inhibition (I%) des extraits des feuilles de <i>Cistus clusii</i>	40
Figure 15 : Détermination graphique des IC50	42
Figure 16: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des deux extraits de <i>Cistus clusii</i> et Diclofénac	43
Figure 17: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse de <i>Cistus clusii</i>	44

Liste des tableaux

Tableau 1: Facteurs déclenchant la réaction inflammatoire	2
Tableau 2: Médiateurs cellulaires et plasmatiques de l'inflammation.....	5
Tableau 3: Exemples de maladies liées à l'inflammation	6
Tableau 4 : Différentes plantes médicinales et leurs effet thérapeutique	8
Tableau 5: Taxonomie de <i>Cistaceae</i>	10
Tableau 6: Matériels et produits de laboratoire	22
Tableau 7: Screening phytochimique des extraits	27
Tableau 8: Résultats de Screening phytochimique des extraits	39

Listes des annexes

Annexe 1: Photos de la plante <i>Cistus clusii</i> (photos originales)	60
Annexe 2: Activité antioxydante	61
Annexe 3: Test d'inhibition de la dénaturation des protéiens thermiques	62
Annexe 4: Test de stabilisation des membranes érythrocytaires (HRBCs)	63
Annexe 5: Screening phytochimique des extraits	64

Introduction

Introduction

La médecine traditionnelle reste un élément clé des systèmes de santé, en particulier dans les régions aux ressources limitées. Fondée sur des remèdes naturels, notamment des racines végétales, elle représente une alternative accessible et culturellement adaptée aux soins modernes. D'après l'OMS, 80 % de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement, a recours à la médecine traditionnelle (**Lengani et al., 2010**). Selon **Bouasla et Bouasla (2017)**, une grande partie de la population Algérienne utilise encore les plantes médicinales pour traiter diverses affections, comme les inflammations, les troubles digestifs et les infections, en s'appuyant sur un savoir traditionnel transmis de génération en génération.

Les plantes médicinales sont riches en métabolites secondaires, comme les polyphénols, qui sont fréquemment exploités comme antioxydants dans les domaines de la pharmacie, de la médecine, de la cosmétique et de l'agroalimentaire, grâce à leurs propriétés biotiques (**Falleh et al., 2021**). Des études récentes, comme celle de **Djahafi et al. (2021)**, ont mis en évidence la richesse des plantes médicinales et leur usage traditionnel en Algérie, notamment à Tiaret. Elles insistent sur la nécessité de préserver ce savoir local pour élaborer de nouvelles thérapies, notamment à visée anti-inflammatoire.

L'inflammation est la réponse de défense d'un organisme contre diverses agressions, qu'elles soient immunitaires ou infectieuses. Elle joue un rôle central dans de nombreuses conditions physiologiques. Les cellules pro-inflammatoires, en particulier les macrophages, servant de médiateurs essentiels des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les physiopathologies inflammatoires (**Rahmani et al., 2016**). La thérapie anti-inflammatoire fait appel à diverses molécules synthétiques; les glucocorticoïdes et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Ces médicaments présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent limiter leur utilisation à long terme. De ce fait, la recherche de substances d'origine végétale douées d'activités anti-inflammatoires s'avère très utile pour l'amélioration de la santé humaine (**Lee et Feldman, 1997**).

Notre étude s'intéresse au *Cistus clusii*, une plante médicinale de la famille des *Cistaceae*, afin d'évaluer son potentiel en tant que source d'agents antioxydants et anti-inflammatoires. L'objectif est de valoriser les ressources locales de Tiaret et d'enrichir la médecine naturelle et la pharmacologie moderne en examinant ses propriétés phytochimiques et ses activités antioxydantes et anti-inflammatoires.

Partie

Bibliographique

Chapitre I

Inflammation

I.1. Inflammation

Inflammation est un processus récurrent déclenché par des dommages aux tissus corporels vivants. Il implique en même temps des réponses humorales et cellulaires systémiques et locales visant à éliminer le facteur nocif, les cellules endommagées et les composants de la matrice intercellulaire (**Karateev et al., 2017**).

Quatre principaux indicateurs distinguent l'inflammation : la rougeur, le gonflement, la chaleur et la douleur, qui sont le résultat d'une élévation du flux sanguin, d'une hausse de la perméabilité capillaire permettant aux anticorps, cytokines et autres éléments de traverser la barrière endothéliale. Cela s'accompagne aussi de la migration des leucocytes vers le tissu blessé pour favoriser sa guérison (**Youghbaré et al., 2015**).

I.1.1. Facteurs déclenchant l'inflammation

Les facteurs qui déclenchent les phénomènes inflammatoires peuvent être très divers (**Tab.1**) :

Tableau 1: Facteurs déclenchant la réaction inflammatoire (**Danowski, 1991**)

Catégorie d'origine	Type d'agents
Origine exogène	Agents physiques : brûlures, gelures, radiations, coupures, piquûres, etc
	Agents chimiques : acides, bases, médicaments
	Agents biologiques: bactéries, virus, parasites, toxines
Origine endogène	Microcristaux: goutte, chondrocalcinose, rhumatismes hydroxyapatites, auto-anticorps

I.1.2.Types d'inflammation

L'inflammation peut se diviser en deux grands types : aigue et chronique.

I.1.2.1. Inflammation aigüe

C'est une réaction rapide à un agent agressif, de courte durée, généralement brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs puissants (Serhan et *al.*, 2010). Les inflammations aiguës se résolvent naturellement ou avec un traitement, bien qu'elles puissent entraîner des déficits fonctionnels locaux en fonction de la sévérité de la lésion (Mallem et Gognyé, 2014). L'inflammation aiguë peut être structurée en trois phases principales : une phase vasculaire immédiate (initiation), qui dure généralement quelques minutes et est marquée par des changements dans la microcirculation locale, une phase cellulaire qui suit avec le déplacement de plusieurs cellules, cette activation cellulaire facilitera l'évacuation des agents pathogènes et des tissus endommagés et une étape de rétablissement et de cicatrisation qui, en l'espace de quelques jours, conduira à la régénération des tissus (Fig.1) (Weill et Batteux, 2003).

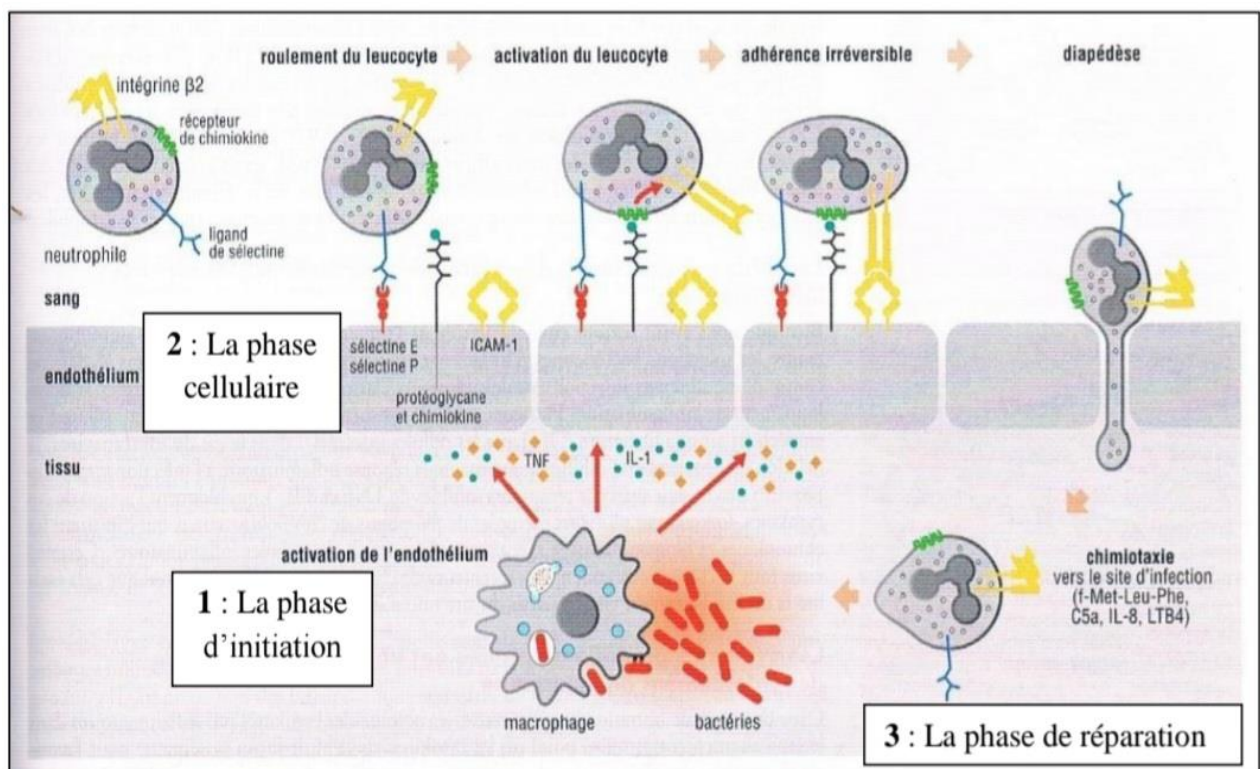


Figure 1: Etapes du déroulement de l'inflammation aigue (Franco et *al.*, 2009)

I.1.2.2. Inflammation chronique

À la différence de l'inflammation aiguë, l'inflammation chronique s'étend dans la durée, et son examen histologique fait apparaître des lymphocytes et des macrophages prédominants, et cela peut conduire à la fibrose et à la nécrose dans les tissus (**Iwalewa et al., 2007**). L'inflammation chronique, qui se rapproche de l'inflammation aiguë, génère des lésions tissulaires supplémentaires, perturbe gravement les fonctions corporelles et s'accompagne d'une élévation prolongée au niveau tissulaire. Elle ne peut donc être considérée comme telle que si elle dure plus de six semaines (**Weill et Batteux, 2003**). Cette inflammation est désormais de mieux en mieux identifiée comme un élément physiopathologique en particulier des états pathologiques en obésité, diabète de type 2, athérosclérose, asthme ou maladies neuro-dégénératives, et serait prise en charge par l'un des systèmes susceptibles de relayer le changement du point de consigne de la maladie (**Kotas et al., 2015**).

I.1.3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Le tissu inflammatoire se remplit rapidement de cellules dérivées du sang (polynucléaires, monocytes et lymphocytes) et des tissus conjonctifs locaux tels que les fibroblastes, les cellules endothéliales, les mastocytes et les macrophages résidents (**Fig.2**) (**Rousselet et al., 2005**).

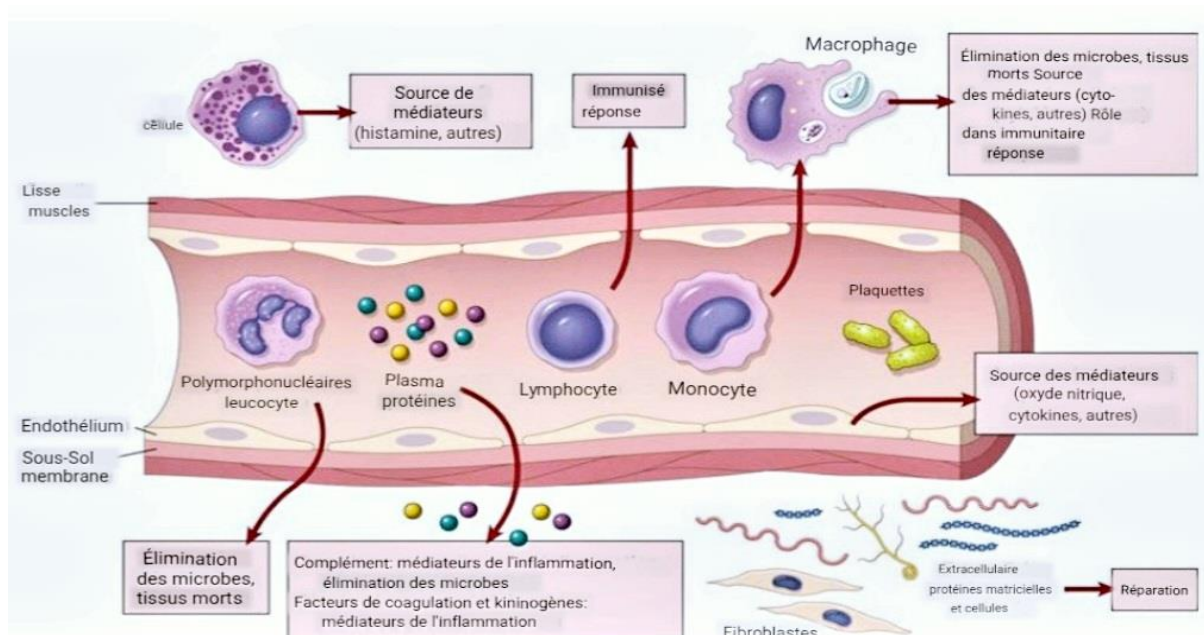


Figure 2: Cellules de la réaction inflammatoire (Abadjian, 2014)

I.1.4. Médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire est engendrée et contrôlée par un panel de médiateurs chimiques pro ou anti-inflammatoires qui sont généralement des molécules protéiques présentes dans la circulation sanguine ou provenant des cellules immunitaires tels que les thrombocytes, les neutrophiles les mastocytes et les macrophages (Serhan *et al.*, 2010).

L'engagement de ces cellules n'est pas aléatoire, mais induit par des substances connues sous le nom de « médiateurs de l'inflammation ». Ces derniers sont produits par des cellules exposées au stress ou à un traumatisme, ainsi que par les globules blancs qui prennent part au mécanisme de défense à mesure que le processus inflammatoire avance (Buckley *et al.*, 2014). Il existe deux types de médiateurs : des médiateurs dérivés des cellules et des médiateurs plasmatiques (Tab.2).

- **Médiateurs dérivés des cellules**

Sont soit préformés et isolés dans des granules intracellulaires (dégranulation causée par des stimuli inflammatoires), soit synthétisés de nouveau en réponse à des stimuli (Rousselet *et al.*, 2005).

- **Médiateurs plasmatiques**

La forme précurseur se trouve dans le plasma et doit être activée (habituellement via la protéolyse) pour révéler ses caractéristiques (Rousselet *et al.*, 2005).

Tableau 2: Médiateurs cellulaires et plasmatiques de l'inflammation (Buckley *et al.*, 2014., Rankin, 2004)

Médiateurs de l'inflammation	Origine	Effet
Médiateurs cellulaires		
Histamine	Mastocytes, basophiles, eosinophiles et plaquettes	Induction de la vasodilatation avec une augmentation de la perméabilité vasculaire et une expression de molécules d'adhésion
Leucotriènes LTC4, LTD4, LTE4	Leucocytes	Augmentation de la perméabilité des micro-vaisseaux
IL2	Lymphocytes	Prolifération des lymphocytes et libération de TNF- α et IFN γ par les leucocytes

Médiateurs plasmatiques		
Bradykinine	Plasma, sous forme de kininogènes	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses
Facteur de Hagemann (XII)	Plasma, est activé par l'adhésion des plaquettes	Impliqué dans la cascade de coagulation
Fibrine	Plasma, sous forme de fibrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin
C3a, C5a	Fraction C3, C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophiles, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse

I.1.5. Implications pathologiques de l'inflammation

L'inflammation est un processus de défense essentiel au maintien de l'intégrité de l'organisme. Néanmoins, son implication dans de nombreuses pathologies humaines est bien évidente (Tab.3) (Meziti, 2018).

Tableau 3: Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002)

Troubles dans lesquels un rôle pathogénique important est attribué à l'inflammation	
- Maladie d'Alzheimer - Anaphylactique - Dermatite atopique - Maladie pulmonaire obstructive chronique	- Arthrose - Diabète de type I - Asthme - Lupus érythémateux
Maladies d'origine infectieuse dans lesquelles l'inflammation peut contribuer autant à une pathologie tout comme la toxicité microbienne	
- Dysenterie bactérienne - Gastrite à <i>Helicobacter pylori</i> - Pneumonie à virus grippal	- Pneumonie fibrose kystique - Méningite - Syndrome de septicémie
Maladies d'origines diverses dont lesquelles la fibrose post-inflammatoire est une cause principale de pathologie	
- Fibrose pulmonaire induite par la bléomycine - Cirrhose hépatique (post-virale ou alcoolique)	

I. 2. Anti-inflammatoires

Étant donné la diversité des agents pathogènes (immunitaires, microcristaux, infections, corps étrangers, traumatismes...) susceptibles d'endommager l'organisme, les anti-inflammatoires sont employés dans diverses pathologies. Ils font partie de différentes catégories chimiques et partagent souvent des propriétés supplémentaires, comme la réduction de la fièvre et la diminution de la douleur. Cependant, leur action reste principalement symptomatique, car ils atténuent les symptômes, mais n'arrêtent généralement pas l'évolution de la maladie (**Muster, 2005**).

I. 2.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les médicaments AINS sont pris par voie orale, ingérés par le système digestif, et ensuite métabolisés en fonction de leur caractéristiques, soit par application locale ou intramusculaire, bien qu'ils soient moins souvent étudiés (**Fournier et al., 2008**). Ils sont fréquemment utilisés pour leurs propriétés antalgiques et anti-inflammatoires. En pratique médicale générale, ils interviennent dans la prise en charge de nombreuses pathologies (**Bidaut-Russel, 2008**). L'utilisation de ces AINS ne garantit pas l'absence de risques d'effets indésirables digestifs graves tels que les ulcères gastroduodénaux ou les hémorragies, surtout à des doses élevées (**Blain et al., 2000**).

I.2.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS sont reconnus pour leur efficacité dans la prise en charge des pathologies inflammatoires, cependant, du fait de leur toxicité, leur usage prolongé n'est pas possible, sauf dans les situations très critiques où les risques sont jugés acceptables (**Sawadogo et al., 2008**). Les corticoïdes se sont imposés comme des agents indispensables durant la période périopératoire. La preuve la plus récente d'un effet antidouleur a fait surface, soulignant ainsi l'importance de ces molécules. Les glucocorticoïdes ont effectivement une action plus large que les anti-inflammatoires non-stéroïdiens, agissant au niveau cytoplasmique et génomique, ce qui induit une régulation de la transcription et de l'expression des médiateurs, des cytokines et de différents neuropeptides (**Orliaguet et al., 2013**). Depuis plus de 50 ans, les glucocorticoïdes sont employés dans le traitement des pathologies inflammatoires chroniques, y compris l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes. Toutefois, leur application clinique est restreinte en raison d'effets indésirables sévères tels que l'immunosuppression, l'exacerbation du diabète, l'hypertension, l'ostéoporose et le retard de croissance chez les enfants (**Khan et Lee, 2008**).

I.2.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes médicinales sont couramment employées dans la médecine traditionnelle pour atténuer des pathologies inflammatoires comme l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, la bronchite, l'eczéma, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique ainsi que les ulcères de l'estomac et du duodénum (**Tab.4**) (**Setty et Sigal, 2005**). Les anti-inflammatoires d'origine végétale représentent une alternative prometteuse aux anti-inflammatoires synthétiques, en raison de leur richesse en métabolites secondaires bioactifs tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques. Ces composés exercent leurs effets anti-inflammatoires en modulant la production de cytokines pro-inflammatoires, en inhibant les enzymes comme la cyclooxygénase (COX) et la lipoxigénase (LOX), ou encore en neutralisant les radicaux libres impliqués dans la cascade inflammatoire (**Talhok et al., 2007**).

Pan et al. (2010) ont montré que de nombreux extraits végétaux riches en flavonoïdes présentent des activités inhibitrices marquées sur les médiateurs inflammatoires *in vitro* et *in vivo*, ouvrant la voie au développement de phytomédicaments plus sûrs et mieux tolérés.

Tableau 4 : Différentes plantes médicinales et leurs effets thérapeutiques (Gupta et al., 2005)

Plante	Composé phénolique	Type d'extrait	Effet thérapeutique
<i>Cayaponia tayuya</i>	Flavonoïdes	Extrait méthanolique	Anti-inflammatoire analgésique, diurétique
<i>Papaver rhoeas</i>	Flavonoïdes	Extrait éthanolique	Anti-inflammatoire
<i>Clerodendrum petasites</i>	Flavonoïdes	Extrait éthanolique	Anti-inflammatoire, anti-pyrétique
<i>Bauhinia racemosa</i>	Flavonoïdes, tanins coumarines, stilbènes	Extrait méthanolique	Anti-inflammatoire analgésique, anti-pyrétique

Chapitre II

Généralités sur

Cistus clusii

II.1 Présentation de la famille des Cistacées

La famille des Cistacées (ciste) est une petite famille de plantes, garnis de floraisons très copieuses. Plus de 200 espèces, réparties dans huit genres végétaux (**Tab.5**), en provenance des régions tempérées chaudes des zones méditerranéennes, sont exploitées depuis la plus haute antiquité comme plantes médicinales, tout particulièrement en médecine populaire (**Bedoya et al., 2009**).

La famille *Cistaceae* comprenant des variétés à fleurs violettes et d'autres à fleurs blanches. L'un des genres emblématiques de la Xora, le genre *Cistus* (famille *Cistaceae* ; le ciste) (**Guzmán et Vargas, 2005**). Les plantes de la famille des Cistacées, fréquemment très odorants, sont prisées dans le domaine du parfum et pour leur utilisation décorative. En raison de la solidité de leurs graines, ces derniers ont la capacité de se rétablir rapidement dans les régions forestières ravagées lors de la saison suivante après un feu de forêt (**Herranz et al., 1999**).

Tableau 5: Taxonomie des *Cistaceae* (NCBI, 2014)

Genre	Espèce
<i>Cistus</i>	<i>C. albidus</i> L, <i>C. creticus</i> L, <i>C. ladanifer</i> , <i>C. laurifolius</i> , <i>C. salvifolius</i> , <i>C. clusi</i>
<i>Crocanthemum</i>	<i>C. argenteum</i> , <i>C. pringlei</i>
<i>Fumana</i>	<i>F. Ericoides</i> , <i>F. Fontanesili</i> , <i>F. thymifolia</i>
<i>Halimium</i>	<i>H. atlanticum</i> , <i>H. atriplicifolium</i> , <i>H. calycinum</i> , <i>H. chihuahuense</i>
<i>Helianthemum</i>	<i>H. aegyptiacum</i> , <i>H. almeriense</i> , <i>H. apenninum</i> , <i>H. canum</i> , <i>H. grandiflorum</i> , <i>H. kahiricum</i> , <i>H. ledifolium</i> , <i>H. marifolium</i>
<i>Hudsonia</i>	<i>H. tomentosa</i>
<i>Lechea</i>	<i>L. tripetala</i>
<i>Tuberaria</i>	<i>T. globulariifolia</i> , <i>T. guttata</i>

II.2. *Cistus clusii*

La plante *Cistus clusii* est un arbuste vivace ramifié (0.5 à 1.0 m de hauteur), qui se trouve dans l'ensemble de la région méditerranéenne occidentale sur des sols alcalins tels que le gypse, les marnes et les calcaires. Elle présente une grande résistance aux conditions arides (**Foronda et al., 2018**).

II.2.1. Description botanique

Cistus chusii est un arbrisseau multi-tige pouvant monter jusqu'à 1 m de hauteur, doté de fleurs blanches et de feuilles étroites (Pugnaire et Lozano., 1997). Il s'agit d'un arbuste à feuilles dures et ramifiées, doté de feuilles hypostomatiques linéaires, vertes sur le dessus, blanches et recouvertes de poils en dessous, qui sont d'un vert sombre au-dessus, de blanc duveteux en dessous, et sont capables de se plier vers le bas, diminuant ainsi l'interception des rayons solaires (Hernandez et al., 2004). Les feuilles mesurent entre 10 et 25 mm de longueur et entre 1 et 2 mm de largeur (Munne-Bosch et al., 2003). Le fruit est une capsule ligneuse, mesurant entre 4 et 8 mm, qui se fissure une fois mûre, générant de 40 à 60 petites graines d'environ 1 mm d'épaisseur (Fig. 3) (Castro et Romero-García, 1999).



Figure 3: *Cistus chusii* (FloreAlpes, 2019)

II.2.2. Systématique

Selon la plateforme **Flora Europaea (2024)**, qui est dédiée à l'identification et à la découverte des plantes des Alpes et d'autres régions de France, proposant des fiches riches en images et en informations (taxonomie des plantes), *Cistus chusi* appartient au:

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

II.2.3. Répartition géographique des Cistacées

Les membres de la famille *Cistaceae* sont largement répandus dans diverses régions Méditerranéennes, y compris en Europe du Sud, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Asie centrale, et aussi dans d'autres régions de l'Amérique du Nord et du Sud, ainsi que dans certaines zones de l'Asie de l'Est (**Fig.4**) (**Arrington et Kubitzki, 2003**). Cette famille prospère dans des conditions chaudes et sèches, et elle est fréquemment observée dans des environnements ouverts comme les maquis, les garrigues, les landes et les régions côtières (**Quézel et Santa, 1962**).

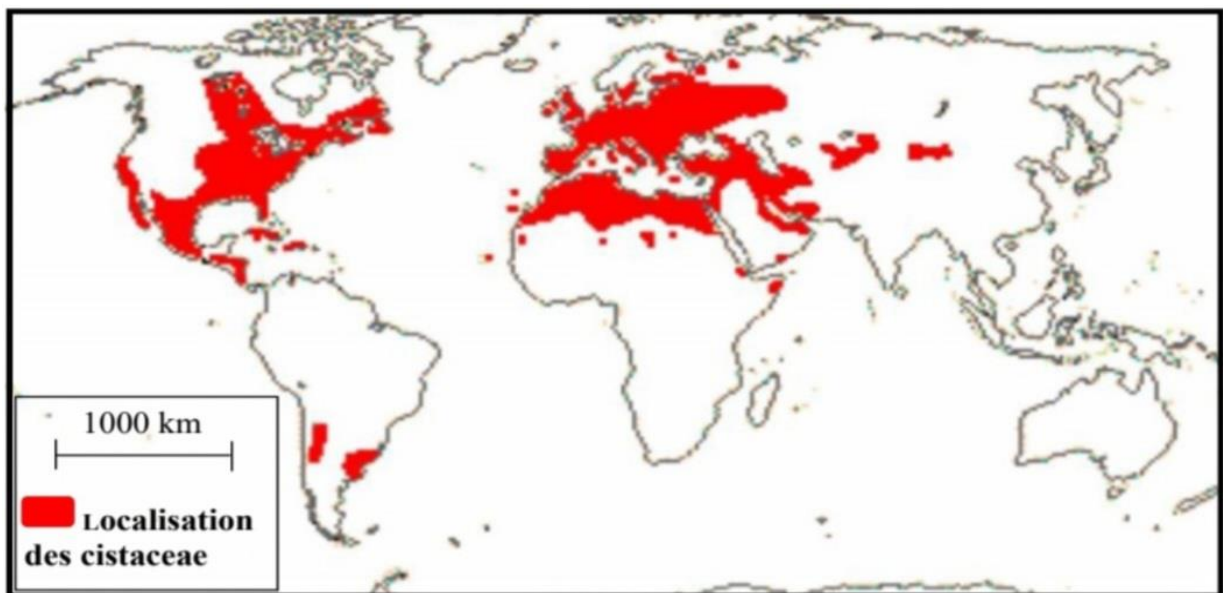


Figure 4: Répartition géographique des Cistacées (**Laraoui, 2016**)

II.2.4. Domaines d'application

Diverses préparations à base des espèces de ciste, ont fréquemment employées comme remèdes en médecine traditionnelle du bassin Méditerranéen pour leurs divers effets: analgésique, antimicrobien, anti-tumoral, antiviral, anti-inflammatoire, antifongique, gastroprotecteur et antioxydant (Baslar et al., 2002).

❖ Industrie pharmaceutique et médecine alternative

Les espèces de *Cistus*, telles que *C. clusii*, *C. ladaniferus*, *C. monspeliensis*, *C. albidus*, et *C. salviifolius*, sont importantes comme sources de composés pharmacologiques, grâce à leur utilisation traditionnelle dans la médecine populaire et Méditerranéenne (Zalegh et al., 2021). Des extraits de *C. ladanifer* ont démontré avoir un effet antispasmodique utilisé pour traiter des douleurs intestinales, et également des propriétés antihypertensives, analgésiques et anti-inflammatoires et anticancéreuses (Zalegh et al., 2021). Les espèces de *Cistus* sont employées en phytothérapie en raison de leur forte teneur en composés phytochimiques, connues pour leurs effets protecteurs sur les vaisseaux sanguins et leur pouvoir antioxydant (Rhattas, 2016).

❖ Industrie des parfums

Selon Enrique-Barraón et al. (2010), plusieurs d'espèces de la famille *Cistaceae*, connues pour leurs arômes marqués, sont recherchées dans le secteur de la parfumerie. Le *Cistus ladanifer* génère une résine gommeuse appelée labdanum, qui a été extraite en Espagne, France et Portugal et une gamme de substances odorantes à partir de la plante, comme l'huile de ciste, le labdanum, la résine et l'huile de labdanum. Les *Cistus* sont particulièrement appréciés pour leur parfum balsamique et leur capacité à conserver les senteurs (Teixeira et al., 2007).

II.2.5. Composition phytochimique

Le *Cistus* est une source des composés bioactifs, principalement des phénylpropanoïdes (flavonoïdes, polyphénols) et des tanins (Guimaraes et al., 2009). Ces substances sont à l'origine des vertus thérapeutiques du Ciste, notamment activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti-allergiques. Elles contribuent également à renforcer la résistance corporelle et possèdent un effet analgésique

qui permet leur usage en tant que traitements dans une vaste gamme de pathologies (Papaefthimiou et al., 2014).

Cistus clusii est reconnu pour sa teneur élevée en composés phénoliques totaux responsable de leurs caractéristiques biologiques (Bruneton, 1987).

Les flavonoïdes constituent un autre groupe majeur de métabolites secondaires présents dans *Cistus clusii*. Ces composés confèrent à la plante ses propriétés pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires et antioxydantes *Cistus clusii* renfermait divers flavonoïdes, comme le dimère de flavanol (-)-(épi) gallocatechine–(épi)gallocatechine et la routine flavonol (Barrajón et al, 2011).

En plus des polyphénols totaux et des flavonoïdes, *Cistus clusii* est également reconnu pour sa teneur appréciable en tanins condensés. Ces composés confèrent à la plante ses activités antimicrobiennes (Bruneton, 1987). Le genre *Cistus* comprenait des tanins comme des proanthocyanidines, des phlorotannins (en particulier ceux contenant du trihydroxybenzène), des gallotannins. L'espèce *Cistus incanus* est spécifiquement mentionnée en Allemagne pour la présence de ces tanins, selon l'étude de Peer (2014).

II.3. Effets biologiques

II.3.1. Activité antioxydante

Les extraits des espèces de *Cistus* sont riches en composés ayant un puissant effet antioxydant. Ils pourraient donc être appliqués dans la lutte contre diverses pathologies liées au stress oxydatif et seraient également bénéfiques dans la prévention et le traitement de la maladie d'Alzheimer (Stępień et al., 2018).

El Euch et al. (2015) ont trouvé que les extraits de *Cistus salvifolius* présentent un effet antioxydant élevé qui est probablement lié à leurs richesses en composés phénoliques et flavonoïdes. Cependant, ces extraits montrent une forte inhibition contre la XOD, la SOD, l'acétylcholinestérase ainsi qu'une activité anti-inflammatoire considérable.

II.3.2. Activité antimicrobienne

Des études pharmacologiques de Bouamama et al. (2006) ont démontré que les extraits de feuilles de *Cistus* possèdent des propriétés antimicrobiennes, contre un grand nombre de bactéries et de champignons d'origine d'infections humaines.

a) Activité antibactérienne

Selon **Di Pasqua et al. (2007)**, les extraits de *Cistus incanus* présentent une activité antibactérienne notable contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, inhibant considérablement leur développement. Leurs extraits ont démontré des effets significatifs dès 0.5 à 1 mg/ml.

Par ailleurs, l'usage du thé de ciste en tant que bain de bouche antibactérien naturel a aidé à prévenir les maladies liées au biofilm buccal en réduisant la densité bactérienne et en atténuant l'adhésion initiale des bactéries (**Mastino et al., 2018**).

b) Activité antifongique

L'étude de **Santoro et al. (2007)**, a mis en évidence l'antifongique des extraits de *Cistus monspeliensis* contre différentes souches de *Candida*, avec une inhibition notable de la croissance, notamment chez *Candida albicans* et *Candida glabrata*.

c) Activité Antivirale

Les plantes de la famille des *Cistaceae* ont montré un certain potentiel antiviral. Selon **Ryis et al. (2016)**, une diminution de 70 % des plaques virales du virus HHV-1 avec des extraits de *Cistus creticus* à 1 mg/ml, confirmant ainsi l'intérêt antiviral de ces plantes. Selon **Machado et al. (2018)**, les extraits de *Cistus ladanifer* ont diminué de 80 % les plaques virales du virus de l'herpès simplex type 1 (HSV-1) lorsqu'une concentration de 0.8 mg/ml était appliquée.

II.3.3 Activité anti-inflammatoire

L'arbuste méditerranéen *Cistus clusii*, a été utilisé depuis longtemps pour traiter diverses inflammations en Espagne, Turquie et certains pays Méditerranées (**Guvenc et al., 2005**). De nombreuses recherches scientifiques ont démontré ses propriétés anti-inflammatoires, qui sont principalement dues à sa forte concentration en composés phénoliques et flavonoïdes. Des études ont démontré que des extraits de *Cistus spp*, dont le *Cistus clusii*, inhibent les enzymes centrales de la cascade inflammatoire comme la cyclooxygénase (COX) et la 5-lipoxygénase (5-LOX). Cela limite alors la synthèse de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines et les leucotriènes (**Barrajón-Catalán et al., 2011**).

En outre, des études *in vitro* ont révélé que les extraits méthanoliques de *Cistus clusii* diminuent la production de monoxyde d'azote (MOA) et de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β et l'IL-6 dans des macrophages stimulés par le LPS, indiquant un effet immunomodulateur potentiel (Tomás-Menor et al., 2015). D'autre part, l'analyse de la composition phénolique des extraits hydroalcooliques de *Cistus clusii* montre un effet anti-inflammatoire remarquable, notamment par le biais de la suppression des voies de signalisation NF-Kb (Kılıç et al., 2020). Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique de *Cistus clusii* comme source d'agents naturels anti-inflammatoires, ce qui justifie des recherches supplémentaires (Barrajón-Catalán et al., 2011).

Les extraits du genre *Cistus*, sont capables de contrôler la production d'auto-antigène et d'inhiber la dénaturation des protéines dans les maladies inflammatoires (Mishra et al., 2011).

Deuxième partie :

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I.1. Objectif

Le but de cette étude est d'analyser divers extraits provenant des feuilles de la plante *Cistus clusii*, qui appartient à la famille des *Cistaceae*, dont l'optique est de valoriser et d'examiner ses propriétés biologiques à savoir l'activité anti-oxydante et l'activité anti-inflammatoire. Cette recherche met l'accent sur les éléments suivants :

- Exploitation et valorisation de la diversité floristique de la région de Tiaret.
- Extraction des composés phénoliques via macération à froid en utilisant deux solvants (eau distillée / éthanol).
- Analyses phytochimiques des extraits de la plante *Cistus clusii* à savoir les polyphénols totaux, les flavonoides et les tanins.
- Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH.
- Détermination *in vitro* de l'effet anti-inflammatoire, en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation protéique et le test de stabilisation des membranes érythrocytaires.

I.2. Lieu et période de travail

Cette étude a été réalisée au sein de laboratoire de Biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret, durant la période allant du 08 avril au 14 mai 2025.

I.3. Matériel

I.3.1. Matériel végétal

Dans le cadre de notre étude, le matériel végétal utilisé est la plante *Cistus clusii*.

I.3.1.1. Récolte de la plante

Cette plante a été récoltée au mois de Mars 2025, dans la commune de Mecheraa Asfa-wilaya de Tiaret (**Fig.5**) (**Annexe 1**). Son identification botanique a été effectuée par Pr. Ait Hammou Mohammed, botaniste à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret.

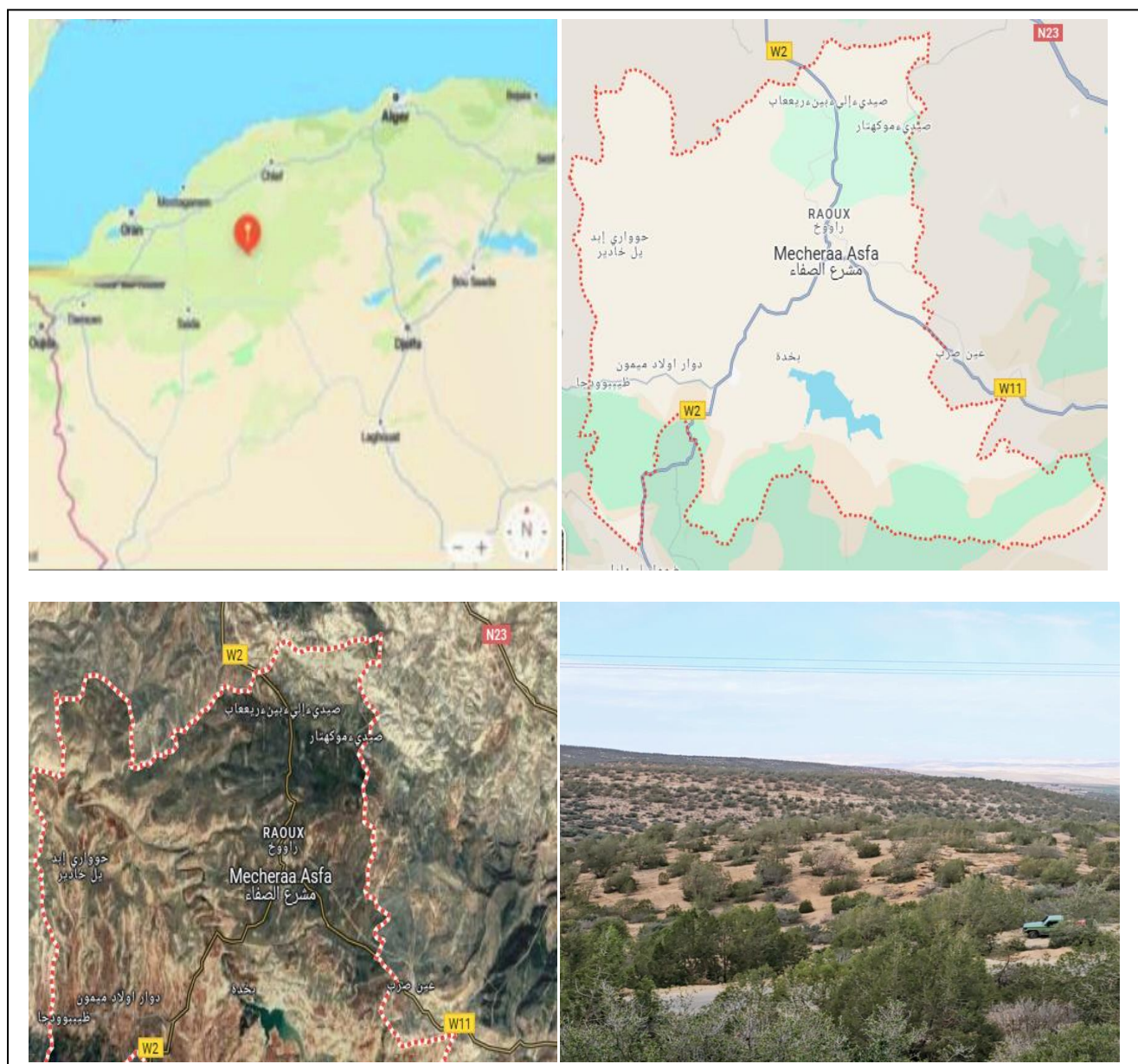


Figure 5: Zone de récolte de la plante *Cistus clusii* (Commune de Mecherara Asfa-Tiaret)
([www. Street Map 2025.com](http://www.StreetMap2025.com))

I.3.1.2. Préparation de l'échantillon

Les phases de traitement de notre échantillon sont les suivantes (**Fig. 6**)

- Séparer les feuilles du reste de la plante.
- Sécher les feuilles à l'air libre à l'abri de la lumière et d'humidité.
- Broyer les feuilles séchées à l'aide d'un broyeur électrique.
- Tamiser le broyat pour obtenir une poudre fine (250 μ m de diamètre).
- Stocker la poudre obtenue dans des bocaux en verre hermétiquement clos à une température ambiante.

**Séparation
des feuilles**



Séchage



**Broyage et
Tamisage**



Stockage



Figure 6: Préparation de la matière végétale

I.3.2. Matériel du laboratoire

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

Tableau 6: Matériels et produits de laboratoire

Produits	Verreries
- Acide ascorbique - Acétate de sodium - Acide gallique - Acide sulfurique - Acide tannique - Alcool isoamylique - BSA - Carbonate de sodium - Chloroforme - Chlorure de Sodium - Chlorure ferique - DPPH - Eau distillée - Ethanol - Folin-Ciocalteu - Méthanol - PBS - Quercétine / Catéchine - Tampon Tris-HCl - Trichlorure d'aluminium - Vanilline	- Bêchers - Boîtes de Pétri - Entonnoir - Epprouvettes graduées - Erlenmeyer - Fioles jaugées - Flacons - Pipettes graduées - Tubes à essai - Verre de montre
Appareillages et autres	Autres
- Agitateur magnétique - Bain Marie - Balance de précision - Centrifugeuse - Etuve - pH mètre - Rotavapeur - Spectrophotomètre UV - Vortex	- Barreaux magnétiques - Bec Bunsen - Micropipette - Papier Whatman N°01 - Portoirs - Sang Humain - Seringue 5ml - Spatule, pissette - Tubes hépariné, Tubes à hémolyse

I.4. Méthodes

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

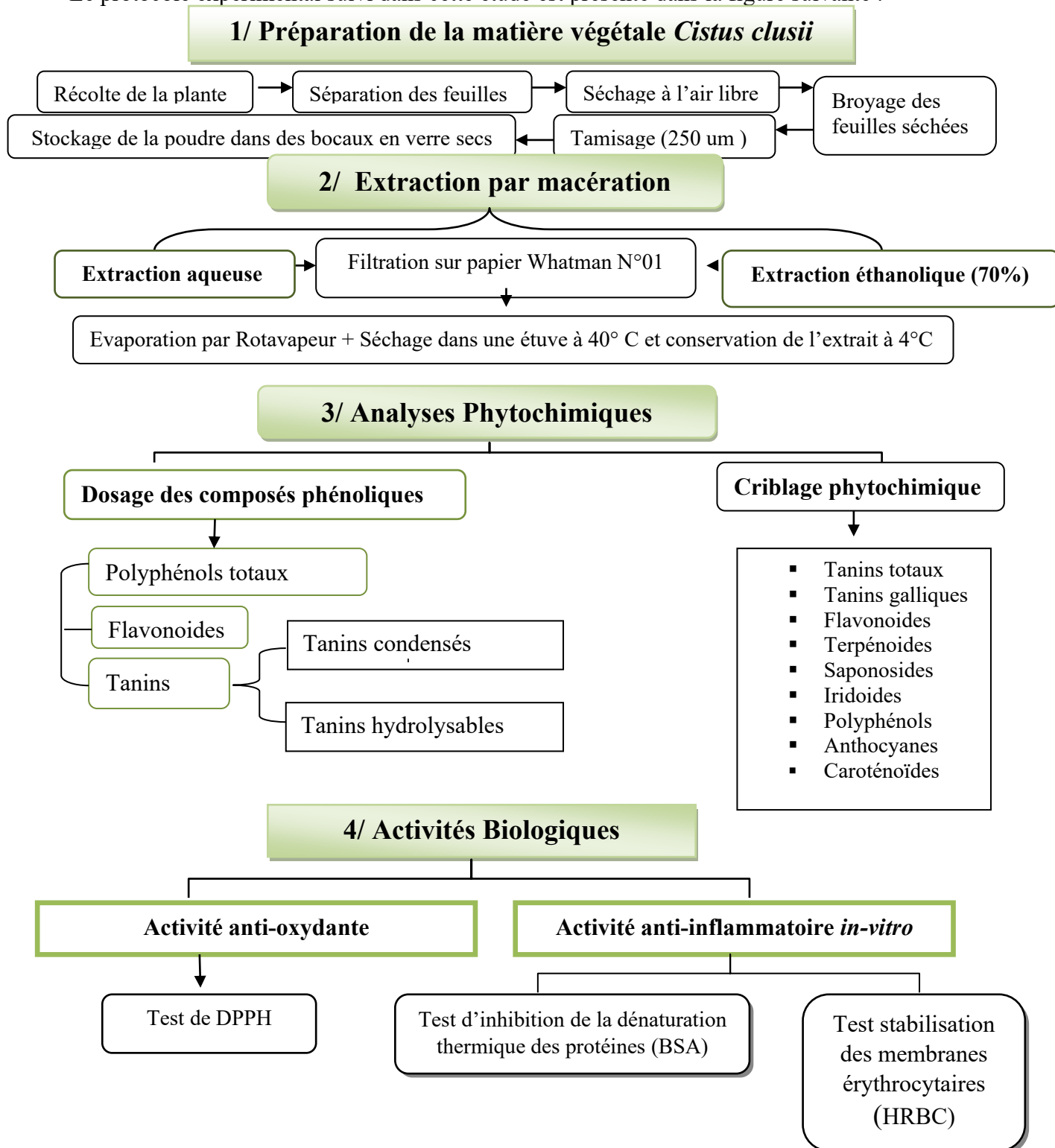


Figure 7: Organigramme général de plan du travail

I.4.1. Extraction des composés phénoliques à partir de *Cistus clusii*

On a eu recours à la technique traditionnelle de macération à froid pour obtenir les extraits des feuilles de *Cistus clusii* citée par **Ramiro et al. (2021)**.

Les extraits (éthanolique et aqueux) de *Cistus clusii*, ont été obtenus en laissant macérer 10g de feuilles broyées dans 100 ml (éthanol (70%) /eau distillée) avec agitation à 400 tr/min pendant 24 h à température ambiante. Le mélange a été filtré sur papier Whatman N°01 et le solvant de la filtration a été éliminé sous vide grâce à un Rotavapeur. Les extraits ont été ensuite séchés dans une étuve à 40°C et conservés à 4°C (**Fig.8**).

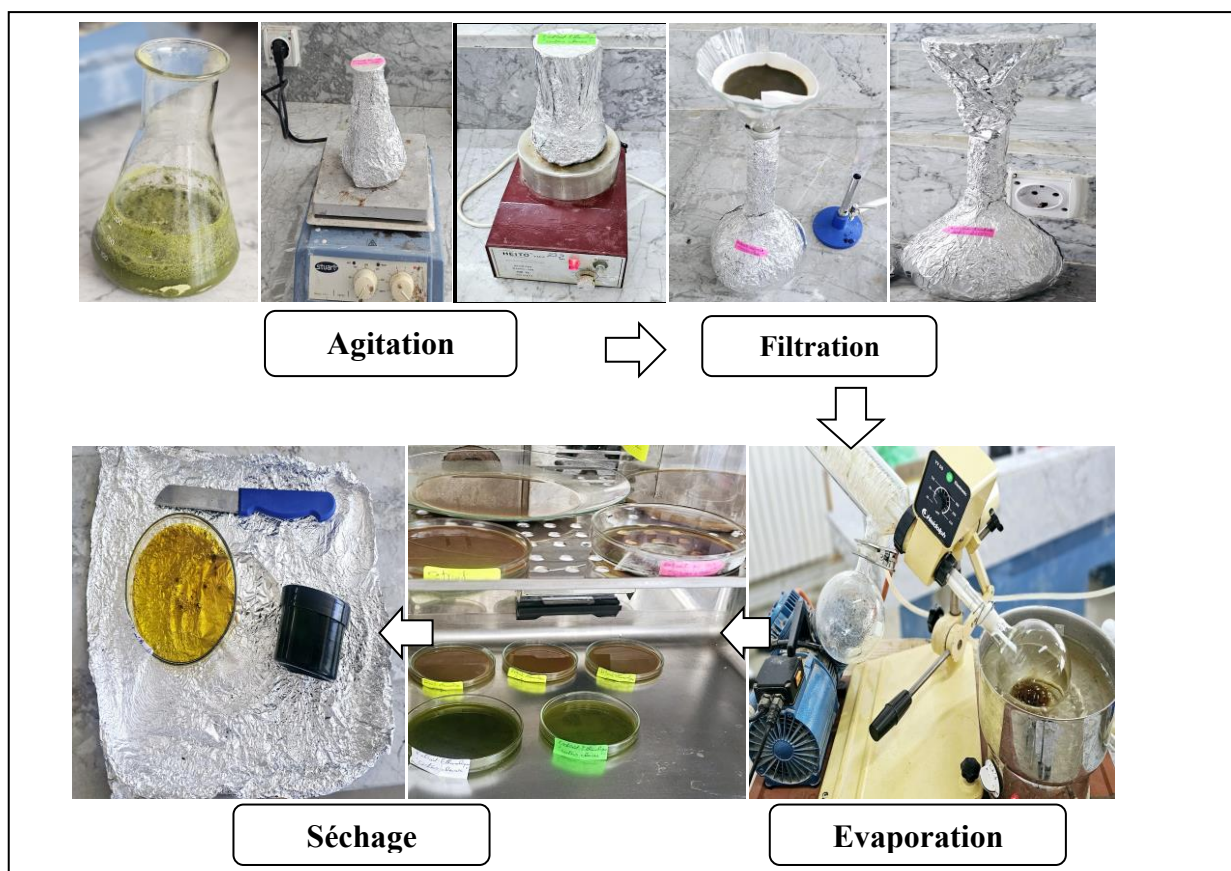


Figure 8: Méthodes d'extraction des composés phénoliques de la plante *Cistus clusii*

❖ Détermination du rendement d'extraction

Il s'agit du rapport entre la masse de l'extrait récupéré après l'évaporation du solvant et la masse de la matière végétale déshydratée (**Boudjema et al., 2014**). On le détermine en utilisant la formule ci-dessous :

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

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

I.4.2. Analyses phytochimiques

I.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux

❖ Principe

La mesure des polyphénols totaux à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu a été donnée par **Singleton et Rossi (1965)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). L'oxydation de ce réactif dans un environnement alcalin par les groupes oxydables des composés phénoliques conduit à la création d'un mélange d'oxyde de tungstène bleu (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la teinture produite, présentant un pic d'absorbance à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols contenue dans l'extrait examiné (**Boizot et Charpentier, 2006**).

❖ Mode opératoire

0.5 ml de chaque extrait (éthanolique et aqueux) a été mélangé avec 2.5 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10), et 1 ml de la solution de carbonate de sodium (20%). Par la suite, le mélange a été incubé à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant une durée de 30 min. L'absorbance de la solution obtenue a été mesurée à 765 nm.

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage, élaborée à partir de diverses concentrations d'acide gallique, qui sert de référence standard. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (mg EAG/g).

I.4.2.2. Flavonoïdes

❖ Principe

L'évaluation de la concentration totale en flavonoïdes des extraits hydro-éthanoliques et aqueux a été réalisée en suivant la méthode de trichlorure d'aluminium, en utilisant la quercétine comme standard de référence. L'approche repose sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium (Zouhri et al., 2024).

❖ Mode opératoire

1.5 ml de solution de chlorure d'aluminium a été mélangé avec 1.5 ml de l'extrait (éthanolique et aqueux). Ce mélange est ensuite incubé pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance de la solution a été mesurée à 510 nm.

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

I.4.2.3. 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). Pour les tanins hydrolysables, le principe est basé sur une réaction avec le chlorure ferrique (Mole et Waterman, 1987).

❖ Mode opératoire

a) Tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée selon la méthode de Makkar (1997). 1 ml d'extrait (éthanolique et aqueux) de *Cistus clusii* a été mélangé avec 2 ml de la solution de vanilline (1%), suivi d'une incubation de 20 min à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 500 nm. La catéchol a été utilisé comme étalon et les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de catéchol par gramme d'extrait (mg d'EC/g d'extrait).

b) Tanins Hydrolysables

Les tanins hydrolysables ont été quantifiés en utilisant la méthode de **Waterman (1987)**. Un volume de 1 ml d'extrait (éthanolique et aqueux) a été ajouté à 3.5 ml de la solution de chlorure ferrique. Le mélange a été incubé 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 établie en utilisant l'acide tannique comme standart.

I.4.3. Screening phytochimique des extraits

Des tests qualitatifs ont été réalisés pour détecter la présence de certains métabolites secondaires (**Tab.7**), selon la méthode décrite par **Trease et Evans, (1989)**.

Tableau 7: Screening phytochimique des extraits

Test	Réactif	Résultats attendu
Terpénoides	5ml d'extrait+ 2ml chloroforme + 3ml de H ₂ SO ₄	Interface brun rougeâtre
Saponosides	5ml d'extrait +5ml d'eau distillée	Formation de mousse
Polyphénols totaux	2 ml d'extrait + une goutte de FeCl ₃ à 2%	Coloration bleue noire ou verte foncée
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 bleue foncée
Flavonoïdes	1ml extrait +1ml NaOH	Coloration jaune
Iridoïdes	Chauffage de 2 ml d'extrait + quelques gouttes de HCl	Coloration bleue
Caroténoïdes	10 ml d'extrait + 3 ml de H ₂ SO ₄	Coloration verte bleue
Anthocyanes	5 ml d'extrait + quelques gouttes d'HCl	Coloration rouge

I.4.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante par DPPH

❖ Principe

La capacité antioxydante des extraits a été évaluée à l'aide du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) (Bentabet et al., 2014). Le DPPH constitue un radical libre de teinte violette stable, qui présente un maximum d'absorption à 517 nm. le radical DPPH est réduit et se décolore alors, passant au jaune. L'absorbance est mesurée dans le but de calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Bentabet et al., 2014).

❖ Mode opératoire

L'activité anti-oxydante 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 a été ajouté à 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations. Les solutions ont été incubées pendant 30 min à température ambiante à l'abri de la lumière, et l'absorbance a été mesurée à 570 nm. Un antioxydant standard (l'acide ascorbique) est utilisé pour le contrôle positif, son absorbance étant mesurée dans les mêmes conditions que l'extrait à examiner (Annexe 2). La formule suivante exprime le pourcentage de réduction du radical libre DPPH: Pourcentage d'inhibition (%) = [(Absorbance du contrôle – Absorbance de l'échantillon) / Absorbance du contrôle] x 100.

Où : Abs du contrôle : Absorbance mesurée pour le contrôle (solution de DPPH dépourvue d'extrait), Abs d'échantillon : Absorbance relevée pour le DPPH en présence de l'extrait.

❖ 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. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in-vitro*

I.4.5.1. Test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

❖ Principe

Cette méthode repose sur la capacité de certains substances à prévenir la dénaturation thermique des protéines ; un mécanisme impliqué dans la réponse inflammatoire. En effet, la dénaturation des protéines est fréquemment observée dans les états inflammatoires, et les protections contre ce phénomène traduisant une activité anti-inflammatoire. Dans ce test, l'albumin sérique bovine (BSA), soumise à une évaluation de température, subit une

dénaturation mesurable par spectrophotomètre. La présence d'un agent protecteur (extrait d'une plante), peut réduire cette dénaturation (Seidler et al., 2002).

❖ Mode opératoire

Le protocole utilisé a été adapté de celui rapporté par Zouhri et al. (2023).

❖ Préparations des solutions

- Préparation du tampon Tris-Hcl (pH 6.8) : 12.14g de Tris Hcl est dissous dans 100 ml de l'eau distillée. Le pH est ajusté à 6.8 avec l'Hcl.
- Préparation de la solution de sérum albumine bovin BSA (0.2%) : 0.2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-Hcl.

1 ml de chaque extrait ou standard (diclofénac sodique) a été ajouté à 1ml de solution de BSA 0.2 %, le mélange est ensuite incubé à 37°C pendant 15 min, puis chauffé au bain Marie à 72°C pendant 5 min pour induire la dénaturation thermique, et refroidi à une température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 660 nm (Annexe 3).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [\text{DoS} - (\text{DoE} - \text{DoB}) / \text{DoS}] \times 100$$

DoE: Densité optique de l'échantillon

DoB : Densité optique du blanc

DoS: Densité optique du standard

I.4.5.2. Méthode de stabilisation des membranes érythrocytaires (HRBC)

❖ Principe

La méthode de stabilisation des membranes érythrocytaires repose sur l'analogie entre la membrane des globules rouges et celle des lysosomes. Lors d'un processus inflammatoire, la rupture des membranes lysosomales entraînent la libération d'enzymes pro-inflammatoires. Un agent stabilisant ces membranes peut ainsi limiter cette libération et réduire l'inflammation. Ce test évalue donc la capacité d'un échantillon à empêcher l'hémolyse des érythrocytes humains soumis à un stress osmotique, mimant une condition inflammatoire (Shinde et al., 1999) .

❖ Mode opératoire

Le protocole utilisé est décrit par **Nair et al. (2024)**.

Un prélèvement de sang a été réalisé chez un volontaire sain, avec son consentement, dans un tube hépariné. Le sang a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min, permettant la séparation des globules rouges. Ces derniers ont été lavés trois fois à l'aide d'un tampon phosphate salin (PBS) pH 7.4, puis dilués pour obtenir une suspension finale à 20%.

Un témoin positif contenant du diclofénac sodique (standard anti-inflammatoire) a été inclus pour comparaison.

Dans chaque tube d'essai, les réactifs ont été ajoutés selon les proportions suivantes :

- 0.5 ml de suspension de globules rouges à 20%.
- 1 ml de PBS, pH 7.4.
- 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations (ou de diclofénac sodique pour le témoin positif).
- 2 ml de solution salin hypotonique.

Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 30 min. ensuite les mélanges ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 20 min. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 560 nm (**Annexe 4**).

L'intensité de l'absorbance est proportionnelle à la quantité d'hémolyse, c'est-à-dire à la rupture des membranes érythrocytaires. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition \%} = (A_C - A_E / A_C) \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance du témoin négatif.

A_E : Absorbance d'extrait testé.

Un pourcentage élevé d'inhibition reflète une bonne capacité à stabiliser la membrane des globules rouges, et donc un effet anti-inflammatoire potentiel *in vitro*.

I.5. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats de différents paramètres étudiés (teneur en composés phénoliques, activité anti-oxydante et anti-inflammatoire) donnés en moyenne $\pm$ écart type a été effectuée à l'aide d'un Excel de Microsoft Office 2021.

Chapitre II

Résultats et Discussion

II.1. Résultats des analyses phytochimiques des extraits de *Cistus clusii*

II.1.1. Rendement

Pour obtenir divers extraits des feuilles de *Cistus clusii*, nous avons effectué des extractions à l'eau distillée et à l'éthanol (70%). Les résultats indiquent que le rendement varie en fonction du solvant utilisé (Fig.9).

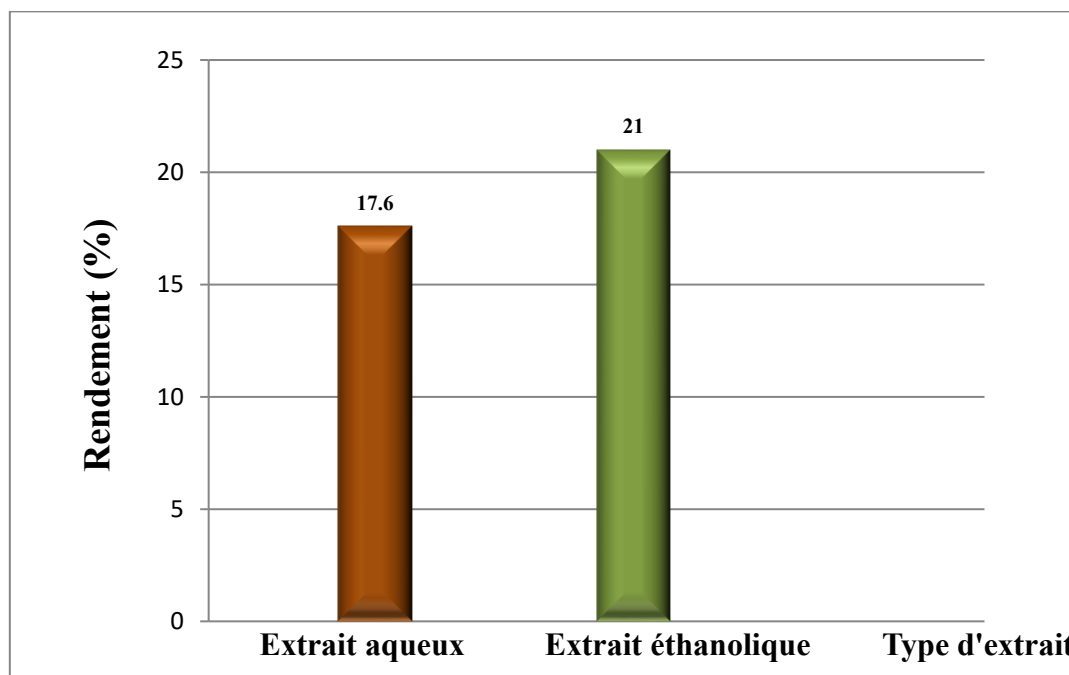


Figure 9 : Rendement des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Cistus clusii*

L'extrait éthanolique (70%) de feuilles a montré un rendement élevé de 21%, suivi de l'extrait aqueux de feuilles à 17.6%.

Nos résultats concordent avec les résultats d'**Alves-Ferreira et al. (2020)** qui ont obtenu un rendement de 24.06 % pour l'extrait éthanolique et un rendement de 14.88 % pour l'extrait aqueux de *Cistus clusii*.

Zouhri et al. (2018) ont observé des rendements compris entre 17.8% et 21.1% en utilisant la même procédure d'extraction pour les extraits aqueux des feuilles du *Cistus albidus*. Ces résultats sont similaires à nos résultats trouvés.

En outre, **Andrade et al. (2009)** ont trouvé un rendement de 8.49 % pour l'extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* qui est faible par rapport à notre résultat (21 %).

Le rendement de l'extraction est influencé par le type du solvant, sa polarité, pH, température, durée de l'extraction et composition de l'échantillon (Do et *al.* 2014).

II.1.2. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus des extraits de *Cistus clusii* montrent des teneurs variables en polyphénols totaux (Fig. 10).

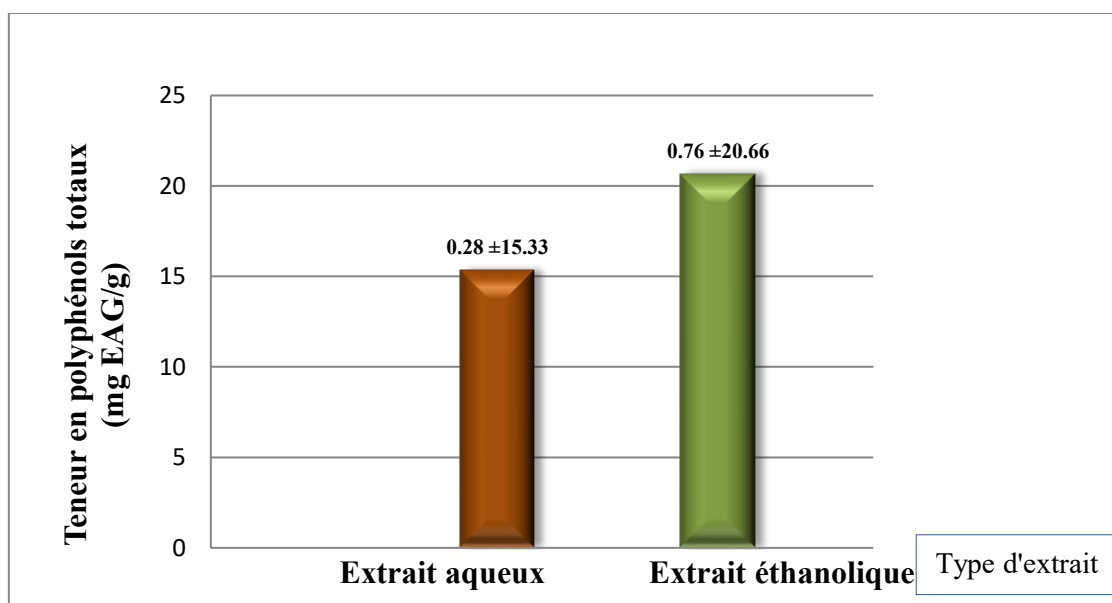


Figure 10 : Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de *Cistu clusii*

L'extrait éthanolique à 70% contient une teneur de 20.66 ± 0.76 mg EAG/g. Notre résultat coïncide avec l'étude de Tawaha et *al.* (2007), qui ont observé que l'extrait éthanolique de *Cistus salviifolius* présente un rendement de 20 mg EGA/g.

L'extrait aqueux de feuilles de *Cistus clusii* présente une teneur de 15.33 ± 0.28 mg EAG/g. Ce résultat est similaire avec ceux rapportés par Rebaya et *al.* (2016) sur *Cistus salviifolius* qui varient de 11.96 ± 0.14 mg EGA/g à 56.03 ± 0.06 mg EGA/g.

D'après Amensour et *al.* (2010) des teneurs en polyphénols totaux inférieures à nos résultats ont été observés pour les extraits éthanoliques et méthanoliques de *Cistus ladanifer* en Maroc avec des valeurs de 11.87 mg GA/g et 14.43 mg EAG/g respectivement.

Des teneurs supérieures en polyphénols totaux pour l'extrait aqueux de *C. ladanifer* et *C. populifolius* en provenance d'Espagne ont été enregistrés (22.93 mg EAG/g et 31.89 mg EAG/g) respectivement (Barrajón-Catalán et *al.*, 2010).

Dans une autre étude comparative réalisée par **El Youssfi et al. (2020)**, les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques de *C. salvifolius* et *C. laurifolius* présentent des teneurs en polyphénols de 98.84 ± 0.99 mg EAG/mg et 64.53 ± 0.33 mg EAG/mg respectivement, d'une autre part l'extrait éthyl-acétate présente une teneur comprise entre 80.00 ± 1.05 mg EAG/mg et 46.63 ± 0.38 mg EAG/mg, ce qui confirme que les teneurs des extraits en polyphénols varient selon le type de solvant.

D'autre part, l'étude d'**Orhan et al. (2013)** réalisée sur *C. laurifolius* en Turquie, a donné des concentrations en polyphénols totaux de 289.9 mg EAG/g d'extrait pour l'extrait aqueux et 323.9 ± 7.1 mg EAG/g pour l'extrait éthanolique, ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Selon **El Euch et al. (2015)**, les valeurs de polyphénols d'extrait méthanolique du *C. salvifolius* de la Tunisie étaient de 286.99 mg EAG/g pour les feuilles et 305.30 mg EAG/g pour le bourgeon.

La diversité qualitative et quantitative des composés phénoliques peut varier d'une plante à l'autre. On sait que l'extraction des composés phénoliques est influencée par plusieurs paramètres, dont leur composition chimique, le matériel de base, la période de conservation et les conditions géographiques. En outre, elle est conditionnée par les techniques quantitatives sélectionnées, les standards mis en œuvre et la présence d'interférences (**Dimcheva et al., 2019**).

La polarité du solvant contribue considérablement à différentes capacités d'extraction de composés phénoliques dans les plantes (**Parida et al., 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 (**Laurent, 2017**).

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**).

II.1.3. Dosage des flavonoïdes

L'extrait éthanolique de feuilles (70%) a montré une teneur en flavonoïdes de 115.13 ± 0.92 mg EQ/g, tandis que l'extrait aqueux présente une teneur de 81.46 ± 0.51 mg EQ/g (**Fig. 11**).

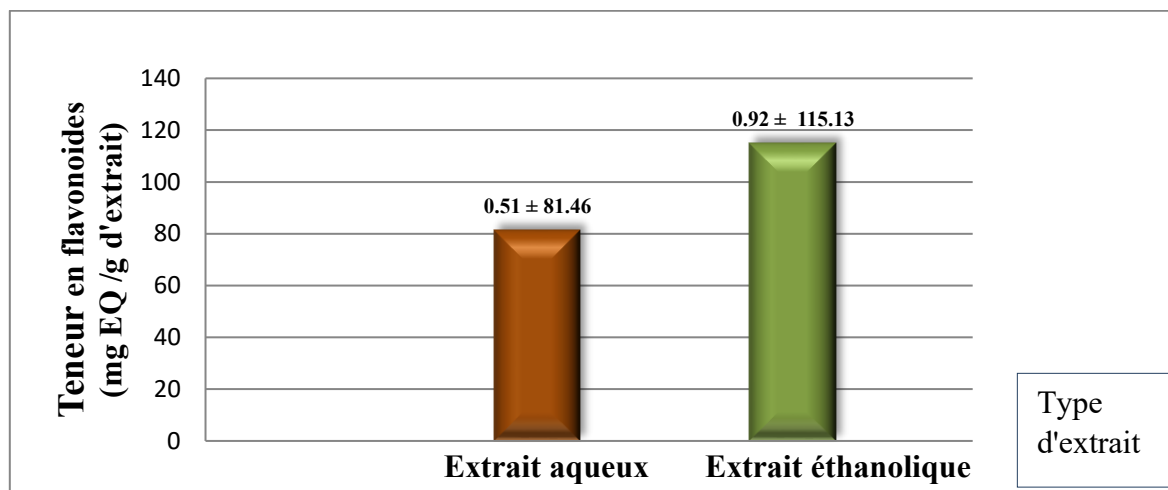


Figure 11: Teneur en flavonoïdes totaux des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

Selon **Liu et al. (2008)**, la variation du contenu total en flavonoïdes des extraits de plante de la famille de *Cistaceae* était également notable, allant de 0.0 à 157.67 mg EQ/g, ce qui est cohérent avec nos résultats.

En ce qui concerne *Cistus ladanifer*, **Abdelfattah et al. (2024)** ont obtenu une concentration inférieure en flavonoïdes pour les extraits aqueux et méthanoliques 23.77 et 47.55 mg EQ/g respectivement.

La variation en flavonoïdes totaux entre les deux solvants peut être attribuée à plusieurs éléments, parmi lesquels les conditions expérimentales et les facteurs naturels, ainsi que la diversité qualitative et quantitative de la matière première (**Chen et al., 2013**).

Les flavonoïdes sont une catégorie de composés que l'on retrouve partout dans les plantes et représentent l'un des groupes les plus importants de produits naturels phénoliques (**Wirdel, 2003**). Ils sont réputés pour leurs puissantes propriétés anti-oxydantes (**Rebaya et al., 2014**).

Les flavonoides possèdent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et jouent un rôle positif dans le traitement des maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives (**Hensal, 2008**).

II.1.4. Dosage des tanins

a) Tanins condensés

Les résultats obtenus indiquent une concentration en tanins condensés de 56.61 ± 0.83 mg EC/g pour l'extrait éthanolique (70%), ainsi que 43.76 ± 0.42 mg EC/g pour l'extrait aqueux (Fig.12).

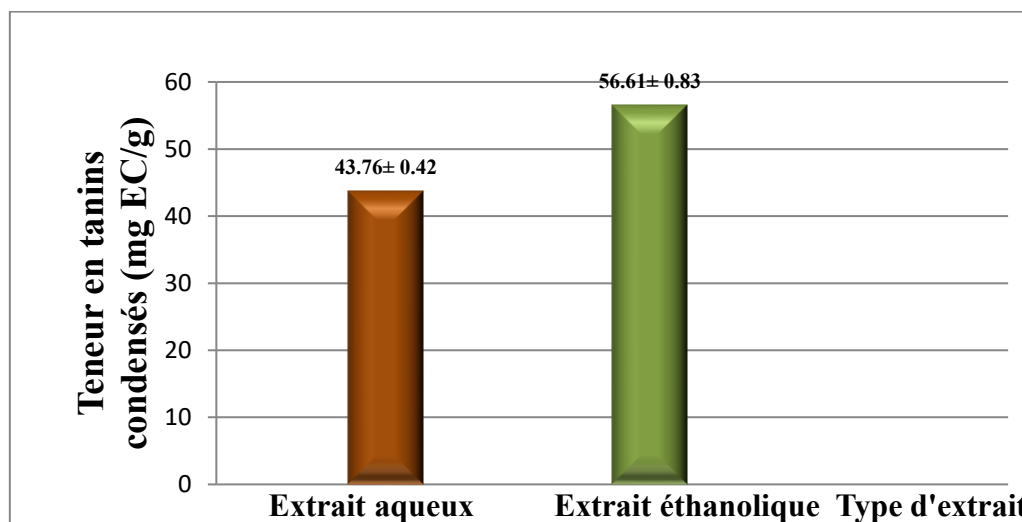


Figure 12 : Teneur en tanins condensés des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

Selon Sayah et al. (2017), les valeurs obtenus en tanins condensés pour l'extrait éthanolique de *C.salviifolius* et *C. monspeliensis* ont été de l'ordre de 168.30 ± 3.03 mg EC/g et 188.99 ± 7.13 mg EC/g respectivement, et concernant les extraits aqueux de ces deux espèces, les teneurs étaient de 154.15 ± 3.31 mg EC/g et 151.42 ± 0.94 mg EC/g respectivement. Ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

D'autre part, Rebaya et al. (2015) ont rapporté des teneurs extrêmement inférieures à nos résultats pour les extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de *Halimium halimifolium* (Cistaceae) avec des valeurs de 2.20 ± 0.20 et 0.91 ± 0.03 mg EC/g respectivement, et aussi pour les extraits éthanoliques et aqueux des fleurs avec des teneurs de 1.99 ± 0.02 et 1.30 ± 0.02 mg EC/g respectivement.

Les variations dans les résultats pourraient être attribuées aux techniques d'extraction, type de solvants, conditions de culture, conditions de conservation ainsi qu'à la technique de préparation des échantillons (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 anti diarrhéique et la capacité d'imperméabiliser les couches externes de la peau, notamment en cas de brûlures ou d'eczéma. Leur activité anti-oxydante 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).

b) Tanins Hydrolysables

Nos résultats indiquent que l'extrait éthanolique à 70% présente une teneur en tanins hydrolysables de 11.20 ± 0.40 mg EAT/g, tandis que l'extrait aqueux comprend une teneur de 10.66 ± 0.60 mg EAT/g (Fig. 13).

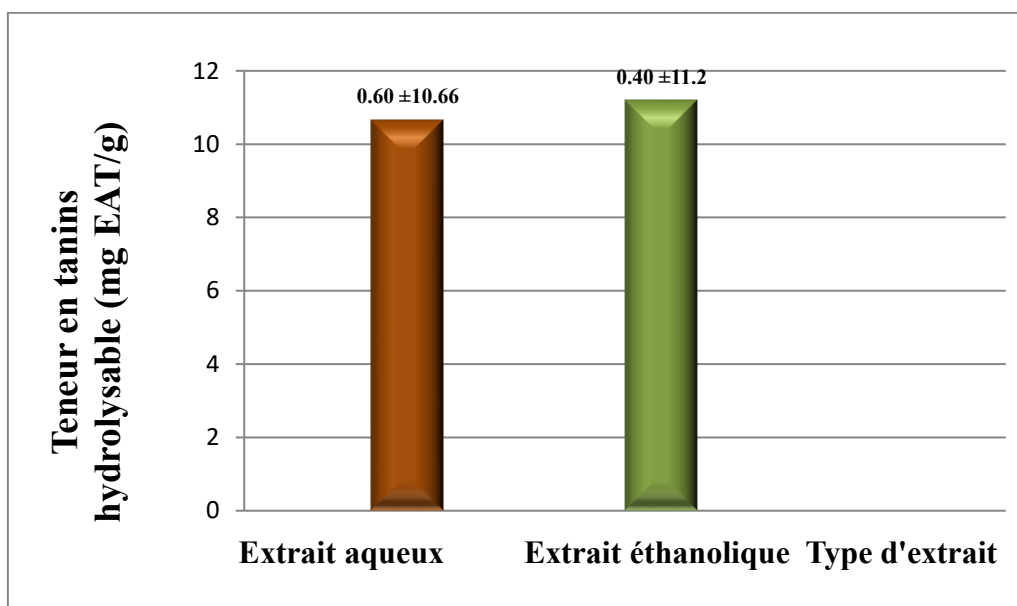


Figure 13: Teneur en tanins hydrolysables des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

Selon Barrajón-Catalán et al. (2010), l'analyse de la teneur en tanins hydrolysables dans les extraits aqueux de *C. ladanifer* et *C. populifolius* a donné des teneurs de 6.81 ± 0.61 et 8.18 ± 0.98 mg EAT /g respectivement. Ces résultats sont inférieurs en comparaison avec nos résultats obtenus.

L'extrait éthanolique de *C. salvifolius* a présenté une teneur relativement élevée de 107.45 ± 1.06 mg EAT/g. Ce qui demeure supérieure à celle obtenue dans notre étude (Haida et al., 2021).

La concentration de tanins dans les plantes n'est pas uniquement propre à l'espèce, elle est aussi influencée par la fertilité du sol et le pH, l'intensité de la lumière, l'âge de la plante ou encore le stress thermique. Ces éléments conduisent à d'importantes variations des concentrations de tanins entre différentes espèces végétales, rendant leur comparaison complexe (Barrajón-Catalán et al., 2010).

Les tanins (surtout galliques) sont tenus comme bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux. Par voie interne, les tanins exercent une activité anti diarrhéique. Ses propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques sont clairement démontrées dans le traitement des diarrhées infectieuses et de dermatites. Les tanins possèdent une forte activité antioxydante, ce sont des très bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical super oxyde (Bediaga, 2011).

II.2. Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits éthanoliques (70%) et aqueux de feuilles de *Cistus clusii* sont présentés dans le tableau suivant et l'annexe 5 :

Tableau 8 : Résultats de screening phytochimique des extraits

Métabolites	Extrait éthanolique	Extrait aqueux
Terpénoides	++	++
Saponosides	++	++
Polyphénols totaux	+++	++
Tanins totaux	+++	++
Tanins galliques	+++	+++
Flavonoïdes	+++	+++
Iridoides	-	-
Caroténoïde	-	-
Anthocyanes	+	+

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

L'objectif des analyses phytochimiques réalisées sur les extraits de *Cistus clusii* était de détecter la présence de composés chimiques. Ces premières analyses reposent sur l'intensité du dépôt et de la turbidité, où la couleur est directement liée à la quantité de la matière visée. L'analyse phytochimique réalisée sur les extraits de *Cistus clusii* a mis en évidence divers composants phytochimiques, tels que les polyphénols, les tanins, les saponines, les terpénoïdes, les tanins galliques, les anthocyanes et les flavonoïdes. Ces substances sont réputées pour leurs multiples caractéristiques biologiques et médicinales (Sayah et al., 2017).

D'autres recherches comparables ont été effectuées sur diverses plantes appartenant à la famille des *Cistaceae*. Des études phytochimiques menées sur les extraits de feuilles du

Cistus salviifolius et *Cistus monspeliensis* ont mis en évidence la présence de composés bioactifs comme les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins (Sayah et al., 2017).

Des recherches supplémentaires d'Eileen et al. (2024), portant sur *Cistus monspeliensis* ont aussi démontré la bio-activité des extraits bruts de cette plante ainsi leurs métabolites en tant qu'ingrédients actifs pour des formulations phyto-thérapeutiques anti-inflammatoires et anti-oxydantes.

Ces métabolites secondaires représentent une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (Thomas, 2009).

II.3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme étant sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, on a utilisé la méthode de DPPH (Molyneux, 2004).

Notre étude a révélé que le taux d'inhibition du radical libre augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard ou pour l'extrait éthanolique de la plante étudiée *C. clusii*. Nous avons observé que le taux d'inhibition de l'extrait éthanolique de *C. clusii* est supérieur au pourcentage d'inhibition de standard utilisé dans l'analyse (Fig.14).

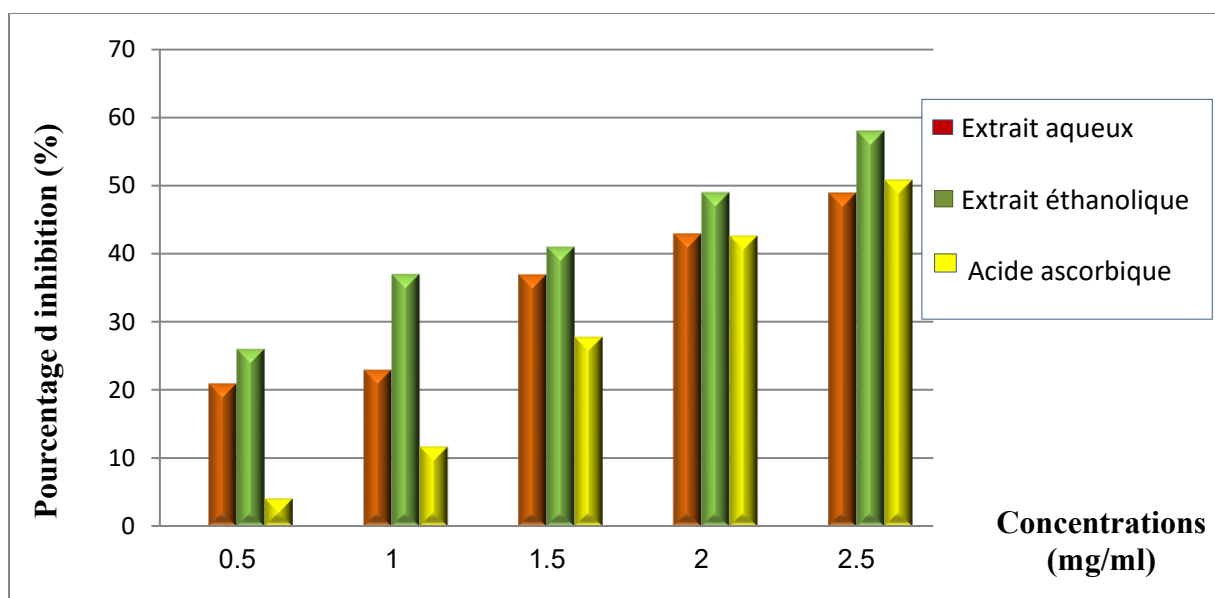


Figure 14 : Résultats de pourcentage d'inhibition (I%) des extraits des feuilles de *Cistus clusii*

Nos résultats de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Cistus clusii* (**Fig.14**) concordent avec l'étude de **Tawaha Et al. (2017)** et **Palaiogiannis et al. (2023)** qui ont observé une activité anti-oxydante remarquable de l'extrait éthanolique des feuilles de *C.monspeliensis* avec des pourcentages d'inhibition de 20%, 34%, 45% et 60% en différentes concentration de 0.5 ; 1 ; 1.5 ; 2 ; 2.5 mg/ml respectivement.

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**).

Bien que plusieurs méthodes de dosage d'activité antioxydante soient disponibles (FRAP, ORAC, TBARS), chacune présente ses avantages et ses limites, et le choix de la méthode dépend souvent de la nature de l'extrait et du mécanisme d'action ciblé (**Apak et al., 2016**).

Rebaya et al. (2016) ont utilisé la méthode de FRAP afin d'évaluer le pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de *Cistus salviifolius* dont ils ont trouvé un taux d'inhibition de 77.68% et 54.50 % respectivement.

Selon **Barrajón et al. (2010)**, le test TBARS utilisé pour évaluer le degré d'oxydation d'extraits aqueux de *Cistus ladanifer* et de *Cistus populifolius*, a donné des taux d'inhibition de 72.13% et 84.61% respectivement.

D'autre part, **El-Shibani et al. (2023)** ont adopté la technique ORAC pour évaluer la capacité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de *Cistus parviflors*, les résultats obtenus ont révélé un taux d'inhibition de 13.32%.

Bien qu'il y ait des variations, les résultats indiquent clairement que les extraits de feuilles de *Cistus clusii* montrent une activité anti-oxydante. Les différentes techniques employées pour évaluer la capacité antioxydante des échantillons d'herbes, de fruits et de légumes peuvent fournir des résultats variés en fonction de substrat, du type de solvant employé, des conditions d'oxydation, des phénomènes interfaciaux et de radical libre spécifique utilisé en tant que réactif ainsi que d'autres composés (**Rebaya et al., 2016**).

❖ Détermination de l'IC₅₀

Les concentrations inhibitrices à 50% sont estimées à partir d'une courbe de corrélation (**Popovici et al., 2009**). La courbe présente les concentrations inhibitrices à 50% de standard et des extraits de la plante *Cistus clusii* (**Fig.15**).

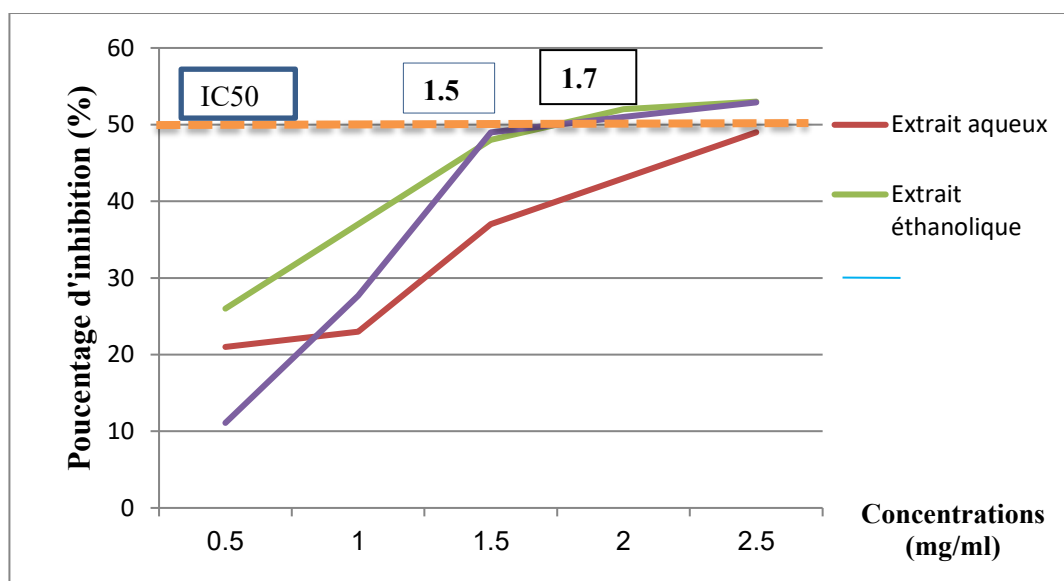


Figure 15 : Détermination graphique des IC₅₀

Les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus chusii* révèlent une activité antioxydante prometteuse, avec une concentration inhibitrice de 1.7 mg/ml indiquant une forte capacité à neutraliser les radicaux libres.

Ces résultats sont corroborés par les résultats de **Palaiogiannis et al. (2023)**, qui ont également rapporté une forte activité antioxydante des extraits éthanoliques 70% de feuilles *C. salviifolius* et *Cistus creticus* avec des valeurs d'IC₅₀ de 0.9 mg/ml à 1.7 mg/ml.

La valeur d'IC₅₀ est inversement liée à l'activité antioxydante d'un composé, car elle indique le volume d'antioxydant nécessaire pour neutraliser la moitié de la concentration initiale du radical libre dans l'environnement. Plus un composé a une faible valeur d'IC₅₀, plus son activité antiradicalaire est appréciée (**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**).

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 (**Halmi, 2015**).

Les composés phénoliques (polyphénols, flavonoides, tanins) possèdent de nombreux effets biologiques et sont perçus comme un groupe prépondérant de substances chimiques qui participent au potentiel antioxydant des extraits des plantes (Sayah *et al.*, 2017).

II.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in-vitro*

II.4.1. Test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

Le pourcentage de protection contre la dénaturation thermique de l'ovalbumine varie en fonction des concentrations d'extraits. Ces résultats sont mis en parallèle avec ceux obtenus pour diclofénac sodique, considéré dans ce test comme une molécule de référence (Fig. 16).

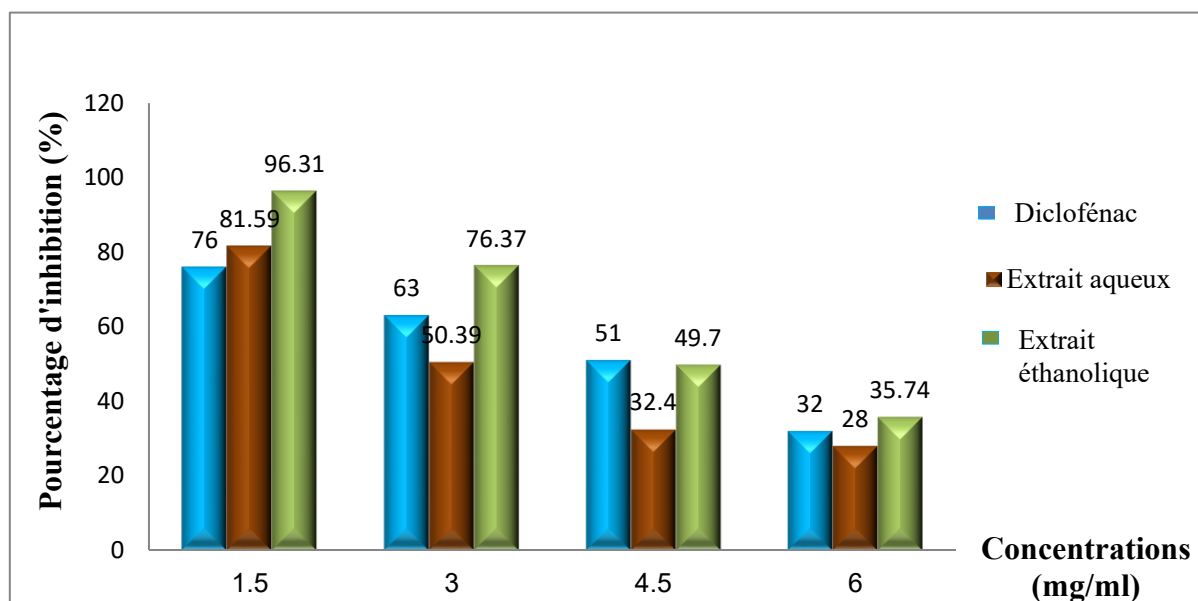


Figure 16: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des deux extraits de *Cistus clusii*

Nos résultats montrent que le diclofénac a manifesté un taux d'inhibition de 76% à des concentrations oscillant autour de 1.5 mg/ml. En revanche, les valeurs d'inhibition de l'extrait aqueux de *Cistus clusii* à ces mêmes concentrations demeurent assez proches de 81.59%. Tandis que l'extrait éthanolique de *Cistus clusii* affiche un taux d'inhibition supérieur avec un pourcentage de 96.31%. Il est donc constaté que ce dernier offre une protection relativement plus élevée ce qui cohérent avec les résultats de Zouhri *et al.* (2023) (77% et 82%) pour le diclofénac et l'extrait aqueux de *C. laurifolius* respectivement.

L'aptitude d'une substance à empêcher la dénaturation des protéines révèle une activité anti-inflammatoire potentiellement évidente (Osman *et al.*, 2016).

En mettant en parallèle notre étude avec celle de **Dharsana Et Mathew (2014)** qui ont examiné l'extrait de *Morinda umbellata* et ont constaté un taux d'inhibition de ($44.8 \pm 0.16\%$), notre extrait de *Cistus clusii* présente une protection relativement supérieure.

Les extraits végétaux sont capables de contrôler la production d'auto-antigène et d'inhiber la dénaturation des protéines dans les maladies inflammatoires, le mécanisme de la dénaturation comporte probablement le changement dans la liaison électrostatique, d'hydrogène, hydrophobe et bisulfure. En tant que tels, les principaux médicaments utilisés pour la prise en charge des conditions inflammatoires en milieu clinique (anti-inflammatoires non stéroïdiens) auraient la capacité d'inhiber la dénaturation des protéines (**Mishra et al., 2011**).

II.4.2. Test de stabilisation des membranes érythrocytaires (HRBC)

Les pourcentages d'inhibition d'hémolyse obtenus de l'extrait éthanolique (70%) et aqueux des feuilles de *Cistus clusii* sont présentés dans la figure suivante :

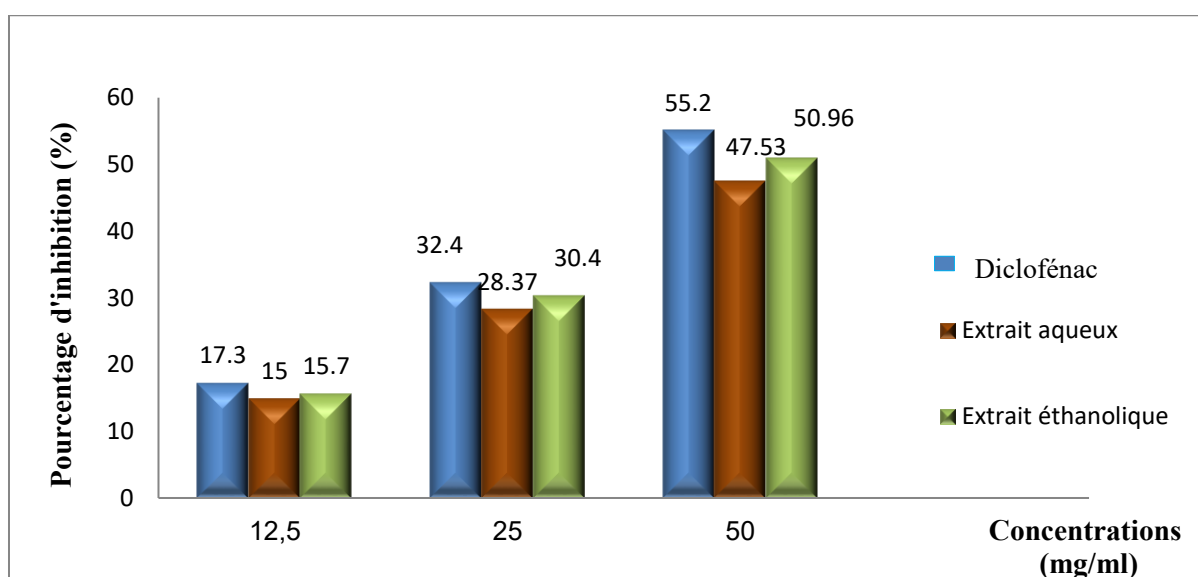


Figure 17: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse de *Cistus clusii*

Selon les résultats obtenus, les pourcentages d'inhibition d'hémolyse de l'extrait aqueux de *Cistus clusii* à des concentrations de 12.5, 25 et 50 mg/ml étaient de 15%, 28.37% et 47.53% respectivement, et de 15.70%, 30.40% et 50.96 % pour l'extrait éthanolique respectivement. En comparaison avec le diclofénac, on constate que l'extrait de *Cistus clusii* démontre des pourcentages d'inhibition d'hémolyse légèrement supérieurs (17.3%, 32.4% et 51.92%) respectivement.

Étant donné la similitude structurelle entre la membrane des globules rouges humains et celle des lysosomes, la méthode de stabilisation des érythrocytes est couramment utilisée pour évaluer la capacité d'un composé à prévenir la lyse membranaire. Lorsqu'une lyse est induite par des conditions de stress (chaleur, hypotonie, agents chimiques), l'hémoglobine est libérée dans le milieu extracellulaire et quantifiée par spectrophotométrie. L'inhibition de ce processus par une substance indique son aptitude à stabiliser les membranes cellulaires, limitant ainsi la libération des enzymes lysosomales pro-inflammatoires, un mécanisme clé dans les réactions inflammatoires aiguës et chroniques **(Shiade et al., 1999)**.

Une étude analysant l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Helianthemum helianthemoides*; espèce appartenant à la famille de *Cistaceae* par le test de stabilisation des membranes des globules rouges humains, a démontré que le taux d'inhibition d'hémolyse est de 100 %. Ces résultats sont largement supérieurs à nos résultats **(Wafa et Sofiane, 2020)**.

L'efficacité des extraits pour stabiliser la membrane des érythrocytes suggère qu'ils sont également efficaces pour stabiliser la membrane lysosomale. Par conséquent, L'effet anti-hémolytique des extraits de plantes peut être considéré comme une preuve de l'efficacité anti-inflammatoire de l'extrait **(kummar et al., 2015)**.

La présence de composés phénoliques dans l'extrait de feuilles, démontrant des effets anti-hémolytiques et anti-dénaturants des protéines prononcés, fait supposer une grande amplitude de ces propriétés pourraient être explorées davantage dans le cadre d'essais pharmacologiques visant au développement de nouveaux médicaments anti-inflammatoires **(Maguirgue et al., 2022)**.

Les extraits de plantes contiennent des composés phénoliques qui peuvent exercer des effets anti-inflammatoires notables. Des composés comme les flavonoïdes et les acides phénoliques contribuent à diminuer la production de molécules inflammatoires et à neutraliser les radicaux libres, ce qui pourrait contribuer à atténuer l'inflammation **(Gonfa et al., 2023)**.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales renferment une valeur inestimable en termes de métabolites secondaires, des composés bioactifs aux propriétés thérapeutiques. *Cistus clusii* en fait partie. Cette recherche a pour objectif de mettre en valeur la flore Algérienne en soulignant les extraits des feuilles de *Cistus clusii* dans la région de Tiaret.

L'extrait éthanolique à 70% a montré le rendement le plus élevé, atteignant 21%, suivi de près par l'extrait aqueux avec 17.6%.

L'analyse phytochimique a mis en évidence des concentrations variées de composés bioactifs. L'extrait éthanolique à 70% se distingue par une teneur plus élevée en polyphénols totaux, avec une valeur de 20.66 ± 0.76 mg EAG/g.

Les flavonoïdes sont également plus abondants dans cet extrait éthanolique à 70%, affichant une concentration de 115.13 ± 0.92 mg EQ/g.

Les tanins condensés et les tanins hydrolysables sont également d'avantage présents dans les extraits éthanoliques, avec des valeurs particulièrement élevées pour l'extrait à 70%, soit 56.61 ± 0.83 mg EC/g et 11.20 ± 0.40 mg EAT/g respectivement.

Concernant l'activité antioxydante, les extraits éthanoliques à 70% ont démontré une capacité remarquable à neutraliser le radical DPPH, affichant une concentration inhibitrice (IC₅₀) de 1.7 mg/ml, indiquant une forte activité antioxydante.

Nos études *in vitro* sur l'activité anti-inflammatoire ont démontré que les extraits de *Cistus clusii* possèdent une efficacité comparable à celle du diclofénac sodique, un anti-inflammatoire non stéroïdien couramment utilisé. Plus précisément, les essais d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines ont révélé des taux d'inhibition de 96.31% pour l'extrait éthanolique et de 81.59% pour l'extrait aqueux (à une concentration de 1.5 mg/ml). De même, le test de stabilisation des membranes et ont montré des taux d'inhibition d'hémolyse variant entre 13 et 54% pour l'extrait éthanolique et entre 11.86 et 53% pour l'extrait aqueux.

Les résultats obtenus ont mis en évidence le potentiel anti-inflammatoire de *Cistus clusii* qui est attribué à sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins.

Dans le domaine médical, ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses pour le développement de traitements naturels ciblant les maladies inflammatoires chroniques, telles

Conclusion

que l'arthrite, les maladies inflammatoires intestinales ou les affections dermatologiques. À l'avenir, l'intégration de *Cistus clusii* dans des formulations pharmaceutiques pourrait offrir une alternative efficace et mieux tolérée que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), souvent associés à des effets secondaires. Toutefois, des études complémentaires s'avèrent indispensables, notamment pour l'identification précise des molécules actives, l'évaluation de leur mécanisme d'action, leur biodisponibilité, ainsi que des essais toxicologiques et cliniques. Si ces validations sont confirmées, *Cistus clusii* pourrait être valorisée comme source innovante de principes actifs à usage médical, notamment dans le cadre de la phytothérapie ou de la médecine intégrative.

Références bibliographiques

1. **Abdelfattah, B., Mrabet, A., Simou, A., & Khaddor, M. (2024).** Exploring the Bioactive potential of *Cistus ladanifer* leaves from Northern Morocco (Tangier). *Ecological Engineering & Environmental Technology*, 25 (6):316-330.
2. **Alves-Ferreira, J., Miranda, I., Duarte, L. C., Roseiro, L. B., Lourenço, A., Quilhó, T., & Pereira, H. (2020).** *Cistus ladanifer* as a source of chemicals: Structural and chemical characterization. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 10:325-337.
3. **Amensour, M., Sendra, E., Pérez-Alvarez, J. A., Skali-Senhaji, N., Abrini, J., & Fernández-López, J. (2010).** Antioxidant activity and chemical content of methanol and ethanol extracts from leaves of rockrose (*Cistus ladaniferus*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 65:170-178.
4. **Andrade, D., Gil, C., Breitenfeld, L., Domingues, F., & Duarte, A. P. (2009).** Bioactive extracts from *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo*. *Industrial Crops and Products*, 30(1):165-167.
5. **Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016).** Antioxidant activity/capacity measurement.1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET) –based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5): 997–1027.
6. **Babulka, P. (2007).** Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales: de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie*, 5(3): 137–145.
7. **Bailey-Shaw, Y. A., Williams, L. A., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017).** *In-vitro* evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the bovine serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1): 145-153.
8. **Balkwill, F. R., & Burke, F. (1989).** The cytokine network. *Immunology Today*, 10(9): 299-304.
9. **Barrajón-Catalán, E., Fernández-Arroyo, S., Roldán, C., Guillén, E., Saura, D., Segura-Carretero, A., & Micol, V. (2011).** Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of bioactive compound from *Cistus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7): 3649–3656.
10. **Barrajón-Catalán, E., Fernández-Arroyo, S., Saura, D., Guillén, E., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., & Micol, V. (2010).** *Cistaceae* aqueous extracts

- containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9): 2273-2282.
11. **Beaumont, C., & Canonne-Hergaux, F. (2005).** Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique dans les conditions normales et pathologiques; régulation par l'hépcidine. *Transfusion Clinique et Biologique*, 12(2):123-130.
 12. **Bedoya, L. M., Bermejo, P., & Abad, M. J. (2009).** Anti-infectious activity in the *Cistaceae* family in the Iberian Peninsula. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(5):519-525.
 13. **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6):364-371.
 14. **Blain, H., Jouzeau, J. Y., Netter, P., & Jeandel, C. (2000).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *La Revue de Médecine Interne*, 21(11): 978-988.
 15. **Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA* :79-82.
 16. **Bouamama, H., Noel, T., Villard, J., Benharref, A., & Jana, M. (2006).** Antimicrobial activities of the leaf extracts of two Moroccan *Cistus L. species*. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1-2): 104-107.
 17. **Boudjema, K., Kadri, N., & Ouali, K. (2022).** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Cistus clusii* from Algeria. *Algerian Journal of Arid Environment*, 12(2) : 108-120.
 18. **Boudjema, K., Temmimi, K., Azine, K., Fazouane, F., & Nahoui, N. E. H. (2022).** 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*, 8(1): 1-10.
 19. **Castro, J., & Romero-García, A. T. (1999).** Dormancy and germination in *Cistus clusii* (*Cistaceae*): effect of biotic and abiotic factors. *Revue d'Écologie*, 54(1): 19-28.
 20. **Chen, A. Y., & Chen, Y. C. (2013).** A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chemistry*, 138(4): 2099-2107.

21. **Danowski, R. (1991).** Inflammation en rhumatologie. *Annales de Kinésithérapie*, 18: 233-240.
22. **Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D., & Mauriello, G. (2007).** Membrane toxicity of antimicrobial compound from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12): 4863-4870.
23. **Dimcheva, V., Kaloyanov, N., & Karsheva, M. (2019).** The polyphenol composition of *Cistus incanus* L., *Trachystemon orientalis* L. and *Melissa officinalis* L. infusions by HPLC-DAD method. *Open Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 3(1):031-038.
24. **Djahafi A., Taïbi K. & Ait Abderrahim L. (2021).** Aromatic and medicinal plants used in traditional medicine in the region of Tiaret, North West of Algeria. *Mediterranean Botany*, 42 : 2603-9109.
25. **Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3):296-302.
26. **El Euch, S. K., Bouajila, J., & Bouzouita, N. (2015).** Chemical composition, biological and cytotoxic activities of *Cistus salviifolius* flower buds and leaves extracts. *Industrial Crops and Products*, 76:1100–1105.
27. **El Yousfi, K., Greche, H., Misbahi, H., & Cheikh, R. B. (2020).** Phytochemical evaluation and vasodilatory activity of *O. elongatum*, *C. salviifolius* and *C. laurifolius*. *Moroccan Journal of Chemistry*, 8(1):226-234.
28. **El-Shibani, F. A., Sulaiman, G. M., Abouzied, A. S., Al Ali, A., Abdulkarim, A. K., Alamami, A. D., & Mohammed, H. A. (2023).** Polyphenol fingerprint, biological activities, and in silico studies of the medicinal plant *Cistus parviflorus* L. extract. *ACS omega*, 8(50):48269-48279.
29. **Ferrandis, P., Herranz, J. M., & Martínez-Sánchez, J. J. (1999).** Effect of fire on hard-coated *Cistaceae* seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecology*, 144 (1):103-114.
30. **Foronda, A., Ehlers, B. K., Alados, C. L., & Pueyo, Y. (2018).** Species-specific interference exerted by the shrub *Cistus clusioides* in a semi-arid Mediterranean gypsum plant community. *Biology Medical Central Ecology*, 18:1-11.
31. **Fournier, P. E., Leal, S., & Ziltener, J. L. (2008).** Anti-inflammatoires. *Rev Med Suisse*, 4: 1702-1705.

32. **Gonfa, Y. H., Tessema, F. B., Bachheti, A., Rai, N., Tadesse, M. G., Singab, A. N., & Bachheti, R. K. (2023).** Anti-inflammatory activity of phytochemicals from medicinal plants and their nanoparticles: *A review. Current Research in Biotechnology*, 6: 2590-2628
33. **Gonfa, Y. H., Tessema, F. B., Bachheti, A., Rai, N., Tadesse, M. G., Singab, A. N., & Bachheti, R. K. (2023).** Anti-inflammatory activity of phytochemicals from medicinal plants and their nanoparticles: *A review. Current Research in Biotechnology*, 6: 2590-2628.
34. **Guinea, M., Elbl, G., & Wagner, H. (1990).** Screening of *Cistus clusii* extract for cyclooxygenase and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity. *Planta Medica*, 56(06):664–664.
35. **Guzmán, B., & 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. **Haida, S., Bakkouche, K., Kribii, A. R., & Kribii, A. (2021).** Chemical composition of essential oil, phenolic compound content, and antioxidant activity of *Cistus monspeliensis* from northern Morocco. *Biochemistry Research International*, 66 (1): 1-13.
37. **Hernández, I., Alegre, L., & Munné-Bosch, S. (2004).** Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in *Cistus clusii* grown under Mediterranean field conditions. *Tree Physiology*, 24(11):1303-1311.
38. **Hernández, I., Alegre, L., & Munné-Bosch, S. (2011).** Plant aging and excess light enhance flavan-3-ol content in *Cistus clusii*. *Journal of Plant Physiology*, 168(2):96–102.
39. **Isnard Bagnis, C., Deray, G., Baumelou, A., Le Quintrec, M., & Vanherweghem, J. L. (2004).** Herbs and the kidney. *American Journal of Kidney Diseases*, 44(1):1–11.
40. **Iwalewa, E. O., McGaw, L. J., Naidoo, V., & Eloff, J. N. (2007).** Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*, 6(25): 2868–2885.
41. **Karateev, A. E., Karateev, D. E., & Davydov, O. S. (2017).** Pain and inflammation. Part 1. *Pathogenetic Aspects*, 54 (6): 693–703.
42. **Khan, M. O. F., & Lee, H. J. (2008).** Synthesis and pharmacology of anti-inflammatory steroidal antedugs. *Chemical Reviews*, 108 (12) : 5131-5145.

43. Kılıç, T., Akın, M., & Türkmen, Ö. (2020). Phenolic composition and biological activities of some *Cistus L.* species. *South African Journal of Botany*, 132: 20–26.
44. Kotas, M. E., & Medzhitov, R. (2015). Homeostasis, inflammation, and disease susceptibility. *Cell*, 160 (5): 816-827.
45. Kumari, C., Yasmin, N., Hussain, M., & Babu, M.B. (2015). *In vitro* anti-inflammatory and antiarthritic property of *Rhizopora mucronata* leaves, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (2): 482–485.
46. Lengani, A., Lompo, L. F., Guissou, I. P., & Nikiema, J.-B. (2010). Médecine traditionnelle et maladies des reins au Burkina Faso. *Néphrologie & Thérapeutique*, 6(1): 35–39.
47. Mac Sweeney, E., Chiocchio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Bilo, F., Maccarinelli, G., & Abate, G. (2024). Exploring the anti-inflammatory and antioxidant potential, metabolite composition and inorganic profile of *Cistus monspeliensis L.* Aerial parts and roots. *Antioxidants*, 13(7): 753.
48. 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.
49. Maguirgue, K., Wangso, H., Oksom, J. B. S., Bakaranga-Via, I., Nadjioroum, N. A., & Otchom, B. B. (2022). Evaluation phytochimique, potentiels antioxydants et anti-inflammatoires *in vitro* des extraits des feuilles de *Commelina benghalensis linn.* (Commelinaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 16(6): 2673-2684.
50. Mahmoudi, H., Aouadhi, C., Kaddour, R., Gruber, M., Zargouni, H., Zaouali, W., & Hosni, K. (2016). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of two cultivated *Cistus species* from Tunisia. *Bioscience Journal*, 32(1): 226-237.
51. 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
52. Mastino, P. M., Mauro, M., Jean, C., Juliano, C., & Marianna, U. (2018). Analysis and potential antimicrobial activity of phenolic compound in the extracts of *Cistus creticus subspecies* from Sardinia. *The Natural Products Journal*, 8(3): 166-174.
53. Meziti, H. (2018). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malvaparviflora L.* Mémoire de Magister en Biochimie et Physiologie Expérimentale. Université Ferhat Abbas–Setif. 38 P.

54. **Mole, S., & Waterman, P. G. (1987).** A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies: I. Techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, 72: 137-147.
55. **Munné-Bosch, S., Jubany-Marí, T., & Alegre, L. (2003).** Enhanced photo-and antioxidative protection, and hydrogen peroxide accumulation in drought-stressed *Cistus clusii* and *Cistus albidus* plants. *Tree Physiology*, 23(1):1-12.
56. **Muster, D. (2005).** Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 1(1): 21-29.
57. **Nathan, C. (2002).** Points of control in inflammation. *Nature Publishing Group*, 420(6917): 846-852.
58. **Oliveira, V. M. A. D., Carneiro, A. L. B., Cauper, G. S. D. B., & Pohlit, A. M. (2009).** *In vitro* screening of Amazonian plants for hemolytic activity and inhibition of platelet aggregation in human blood. *Acta Amazonica*, 39: 973-980.
59. **Orhan, N., Aslan, M., Şüküroğlu, M., & Orhan, D. D. (2013).** *In vivo* and *in vitro* antidiabetic effect of *Cistus laurifolius* L. and detection of major phenolic compounds by UPLC–TOF-MS analysis. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(3):859-865.
60. **Orliaguet, G., Gall, O., & Benabess-Lambert, F. (2013).** Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, 17(5): 228-237
61. **Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016).** *In vitro* xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4): 343-349
62. **Pan, M.-H., Lai, C.-S., & Ho, C.-T. (2010).** Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food & Function*, 1(1): 15-31.
63. **Papaefthimiou, D., Papanikolaou, A., Falara, V., Givanoudi, S., Kostas, S., & Kanellis, A. K. (2014).** Genus *Cistus*: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. *Frontiers in chemistry*, 2(35): 1-19
64. **Pasquier, C. (1995).** Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des Laboratoires*, 1995(276): 87-92.
65. **Pugnaire, F. I., & Lozano, J. (1997).** Effects of soil disturbance, fire and litter accumulation on the establishment of *Cistus clusii* seedlings. *Plant Ecology*, 131: 207-213.

66. **Rahmani, S., Belboukhari, N., Sekkoum, K., & Cheriti, A. (2016).** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (Plumbaginaceae). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 6(1): 80-86.
67. **Rankin, J. A. (2004).** Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*, 15(1): 3-17.
68. **Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E., & Ayadi, M. T. (2015).** Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(1): 52-57.
69. **Rebaya, A., Belghith, S. I., Cherif, J. K., & Trabelsi-Ayadi, M. (2016).** Total phenolic compound and antioxidant potential of rockrose (*Cistus salviifolius*) leaves and flowers grown in Tunisia. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8: 327-331.
70. **Rhattas, M., Douira, A., & Zidane, L. 2016.** Phytothérapie épidermique utilisée par la population du parc national de Talassemiane. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 24: 20-31.
71. **Rousselet, M., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P. (2005).** Inflammation et pathologie inflammatoire (Chapitre 3). Association Française pour l'Enseignement de la Cancérologie Anatomopathologique. : 50, 52.
72. **Samarth R, M. P. (2008).** Evaluation of antioxidant and radical scavenging activities of certain radioprotective plant extract. *Food Chem*, 1: 868-873.
73. **Sawadogo, W. R., Lompo, M., Guissou, I. P., & Nacoulma, O. G. (2008).** Dosage des triterpènes et stéroïdes de *Dicliptera verticillata* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire topique. *Médecine d'Afrique Noire*, 55(4): 223-229.
74. **Sayah, K., Marmouzi, I., NaceiriMrabti, H., Cherrah, Y., & Faouzi, M. E. A. (2017).** Antioxidant activity and inhibitory potential of *Cistus salviifolius* (L.) and *Cistus monspeliensis* (L.) aerial parts extracts against key enzymes linked to hyperglycemia. *BioMed Research International*, 36(1): 229-254.
75. **Serhan, C.N. Ward, P.A. et Gilroy, D.W, (2010).** Fundamentals of inflammation. Ed. Cambridge University Press, New York, 457P.
76. **Setty, A. R., & Sigal, L. H. (2005).** Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. In *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 34(6): 773-784.

77. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6):945-948.
78. Stępień, A., Aebisher, D., & Bartusik-Aebisher, D. (2018). Biological properties of *Cistus* species. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*, (2): 127-132.
79. Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elmat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4): 1372-1378.
80. Teixeira, S., Mendes, A., Alves, A., & Santos, L. (2007). Simultaneous distillation–extraction of high-value volatile compounds from *Cistus ladanifer* L. *Analytica Chimica Acta*, 584(2): 439-446.
81. Tomás-Menor, L., Barrajon-Catalán, E., Segura-Carretero, A., & Micol, V. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Spanish *Cistus* species extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4): 416–422.
82. Trease, G.E. and Evans, W.C. (1989) Pharmacognosy. 13 éme Ed. Baillière Tindall, London, 571P.
83. Wafa N, Sofiane G,(2020). *In-vitro* Antioxidant and anti-inflammatory activities valorisation of tannin crude extract of *Helianthemum helianthemoides*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10(1):135-139
84. Weill, B., & Batteux, F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Ed. Boeck Supérieur, Paris, 12-23PP.
85. Yougbaré-Ziébrou, M. N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., & Guissou, I. P. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (*Apocynaceae*). *Phytothérapie*, 14(4) : 213-219.
86. Zahir, I., Zahir, A., & Taghiam, I. (2018). Effet antimycobactérien des plantes marocaines: *Revue générale*. *European Scientific Journal*, 14(36): 518-549.
87. Zalegh, I., Akssira, M., Bourhia, M., Mellouki, F., Rhallabi, N., Salamatullah, A. M., ... & Mhand, R. A. (2021). A Review on *Cistus* sp: Phytochemical and Antimicrobial Activities. *Plants*, 10(6):1214-1219.
88. Zidane, H., Elmiz, M., Aouinti, F., Tahani, A., Wathelet, J., Sindic, M., & Elbachiri, A. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil,

- various organic extracts of *Cistus ladanifer* and *Cistus libanotis* growing in Eastern Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 12(34) : 5314-5320.
89. **Zohra, M., & Fawzia, A. (2014).** Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(8): 495-500.
90. **Zouhri, A., Bouddine, T., El Menyiy, N., El-Mernissi, Y., Laaroussi, H., Chebaibi, M., & Hajji, L. (2024).** Chemical composition and potential antioxidant, anti-inflammatory and analgesic efficacy of *Cistus albidus* L. *Acta Pharmaceutica*, 74(1): 81-99.
91. **Zouhri, A., Bouddine, T., Menyiy, N. E., Kachkoul, R., El-Mernissi, Y., Siddique, F., Hajji, L. (2023).** Ionomics analysis, polyphenols characterization, analgesic, anti-inflammatory and antioxidant capacities of *Cistus laurifolius* leave: *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* investigations. *Scientific Reports*, 13(1):22890-22920.

Annexes

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



Annexe 2 : Activité antioxydante



Extrait aqueux



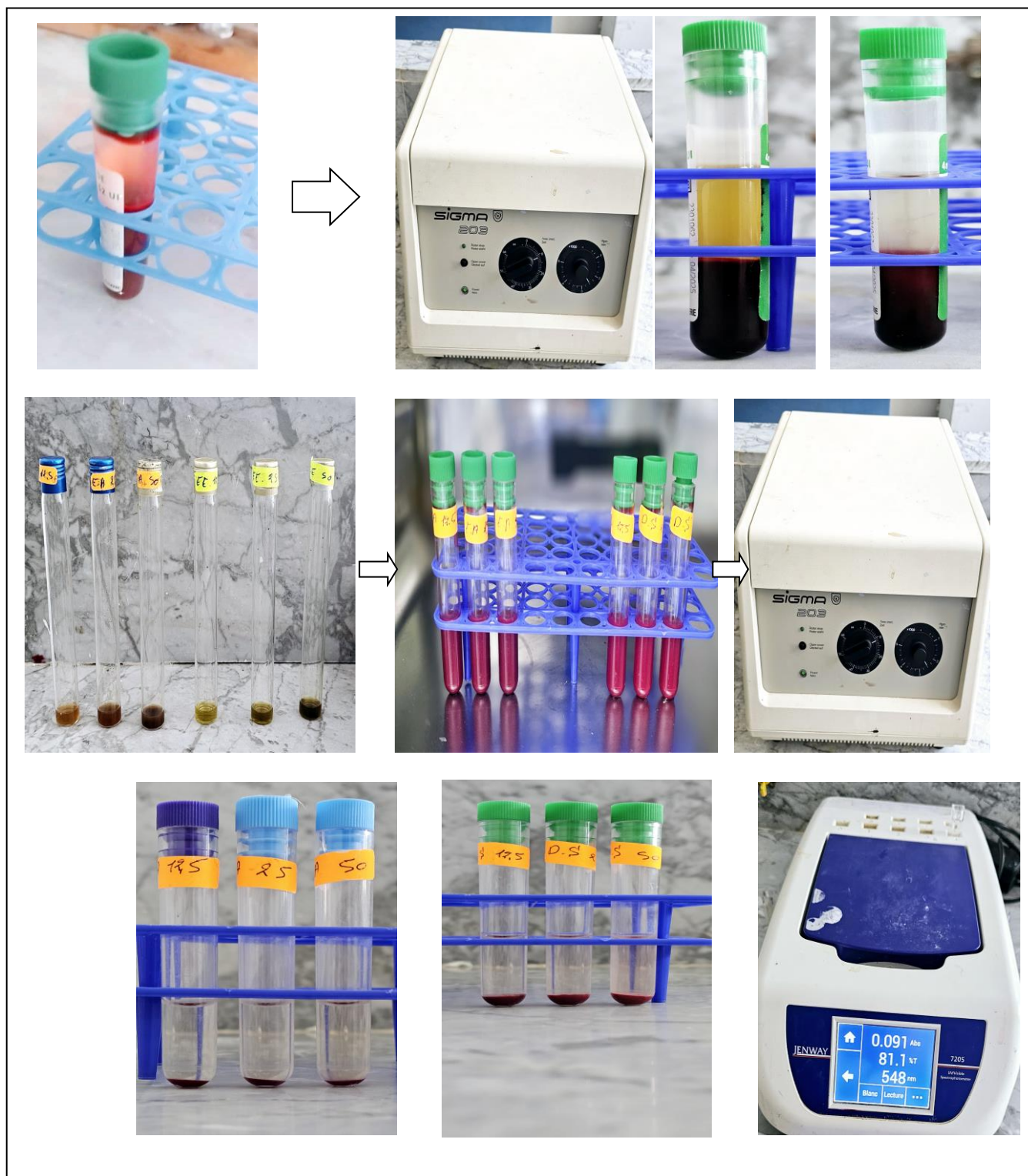
Extrait éthanolique



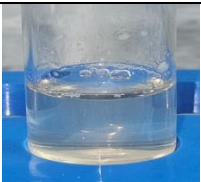
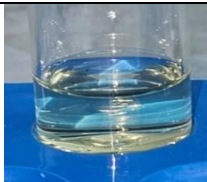
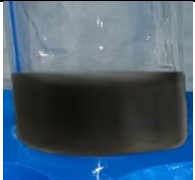
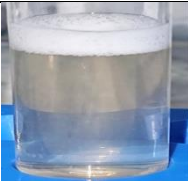
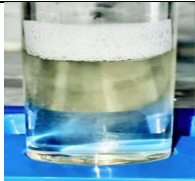
Annexe 3 : Activité anti-inflammatoire (dénaturation des protéines thermiques)



Annexe 4: Activité anti-inflammatoire (test de stabilisation des membranes érythrocytaire)



Annexe 5: Screening phytochimique des extraits

Métabolites	Extrait aqueux		Extrait éthanolique (70%)	
Anthocyanes		+		++
Croténoides		-		-
Flavonoides		++		++
Iridoides		-		-
Polyphénols		++		+++
Saponosides		++		+++
Tanins gallique		+++		+++
Tanins totaux		++		+++
Terpénoides		+		+

Résumé

De nombreuses plantes sont reconnues pour leur emploi en médecine traditionnelle afin de traiter diverses affections, y compris les maladies inflammatoires. *Cistus clusii* est une espèce herbacée thérapeutique de la famille des Cistacées. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et d'analyser les propriétés phytochimiques des extraits éthanoliques et aqueux dérivés des feuilles de cette plante.

Les résultats montrent que les extraits éthanoliques et aqueux contiennent de fortes concentrations de composés phénoliques, incluant les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tanins condensés et hydrolysables.

Le screening phytochimique a révélé la présence de plusieurs composés importants, notamment des anthocyanes, des flavonoïdes, des polyphénols, des terpénoïdes, des tanins galliques, des tanins totaux et des saponosides. En ce qui concerne l'activité antioxydante, mesurée par la méthode DPPH, elle s'est avérée puissante, avec des valeurs d'IC₅₀ de 1.7mg/ml pour les extraits éthanoliques à 70%.

Par ailleurs, concernant l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, plusieurs tests ont été réalisés, notamment le test de la dénaturation thermique des protéines et le test de stabilisation des membranes érythrocytaires. Les extraits aqueux et éthanoliques ont présenté une efficacité comparable à celle du diclofénac sodique pour inhiber la dénaturation thermique des protéines, ainsi qu'une capacité équivalente à celle du diclofénac pour stabiliser les membranes érythrocytaires.

Les résultats de cette étude sont prometteurs, montrant que l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de *Cistus clusii* possèdent une activité anti-inflammatoire.

Mots clés: *Cistus clusii*, Extraits, Phytochimique, BSA, HBRCs, Activité anti-inflammatoire, *In vitro*.

Abstract

Many plants are recognized for their use in traditional medicine to treat a variety of conditions, including inflammatory diseases. *Cistus clusii* is a therapeutic herbaceous species in the *Cistaceae* family. The main aim of this study was to evaluate the *in vitro* anti-inflammatory activity and analyze the phytochemical properties of ethanolic and aqueous extracts derived from the leaves of this plant.

Results showed that both ethanolic and aqueous extracts contained high concentrations of phenolic compounds, including total polyphenols, flavonoids, condensed and hydrolyzable tannins.

Phytochemical screening revealed the presence of several important compounds, including anthocyanins, flavonoids, polyphenols, terpenoids, gall tannins, total tannins and saponosides. Antioxidant activity, measured by the DPPH method, proved powerful, with IC₅₀ values of 1.7mg/ml for 70% ethanolic extracts.

Moreover, regarding the *in vitro* anti-inflammatory activity was evaluated by using two tests including the thermal protein denaturation test and the human red blood cell (HRBC) membrane stabilization test. We observed that both the aqueous and ethanolic extracts exhibit an efficacy comparable to that of diclofenac sodium, with a similar ability to stabilize erythrocyte membranes.

The study's encouraging findings demonstrate the anti-inflammatory properties of *Cistus clusii*'s ethanolic and aqueous extracts.

Key words: *Cistus clusii*, Extracts, Phytochemical, BSA, HBRC, Anti-inflammatory activity, *In vitro*.

ملخص

تعرف العديد من النباتات باستخدامها في الطب التقليدي لعلاج العديد من الامراض بما في ذلك امراض الالتهاب. نبات السريس او القريضة هو نوع عشبي علاجي من عائلة القريضيات. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة تقييم النشاط المضاد للالتهاب خارج الكائن الحي مع تحليل الخصائص الكيميونباتية للمستخلصات الإيثانولية والمائية لأوراق هذا النبات.

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

كشفت الغرلة الكيميونباتية عن وجود الأنثوسيانينات، والفلافونويدات، والفينولات المتعددة ، والتربينويدات، التانينات الغاليكية، و التانينات الكلية، والصابونينات. وقد كان النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم قياسه بطريقة تثبيط الجذور الحرة جد فعالاً مع قيم تراكيز مثبطة بنسبة 50٪، 1.7 ملغ/مل بالنسبة للمستخلص الإيثانولي بنسبة 70٪.

علاوة على ذلك، وفيما يخص النشاط المضاد للالتهاب خارج الكائن الحي قمنا بمقارنة مستخلصاتنا مع الديكلوفيناك، تم إجراء عدة اختبارات، بما في ذلك اختبار الدنترة الحرارية للبروتينات و اختبار تثبيث أغشية كريات الدم الحمراء ، وقد لوحظ أن المستخلصين المائي والإيثانولي يُظهران فعالية قريبة من فعالية ديكلوفيناك الصوديوم، مع قدرة مماثلة على تثبيث أغشية كريات الدم الحمراء.

كانت نتائج هذه الدراسة واعدة، حيث أظهرت أن المستخلص المائي والمستخلص الإيثانولي لنبات القريضة لهما نشاط مضاد للالتهابات.

كلمات دالة : قريضة ، مستخلصات، كيميونباتي، ألبومين مصل بقرى، كريات الدم الحمراء البشرية ، نشاط مضاد للالتهاب، خارج الكائن الحي.