

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes



**Mémoire de fin d'études en vue d'obtention du Diplôme de
Master en Biologie**

Option : Phytothérapie et Santé

**Enquête ethnobotanique, étude microbiologique et
antioxydant de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux du
ciste cotonneux (*Cistus albidus. L.*).**

Présenté par:

Ferane Amel & Ayache Sabrina

soutenu le 18/09/2016

Devant le jury :

M^{elle} Banbaibeche

MCB

BPO

Présidente

M^{elle} chebata N.

MAA

BIOT

Examinatrice

M^{me} Bensalah L.

MAA

BPO

Promotrice

Promotion 2015-2016

Remerciement

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué notre promotrice **Bensalah L**, qu'a accepté de nos encadrer, nous le remercions infiniment pour son aide, ses orientation, sa patience et sa correction sérieuse de ce travail. et **MELLE Banbaïbeche** la présidente du jury, Et **Meme Chebatal** examinatrice. Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans mon travail : **Meme Boubker sihemet Fazia** et **MRs Rabah et slimen** pour ses orientation dans le laboratoire et tous les travailleure en CRD, nous les remerciedu fond du cœur et bien sur sans oublie **MR Redha** qui m'est aide beaucoup.

Nous remercions meschères amies **Sara, Leila, Wissem, Karima** et **Ilhem** pour sont aident et touts mes enseignants, pour leur patience et toutles efforts et leurs conseils pendant nos étude.

Nous ne serons oubliées mes collègues de promotion 4ème phytothérapie et santé (2015-2016). Nous remercions tendrement ma famille, ma belle famille et mes proches amies qui m'ont toujours soutenues et encouragée même dans les périodes les plus difficiles, merci pour votre soutient inépuisable.

Amel et Sabrina



Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail tous d'abord :

À mes très chers parents et surtout mon père qui j'ai manqué l'année passée qui m'ont soutenue et encouragés durant toute la période de mes études par leur tendresse, leur orientation et leur sacrifice, et je souhaite une longue et heureuse vie pour ma mère.

À mes chers sœurs Nedjwa, Faïza, Meriem, Nabila, Amina, avec ces enfants surtout Rayan.

À mes chers frères Maklouf, Hamid, Brahim, Mourad, Nabil, Toufik qui est donné leur confiance, leur soutien, leur conseil durant les années de mes études et à mon très cher frère Mohamed et je souhaite la bonne continuité dans votre étude.

À toute ma famille paternelle Ayache et maternelle Hadjeme.

À mon Ame et mon binôme Amel.

À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université.

En fin, à tous ceux qui m'aime.

Sabrina

Didicace

A mes grands parents

A ma mère, mon Deuxième Souffle, qui m'a mis au monde, veillé sur moi, et qui a sur me transmettre ses valeurs et son chaleureux amour durant toutes ces années qui m'a encouragé et qui a veillé à ce que jéréussisse à mes études,, qui m'a permis de donner le meilleur de moi même et me surpasser. Je t'aime aujourd'hui plus qu'hier mais bien moins que demain. Que Dieu te Garde pour nous.

A Mon très agréable père, qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être. J'espère que je suis à la hauteur de ce qu'il attend de moi. Je t'aime papa.

A mes agréables et aimables sœur Fatihaet ses enfants Oussama, Amina et aminemes frères Abdelkader, Farid, Abdarahim, et Ahmed.

A toutes mes chères amies, Sara, Leïla, Karima, Wissem, Imen, Loubna.

A mon Ame et mon binôme Sabrina.

Amel.

LISTE DE FIGURE

N°	Titre	Page
01	Répartition de la population interrogée en fonction de sexe	21
02	Répartitions de la population interrogée en fonction de niveau intellectuelle	21
03	La partie utilisée de la plante	22
04	Les maladies qui traités par le <i>Cistus albidus</i>	23
05	Evaluation des polyphénols totaux de l'extrait aqueux et méthanolique de feuille de <i>Cistus albidus</i>	26
06	Valeurs d'IC50	27
7	Photos originale 2016 de <i>Cistus albidus</i>	Annexe I
8	Dispositif de Clevenger	Annexe I
9	L'appareille de Soxhlet	Annexe I
10	L'appareille de Dean et Stark	Annexe I
11	Spectrophotomètre	Annexe I
1	Etuve	Annexe I
12	Balance de précision	Annexe I
13	Rotavapeur	Annexe I
14	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	Annexe III

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
I	Micro-organismes utilisés dans le test antimicrobien.	11
II	Diamètre de la zone d'inhibition selon le degré de sensibilité	20
III	la connaissance de la plante.	23
IV	Résultats de tests phytochimiques	25
V	Résultats du test antimicrobien de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du <i>Cistus albidus</i> .	29
VI	Liste des appareillages et des réactifs utilisé durant la période de stage	Annexe I
VII	Résultat de l'enquête ethnobotanique	Annexe II
VIII	Résultat du pouvoir antioxydant pour l'extrait aqueux	Annexe III
IX	Résultat du pouvoir antioxydant pour l'acide ascorbique	Annexe III
X	Résultat du pouvoir antioxydant pour l'extrait méthanolique	Annexe III

Résumé

Le ciste cotonneux (*Cistus albidus* L.) est une plante méditerranéenne largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques.

Notre travail vise à faire une étude ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique (l'activité antioxydante, antibactérienne) de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du *Cistus albidus* L. récolté dans la région d'Elhamdania.

L'étude ethnobotanique réalisée dans la wilaya de Tipasa ; Blida et Boumerdes a montré que le ciste blanc est presque inconnu par la population algérienne. Notre enquête a montré que seul 8% de la population interrogée connaît la plante et l'utilise pour traiter le diabète, les boutons et les troubles d'estomac.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes dans les feuilles de la plante ainsi que la présence des leucoanthocyanes, des coumarines et des saponines.

L'extrait aqueux et méthanolique des feuilles ont un effet antioxydant comparable à celui de l'acide ascorbique avec une concentration inhibitrice de 50% de 0.32 mg/ml, 0.09 mg/ml et 0.15 mg/ml respectives.

Le test antimicrobien de l'extrait aqueux à 0.2mg/ml et 0.5mg/ml a révélé que cet extrait a un effet antibactérien modéré sur *Staphylococcus aureus* et *Enterobacter feundi* avec des zones d'inhibition 1mm² et 11 mm respectivement. L'extrait méthanolique des feuilles du *C. albidus* à 50mg/ml et 200mg/ml a montré un très bon pouvoir antimicrobien contre *E. coli*, *staphylococcus aureus*, *Aspergillus spp* et *serratia marcescens* avec des zones d'inhibition 17mm, 25mm, 30mm et 17mm respectivement.

Mots clés : *Cistus albidus*, L'extrait aqueux, extrait méthanolique, antioxydant, antimicrobien.

Abstract

The cottony cistus (*Cistus albidus*) is a Mediterranean plant widely used in traditional medicine for its biological properties.

Our work is to do an ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies (the antioxidant activity, antibacterial activity) of the aqueous and methanol extracts of *cistus albidus* L, collected in the region of El hamdania.

Ethnobotanical study in Tipaza, Blida and Boumerdes conducted showed that the white rock rose is almost unknown by the Algerian population, our survey show that only 8% of the questioned people know the plant and uses it to treated diabetes, buttons and stomach disorders.

The phytochemical tests conducted have made it possible to evidence flavonoids, tannins, sterols and triterpenes in the leaves of the plant and the presence of Laucoantocyanes, coumarin and saponins.

The aqueous extract and methanolic sheets have comparable antioxidant effect to that of ascorbic acid with an IC of 0.32mg / ml, 0.09mg / ml and 0.15mg / ml respictivement.

The antimicrobial activity of aqueousextracts at 0.2mg/ml and 0.5 mg/ml is provided provided with a antimicrobial capacityoverlooked *Staphylococcus aurus*and*Enterobacter freundi*. The methanolicextracts of*Cistus albidus* sheets at 50mg/ml and 200mg/ml are provided with a antimicrobial capacity very intériissnat overlooked, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aurus*, *Serratia marcencis*, *Aspergillus spp*.

Key words : *Cistus albidus*, The aqueous extracts, methanolicextracts, ,the antioxidant, antibacterial.

الملخص

دراستنا اجريت على اوراق القريضة المبيضة, هي نبتة من الحوض الابيض المتوسط تستخدم بكثرة في الطب البديل و ذلك لخصائصها البيولوجية المتعددة.

يشمل هذا العمل الى اجراء دراسة استنبائية, فحص كيميائي و كذلك دراسة خصائصها المضادة للأكسدة بالاضافة الى فعاليتها ضد الميكروبات, بواسطة المستخلص المائي و المستخلص الميثانولي لاوارق القريضة المبيضة(المأخوذة من منطقة الحمداية).

اظهرت الدراسة الاستنبائية ان هذه النبتة تقريبا غير معروفة في الجزائر. التحقيق الذي اجريناه بين ان 25 % من السكان الجزائري تعرف على النبتة حيث تستخدم لمعالجة مرض السكري,الذب و كذا الاضطرابات المعدية.

اظهرت نتائج الفحص الكيميائي ان اوراق القريضة المبيضة تحتوي على الفلافونويدات(flavonoïdes),الدباغ (tanins), الستيغولات (les stérols), التغيربان (triterpènes), بالاضافة الى اللوكو-انتوسيانات (leuco-anthocyanes),الكومارينات(coumarines)و الصابونين (saponosides).

المستخلص المائي والمستخلص الميثانولي للأوراق لهم خصائص مضادة للأكسدة بالمقارنة مع فيتامين س حيث: IC50 0.32 مغ/مل و 0.09مغ/مل و 0.15 مغ/مل بالترتيب.

اظهرت نتائج المستخلص المائي ذو التركيزين (0.5 مغ/مل و 0.2 مغ/مل) ان لها تأثير على البكتيريا التالية *Staphylococcus aureus* و *Enterobacter feundi*.

اما المستخلص الميثانولي للأوراق القريضة المبيضة كان له تأثير كبير على *E. Coli* و *staphylococcus*

Aureus و *Aspergillus spp* و *serratia marcescenc*

الكلمات المفتاحية: تزولا المستخلص المائي المستخلص الميثانولي المضادة للأكسدة و ضد الميكروبات.

Sommaire

Introduction générale	01
-----------------------------	----

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.Historique.....	03
I.1.1.Caractère botanique.....	03
I.2.Etude de la plante (<i>Cistus albidus L.</i>).....	03
I.2.1.Etymologie.....	03
I.2.2Classification de la plante.....	04
I.2.3.Composition chimique.....	05
I.2.4. Propriété thérapeutique de la plante	05
I.3. Les métabolites secondaires.....	05
I.3.1. Définition des métabolites secondaires.....	05
I.3.2. Classification des métabolites secondaires.....	06
I.3.2.1.Les composés phénoliques.....	06
I.3.2.2.Les alcaloïdes.....	08
I.3.2.3.Les terpénoides.....	08
I.3.3.Définition des huiles essentielles	08
I.3.3.1. Rôle des huiles essentielles.....	08
I.3.3.2. Propriété physiques des huiles essentielles	09

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

II.1.Matériel.....	10
II.1.1.Matériel biologique.....	10

II.1.2. Matériel non biologique.....	11
II.2.Méthode.....	11
II.2.1. Enquête ethnobotanique.....	11
II.2.2. Evaluation de taux d'humidité et de rendement.....	12
II.2.3.Extraction d'huile essentielle de Cistus albidus.....	12
II.2.4. Screening phytochimiques.....	13
II.2.5.Dosage des polyphénols totaux.....	17
II.2.6.Evaluation de l'activité antioxydant in vitro.....	17
II.2.7.Evaluation de l'activité antibactérienne.....	19

Chapitre III : RESULTATS ET DESCUSSION

III.1.Résultats de l'étude ethnobotanique	21
III.2. Résultats de l'évaluation de taux d'humidité.....	23
III.3.Résultats de l'extraction des huiles essentielles.....	24
III.4.Résultats des screenings phytochimiques	25
III.5.Résultats du dosage des polyphénols.....	25
III.6. Résultats du l'activité antioxydant.....	26
III.7. Résultats du l'activité antibactérienne.....	27
Conclusion et perspectives.....	30
Références Bibliographiques.....	32
Annexe.....	

Introduction

Le XXI^{ème} siècle s'annonce comme étant un siècle extraordinaire en matière de santé, plus précisément dans le règne végétal. Pour cette raison, la mise en valeur de certaines plantes médicinales sera d'un grand support pour l'industrie pharmaceutique et aura un impact économique (Lesely, 1997).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes ; on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique et phytothérapie (Duraffourd et al., 1997).

Le recours à la phytothérapie en Algérie a connu un regain très important auprès de la population et ce pour les résultats édifiants, connu et reconnu par une très grande branche de la population. Nos chercheurs ne cessent de recourir à la recherche profonde afin de découvrir ces plantes naturelles qui continuent d'aider et de traiter plusieurs pathologies (Ould El Hadj et al., 2003).

Les recherches scientifiques s'intéressaient aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes, dites naturelles, sont considérées comme une source très importante de médicaments; sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plante en tant que soins de santé primaire (Bérubé, 2006).

La valorisation des plantes médicinales et aromatiques, est un domaine particulièrement intéressant à développer car c'est une source de produits à haute valeur ajoutée. C'est le but pour lequel nous nous sommes intéressés à la mise en valeur du *Cistus albidus* appartenant à la famille des *Cistaceae*. Le travail qui nous a été confié consiste à :

Introduction

- Réaliser une enquête ethnobotanique dans la wilaya de tipasa et blida pour récolter le maximum d'information sur l'utilisation traditionnelle de cette plante.
- Chercher les familles des métabolites secondaires de cette espèce par l'extraction de l'huile essentielle et le screening phytochimique.
- Tester l'activité antioxydante de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du *C. albidus*.
- Estimer le pouvoir antibactérien des extraits des cette espèce.

I.1.Historique

La famille des Cistacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend moins de 200 espèces et maximum dix (10) genres ; selon le centre Américain de l'Information Biotechnologique, cette famille présente (8) genres incluant, *Cistus*, *Crocanthemum*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea* et *Tuberaria*. Ce sont des arbustes, des plantes herbacées, poilues ou velues, pérennes ou annuelles, à feuilles simples souvent opposées, à fleurs solitaires ou en cymes, à cinq pétales libres des régions tempérées à sub-tropicales surtout présents autour du bassin méditerranéen (**Isrin, 1997**).

I.1.1. caractères botanique :

I.1.1.1.Appareil végétatif

Ce sont des arbustes, des arbrisseaux, des herbes vivaces ou annuelles, à poils généralement étoilés ou écailles peltées. Les feuilles, persistantes chez *Cistus*, sont opposées, ou rarement alternes ou verticillées, simples, entières, pennées mais parfois réduites à une seule nervure (**Botineau, 2002**).

I.1.1.2.Appareil reproducteur

L'inflorescence peut être une cyme, mais souvent réduite à une fleur solitaire, terminale ou axillaire.

Les fleurs sont régulières (excepté au niveau du calice), hermaphrodites. Le calice possède, soit 5 sépales inégaux avec les 2 sépales externes plus étroits, soit seulement 3 sépales. Ces pièces sont libres ou soudées. La corolle présente 5 (3 chez *Lechea*) pétales libres, imbriqués, rapidement caduque. Elle montre de nombreuses étamines (**Botineau, 2002**).

La pollinisation est entomophile. Un disque nectarifère est présent. Mais certains *Helianthemum* et *Cistus* présentent des fleurs cléistogames.

L'**ovaire** est formé de 3 carpelles (parfois plus) soudés en un ovaire supère uniloculaire

Le fruit est une capsule loculicide, contenant de petites graines (**Botineau, 2002**).

I.2. Etude de la plante (*Cistus albidus* L.)

I.2.1. Etymologie

Venant du latin albus –blanc–albidus indique la couleur du feuillage (**Beniston, 2007**).

Du grec, Kistos : boîte, capsule (allusion aux fruits) (**Rameauet al., 2008**).

C'est un arbrisseau de 40 cm à 1 m d'hauteur (**Paolini, 2005**). Arbrisseau persistant des régions méditerranéennes et des Canaries. Il a un aspect blanchâtre et cotonneux, très ramifié (**Silk et al., 2011**). C'est une plante caractéristique de la région méditerranéenne que l'on trouve dans les garrigues, maquis et forêts clairsemées, sur tout type de sol, mais de préférence calcaire (**Silk et al., 2011**).

Les Feuilles de *Cistus albidus* sont opposées, sessiles, plates, entières, vert blanchâtre et cotonneuses sur les 2 faces. Elles embrassent légèrement la tige, de 2 à 6 cm de long sur 0,5 à 2 cm de large, elles montrent 3 nervures parallèles très marquées sur la face inférieure (**Silk et al., 2011**).

Les fleurs sont rouge-rosés intense, de 4 à 6 cm de diamètre, isolées ou groupées parfois jusqu'à 7, disposées aux extrémités des branches. Le pédoncule peut atteindre jusqu'à 2 cm de long (2 fois plus long que le calice), 5 pétales fripés, 2 à 3 fois plus longue que le calice tombant en quelques heures ; 3 sépales ovoïdes et cotonneux ; étamines jaunes très nombreuses ; styles aussi longs que les étamines (**Silk et al., 2011**).

Le fruit est une capsule ovoïde à 5 valves de 7 mm de long (**Marie et Polese, 2007**).

Floraison est entre Février et mai (**Beniston 2007**).

I.2.2. Classification de plante :

Le *Cistus albidus*, a été décrit par Guignard et introduit dans sa classification en 2001 (**Guignard, 2001**):

- Règne : Planteae
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes

-
- Classe : Eudicots ou Eudicotylédones
 - Sous-classe : Rosidées (Eurosidées)
 - Ordre : Malvales
 - Famille : Cistacées
 - Genre : *Cistus*
 - Espèce : *Cistus albidus*

I.2.3. Composition chimique

La majorité des études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des Cistacées montre la richesse ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires incluant en particulier les terpènes et les composés phénoliques. Elles contiennent principalement les flavonoïdes, et les tanins en faibles quantités (**Bouzerboune, 2014**). Le *Cistus albidus* contient des flavonoïdes, des saponines, des terpènes et des résines (**San Andrés et al., 2000**).

I.2.4. Propriétés thérapeutiques de la plante :

En médecine traditionnelle le décocté des feuilles de *Cistus albidus* est utilisé pour apaiser les douleurs gastriques et comme hypoglycémiant. En cataplasme, on l'emploie contre les abcès. Les feuilles sont également utilisées, en infusion dans du thé, comme digestif (**Lahsissene et al., 2009**).

En Algérie, les feuilles et les fleurs du *Cistus albidus* servaient autrefois de remède contre la dysenterie ; elles étaient aussi utilisées pour soigner les plaies (**Beniston 2007**).

I.3. les Métabolites secondaires

I.3.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal (**Cuendet, 1999 ; Gravot, 2008**). Les métabolites secondaires, issus de métabolites primaires interviennent dans la structure des plantes mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (**Gravot, 2008; Kansole, 2009**). Ils participent ainsi, d'une manière très efficace,

dans la tolérance des végétaux à des stress variés, par action anti-herbivore, inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et lumière UV. Mais ils peuvent être antinutritifs, Beaucoup de métabolites secondaires à certaines concentrations sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole. D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (**Gravot, 2008 ; Thomas, 2009**). Ces molécules furent sélectionnées au cours de l'évolution pour l'interaction qu'elles ont avec un récepteur d'un autre organisme. Elles représentent donc une grande source d'agents thérapeutiques (**Thomas, 2009**).

I.3.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires (**Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006**). On distingue trois classes principales :

I.3.2.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham, 2005**). Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (**Lugasiet al, 2003**). L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton, 1993**).

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles et ont divers effets sur la physiologie végétale de part leurs actions antibactériennes et antifongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (**Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004**).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham, 2005**).

I.3.2.1.1. Classification des composés phénoliques

✓ Coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses, certains contribuent à fluidifier le sang alors que d'autres soignent les affections cutanées (**Isrine, 2001**), ils présentent aussi une activité antimicrobienne (**Lansing et al., 2003**).

✓ Quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons et les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

✓ Tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose (**Hemingway, 1992**).

✓ Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes, sont capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (**Bassas et al., 2007**).

✓ Flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) représente une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002 ; Mediçet al., 2004 ; Fiorucci, 2008**). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (**Ribereau, 1968 ; Nijveldt et al., 2001 ; Erlund, 2004**), où ils peuvent être localisés dans divers organes : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils jouent un

rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton, 1999**). Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Delporte *et al.*, 1999**).

I.3.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux (**Kansole, 2009**).

I.3.2.3. Terpénoïdes

Le terme de terpénoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**). Ils sont synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (**Benaïssa, 2011**). L'exploitation de ces composés s'effectue sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) (**Harbone, 1998 ; Bruneton, 1999 ; Klaas, 2002 ; Malecky, 2005**).

I.3.3. Définition des huiles essentielles

Une huile essentielle est l'essence extraite de la plante aromatique par différents procédés (distillation à la vapeur d'eau, hydrodistillation, hydro diffusion, extraction par des fluides supercritiques) (**Fabienne Millet, 2013**).

La réglementation ne retient actuellement que le terme d'huile essentielle, défini par la pharmacopée européenne comme « produit de composition généralement assez complexe, renfermant des produits volatils contenus dans les végétaux, plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (**Fabienne Millet, 2013**).

I. 3.3.1. Rôles des huiles essentielles :

Les fonctions des huiles essentielles sont multiples :

- ✓ Protection contre les prédateurs de la plantes.
- ✓ Attraction des insectes pollinisateurs.
- ✓ Inhibitions de la germination et de la croissance.
- ✓ Inhibition de la multiplication des bactéries et des champignons (**Gerhard, 1993**).

- ✓ Chaque huile essentielle a des propriétés spécifiques : antiseptique, revitalisante, calmante, antidouleurs, tonique, circulatoire, antifatigue, régénératrice de la peau, amincissant, carminative, émolliente et adoucissante (**Gros jean, 2007**).
- ✓ Les huiles essentielles sont une source inépuisable de remèdes naturels. Leurs merveilleux pouvoirs, leur réservent de grandes perspectives dans le secteur économique mondial (**El Abed et Kambouche, 2003**).

I.3.3.2. Propriétés physiques des huiles essentielles:

Selon (**Bardeau,1976 ;Legrand,,1978 ;Lemberg,1982 ;Bruneton,1999**), les huiles essentielles possèdent en commun un nombre de propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plus part des solvants organiques. Elles sont peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois elles communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie de 160 à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas)
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voir rétinoides très odorantes et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquide, incolores ou jaunes pâles. Il existe, cependant, quelques exceptions, tel que l'huile essentielle à azulène de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté.

Synthèse bibliographique

Notre stage pratique s'est étalé sur une période de trois mois, de mars jusqu'au mois de juin 2016. Les différentes expérimentations de cette étude ont été effectuées dans les structures suivantes :

-Une enquête ethnobotanique dans la région de Blida (Faculté des Sciences de la nature et de la vie et Tipaza (Bou Ismail, Kolea, Chaiba, Khmisti, Bourkika, Hadjout) réaliser sur 60 personnes.

-laboratoire de pharmacotoxicologie du Centre de Recherche et de Développement(CRD) El Mohammadia pour la réalisation le screening phytochimiques, l'extraction de l'huile essentielle, le test antimicrobien et polyphénols totaux.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de *Cistus albidus L.* qui ont été récoltées durant deux périodes(le mois février et de mars 2016), dans la région d'El Hamdaniya, wilaya de Médéa, l'altitude de cette zone est de 380 m (par rapport au niveau de la mer). Nous avons récolté les pieds de la plante de manière aléatoire pendant un temps ensoleillé. Pour notre étude nous avons récolté 4 kg de feuilles fraîches.

Les feuilles ont été séchées à l'obscurité et à température ambiante, d'endroit aéré pendant 25 jours. Une fois séchées, les feuilles ont été broyées et conservées dans des boites sombres et bien fermées.

✓ Micro-organisme:

Pour la réalisation de l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé des souches de référence figurent dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : Micro-organismes utilisés dans le test antimicrobien.

Souches microbiennes	Type	Références (ATCC)
<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	8739
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	6538
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram positif	6633

Matériel et méthodes

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram négatif	9027
<i>Candida albicans</i>	Une moisissure	10231
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Une levure	9763
<i>Serratia marcescenc</i>	Gram négative	Souche hospitalière
<i>Proteus vulgaris</i>	Gram négative	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram négative	Souche hospitalière (Prélevé de l'urine)
<i>Enterobacter freundii</i>	Gram négative	Souche hospitalière
<i>Aspergillus.spp</i>	Champignon	16404

II.1.2. Matériel non biologique

La verrerie, les appareils et les réactifs utilisés sont portés en annexe I.

II.2. Méthodes :

II.2.1. Enquête ethnobotanique :

Le but de notre enquête est de recueillir le maximum d'information sur la connaissance et l'utilisation traditionnelle du *Cistus albidus L.* Pour cela nous avons réalisé une enquête sous forme d'un questionnaire sur terrain (questionnaire dans annexe II) dans différentes régions de la wilaya de Tipaza (Bou Ismail, Kolea, Chaiba, Khmisti, Bourkika, Hadjout) et la wilaya de Blida (Faculté des Sciences de la nature et de la vie).

Notre questionnaire est adressé à 120 personnes de la population choisies au hasard des deux sexes, de différents âges et de différents niveaux intellectuels.

II.2.2. Evaluation du taux d'humidité :

Nous avons déterminés le taux d'humidité de ciste blanc par la méthode de **DEAN STARK** en 1920 il est utilisé le Soxhlet (schéma en annexe II).

✓ **Principe :**

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Ces vapeurs traversent le soxhlet. Sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent à travers de l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation condensation. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des composés non volatils et semi volatils.

✓ **Mode opératoire :**

On introduit 20g de matière sèche dans un ballon de 250ml et on verse ensuite 50ml de toluène (C₇H₈), le ballon est surmonté d'un réfrigérant. Le tout est porté à ébullition, l'opération est interrompue quand le volume d'eau est constant dans la burette et que le mélange devient limpide. A la fin de l'opération, nous augmentons le chauffage dans le but de récupérer toutes les gouttes d'eau déposées sur les parois de réfrigérant. Après refroidissement, le volume d'eau est mesuré et le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$TH = \frac{V}{M_{vs}} \times 100$$

TH: Taux d'humidité.

M_{vs} : Matière végétale sèche.

II.2.3. Extraction des huiles essentielles de *Cistus albidus* L.

L'extraction des huiles essentielles de *Cistus albidus* L. a été faite par une hydrodistillation par l'appareil de Clevenger (figure 9, annexe I).

✓ Principe :

Les vapeurs chargés des substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huiles essentielle) et l'autre est aqueuse.

✓ Mode opératoire :

100g de la poudre des feuilles sont mis dans un ballon de 2 litres additionnées de l'eau jusqu'au 2/3 de volume du ballon, l'ensemble est porté à ébullition pendant environ 3 heures.

Après l'extraction nous avons mélangé 2 volumes de l'hydro distillat avec 1 volume d'éther dans une ampoule à décanter, après 6 heures de repos, nous avons récupéré la phase hétérogène dans un bécher que nous avons laissé s'évaporer sous une hôte chimique.

II.2.4. Screening phytochimiques selon le protocole de CRD

✓ Infusion

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests suivants :

➤ Amidon

Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de Na Cl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ; Ajouter quelques gouttes du réactif d'amidon, (Annexe I). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée (**Bruneton, 1999**).

➤ Saponosides

La détection des saponosides est réalisée dans un tube dans lequel on introduit 5 ml d'HCL à 0,1N et le deuxième tube 5 ml de NaOH 0,1N, puis on rajouté dans chacun 2 à 3 goutte de l'extrait aqueux, la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**)

➤ **Tanins**

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 5 ml de l'extrait aqueux 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**)

➤ **Anthocyanes**

La détection des anthocyanes est réalisée par l'addition de quelques gouttes de Hcl à 5 ml d'extrait aqueux. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rouge (**Debrayb et al, 1971 ; Paris et al, 1969**).

➤ **leuco anthocyanes**

On ajoute 20 ml de mélange Propanol/Acide chlorhydrique (composition en annexe I) à 2g de poudre puis on porte le tout au bain marie bouillant (quelques minutes). L'apparition d'une coloration rouge identifie la présence des leuco anthocyanes.

➤ **Tanins catéchiques**

En rajoute à 15 ml d'extrait aqueux additionnées 7 ml de réactif STIASNY (composition en annexe I). L'obtention d'une couleur rouge révèle test positif. (**Trease et Evans, 1987**)

➤ **Tanins galliques**

A 5 ml d'infusé on ajoute 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl₃. La présence des tanins gallique donne une coloration bleu foncés.

➤ **Quinones libres**

On humecte 2 g de poudre par 2 ml d'acide chlorhydrique 1N (pendant 3 h) puis en ajoute 20 ml de chloroforme et en filtre. On ajoute au filtrat 5 ml d'ammoniaque (1/2). La coloration rouge indique la présence des quinones libres.

➤ Quinones combinées

On additionne à 2 g de poudre 15 ml d'acide sulfurique 2N et on porte à reflux Pendant 2 heures. La solution extraite est filtrée et épuisée par 20 ml de chloroforme puis évaporée et épuisée par l'ammoniaque ½. L'obtention d'une couleur rouge signifier la présence des quinones combinées.

➤ Alcaloïdes

On humecte 5g de poudre par l'ammoniaque 1/2, et on ajoute 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3/1, v/v). On macère le mélange pendant 24h, le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique 2N. L'apparition de précipitation par l'addition de réactif de Dragendroff révélé test positif. (Paris et al, 1969).

➤ Coumarines

On fait bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 min puis on filtre. A 5 ml de filtrat on rajoute 10 gouttes de la solution alcoolique du KOH à 10% et quelques gouttes d'Hcl à 10%. La formation d'un trouble indiquent la présence des coumarines. (Rizk, 1982).

➤ Flavonoïdes

A : à 5 ml d'infusé on additionne 5 ml d'Hcl, un copeau de magnésium et 1ml d'alcool iso-amylique. La coloration rouge signifie la présence des flavonoïdes.

B : A 10ml d'extraiteux on ajoute 3 ml d'eau bouillante et quelques gouttes d'acétate. La coloration jaune signifie la présence des flavonoïdes. (Debrayb et al. 1971 ; Paris et al, 1969).

➤ Stérois et triterpènes

On a macéré 1g de poudre dans 10ml d'éther pendant 24 heures. Après filtration, nous avons évaporé le filtrat à sec au bain-marie et on a repris la concrète avec 0,5ml d'anhydride acétique, 0,5ml de chloroforme et on a rajouté 3ml de l'acide sulfurique concentré. En cas de réaction positive un anneau rouge-brunâtre ou violet se forme à la zone de contact des deux phases, la couche du surnageant prend une coloration verte ou violette (Trease et Evans, 1987).

➤ Les composés réducteurs

On a rajouté à 1ml d'extrait éthanolique, 2ml d'eau distillée et 20gouttes de liqueur de Fehling, puis on chauffe. La présence des composés réducteurs se caractérise par la formation d'un précipité rouge-brique (Trease et Evans, 1987)

II.2.5. Dosage des polyphénols totaux :

✓ Préparation de l'extrait méthanolique :

- On pèse 25g de feuille de *Cistus albidus*, puis on l'introduit dans une cartouche, en papier épais que l'on place ensuite dans le Soxhlet et on remplit le ballon avec 200 ml d'un mélange méthanol- eau (175-75 ml) et on démarre l'extraction.
- Après environs 15tours, on arrête l'extraction et on met le ballon qui contient l'extrait méthanolique dans l'évaporateur rotatif.
- L'extrait méthanolique a été utilisé pour la réalisation de l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydant.

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin –Ciocalteu a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

✓ Principe :

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune. En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Rakotoarison, 1999).

L'étude quantitative des extraits aqueux 0,5mg/ml et méthanolique 0,16mg/ml préparés à partir des feuilles du *Cistus albidus* a pour objectif la détermination de la concentration des polyphénols totaux.

✓ Mode opératoire

A 300 µl d'extrait est ajouté 400 µl de la solution de Na₂CO₃ (75 mg/ml d'eau distillée), après agitation, 500 µl de la solution de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble. Après 30 min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est lue à 695 nm contre un blanc sans extrait.

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = a x + b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique préparé à partir d'une solution mère de (0,004g/100ml d'eau distillée) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait de feuille.

II.2.6. Evaluation de l'activité antioxydant *in vitro*

✓ Principe de test de DPPH :

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH.) est réalisé par la méthode décrite par **Ammaret al. (2009)** qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺.



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH.

✓ Préparation de la solution DPPH :

Une solution de DPPH est préparée en ajoutant 100ml du méthanol à 4 mg de poudre de DPPH, la solution obtenue est de couleur violette.

✓ Préparation des dilutions

On a préparé 5 tubes on réalise 5 dilutions successive.

D'abord on a prélevé 1 ml de solution mère (extrait méthanolique de *Cistus albidus L.*) à laquelle nous avons rajouté 9 ml de méthanol dans le 1er tube, puis on a prélevé 1ml du 1er tube auquel on a rajouté 9ml de méthanol dans le 2ème tube, on a fait de même pour constituer la dilution du 3ème tube et ainsi de suite jusqu'au 5ème tube.

✓ Mode opératoire

Dans des tubes à essais, nous avons introduit 10µl de chaque dilution et 2 ml de la solution méthanolique de DPPH (4mg/100ml). En parallèle, deux témoins sont préparés, un témoin négatif de 10µl de méthanol+ 2 ml de la solution de DPPH et un témoin positif de 3mg de poudre d'acide ascorbique dissous dans 1 ml de méthanol. A partir de cette solution 5 dilutions sont préparées en prélevant à chaque fois 1ml du tube précédant. Les tubes sont placés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

✓ Expression des résultats :

La concentration d'inhibition des radicaux libre(I) exprimé en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$I\% = (\text{Abs} - \text{Abs d}) / \text{Abs c} \times 100$$

Avec :

Abs c : Absorbance du contrôle.

Abs d : Absorbance pour chaque dilution.

II.2.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne *invitro* par la méthode de diffusion sur gélose :

✓ Principe:

La méthode de disque ou méthode de diffusion sur gélose, est une méthode qualitative qui permet d'identifier l'existence ou non d'une éventuelle propriété antibiotique. Elle consiste à déposer sur des disques de papier Wattman des volumes bien déterminés des substances à tester.

L'effet antibactérien se traduit par la présence d'une zone ou auréole d'inhibition autour de la zone de dépôt (HELLAL, 2011).

Le but de cette étude microbiologique repose, sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de 2 extraits, extrait méthanolique et l'infusé à 2(0,5mg/ml et 0,2mg/ml) concentrations déférent.

II.2.7.2.Mode opératoire :

✓ Préparation des extraits aqueux

On a 2 extraits aqueux à deux concentrations différentes. Le premier 0,2 mg/ml et le deuxième 0,5 mg/ml.).

✓ Préparation de l'extrait méthanolique

On introduit 25mg du résidu sec de l'extrait méthanolique dans 0,5 ml de DMNSO pour les bactéries par contre on introduit 100 mg de cet extrait dans 0,5 ml DMSO pour les levures.

✓ Repiquage des souches :

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies. Isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

✓ Préparation de l'inoculum :

A l'aide d'une pipette pasteur stérile 2 à 4 colonies bien isolées de la souche à étudier, sont prélevées et introduites dans un tube à essai contenant 10ml d'eau physiologique stérile.

La densité optique doit être entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries sauf pour *Staphylococcus aureus* elle doit être entre 0,3 et 0,4, alors que pour les levures elle est entre 0,02% et 0,03%. Ces valeurs correspondent à une concentration de 10⁷ et 10⁸ germes/ml.

✓ Préparation de la première couche :

Les milieux gélosés (MH pour les bactéries et SAB pour la levure) déjà liquéfiés dans un bain marie à 95 °C sont versés aseptiquement dans des boîtes de Pétri, à raison de 15ml par boîte.

✓ Préparation de la deuxième couche :

Après la fonte des milieux (MH pour les bactéries et SAB pour la levure), on les laisse refroidir dans une étuve jusqu'à 45°C, puis on remplit des flacons en verre stériles avec 25ml de chaque milieu pour chacune des souches à tester.

Ces milieux sontensemencés avec 100µl de chaque suspension microbienne, et une deuxième couche est étalée rapidement en faisant un mouvement de ∞ pour avoir une surface uniforme. On laisse les boîtes sur paillasse pour se solidifier.

✓ Dépôt des disques celluloseux

A l'aide d'une pince stérile, des disques absorbants de 6mm (stérilisés par la lumière UV), sont imbibés d'une quantité des extraits à tester en mettant en contact le bout du disque, ce dernier va absorber progressivement les extraits jusqu'à imprégnation totale du disque. On le laisse diffuser pendant 30 min, puis on incube les boîtes de Pétrie à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour la levure et la moisissure.

✓ Lecture des résultats :

Le diamètre des zones d'inhibition autour des disques sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont classés en 4 classes.

Tableau II: Diamètre de la zone d'inhibition selon le degré de sensibilité (Moriera et al., 2005).

degré de sensibilité des souches	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Souche résistante	$D \leq 8$
Souche sensible	$9 \leq D \leq 14$
Très sensible	$15 \leq D \leq 19$
Extrêmement sensible	$D \leq 20$

III.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique :

➤ Enquêtée en fonction de sexe :

Notre enquête, d'après la figure 1 (tableau VII, annexe II) a été réalisée sur 56.66% de sexe masculin et 43.33% de sexe féminin.

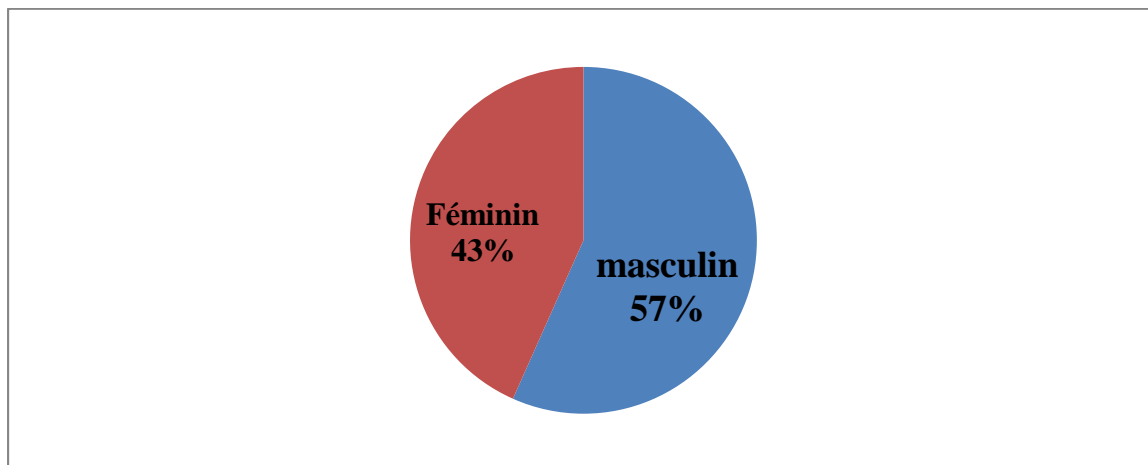


Figure 1: répartition de la population interrogée en fonction du sexe.

➤ Niveau intellectuelle :

D'après la figure 2, on remarque que la majorité de personnes questionnées sont universitaire avec un pourcentage de 38%.

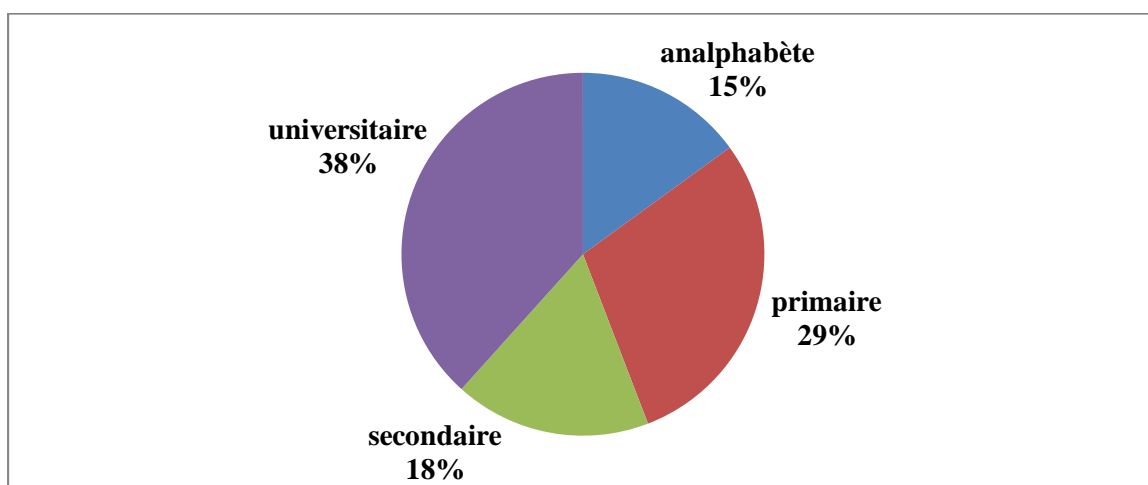


Figure 2 : répartition de la population interrogée en fonction du niveau intellectuel.

Connaissez –vous cette plante ?

Notre enquête a montré que (tableau III) la majorité (75%) des personnes interrogée ne connaissent pas la plante.

Tableau III: la connaissance de la plante.

Connaissance	Oui	Non
Nombre	30	90
Pourcentage (%)	25%	75%

Quelle est la partie utilisée ?

Dix sept personnes sur trente, soit 68% (tableau XII, annexeII) utilise la plante entière alors que les huit autres, soit 32%, utilisent les feuille de ciste cotonneux.

.

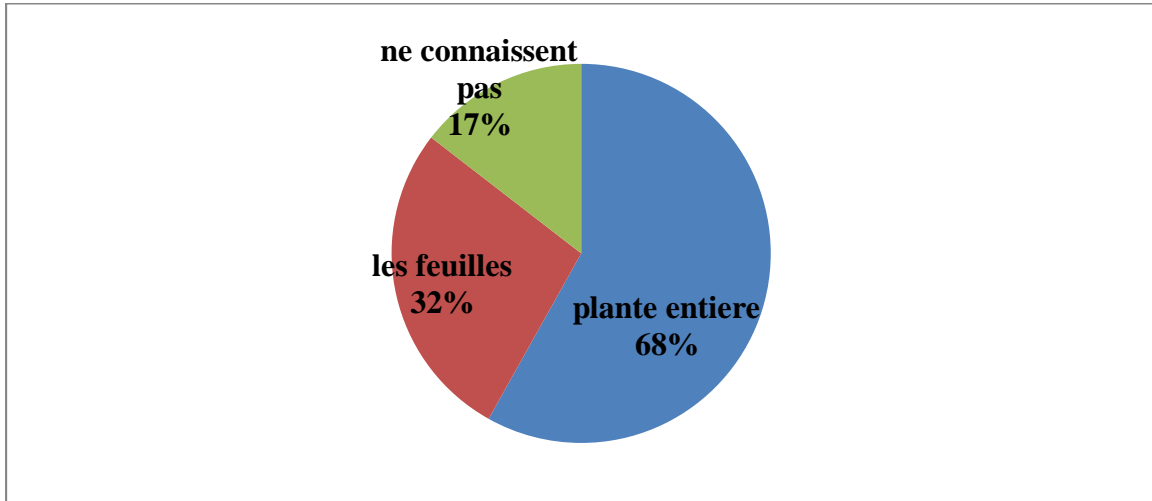


Figure 3: la partie utilisée de la plante.

Quelle est le mode d'utilisation ?

Parmi les 30 personnes qui connaissent la plante 16 personne, sont 64%, utilisent en infusion alors que neuf personne, soit 36%, l'utilisent en décoction

Dans quel cas ?

D'après notre enquête, la plante est utilisée en cas de diabète (28%), les troubles d'estomac (48%) et les boutons (24%).

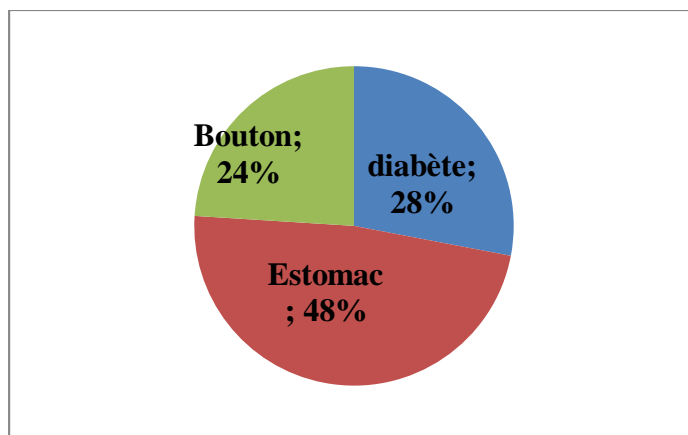


Figure 4 : Maladies traités par le *Cistus albidus*.

L'enquête ethnobotanique réalisée dans la wilaya de Tipaza (Bou Ismail, Kolea, Chaiba, Khmisti, Bourkika, Hadjout), la wilaya de Blida (Faculté des Sciences de la nature et de la vie) et la wilaya de boumerdess sur un échantillon de 120 personnes, dont 68 homme et 52 femme, a montré que le *Cistus albidus* est une plante médicinale mal connue par les populations algériennes malgré ces vertus thérapeutiques qu'il possède (25% seulement de la population interrogés qui connus la plante dans le cas de diabète, troubles d'estomac, et les boutons).

Des études menées dans la région de Fès (Maroc) en 2009, ont montrés que le décocté des feuilles de *Cistus albidus* est utilisé pour apaiser les douleurs gastriques et comme hypoglycémiant (Lahsissene et al., 2009).

A Rabat, les feuilles de *Cistus albidus*. L sont utilisées comme agent digestif et sont utilisées sous forme des tisanes.

L'espèce *C. incannus* est une plante très utilisé dans la médecine traditionnelle dans le nord de la Grèce comme un traitement général anti-inflammatoire des maladies de la peau.

III.2. Résultats de l'évaluation de taux d'humidité :

Le taux d'humidité de la plante a été calculé afin d'évaluer la qualité de séchage de notre échantillon.

Nous avons trouvé un taux d'humidité égale à 9 %.

III. 3. Résultats d'extraction de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle de la poudre des feuilles séchées et des feuilles fraîches du *Cistus albidus* a montré que cette plante est pauvre en ce métabolite secondaire, malgré que nous avons fait une récolte en deux périodes (Février les feuilles sont séchées , Mars on utilise les feuilles fraîches) avec plusieurs fois d'extraction nous n'avons pas récupéré l'huile essentielle.

Selon les travaux antérieurs d'Angelopoulou et al. (2002) sur le rendement en huile essentielle de *Cistus albidus* récolté le mois de février, le rendement ne dépasse pas 0.03–0.04% (v/w).

Les travaux de Gülz et al, (1984) ont montré que le rendement de la poudre de *Cistus albidus* en générale ne dépasse pas 0,13%(v/w).

III. 4. Résultats de screening phytochimiques :

Les résultats de screening phytochimiques apportées sur les feuilles de *Cistus albidus* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV: Résultats de tests phytochimiques

Les composés chimiques	Les résultats
Les anthocyanes	-
Les tanins	+
Les tanins galliques	+
Les tanins catéchiques	+
Les quinones libres	-
Les quinones combinées	+
Les flavonoïdes	+
Les saponines	+
Les coumarines	+

Les leuco anthocyanes	+
Les composer réducteurs	+
Amidon	-
Stérols et triterpènes	+

(+)Présence (-) absence.

Les résultats du tableau IV montrent les feuilles du *Cistus albidus. L* sont riches en métabolites secondaires qui sont les tanins, tanins catéchiques et galliques, flavonoïdes, saponines, leuco anthocyanes, coumarines, composer réducteurs, Stérols et triterpènes.

Nos résultats concordent aux **Haouat et al, (2013)** qui est montré que les extrait brut de *Cistus albidus* et de *Cistus salvifolius* sont riches en des flavonoïdes, des tanins et des polyphénols totaux dans les extraits bruts des deux plantes.

Selon **Teresa, et al, (1981)** Les espèces du genre ciste sont riches en flavonoïdes (comme aglycones et glycosides), pro-anthocyanidines, terpénoïdes et tannins.

III.5.Résultats du dosage des polyphénols :

La concentration des constituants poly phénoliques de l'extrait aqueux est de 10,12 mg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait utilisant (MEAG/1g d'extrait)(figure17, annexe III).

Pour l'extrait méthanolique le taux est de 11,62mg MEAG/1g d'extrait. (figure6)

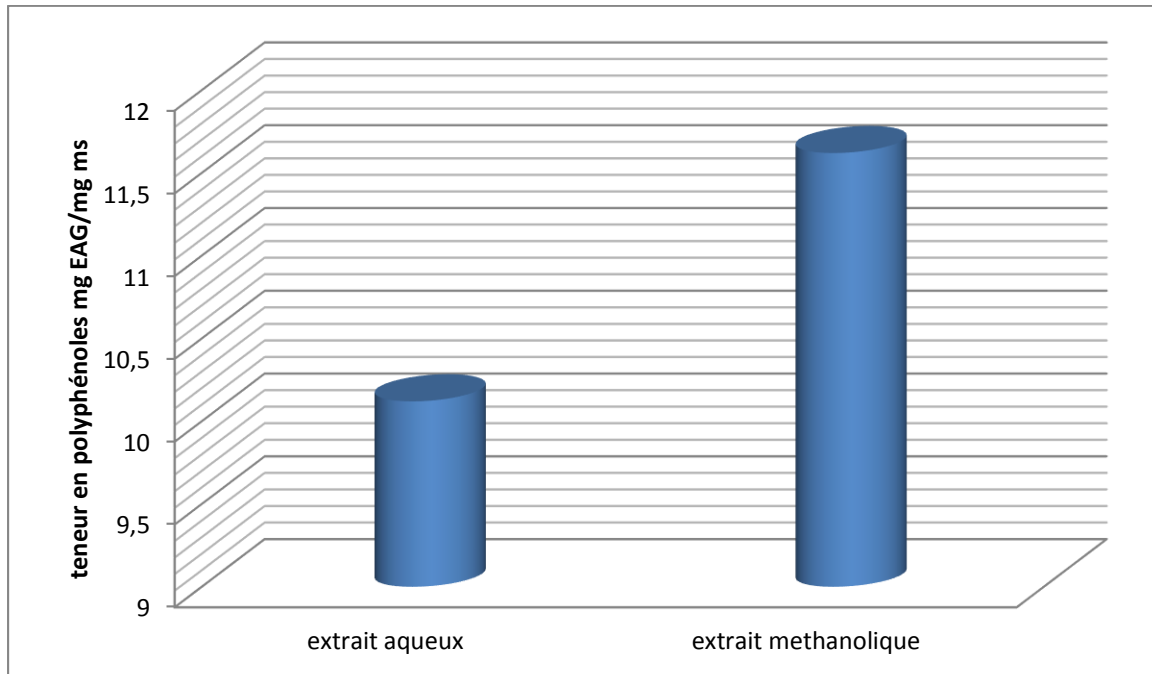


Figure 5 : Evaluation des polyphénols totaux de l'extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *C.albidus*.

Notre plante contient une moyenne quantité de phénol.

En comparant nos résultats avec ceux de **Benhammou et al, (2009)**, on remarque que le taux des polyphénols totaux de notre extrait méthanolique est plus faible que celui des feuilles de *C.ladinifaire* ; qui est égale à 18.43mg EAG/mg de MS.

III.6.Résultats de l'activité anti-oxydant :

III.6.1.Pourcentage d'inhibition :

On observe que le pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux (95.67%) est supérieur à celui l'extrait méthanolique (83.03%) pour toutes les concentrations et de l'acide ascorbique (94.77%)(Tableau VIII, IX et X, annexe III).

Les valeurs d'IC50 pour l'acide ascorbique, extrait aqueux et extrait méthanolique sont 0.15 mg/ml, 0.32 mg/ml et 0.09 mg/ml respectivement (**la figure 08**).

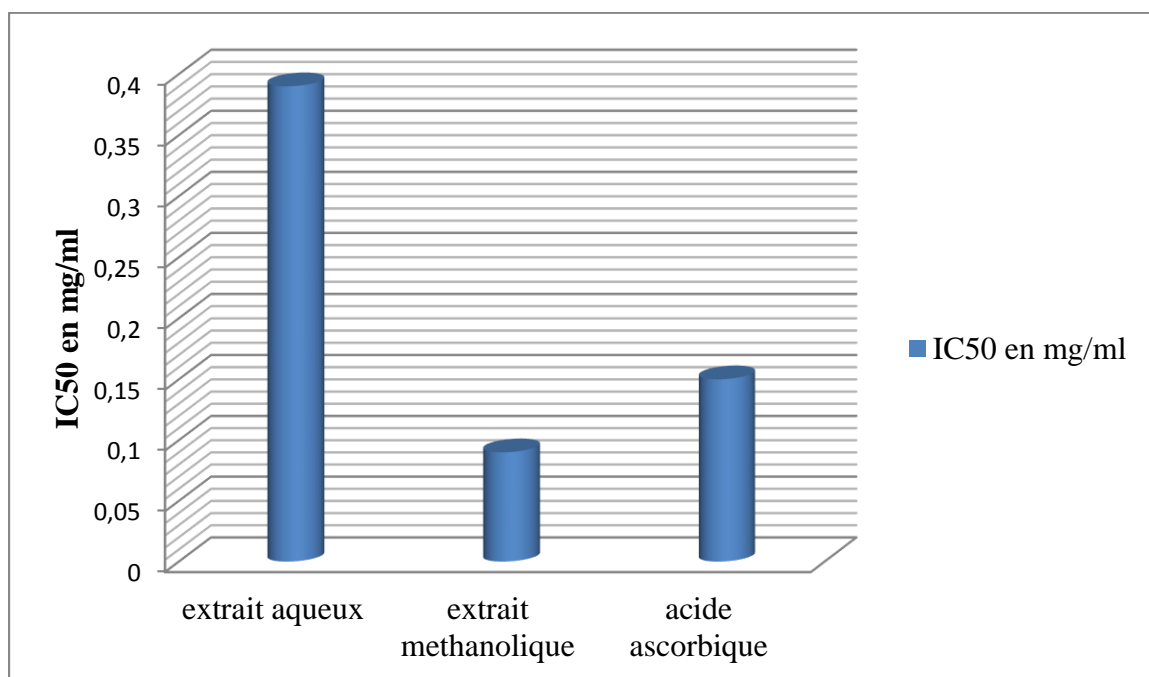


Figure 6 : Valeurs d'IC50

On constate que l'extrait méthanolique de ciste cotonneux a présenté une activité plus élevée que celle du contrôle positif (acide ascorbique) et l'extrait aqueux. Cette activité pourrait être liée à sa richesse en polyphénols.

L'extrait méthanolique du *Cistus albidus* a un pouvoir antioxydant plus puissant que celui du *cistus incanus* et *cistus parviflorus* selon **Alsabri et al (2012)**, l'extrait aqueux de ces deux dernières espèces a une IC50 de 4.75mg/ml et 17.75 mg/ml respectivement.

D'après **Benhammou(2012)**, les extraits d'*H. lippii*(tiges, feuilles et fruits), possèdent une activité antioxydante intéressante avec une IC50 de 1.028 mg/ml, qui est plus faible par rapport aux deux extraits de *Cistus albidus*.

Selon **Turkmenet al (2007)**, les polyphénols semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique (**Bourgouet al. 2008**).

III.7.Résultats de l'activité antibactérienne :

Lors de cette étude, nous nous sommes intéressées à l'étude du pouvoir antimicrobien de l'extrait aqueux et méthanolique de *Cistus albidus L.* les résultats de ce test sont regroupés dans le tableau VIII.

Tableau V: résultats du test antimicrobien de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du *Cistus albidus*.

Souches	L'extrait aqueux 0,5 mg/ml	L'extrait aqueux 0,2mg/ml	Extrait méthanolique 50mg/ml	Extrait méthanolique 200mg/ml
<i>Escherichia coli</i> (CRD)	9mm	13mm	/	/
<i>Bacillus subtilis</i> (CRD)	9mm	10mm	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i> (CRD)	11mm	12mm	/	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CRD)	9mm	9mm	/	/
<i>Candida albicans</i> (CRD)	9mm	9mm	/	/
<i>Saccharomyces cerviciae</i> (CRD)	9mm	9mm	/	/
<i>Escherichia coli</i> (hygiène)	9mm	9mm	17mm	17mm
<i>Bacillus subtilis</i> (hygiène)	9mm	9mm	9mm	9mm
<i>Staphylococcus aureus</i> (hygiène)	12mm	11mm	25mm	16mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hygiène)	9mm	9mm	9mm	9mm
<i>Serratia marcescenc</i> (hygiène)	9mm	9mm	17mm	17mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (hygiène)	9mm	9mm	9mm	9mm
<i>Enterobacter freundi</i> (hygiène)	11mm	11mm	9mm	9mm
<i>Aspergillus.spp</i> (hygiène)	9mm	9mm	9mm	30mm
<i>Candida albicans</i> (hygiène)	9mm	9mm	9mm	9mm
<i>Saccharomyces cerviciae</i> (hygiène)	9mm	9mm	9mm	9mm

L'infusé de ciste cotonneux s'est avéré inactif contre *Serratiamarcescenc*, *Proteusvulgaris*, *Candidaalbicans*, *Aspergillus.spp*, *Saccharomyces cerviciae*, *Pseudomonasaeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. Par contre, il a exercé un effet inhibiteur moyen sur *Staphylococcus*

aureus, *Enterobacter freundi* et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition de 12mm, 11mm, 13mm, respectivement.

A la concentration 50mg/ml, l'extrait méthanolique a présenté un fort pouvoir antibactérien contre *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* et *Escherichia coli* par l'apparition des zones d'inhibition de 17mm, 15mm et 17mm respectivement. L'extrait méthanolique à la concentration de 200 mg/mla montré un effet antimicrobien très fort sur *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus.spp* par l'apparition des zones d'inhibition de 25mm et 30 mm respectivement(tableau V).

Une activité antibactérienne significative a été observé pour l'extrait méthanolique des feuilles de *Cistus salvifolius* vis-à-vis de *Listeria monocytogène* et d'autres microorganismes pathogènes (**Bayoud et al. 2009**).

Nos résultats concordent avec les résultats de **Bayoub et al. (2010)**, qui ont montré que les extraits aqueux de feuille de *C.salvifoliusa* un effet inhibiteur sur les *Staphylococcus aureus*. Selon **Bouamama et al, (2005)**, l'extrait aqueux des feuilles de *C. villosus* et *C. monspeliensis* a montré une activité inhibitrice sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* qui est en accordance avec nos résultats par contre, l'extrait aqueux des feuilles du *Cistus albidus* n'a aucun effet sur *candida albicans* alors que celui du *C.villosus* et *C.monspeliensis* a montré un effet sur cette souche.

Les espèces du genre *Cistus* ont souvent été utilisées comme plantes médicinales pour leurs propriétés antimicrobiennes (**Chinou et al., 1994; Demetzos et al., 1999**), antifongique (**Bouamama et al., 2005**).

Les polyphénols sont très connus par leurs excellentes activités biologiques. Plusieurs études ont montré que ces molécules sont dotées d'un effet antibactérien (**Bucar et al., 2001**).

La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**ESSAWI et SROUR, 2000**).

Conclusion :

Notre étude a porté sur l'étude de *Cistus albidus*, pour attirer l'attention de la population algérien et celle du chercheur envers me plante doté de plusieurs vertus qui peuvent être exploité dans le domaine pharmaceutique.

-L'enquête ethnobotanique a montré que le *Cistus albidus* n'est pas connue par la population algérienne.

-Après plusieurs extractions, on a trouvé que les feuilles de *c. albidus* sont pauvres en huiles essentielles.

-Le screening phytochimique a permis de mettre la présence des tanins, des tanins catéchiques en faible quantités, des tanins galliques, des quinones combinés, des flavonoïdes, des saponines, des caumarines, des leuco anthocyanes, des composés réducteurs, et des stérols et triterpènes en faibles quantités.

-Le dosage quantitatif des polyphénols a montré que l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles de *c. albidus* contient 10,12mg EAG/mg de MS et 11,5mg EAG/mg de MS respectivement.

-L'étude de l'activité antioxydant de l'extrait aqueux et méthanolique par la méthode de DPPH a révélé que les deux extraits possèdent une bonne activité antioxydant avec une IC50 de 0,15mg/ml et 0,09mg/ml respectivement.

-L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux et méthanolique du *Cistus albidus* à révéler que l'extrait aqueux est exercé un effet inhibiteur moyen sur *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter freundii*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibition de 12mm, 11mm, 13mm, 10mm respectivement.

-Par ailleurs, l'extrait méthanolique à la concentration de 50mg/ml présente un fort pouvoir antibactérien contre *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* et *Escherichia coli* par l'apparition des zones d'inhibition de 17mm, 15mm et 17mm respectivement, et à la concentration de 200 mg/ml a montré un effet antimicrobien très fort sur *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus spp* par l'apparition des zones d'inhibition de 25mm et 30 mm respectivement

Perspectives :

Comme perspectives et en vue de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait nécessaire également :

-Réaliser une enquête ethnobotanique sur la connaissance de la plante et extraire leur huile essentielle.

-Caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques par des méthodes spécifiques.

- Réaliser étude *in vitro* est souhaitable, pour obtenir une vue globale sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits testés.

Références bibliographiques

Bérubé-Gagnon J. 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de l'université de Québec.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} édition, Tec & Doc, Paris, 387-402.

Cuendet M., 1999. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.

Harborne J.B., and Williams C.A. (1998). Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504.

Iserin, P., Masson, M. & Restellini, J.P., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse-Bordas, pp. 336.

Kansole M., 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Lugasi A., Hovari J., SagiK., and Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica. szegediensis*. 47 (1-4):119-125.(Cited in Mohammedi Z, 2005)

Marie Elisabeth L., 2007. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes

Romero M.R., Efferth T., Serrano M.A., Castano B., Macias R.I., Briz O, and Marin .J. (2008). Effect of artemisininartesanate as inhibitors of hepatitis B virus production in an “in vitro” system. *Antivir Res.* 68: 75-83

Thomas ; O.P., 2009. Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Univesité Nice Sophia Antipolis.

Vermerris W., 2006. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).

Águeda, B., Parladé, J., . Fernández - Toirán, 2008. Mycorrhizal synthesis between *Boletus edulis* species complex and rockroses (*Cistus* sp.). *Mycorrhiza* 18:443-449.

Aguiar, F.,Ferreira, M. T Albuquerque, A., and I. Moreira. 2007. Alien and endemic flora at reference and non-reference sites in Mediterranean-type streams in Portugal. *Aquatic Conservation, Marine and Freshwater Ecosystems.* 17:335-347.

Ain/lhout,F., Diaz -barradasI, M. C., Zunzunegui, M. Rodriguez,H, F. garcía, F Novo, and Vargas, M.A. 2004. Seasonal differences in photochemical efficiency and chlorophyll and carotenoid contents in six Mediterranean shrub species under field conditions. *Photosynthetica.* 42(3):399-407.

Akroun, 2006. Etude des propriétés biochimiques des **polyphénols** et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba* L.Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme Master **de: Magister.** Option Biochimie et Microbiologie Appliquée, Université Mentouri de Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie .Département des Sciences de la Nature et de la Vie **pp 58.**

Albertini, 2003. Gestion des cistaies sur coupures de combustible. Éd. de la Cardère Morières, **pp 85** .

Alvarez, F. 2001. *Cistus* y *Halimium* in Claves de Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. I. Pteridophyta, Gymnospermae, Angiospermae (Lauraceae - Euphorbiaceae).Real Jardín Botánico. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid.:**293-298.**

Angelopoulou, D., Demetzos, C., Perdetzoglou, D., 2002 . Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. *Biochemical Systematics and Ecology*, **Greece**, N°30 : 189–2033 ».

Athamena , 2010 . Activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal, Lebanone* Vol. 11, No. 1).

Athamena, 2009. Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. These pour l'obtention Magister. Option biochimie appliquée. Faculté des sciences. Département de biologie ,126p)

Attaguile, G., Perticone, G., Mania, G., Savoca, F., Pennisi, G., and Salomone, S. 2004. *Cistus incanus* and *Cistus monspeliensis* inhibit the contractile response in isolated rat smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology* , **Italy**. N° 92 245–250.

Attaguile, G., Russo, A., Campisi, A., Savoca, F., Acquaviva, R., Ragusa, S., and Vanella, V., 2000. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. 1Institute of Pharmacology, 2Institute of Biochemistry, 3Department of Botany, University of Catania, Catania, Italy, N°65:170–178.

Barbara, 2008. les fleurs qui guérissent, édition de la Courrier du livre , France pp 21-22.

Bayer, E., Buttler, K.P., Finkenzeller, X., et Grau, J et al, 2001. Guide de la flore méditerranéenne ,édition Delachaux et Niestle,Italie pp 136 vol 287.

Ben Jemia, M., Elyes Kchouk, M., Senatore, F., Autore, G., Marzocco, S., De Feo, V., and Bruno., M, 2013. Antiproliferative activity of hexane extract from Tunisian *Cistus libanotis*, *Cistus monspeliensis* and *Cistus villosus*. *Chemistry Central Journal*, **Italy**, vol 7”

Beniston N.T et Beniston W.S, 1984. Fleurs d'Algérie. Edition Entreprise nationale du Livre. Algérie. 359p.

Benmansour , 2013. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques des fruits d'*Helianthemum lippii* (Rguig). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme Master en Biologie Option Science des aliments. Université Aboubakr Belkaid. Tlemcen. Alger. P : 33.

Botineau , 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition TEC & DOC. Lavoisier. Paris» 1403p.

Bouamama, H., Noel, T., Villard, J., Benharref, A., et Jana M, 2006. Antimicrobial activity of the leaf extracts of two Moroccan *Cistus* L. species, *Journal of Ethnopharmacology*, Ireland, Vol 104 : 104-107».

Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. 2008. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, 331: 48–55.

Bouzerkoune, 2014. étude phytochimiques de la plante *Heliathemum kahirium*. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de magister en Chimie. Université Hadj Lakhder-Betna .Faculte de sciences departement de chimie, N°107.

Bremner, P., Rivera, M.A. Calzado, M A., Obón, C. Inocencio, C., Beckwith, C., Fiebich, B.L., Muñozc, E et Heinrich M. 2009. Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor-Kappa B and other pro-inflammatory mediators, *Journal of Ethnopharmacology* 124 , Leicester, p295–305

Bruneton, J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.) édition TEC&DOC , Lavoisier. Paris» 1292 p.

Fauchere ,L. ; et Avril, j., 2002. *Micobiologie général et médical*. Edition ellipses Paris.P141-319.

Francois, 2012. Les plantes et leurs noms, edition Quae, Espagne pp 45 vol 223.

Guerrida, 2011. Contribution à l'étude de l'activité antioxydant de *Rhetinolepis Lonadioides* Coss These pour l'obtention du diplôme de Master en Génie des Procédés. Option : Génie d'environnement. Université kasdi marbah Ouargla Faculté des Sciences et de la Technologie et Science de la matière Département de Génie des Procédés.61p)

Iserin P, 1997. Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2eme édition, Paris, France : Thèse magister, Etude phytochimique de la plante *HelianthemumKahiricum*, université Hadj Lahkdar-Batna. 290p.

Iserin P, 2001. Encyclopédie des Plantes Médicinales, 1eme édition, Larousse, Paris. 335p.

Iserin Paul, 1997 «Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2eme édition, Paris, France :

Julie, M., Geoff, B., Sue, F., Denise, G., Sarah, G., Michelle, H., Milanie, L., Sue,H., Gregory, J., Peter, L., Ross, M., Stialling,M., Bill, M., Douglas, M., Judy, M., Dalys, N., Tim, Julie, S.,2005.Botanica .encyclopédie de botanique et d'horticulture, édition tandem verlag, France pp130 vol 992.

Kaloustian P, (2012). La connaissance des huiles essentielles. édition brochage. France p12, 13, 27,vol 210.

Kanoun D, 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtuscommunis*L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister En Biologie. Université AboubekrBelkaid Tlemcen Faculté des science de la nature et de la et science de la terre et de l'univers Département de biologie Laboratoire de produit naturels, vol 56.

Kebbab R, 2014. Etude de pouvoire antioxydant des polyphénoles issues des margines d'olives de la varietéChamlal ;évaluation de l'activité avant et après déglycosylation.These pour l'obtention Magister .spécialite science biologique. Option biochimie appliquée aux bio-industries. Faculte des sciences biologique et sciences agronomique .(Departement de Biochimie-microbiologie), vol 171.

Lahkdar-Batna» P : 3.

Lucienne N, 2007. Les plantes médicinales d'Algérie, BERTI édition, Alger p50,vol 198.

Mahassine, A., Esther, S., José Angel, P.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 Hum Nutr, Spain et Morocco ,pp 9 ».

Margot R, 2008. 350 arbres et arbustes, édition Delachaux et Niestle,Italie pp 178 vol 256.

Ould El Hadj M. Didi, Hadj-Mahammed M., Zabeirou H. « Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouaragla ». Courrier du savoir- N 03, PP. 47-51, Janvier 2003.

Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., Polat, G. (2007).Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.

Annexe I



Figure 8 : Photos originale 2016 de *Cistus albidus*

Appareillage et petit matériel :



Figure 9 : Dispositif de Clevenger

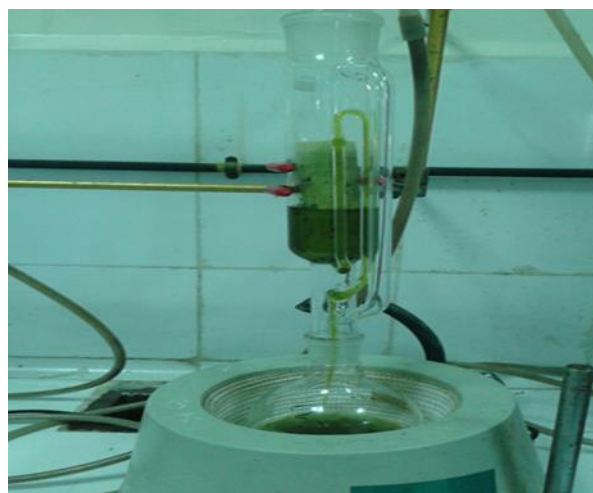


Figure 10 : L'appareille de soxhlet

Annexes



Figure 11 : L'appareille de Dean et Stark



Figure 12 : Spectrophotomètre



Figure 13: Etuve



Figure 14: Balance de précision



Figure 15: Rotavapeur

Annexes

Tableau VI : liste des appareillages et des réactifs utilisé durant la période de stage.

Appareillages	Petite matérielles	Réactifs et solution	Verrerie
Clevenger	Coton	Méthanol	Erlen Mayer
Bain marie	Bande à gaz	Toluène	Pipette Pasteur
Bec bunsen	Cartouche	HCL (0,1N ; 1N ;	Fiolle conique
Plaque chauffante	Etiquettes	2N)	Eprouvette
Etuve	Seringue pour le	NaOH (0,1N)	Becher
Hotte.	gavage.	Fecl3	Tube à essai
Soxhlet	Papier filtre	Propanol/Acide	Creusé
Spectrophotomètre	Papier aluminium	chlorhydrique	La poire
Balance de précision	Entonnoir	Réactif STIASNY	La portetoire
Rotavapeur	Boite de Pétri	Acétate de sodium	Burettes
L'appareille de Dean et Stark		Ammoniaque	Spatule
		Réactif d'amidon	
		Acide sulfurique	
		Ethère chloroforme	
		Réactif de	
		Dragendroff	
		Réactif de Valser et	
		Mayer	
		KOH	
		Copeau de	
		magnésium	
		Alcool iso -	
		amylique	
		Acide d'anhydride	
		acétique	
		Réactif d'amidon	
		Eau distillée	
		Eau de javel	
		Eau physiologique	

Réactif Amidon :

L'amidon est caractérisé par un réactif spécifique connu sous le nom d'amidon. Ce dernier a été préparé comme suit :

Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium.

Chauffer pendant 5 minutes.

Diluer jusqu'à 500 ml.

La détection d'amidon s'effectue comme suit :

Chauffer 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition.

Ajouter le réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-violacée.

Réactif de STIASNY:

2 volumes de formol (50ml) +1 volume de Hcl1N(25ml).

Réactif de Dragendroff : ce réactif est composé de deux solutions :

Solution A : 2 g de subnitrate de bismuth, 25 ml d'acide acétique glacial et 100ml d'eau distillée.

Solution B : 40 g d'iodure de potassium et 100 ml d'eau.

Le réactif est préparé en mélangeant 10 ml des solutions A et B à 20ml d'acide acétique glacial et 100ml d'eau distillée.

Annexe II

Fiche d'enquête ethnobotanique

Université Saad Dahleb (Blida 01)

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie des populations et des organismes (BPO)

Master II : Phytothérapie et santé

Fiche Ethnobotanique

Sur la connaissance de la plante de *Cistus albidus* L.

Dans la Région : Blida et de Tipaza

1-Renseignements sur l'informateur :

Sexe : Masculin Féminin

Niveau intellectuel : Analphabète primaire

Secondaire Universitaire

2- Renseignements sur la plante :

-Connaissez-Vous Cette Plante ? Oui Non

-Quelle est le mode d'utilisation :

Infusion Macération Décoction

-Quelle est la partie utilisée ?

Ecorce Feuille

Plante entière Fruit

-Dans quel cas ?

Diabète Estomac Bouton

Tableau XII: Résultat de l'enquête ethnobotanique.

Question			Nombre de personne	Pourcentage
Question 01	Connaissez – vous la plante	Oui	30	25%
		Non	90	75%
Question 03	Le mode d'emploi	Infusion	16	64%
		Décoction	9	36%
Question 04	La partie utilisée	Ecorce	0	0%
		Feuille	8	32%
		Plante entière	17	68%
		Fruit	0	0%
Question 05	Les maladies traitées par la plante	Diabète	7	28%
		Estomac	12	48%
		Bouton	6	24%

Annexe III

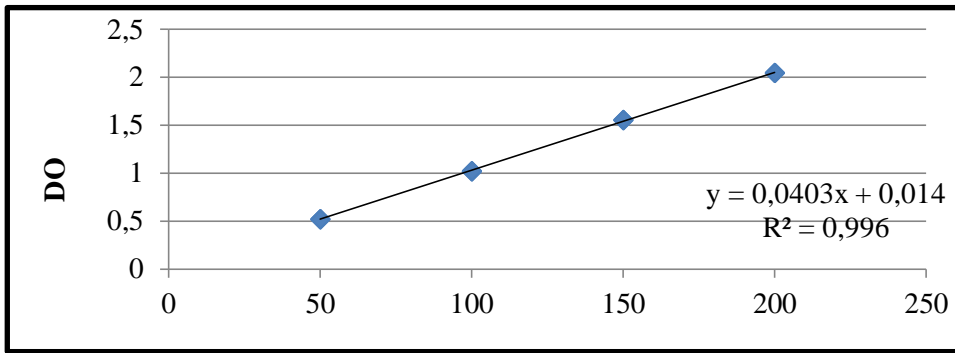


Figure 17 : la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Résultat de l'activité anti-oxydant.

Résultats du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de la plante entière de *Cistus albidus* vis-à-vis l'acide ascorbique par la méthode de DPPH (2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl).

Tableau VIII : Résultat du pouvoir antioxydant pour l'extrait aqueux

Dilution	0,5	0,05	0,005	0,0005
Absorbance de l'extrait aqueux	0,118	0,115	0,068	0,065
Inhibition (I%) de l'extrait aqueux	87,56	92,87	93,15	95,67

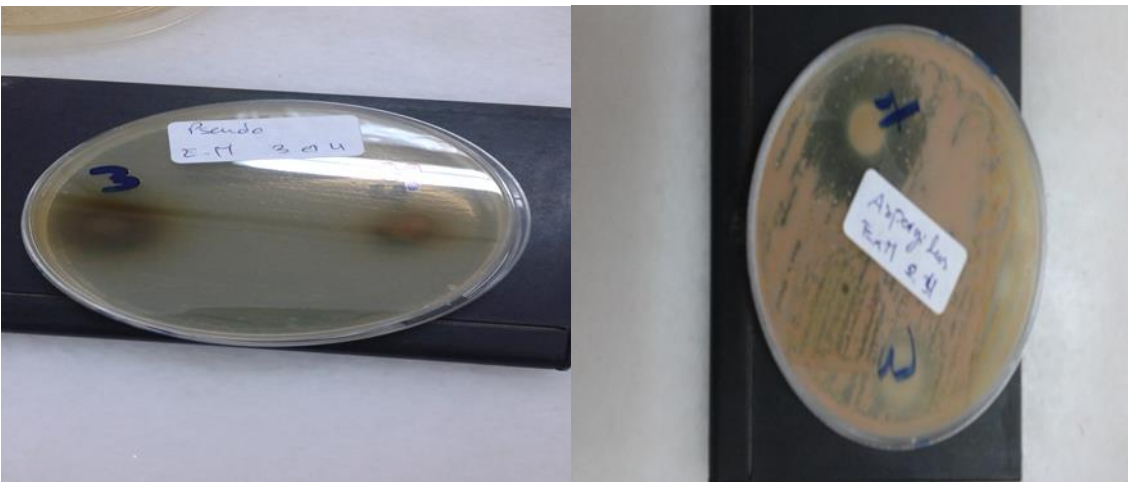
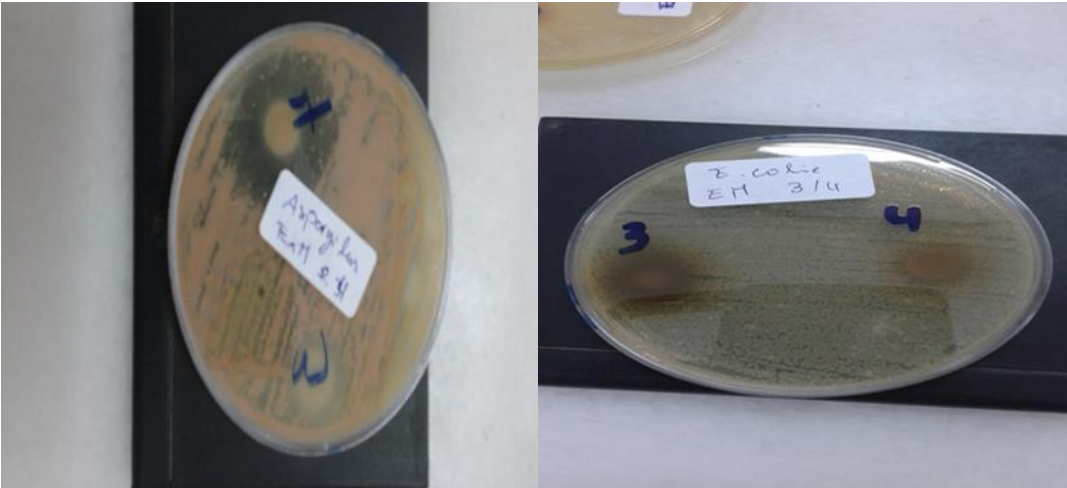
Tableau IX: Résultat du pouvoir antioxydant pour l'acide ascorbique

Concentration (mg/ml)	0	0,3	0,03	0,003	0,0003
Absorbance (nm) de l'acide ascorbique	0	0.066	0.268	0.483	0.835
I (%) d'inhibition de l'acide ascorbique	0%	94.77%	78.78%	61.75%	15.04%

Tableau X : Résultat du pouvoir antioxydant pour l'extrait méthanolique

Concentration mg/ml	0	0.04	0.106	0.16	0.37
Absorbance (nm) de l'extrait méthanolique	0	0,756	0,509	0,373	0,161
I (%) d'inhibition de l'extrait méthanolique	100	20,33	46,36	60,69	83,03

Annexe IV



Résultat de l'activité antibactérienne

Annexes

Tableau XI : résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de la plante entière de *Cistus albidus* pour laboratoire d'hygiène et CRD.

(Bactérie/Levure)	Infusé 0.5mg/ml	Infusé 0.2mg/ml	Extrait méthanolique 50mg/ml	Extrait méthanolique 200mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Serratia marcescenc</i>	-	-	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus.spp</i>	-	-	-	+
<i>Candida albicans</i> (Levure)	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerviciae</i> (Levure)	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	/	/
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	/	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	/	/
<i>Candida albicans</i> (Levure)	-	-	/	/
<i>Saccharomyces cerviciae</i> (Levure)	-	-	/	/

