République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed Draïa Adrar

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature e de la vie

MÉMOIRE

MASTER ACADÉMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Système de Production Agro-écologique

Intitulé

Détermination des polyphénols du *Cistanche tinctoria* et évaluation de leur pouvoir antioxydant

Présenté par :

BOURDIM FATMA

YAKOUB AMRIA

Soutenu publiquement le : -- /--/2020

Membres de jury :

Président : Mr. ABEKHTI Abdelkader	M.C.A	Univ. Adrar
Promoteur: Mr. NANI Abdelhafid	M.C.A	Univ. Adrar
Co-Promoteur: Mr. KADRI Yasser	M .A.A	Univ. Adrar
Examinateur : Mr. OUAINI Abderrahmane	M.A.A	Univ. Adrar

Année universitaire 2019/2020

DEDICACE

Je dédie ce travail qui est le fruit de plusieurs annés d'étude à :

Mes parents : Mohammed et M. Zohra

A tous les membres de ma famille « BOURDIM ».

Mes frères: Saber, Ahmed, Abdelkarim, Sadik.

Ma seule sœur : Khaira.

Mes belles sœurs.

Aux petites anges : Nawfel Amin et Abdelbadie

A mon cher : Hachemi

A mà chère binôme :💙 AMRIA 💙

A mes amies : Malika, Saida, Fadila, Fatima, Fatiha, Saliha,

Djamila, Nawal, Nedjla, Amal, Asma,

Sauad, Zohra, Wahiba.

A tous mes camarades de classe sans exception

Fatma

Dédicace

- *Je te dédie ce succès à « ma mère » bien-aimée. Que Dieu prolonge ta vie. Tu m'as appris à donner sans attendre le retour. Tu m'as planté dans le sens le plus élevé des vertus, m'a soutenu et encouragé à continuer et à réussir.*
- *À ce grand édifice, qui m'a appris la noble création « mon cher père » que Dieu le protège.*
- *A mes frères et sœurs qui m'ont soutenu dans ma vie sans oublier mes neveux et mes nièces, chacun en son nom.*
- *A mes sœurs qui ont prouvé que les frères ne sont pas seulement dans l'utérus.*
- *À ma collègue et sœur « Fatma Bourdim », ma compagne de ce succès.*
- *A toi, mon honorable professeur : Nani Abdelhafid, parce que tu m'as appris que l'encouragement du professeur pour son étudiant est une forte motivation pour qu'il progresse.*
- *À tous mes voisins, proches et connaissances.*
- *À tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé dans ma vie et m'ont donné un coup de pouce.*
- *Aux camarades de classe et à toute la promotion 2018/2020de master System de Production Agro-écologique.*

AMRIA

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier tout d'abord et à témoigner toute notre reconnaissance au Bon Dieu le tout puissant pour nous avoir donné l'aide, la santé, la patience le courage et la volonté.

*-Nous adressons agréablement nous vives remerciements à notre promoteur**: Mr NANI ABDELHAFID** Maitre de Conférence classe A, de l'Université Africaine d'Adrar, qui nous a aidé à l'élaboration de notre projet de fin d'étude pour ses conseils, son encouragement, qui nous a vraiment orienté et nous a donné de son temps tout au long de la rédaction de ce travail et d'avoir bien voulu le diriger.*

*-Nous tenons à remercier profondément à notre Co-promoteur : **Mr KADRI YASSER** Maitre-assistant classe A, de l'Université Africaine d'Adrar, pour ses conseils, son encouragement dans le but de l'élaboration de ce projet de fin d'étude.*

*-Que nos profondes gratitudes soient adressées au Président du jury **Mr ABEKHTI ABDELKADER** Maitre de Conférence classe A, de l'Université Africaine d'Adrar pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider notre jury de soutenance.*

*-Nous voulons exprimer nos sincères remerciements à **Mr OUAINI ABDERRAHMANE**, Maitre -assistant classe A**,** de l'Université Africaine d'Adrar, pour l'honneur qu'il nous fait en examinant ce modeste mémoire.*

*-Nous remercions également Mr **BOUKHETACHE Ishak**, Ingénieur au Laboratoire Pédagogique de Chimie à l'Université Africaine d'Adrar qui n'a épargné aucun effort pour nous permettre d'accomplir la partie expérimentale de ce travail aux termes malgré la situation particulière que vit le monde entier (Pandémie Covid-19).*

-Nous présentons nos sincères remerciements à tous nos enseignants.

-Enfin, nous reformulons nos remerciements à toutes les personnes qui ont mis leurs taches dans la réalisation de ce modeste travail, et qui sont si nombreux pour en faire une liste exhaustive.

MERCI À TOUTES & À TOUS

Liste des abréviations

%: pourcentage.

Ac : acétone

AG : acide gallique.

***C.* :** *Cistanche.*

C° : dégrée celcuis.

DPPH° : 1 :1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

DPPHH : 2 :2-diphényle picrylhydrazile stable.

EBCT : extrait brute du *Cistanche tinctoria*.

EC50 : concentration inhibitrice 50%.

mg EAG/Ms : milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

mg EC/Ms : milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche.

MS : matière sèche.

Listes des figures

N°	Titre	Page
1	Principaux acides hydroxy benzoïque.	07
2	Principaux acides hydroxy cinnamiques.	08
3	Structure de base des flavonoïdes.	09
4	La structure chimique d'anthocyane.	11
5	Un exemple de stilbénes (resvératrol).	12
6	Structure chimique des lignines.	13
7	Structure chimique d'un tannin hydrolysables (Gallotannins (1), Ellagitannins (2).	14
8	Structure générale des pro- anthocyanidines.	15
9	*Cistanche flavasubsp*. bicolor.	18
10	La distribution potentielle de la Cistanche prévue par le modèle MaxEnt dans *C. sinensis*..	21
11	Photo du *Cistanche tinctoria*	26
12	Extrait brut des bulbes du *Cistanche tinctoria (*EBCT)	30
13	Pesée du ballon contenant l'extrait sec	31
14	Dosage des flavonoïdes dans l'extrait brut du *C. tinctoria*	34
15	Dosage des tanins condensés	35
16	Réaction de réduction du DPPH$^{\bullet}$ par les antioxydants.	36
17	Photo montrant l'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH	37
18	Le pourcentage de l'humidité et de matière sèche	39
19	rendement d'extraction de cistanche tinctoria et violacea	40
20	Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux	41
21	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	42
22	Courbe d'étalonnage des tanins condensé	43
23	d'inhibition du radical DPPH de l'extrait brut du *cistanche tinctoria*	44
24	Valeurs d'EC50 en (mg/ml)	45
25	Valeurs d'EC50 en (mg/g DPPH)	46

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Les principales familles de flavonoïdes.	10
02	Matériels et produits chimiques utilisés.	27

Résumé

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes qui ont de maintes propriétés biologiques que tel que le pouvoir antioxydant. Ce travail a pour but de procéder une extraction des composés phénoliques des bulbes du *Cistanche tinctoria* avec un système de solvant « ternaire » composé de méthanol/acétone/eau ; 7/7/6 ; V/V/V. Les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins condensés sont dosés, par colorimétrie, dans l'extrait brut ainsi obtenu. Le pouvoir antioxydant de l'extrait brut est évalué par la méthode DPPH. Les résultats ont révélé que les bulbes du *Cistanche tinctoria* sont riches en polyphénols, flavonoïdes, et tanins condensés avec des teneurs de 16,14 mg EAG/g MS, 11,31 mg EC/ g MS, 97,14 mg / 100 g MS respectivement. Le test DPPH a montré que l'extrait brut des bulbes du *Cistanche tinctoria* a un potentiel anti radicalaire notable avec une EC50 de 87,47 mg/ g DPPH. Enfin, la richesse des bulbes du *Cistanche tinctoria* en polyphénols pourrait expliquer le recours à son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Mots clés : *Cistanche tinctoria*, bulbes, composés phénoliques, pouvoir antioxydant, DPPH.

Abstract

Polyphenols are secondary metabolites of plants which have many biological properties such as antioxidant power. The aim of this work is to extract the phenolic compounds from the bulbs of *Cistanche tinctoria* with a ternary solvent system composed of methanol / acetone / water; 7/7/6; V / V / V. Polyphenols, flavonoids and condensed tannins are determined, by colorimetry, in the obtained crude extract. The antioxidant power of the crude extract is assessed by the DPPH method. The results revealed that the bulbs of *Cistanche tinctoria* are rich in polyphenols, flavonoids, and condensed tannins with contents of 16.14 mg EAG / g MS, 11.31 mg EC / g MS, 97.14 mg / 100 g MS respectively. The DPPH test showed that the crude extract from the bulbs of *Cistanche tinctoria* has a notable free radical scavenging capacity with an EC50 determined at 87.47 mg / g DPPH. Finally, the richness of the bulbs of *Cistanche tinctoria* in polyphenols could explain its use in traditional medicine.

Key words: *Cistanche tinctoria*, bulbs, phenolic compounds, antioxidant power, DPPH.

ملخص

البوليفينول عبارة عن مركبات ايضية ثانوية نباتية لها العديد من الخصائص البيولوجية مثل القوة المضادة للأكسدة. يهدف هذا العمل إلى استخلاص المركبات الفينولية من بصيلات *Cistanche tinctoria* بنظام المذيبات الثلاثي المكون من الميثانول / الأسيتون / الماء ؛ 6/7/7 ؛ V / V / V. يتم تحديد البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف ، عن طريق قياس شدة اللون ، في المستخلص الخام الذي تم الحصول عليه. يتم تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلص الخام بواسطة تقنية DPPH. أظهرت النتائج أن بصيلات *Cistanche tinctoria* غنية بالبوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف بمحتويات 16.14 مجم EAG / جم MS و 11.31 مجم EC / جم MS و 97.14 مجم / 100 جم MS على التوالي. أظهر اختبار DPPH أن المستخلص الخام لبصيلات *Cistanche tinctoria* لديه إمكانات كبيرة مضادة للجذور الحرة الملحوظة مع القيمة EC50 حددت ب87.47 مجم / جم DPPH. أخيرًا ، يمكن لغنى *Cistanche tinctoria* بالبوليفينول أن يُفسر اللجوء إلى استخدامها في الطب التقليدي.

. **الكلمات الأساسية:** DPPH ، البصيلات، المركبات الفينولية ، القوة المضادة للأكسدة ، *Cistanche tinctoria*

Dédicaces…….…….…….. I
Remerciements…….. III
Liste des abréviations…….…….IV
Liste des figures……...V
Liste des tableaux…….……...VI
Résumé ……..…….....…VII
Abstract ……...VIII
ملخص……..……IX

Table des matières

Introduction ……...02

Première partie : synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur les polyphénols

I.les composés phénoliques ……....06
I.1. Définition des polyphénols 06

2. CLASSIFICATION…….....06
I.2.1.Acides phénols simples…….06
I.2.1.1.acide hydroxy benzoïque……..…07
I.2.1.2. acide hydroxy cinnamique……..…….07
I.2.2.Flavonoïdes…….....08
I.2.3.Anthocyanines……....11
I.2.4.Stilbènes……..11
I.2.5.Lignines……..12
I.2.6.Tannins……...……13
I.2.6.1.Tanins hydrolysables……..…13
I.2.6.2.Tanins condensés…….14

Chapitre2. *Cistanche tinctoria*

I. Généralités sur Cistanche …….…….*17*
I.1.Présentation de la plante *Cistanche tinctoria*……...*17*
I.2.La taxonomie de l'espèce…….…..19
I.3.Distribution géographique de la Cistanche……..19
I.4.Utilisation traditionnelles……...21
II. Phytochimie de la cistanche ……22

Deuxième partie: partie expérimentale

Chapitre 3. Matériel et méthodes

I. Objectifs de l'étude……..26

II. Préparation de matériel biologique végétale……...26

III. Matériels et produits chimiques utilisés…….....27

IV. Méthodes d'analyses physico-chimiques utilisées …….28

IV.1. Détermination du taux d'humidité.....…...28

IV.2.Extraction des polyphénols totaux……..…...29

IV.3.Dosage des polyphénols……...31

IV.4.Dosage colorimétrique des flavonoïdes. …….....32

IV.5. Dosage des tanins condensés…….….34

IV.6. Mesure du pouvoir antioxydant de l'extrait brut des bulbes du

C. Tinctoria*……...*36

Chapitre 4 : Résultats et discussion

I. Détermination du taux d'humidité…….....39

II. Rendement d'extraction……39

II.1. Détermination du taux des polyphénols……40

II.2 Détermination du taux des flavonoïdes……..…....42

II.3. Détermination du taux des tanins condensé……..…...43

III. Evaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par la méthode DPPH……..…...44

Conclusion……....48

Références bibliographiques……..50

Introduction générale

Introduction

L'exploration des vertus thérapeutiques des produits naturels est une croyance ancienne et établie **(Dutertre, 2011).**Cependant, la civilisation actuelle a développé une industrie pharmaceutique suite à l'essor en chimie organique. Ceci a privilégié les médicaments synthétiques dans la médecine moderne **(Rates ,2001).** Toutefois, les plantes médicinales restent encore le remède de choix pour de nombreuses populations or 80% des habitants du monde dépendent des plantes pour couvrir leurs besoins de soins de santé primaires **(Beyene et deribe, 2006).** Nous estimons qu'il y a entre 250 000 et 500 000 espèces de plantes sur terre qui sont depuis longtemps considérées comme une grande ressource des substances phytochimiques bioactives **(Borris ,1996).** D'ailleurs, 25 à 50% des médicaments actuellement prescrits par les médecins sont des dérivés de plantes **(Cowan, 1999).**

Les plantes médicinales sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racines, feuilles, fleurs **(Dutertre, 2011)**. Ces différentes techniques permettent l'extraction des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protides, lipides, elles synthétisent et accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents tels que que la pharmacologie ou l'agroalimentaire **(Macheix *et al*., 2005).** D'après **Amlan et Patra (2010),** plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées. Ces structures jouent un rôle important dans l'odorat et protection de plante contre les ravageurs et radiations ultra-violets solaires **(Kamra *et al*., 2006).** Ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, telle que l'attraction des insectes pollinisateurs **(Greathead, 2003),** communication intercellulaire, défense et régulation des cycles catalytiques **(Guillaume, 2008).**

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les terpènes, les alcaloïdes, et composés phénoliques. Ce dernier groupe appelé également polyphénols renferme plus de 8000 structures allant de simples molécules comme les acides phénoliques, jusqu'aux les substances hautement polymérisées comme les tanins **(Dai et Mumper, 2010).** Ces molécules constituent la base des principes actifs trouvées au niveau des plantes médicinales. Ils possèdent un effet antioxydant, antibactérien et antifongique et ils sont des protecteurs contre l'apparition de certains cancers **(Macheix *et al.*, 2005).** En effet, une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E **(Scalbert *et al.*, 2005)**

La Cistanche est une plante parasite de la famille des Orobanchacées puissante de 3 à 12 dm ,aux tiges souvent en touffes. Les fleurs, ainsi que toute la plante sont jaunes .Le tube de la corolle s'évase brusquement au-dessus de l'insertion des étamines **(Ozenda, 1991).** Cette plante assez commune aux Hauts plateaux et au Sahara septentrional, est plus rare au Sahara occidental, central et Méridional **(Ozenda, 1991).** Dans les pratiques traditionnelles, cette plante est utilisée pour ses propriétés aphrodisiaques ou encore comme tonique pour le traitement de l'insuffisance rénale **(Yong et peng, 2009).** La cistanche peut améliorer de la métrorrhagie prodigue et de la constipation sénile **(New Medical College, 1977).**La poudre de cistanche est appliquée pour les blessures comme homéostat.

Dans la littérature scientifique, peu de travaux se sont portés sur l'étude phytochimique de la cistanche **(Wang et *al.* 2012 ; Liu et *al.*, 2013 ; Ebringerova et *al.*, 1997 ; Deyama et *al.*,2006).** D'après nos connaissances, aucun rapport sur l'isolement de métabolites secondaires de *Cistanche tinctoria* n'est disponible à ce jour. Dans cette optique, l'objectif de ce travail est de faire une extraction des polyphénols à partir des bulbes du *Cistanche tinctoria*. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés sont dosés dans l'extrait brut aussi obtenu. Ensuite le pouvoir antioxydant de l'extrait brut est évalué par la méthode DPPH.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 : ***Généralités sur les polyphénols***

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes **(Lutige et *al*., 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007)** .

I. Les composés phénoliques

I.1. Définition des polyphénols

Les polyphénols également dénommés composés phénoliques sont des métabolites secondaires très largement répondus dans le règne végétal **(Harnly et *al*., 2007 ; Quideau et *al*., 2011)**. Les polyphénols ont tous en commun un cycle aromatique (C6) portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, libre ou engagées dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre, etc.) **(Michalak, 2006)**.

I.2. Classification des polyphénols

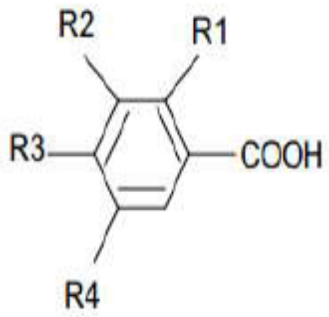
Plus de 8000 composés phénoliques ont été isolés dans une grande variété de formes **(Batra et Sharma, 2013)**. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples vers les molécules les plus hautement polymérisés (tanins condensés) **(Harnly et *al*., 2007)**.

I.2.1. Acides phénols simples

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ces composés peuvent être divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique **(Massimo et *al*., 2007)**.

I.2.1.1. Acides hydroxybenzoïques

Ils sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (**Macheix et *al.*, 2005)**. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondant sont répertories dans la (Figure 01).

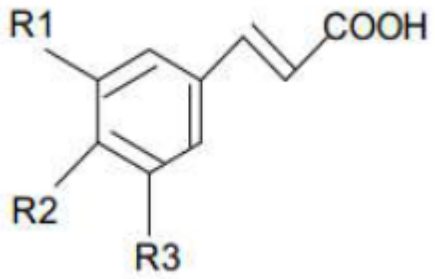


R1	R2	R3	R3	Acides phénoliques
H	H	OH	H	Acide p hydroxy Benzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatechique

Figure01 : Principaux acides hydroxybenzoïques **(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)**.

I.2.1.2. Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base est (C6-C3) dérivé de celle d'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique **(Psotova et *al.*, 2003)**. Ils entrent dans la composition de nombreux végétaux (surtout les fruits) et existent sous forme d'esters hydrosolubles (acide caféique) ou insolubles, associés aux fibres (acide férulique) **(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)**. Les acides hyroxynamiques les plus abondant sont répertories dans la figure 02.



R1	R2	R3	acide phénolique
H	H	H	acide cinnamique
H	OH	H	acide P coumarique
OH	OH	H	acide caféique

Figure 02: Principaux acides hydroxycinnamiques **(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)**.

I.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les principaux métabolites secondaires végétaux **(Ralston et *al.*, 2005)**. Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques ayant une structure benzo-γ-pyrone et sont omniprésents dans les plantes. Ils sont synthétisés par voie des phénylpropanoïdes (**Winkel-Shirle, 2000)**. Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, ou ils peuvent être localisés dans divers organes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits **(Havsteen et *al.*, 2002)**.

Plus de 6000 variétés de flavonoïdes ont été identifiés dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits, et des feuilles **(Panche et al., 2016)**. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle central C **(Erdman et *al.*, 2007)** (Figure 03).

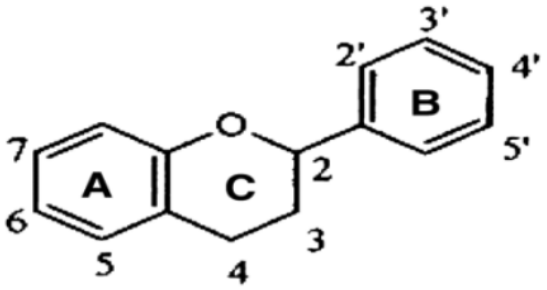
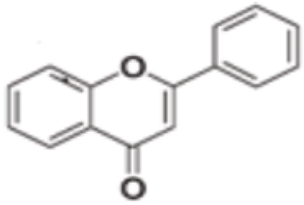
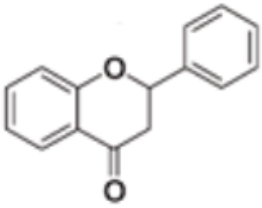
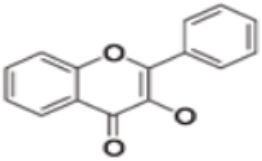
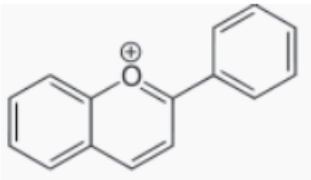


Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes **(Stefk, 2011)**.

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes sur la base de leur structure moléculaire. Les 5 principaux groupes de flavonoïdes, ainsi que les exemples les plus connus de chaque groupe, la structure moléculaire de chaque groupe de flavonoïdes et leurs sources alimentaires sont présentées dans le tableau 01.

Tableau 01: Les principales familles de flavonoïdes **(Massimo et *al*., 2007)**.

Familles	Exemples	Structures	Sources de nourriture
Flavones	Apigénine, lutéoline		les oignons, les pommes, le brocoli , les baies et percsil
Flavanones	Naringénine, Butine		les agrumes
Flavonols	Kaempférol, Isorhamnetine, Quercétine, Myricétine		le thé vert et noir, le vin rouge, oignons et tomate
Anthocyanidines	Cyanidine, delphicianidine, pelargonidine, péonidine, petunidine		les fraises, les baies, les raisins, le vin et le thé
Flavone-3-ol= Flavanol	Catéchine, gallocatechine, Epicatechine, Gallate		Chocolat, abricot

I.2.3. Anthocyanines

Les anthocyanines sont des composés phénoliques d'origine naturelle responsable de la couleur de nombreuses fleurs, fruits et baies. Ils sont glycosylés, polyhydroxylés (figure 04) et ont une large distribution dans le règne végétal **(Qin et *al*., 2010)**. L'intérêt pour ce type de pigment a augmenté essentiellement en raison de leur possible utilisation comme colorant naturel. A cause de leur hydro solubilité (les anthocyanes sont le plus grand groupe de pigments solubles dans l'eau). Ils peuvent être en effets bénéfiques pour la santé comme agents anti-inflammatoires **(Longo et *al*., 2005)** et agent antioxydant **(Ghosh et Konishi, 2007)**.

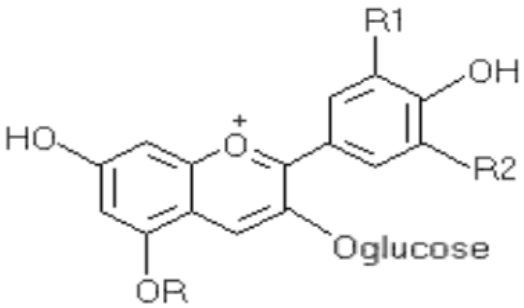


Figure 04: Structure chimique d'anthocyane **(Sava et *al*., 2006)**.

I.2.4. Stilbènes

Les stilbènes sont de petits poids moléculaire (environ 200-300g/mol) qui sont d'origine naturelle et se retrouvent dans un large éventail de sources végétales, des produits d'aromathérapie, et des compléments alimentaires. Les stilbènes agissent comme agents protecteurs naturels pour défendre la plante contre les attaques virales et microbiennes et exposition aux ultraviolets excessive **(Roupe et *al.*, 2006)**. le resvératrol est le stilbène le plus abondant (figure05) qui est connu essentiellement

pour ses diverses propriétés biologiques d'où son utilité pharmaceutique et médicinales **(Delmas et *al*., 2003)**.

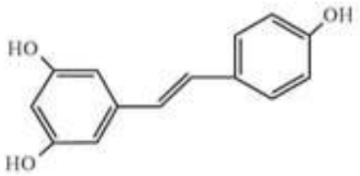


Figure 05: Un exemple de stilbènes (resvératrol) **(Macheix et *al*., 2005)**.

I.2.5. Lignines

Ce sont les composants majeurs de la paroi cellulaire. Les lignines (du latin *lignum*, bois) sont les polymères les plus abondants après la cellulose (forme la paroi végétale) **(Ralston et *al*., 2005)**. Ils forment une structure hétérogène et agissent à la fois sur le maintien de l'intégrité structurale de la paroi cellulaire, ainsi qu'un échafaudage pour les polysaccharides. Les polysaccharides augmentent le caractère hydrophobe de la structure de la lignine, ce qui facilite le transport de l'eau dans les tissus, en empêchant l'absorption d'eau. Cette structure hydrophobe est cruciale pour l'action capillaire, ce qui permet à l'eau de passer à travers les capillaires de lignine doublé sans absorber dans la cellule végétale **(Holdernesset*al*., 2008)**.

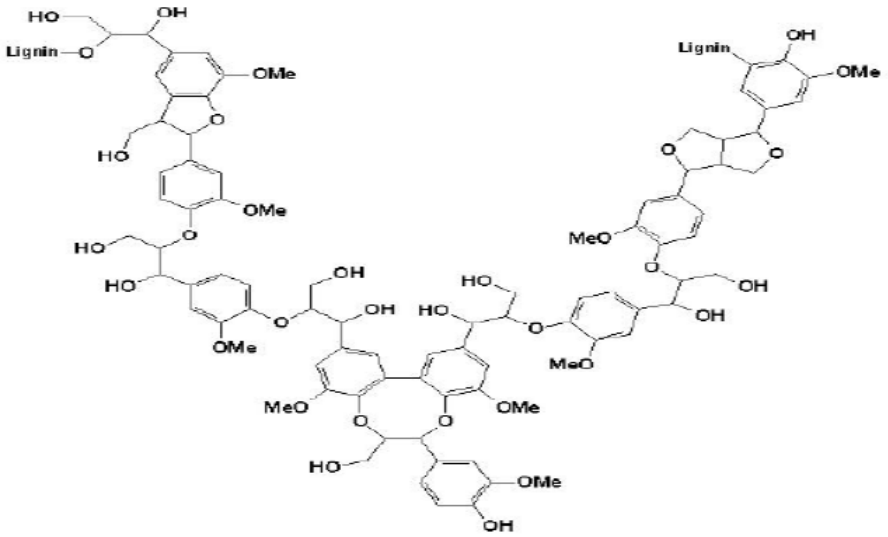


Figure 06: Structure chimique des lignines **(Wertz et *al.*, 2015)**.

I.2.6. Tanins

Les tanins sont des formes phénoliques condensées, ayant un poids moléculaire allant de 500 à 3000 daltons. Dans la nature les tanins se trouvent dans le monde entier dans de nombreuses familles de différentes plantes supérieures telles que le châtaignier et le bois de chêne **(Paolini et *al.*, 2003)**. Ils sont solubles dans l'eau **(Akiyama et *al.*, 2001)**. Le terme tanin vient de la source de tanins utilisés pour le tannage des peaux d'animaux en cuire **(Khanbabaee et Ree, 2001)**. En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et des autres protéines. Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en 2 groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés **(Sereme et *al.*, 2010)**.

I.2.6.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (figure07) sont des résidus d'acide gallique qui contiennent un noyau de sucre entouré des groupes phénoliques. Ces résidus peuvent être modifiés par la suite par une autre addition de groupements phénoliques et de chaines latérales comprenant un à n monomères d'acides galliques. Des liaisons carbones à carbones entre noyaux conduisent à des molécules plus rigides **(Nonaka,**

1989). Ils sont nommés tanins hydrolysables parce que le traitement avec des acides faibles hydrolyse facilement les résidus d'acide gallique et produit des acides phénoliques avec un hydrate de carbone coré. Cependant, la production de diverses structures taniques hydrolysables suggère qu'ils sont employés dans une fonction spécialisée. Une utilisation indiquée des tanins hydrolysables dans la défense des plantes contre les toxines et pour éviter la prédation herbivore **(Holderness et *al.*, 2008)**. Les tanins hydrolysables sont devisés en deux groupes, gallotanins et tanins ellagique dont le premier groupe est formé à partir de l'acide gallique et le deuxième est obtenu principalement à partir d'acide ellagique **(Khanbabaee et Ree, 2001 ; Cai et *al.*, 2006)**.

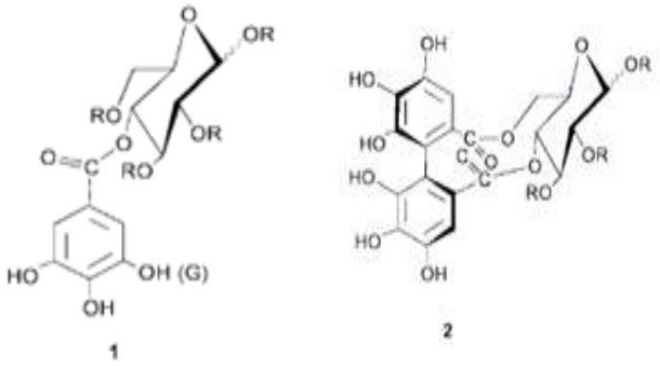


Figure07: Structure chimique d'un tannin hydrolysables :(1) (Gallotannins (2), Ellagitannins **(Khanbabaee et Ree, 2001)**.

I.2.6.2. Tanins condensés

Les tanins condensés également appelés proanthocyanidines sont des métabolites secondaires synthétisés par l'intermédiaire de la voie biosynthétique des flavonoïdes et sont largement répandu dans l'alimentation (fruits, vin, thé, etc.) et jouent un rôle important dans la défense contre les herbivores **(Bogs et *al.*, 2005 ; Holderness et *al.*, 2008)**. Les tanins condensés résultent de la polymérisation de

molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol –3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins «catéchiques».

Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, gymnospermes et fougères compris **(Tanner et *al.*, 2003)**.

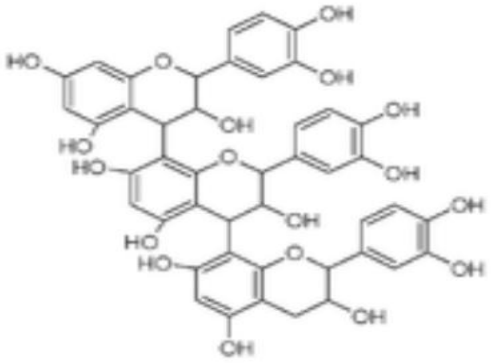


Figure08: Structure générale des proanthocyanidines **(Khanbabaee et Ree, 2001)**.

Chapitre 2 : ***Cistanche tinctoria***

I-Généralités sur la cistanche

Le genre Cistanche est considéré comme l'herbe la plus précieuse de la famille des Orobanchaceae. Les espèces de ce genre se caractérisent par leur attraction aux parasites phanérogamiques des racines. Le genre Cistanche s'adapte aux conditions environnementales difficiles. Il est principalement distribué dans les zones arides ou zones semi-arides dans toute la péninsule ibérique européenne, Afrique du Nord, Arabie, Iran, Afghanistan, Pakistan, Inde du Nord, Mongolie et Chine du Nord-Ouest (**Ozenda, 1993 ; Agrawal et *al* ., 1984 ;Blatter,1921 ; Musselman, 1984)**. La Cistanche a été identifiée pour la première fois à *Shen Nong Bencao Jing* 100 avant JC. Elle a été utilisée pour traiter diverses maladies, y compris l'impuissance, l'infertilité féminine, la leucorrhée morbide, métrorragie abondante, sensation de froid dans les reins et les genoux et constipation chronique chez les personnes âgées **(New Medical College, 1977)**.

De nos jours, on rapporte qu'il améliore le comportement sexuel et d'apprentissage **(Sato et *al.*, 1985)**, et qu'il possède des effets édatifs et vas relaxants**(MC. Lu, 1998; M. Yoshikawa et *al* ., 2006)**. Outre ses utilisations courantes en Chine, la Cistanche est également utilisée comme complément alimentaire sain pour les hommes au Japon et en Asie du Sud-Est. Les tiges de *C. deserticola* et *C. tubulosa* ont été documenté dans la *Pharmacopée Chinoise* **(édition, 2010) (China Pharmacopoeia Committee, 2010)**. Ces tiges ainsi que celle de *C. salsa* sont utilisées traditionnellement comme agents favorisant la circulation sanguine et le traitement d'impuissance, infertilité féminine, lumbago, faiblesse corporelle et tonique **(Namba, 1994 ; Kobayashi et *al.*, 1987)**.

II. Présentation de la plante *Cistanche tinctoria*

Cistanche tinctoria encore appelée *Cistanche phelypaea* est une plante qui appartient à la famille d'Orobanchaceae. La Cistanche est une plante parasite dépourvue de chlorophylle qui parasite principalement des Chénopodiacées et des Tamaris. Cette plante assez commune aux

hauts plateaux et au Sahara septentrional, est plus rare Au Sahara occidental, central et Méridional. Cette plante est connue sous le nom vernaculaire arabe: *Danoun* الدانون. Elle a un peu la silhouette d'une grosse asperge trapue, courte sur patte. C'est une plante puissante de 3 à 12dm, aux tiges souvent en touffes. Les fleurs sont jaunes et repartis sur toute la plante dans les tons bruns, du clair au foncé. Elle ne présente pas de feuilles mais seulement des sortes d'écailles le long de la tige. Le tube de la corolle s'évase brusquement au-dessus de l'insertion des étamines **(Ozenda, 1991)**.

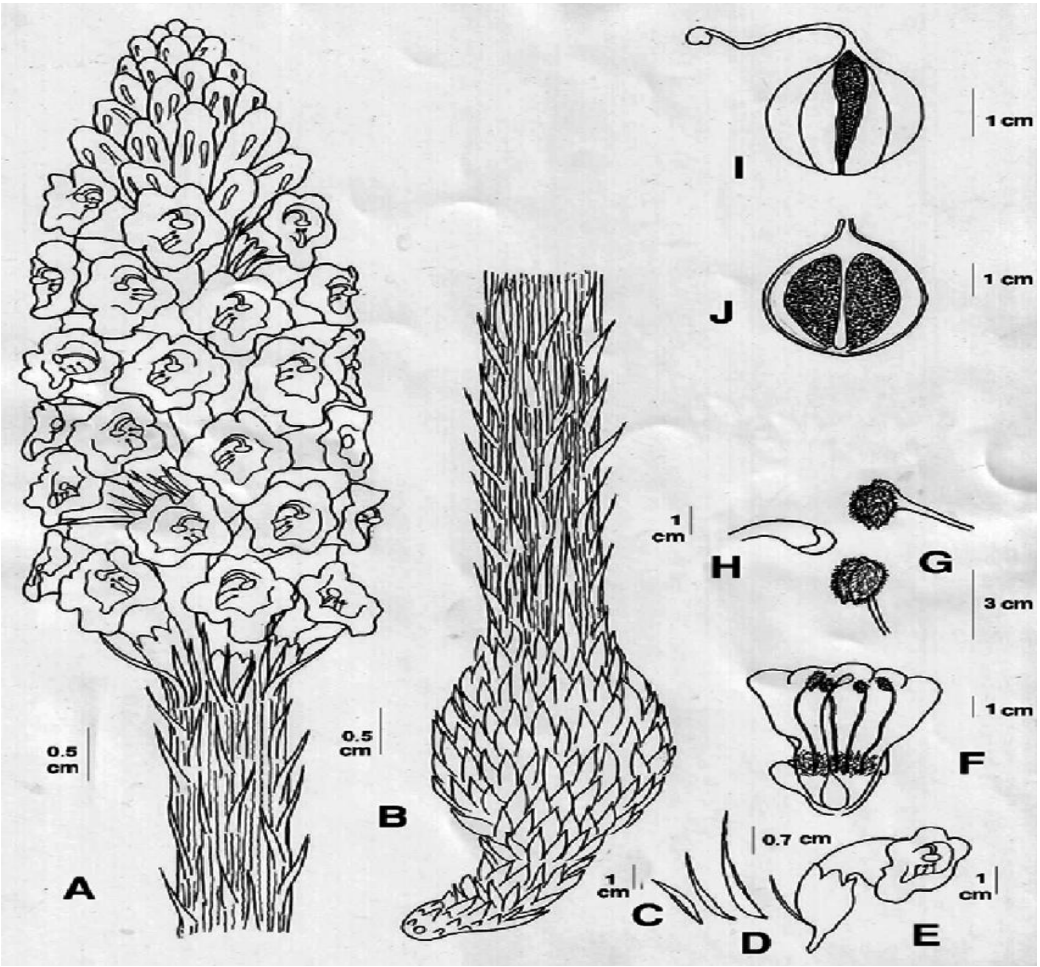


Figure 09: ***Cistanche flava*subsp. Bicolor.** A) Inflorescence (échelle = 0,5 cm); B) tige à feuilles écailles (échelle = 0,5 cm); C) bractées (échelle = 1 cm); D) bractées (échelle = 0,7 cm); E) une fleur à calice (la flèche indique le lobe latéral; échelle = 1 cm); F) étamines et ovaire

(échelle = 1 cm); G) anthères (échelle = 3 cm); H) stigmates (échelle = 1 cm); I) fruits (échelle = 1 cm); J) coupe longitudinale des fruits (échelle = 1 cm) (**Saeidi et Shahi, 2008)**.

III. La taxonomie de l'espèce *Cistanche tinctoria*

Selon **Beck et al. (1904),** la classification botanique du *Cistanche tinctoria* est comme suite :

Règne	**Plantae**
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Trachéophyta
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Subclasse	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Orbonchaceae
Genre	*Cistanche*
Espèce	*Tinctoria*

IV. Distribution géographique de la Cistanche

En ce qui concerne les zones de distribution potentielle ou appropriées pour la culture de la Cistanche, la grande convenance d'habitat et les classes moyennement appropriées sont discutées comme suit. La plupart des zones appropriées (environ 90%) pour *C. deserticola* étaient principalement réparties dans le nord et le nord-ouest de la Chine. En outre, quelques zones présentant des conditions de culture potentielles ont été identifiées dans le sud des États-Unis, le sud-ouest de l'Iran, l'est de la Turquie, le sud de la Mongolie et l'est du Kazakhstan. Contrairement à l'espèce susmentionnée, *C. tubulosa* semble être bien réparti dans le monde,

couvrant l'ouest de la Chine, le nord-ouest de l'Amérique du Sud, le nord de l'Afrique et certains pays entre la Chine et l'Afrique. Cependant, bien que *C. tubulosa* ait une large distribution potentielle, la superficie totale de l'espèce était la plus petite par rapport aux trois autres espèces, pour lesquelles les superficies totales de la haute qualité d'habitat et des classes modérées étaient de 23,0935 km^2. En ce qui concerne les deux classes, seules quelques zones potentielles propices à la croissance de l'espèce ont été trouvées dans le nord de l'Égypte, dans la région occidentale du Royaume d'Arabie saoudite, dans le sud du Yémen, dans le nord des Émirats arabes unis, dans le sud de l'Iran et au Pakistan. Les plus grandes zones se trouvaient encore en Chine, où les zones de prédiction totales étaient situées à l'ouest du pays. Similairement au *C. deserticola*, *C. salsa* est principalement distribué dans le nord-ouest et le nord de la Chine. Des modélisations ont prédit qu'il y avait une petite zone qui pourrait être un environnement de croissance approprié aux États-Unis et à l'est du Kazakhstan et du Kirghizistan. La plupart des localisations prévues de *C. sinensis* étaient réparties dans le nord et l'ouest de la Chine **(Wang *et al.*, 2019)**. En outre, *C. tinctoria* a été identifié dans quelques zones dans la partie centrale du Maroc, dans le sud-est de l'Algérie et dans le nord-ouest du Tchad et de l'Iran **(Sitouh, 1989)**.

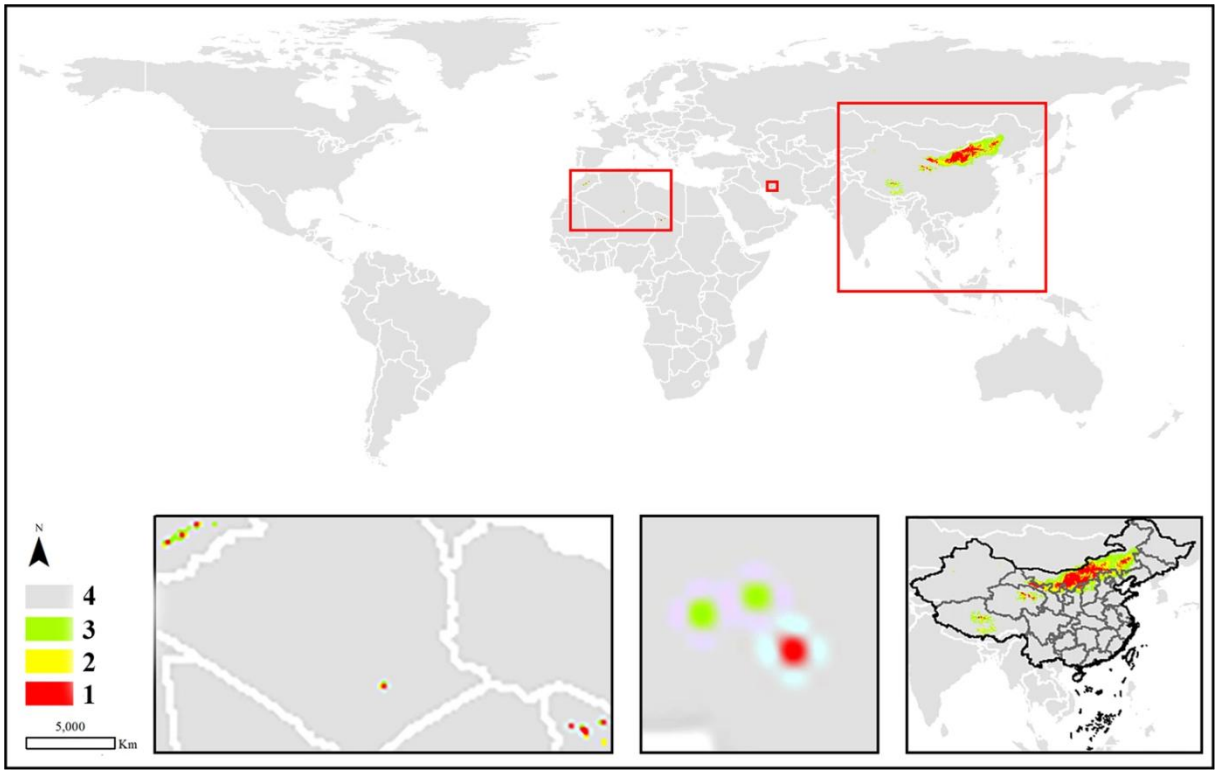


Figure10 : Distribution potentielle de la Cistanche prévue par le modèle MaxEnt dans *C. sinensis*. 1 : classe de qualité élevée de l'habitat, 2 : classe de qualité modérément convenable, 3 : classe de qualité convenable faible, 4 : classe de qualité convenable très faible ou classe de qualité non convenable **(Wang et al., 2019)**.

V. Utilisation traditionnelles du cistanche tinctoria

Cistanche tinctoria est employée pour moduler ou traiter la diarrhée, le diabète, les ennuis intestinaux, les infections (abcès) et en tant que diurétique. Les nomades au Maroc et en Algérie méridionaux mangent la partie inférieure de la plante bouillie dans l'eau ou cuit en cendres et mélangé à des céréales pour faire une sorte de gruau ou d'un pain plat qui est connue également pour ses propriétés aphrodisiaques **(Ozenda, 1991)**.

La tige de *Cistanche tinctoria* est utilisée comme tonique pour le traitement de l'insuffisance rénale, aidant à soutenir et augmenter la fonction des reins. Il est utile quand la fonction de rein est trop faible (comme dans les cas de la conservation de l'eau) ou dans les cas où la fonction des reins n'est pas équilibrée par la fonction d'autres organes (comme dans l'incontinence urinaire).

Cistanche tinctoria est également utile pour l'impuissance chez les hommes, et le résultat dans des capacités sexuelles accrues plutôt qu'a augmenté la commande de sexe (l'infertilité femelle), de la leucorrhée morbide, de la métrorrhagie prodigue et de la constipation sénile (**Yong et peng, 2009)**.

La plante est utilisée notamment pour bronzer et teindre des peaux. Dans la région de Tissint (Maroc), la poudre est appliquée pour les blessures comme homéostat. Une préparation faite à partir de la partie plus inferieure sèche de *Cistanche*, le miel et les feuille d'olivier est utilisé comme crème pour l'hémorroïde. En Egypte, la plante en poudre sèche s'est mélangée au lait du chameau et employée aux contusions (**Bellakhdar, 1997)**.

VI. Phytochimie de la cistanche

Le métabolisme de la plante produit avant tous des glucides (sucres) et des protides. Une fraction des glucides est ensuite transformée en composés divers dont les lipides sont les plus importants pour la plante, mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des alcaloïdes, des hétérosides, des huiles essentielles et des tanins. Les végétaux nous fournissent également des vitamines, des oligoéléments, et des antibiotiques (champignons microscopique**) (Domart et Bourneuf, 1988)**.

L'étude phytochimique des espèces de Cistanche a conduit à l'isolement de plusieurs groupes chimiques y compris les glycosides phényléthanoïdes, les iridoïdes et les lignanes présents sous formes libres et glycosidiques, polysaccharides, acides aminés libres, éléments de cendre et minéraux **(Wang et *al.*, 2012 ; Liu et *al.*, 2013 ; Ebringerova et *al.*, 1997 ; Deyama et *al.*, 2006)**.

Des études pharmacologiques montrent que les glycosides phényléthanoïdes des espèces Cistanche ont des fonctions médicinales telles que antifatigue **(Cai et *al* ., 2010),** effets

neuroprotecteurs **(Geng et *al*, 2007**). effets hépato protecteurs **(Morikawa et *al* ., 2010 ; Pan et *al* ., 2010)** , et immunostimulants **(Maruyama et *al.*, 2008)**.

Le genre Cistanche est représenté au Sahara algérien par trois espèces **(Ozenda, 1993):** *Cistanche tubulosa* commune au Sahara central (Tassili N'Ajjer); *Cistanche tinctoria* (Desf.) Beck, qui est une espèce saharo-méditerranéenne et connue localement sous le nom de danoun. Il est utilisé pour traiter le diabète, la diarrhée et douleurs abdominales **(Hammiche et *al.*, 2006)**. Enfin, *Cistanche violacea* qui est un arbuste endémique du nord En Afrique, c'est une plante holoparasitique sur les Chenopodiaceae et Limoniastrum **(Ozenda, 1993)**.

Partie expérimentale

Chapitre 3 : ***Matériels et méthodes***

I. Objectifs de l'étude

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur *Cistanche tinctoria* qui est une espèce endémique saharienne qui pousse dans la région d'Adrar. Elle est connue aussi sous le nom vernaculaire *danoun*. Les bulbes, qui représentent la partie souterraine de la plante, ont fait l'objet d'une extraction des polyphénols par macération à froid avec un système de solvant ternaire à savoir : MeOH, Ac, H_2O. La teneur en polyphénols, flavonoïdes, et tanins condensés ont été évalué dans l'extrait aussi obtenu. Le pouvoir antioxydant a été évalué *in vitro* par la méthode DPPH.

II. Préparation de matériel biologique végétale

La plante *Cistanchetinctoria*, identifiée par Mr. KADRI Y (Laboratoire des Ressources Naturelles Sahariennes, Université d'Adrar), a été collectée dans la région d'Adrardurant le mois de février 2020. Au laboratoire, les bulbes de la plante ont été séchés à l'ombre à températureambiante. Les bulbes séchées ont été ensuite broyés et stockées dans des flaconsenverre opaques pour des analyses ultérieures.

Figure11 : photo du *Cistanchetinctoria*

III.Matériels et produits chimiques utilisés

Tableau 02: Matériels et produits chimiques utilisés.

atériels	**Produitschimiques**	
Verrerie: capsules vides, ampoules à décanter, cristallisoirs, béchers, ballons, erlenmeyers, éprouvettes graduées, Büchner, entonnoirs, mortiers, tubes à essai,flacons pour conservation, papier filtre, papier Joseph, cuve,spatule; -Balance "Kern" Max 120g -Dessiccateur; - Rotavapor "Nahita" -Agitateur magnétique, barreaux magnétiques; -Etuve isotherme (**Memmert**) ; -Pompe à vide ; -Spectrophotomètre UV-Visible **CT.60**;	**Produits**	**Formuleschimiques**
	-Méthanol	OH CH_3
	-Acétone	C_3H_6O
	-Hexane	C_6H_{14}
	-Soude	NaOH
	-trichlorure d'aluminium hexa-hydraté	$AlCl_3.6H_2O$
	-Nitrates de sodium	$NaNO_2$
	-Catéchine	$C_{15}H_{14}O_6$
	-Eau distillée	H_2O
	- Vanilline	$C_8H_8O_3$
	-Acidechlorhydrique	HCl

IV.Méthodes d'analyses physico-chimiques utilisées

IV.1. Détermination du taux d'humidité (Audigiéetal., 1980)

- ***Principe***

La détermination de la teneur en eau est effectuée par une dessiccation de l'échantillon dans une étuve isotherme de 105°C jusqu'à une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur.

- ***Mode opératoire***

  - ✓ Les capsules vides ont été séchées à l'étuve durant 15min à103± 2°C ; avec couvercles inclinés.Les capsules ont été tarées après refroidissement dans un dessiccateur.
  - ✓ Dans chaque capsule 3 g d'échantillon ont été pesés à une précision de ±0.001 g, puis l'ensemble a été placé dans l'étuve à105°C.
  - ✓ Après un étuvage de 3 h à 105 °Cpuis refroidissement dans un dessiccateur pendant 15min les capsules sont pesées, ensuite elles sont remises dans l'étuve durant 1 h à105°C.
  - ✓ Après refroidissement dans un dessiccateur comme précédemment, les capsules sont pesées.
  - ✓ a différence entre deux pesées doit être inférieure à 2 mg, sinon l'opération est renouvelée jusqu'à un poids constant.

- ***Expression des résultats***

Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante;

$$H\% = \left[\frac{Mi - Mf}{P}\right] \times 100$$

Soit:

H%: Taux d'humidité en%

M_i: Masse de la capsule +matière fraiche avant séchage en g.

M_f: Masse de l'ensemble après séchage en g.

P : Masse de la prisse d'essai en g

A partir du taux d'humidité, nous avons déterminé le taux de la matière sèche qui est donné par la formule suivante:

Taux de matière sèche %=100 - Taux d'humidité %

IV.2.Extraction des polyphénols totaux

L'extraction des Polyphénols a été réalisée selon la méthode de (Liyanan-pathirana et shahdi, 2006) par simple macération à température ambiante et sous agitation continue avec trois extractions successives de 02 heures chacune avec un mélange de solvants Méthanol-Acétone-Eau (7/7/6;V/V/V).

- ✓ 10g de l'échantillon (bulbes de cistanche séchées et broyées) sont soumis à une macération sous agitation magnétique à températureambiante avec un mélangede solvants Méthanol-Acétone-Eau (7/7/6;V/V/V)pendant 2 h ensuite, le mélange a été filtré;
- ✓ Le filtrat a été récupéré et l'échantillon a été ré-extrait deux fois avec le même système ternaire de solvants pendant 2 h sous agitation magnétique ;
- ✓ Après la dernière filtration les trois filtrats sont réunis;
- ✓ L'extrait filtré a été dégraissé en le décantant à volume égale, avec l'hexane (Chiremba*etal.*, 2012) dans une ampoule à décanter ;

- ✓ L'extrait a été évaporé à sec dans un évaporateur rotatif (Rotavapor) à 45°C sous pression réduite;
- ✓ Enfin, l'extrait sec a été repris dans 20 mL méthanol : c'est l'extrait brut.

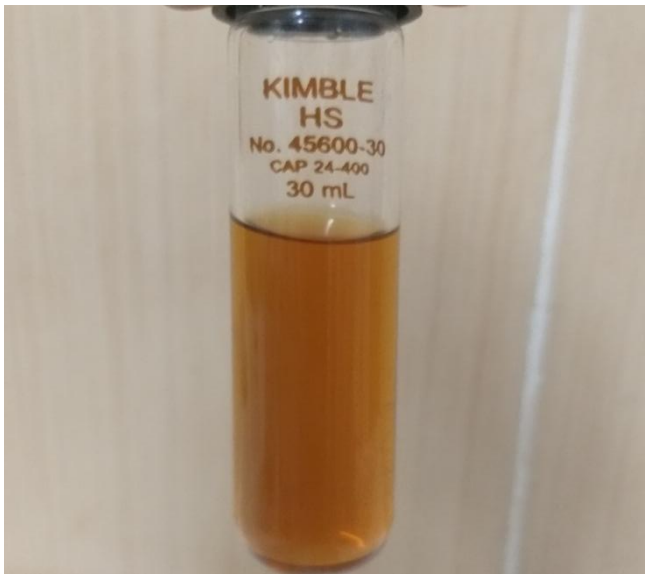


Figure 12 : extrait brut des bulbes du *Cistanchetinctoria* (EBCT)

Après évaporation à sec du solvant ternaire utilisé pour l'extraction des métabolites secondaires, le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

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

Soit

Rdt : Rendement (% MS).

P1 : Poids en g du ballon vide séché avant l'extraction.

P2 : Poids en g du ballon après évaporation du solvant d'extraction.

M : Poids en g de la prise d'essai.

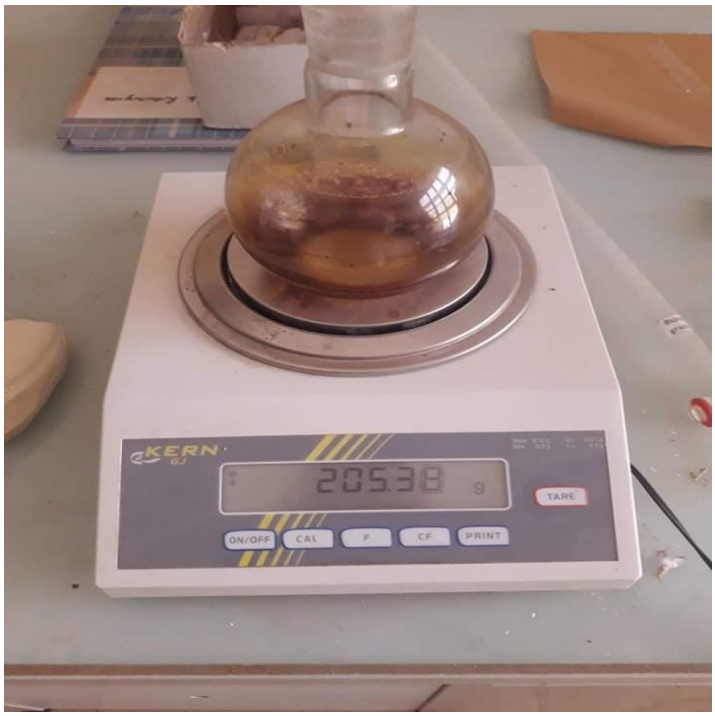


Figure13 : Pesée du ballon contenant l'extrait sec

IV.3.Dosage des polyphénols: méthode de Folin-ciocalteu (1927)

- ***Principe***

Ce dosage est basé sur, le couplage du *Folin-Ciocalteu* avec les composés phénoliques du matériel végétal (Brune *et al.*, 1991). La réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique ($H_{30}PM_{12}O_{40}$) du réactif de *Folin-Ciocalteu* (un acide couleur jaune, constitué de polyphénol acide contenant du molybdène et tungstène) par les polyphénols en milieu alcalin (Catalano *et al.*, 1999). Elle se traduit par le développement d'une coloration bleu foncé due à la formation d'un complexe Molybdène (M_8O_{23}) tungstène (W_8O_{23}) mesuré au spectrophotomètre.

- ***Mode opératoire***
  - ✓ À 500 µL de l'extrait de chaque échantillon et des différentes dilutions de la gamme d'étalonnage, nous avons ajouté: 2500µL Folin-ciocalteu (dilué 10x) plus 2000 µL$N_{a2}CO_3$ à 7,5%
  - ✓ le mélange bien agité est incubé à l'obscurité pendant 1h à 20°C; La gamme d'étalonnage qui consiste à lire les absorbance des différentes concentrations d'acide gallique est préparée comme suit:
  - ✓ 03 mg d'acide gallique sont pesés, puis mélangés avec 20 mL du méthanol à 99,6%; c'est la solution mère concentration de 0,3 mg/mL;
  - ✓ A partir du cette solution mère, nous avons préparé des dilutions filles suivantes: 0,21 – 0,15 – 0,105 – 0,075 – 0,06 – 0,045 –0,024 mg/ mL.

La lecture de l'absorbance des différentes concentrations est faite contre un blanc à 765 nm.

- ***Expression des résultats***

A partir des densités optiques obtenues, nous avons pu déduire les teneurs en polyphénols dans les échantillons selon l'équation suivante:

$$\boxed{Y = 9{,}137\,x + 0{,}038}$$

IV.4.Dosage colorimétrique des flavonoïdes (Ardestani et Yazdanparast, 2007)

- ***Principe***

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec

les flavonoïdes, la soude forme ensuite un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (El-haci, 2009).

- ***Mode opératoire***

Les flavonoïdes sont dosés par colorimétrie comme suit:

- 700µL d'extrait sont mise dans des tubes, auquels est ajouté 2 mL d'eau distillée, puis 150 µL $NaNO_2$ à 15%;
- après deux intervalles consécutifs de 6 min, 150µL ($AlCl_3$, $6H_2O$) à 10%, puis 2000 µLNaOH à 4 % ont été rajoutés;
- les tubes sont incubés pendant 15 min à température ambiante;
- la lecture de l'absorbance des différentes concentrations est faite contre un blanc à510 nm dans un spectrophotomètre UV-Vis modèle Agilent Technologies cary 60.

La courbe d'étalonnage a été établie comme suit:

- une solution mère méthanolique de catéchine à 0.4 mg/mL a été préparée;
- les dilutions filles suivantes ont été préparées : 0,36 - 0,28 - 0,2 - 0,12 - 0,08 – 0,04 mg/mL;
- 700 µL de chaque concentration ont été traités avec la même procédure décrite ci-dessus pour l'échantillon.

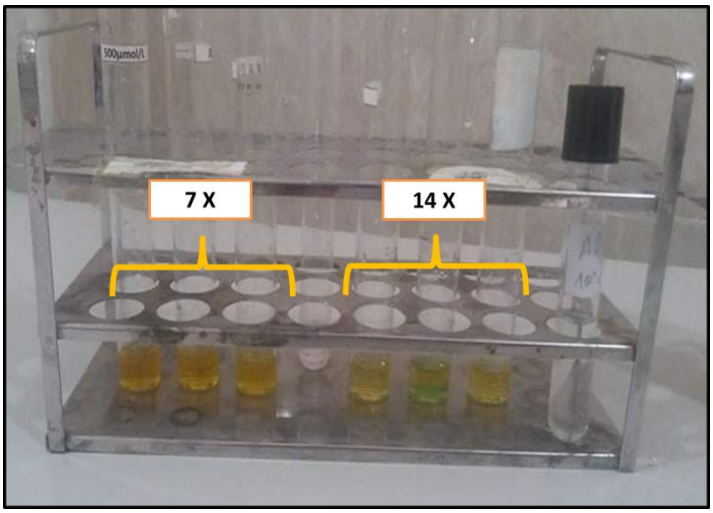


Figure 14: dosage des flavonoïdes dans l'extrait brut du *C. tinctoria*

IV.5. Dosage des tanins condensés

- ***Principe***

Le dosage des tanins condensés est effectué selon la méthode de **Broadhurstet Jones (1978),** modifiée par **Heimler et *al*. (2006).** Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm **(Schofield et *al*., 2001)**.

- ***Modeopératoire***

Les tanins condensés sont dosés par colorimétrie comme suit :

- ✓ Pour 400µL de chaque échantillon on ajoute 3000 µL d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol);
- ✓ et 1500 µL d'acide hydrochlorique concentré à 37%.

Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 510 nm.

La courbe d'étalonnage a été établie comme suit:

- ✓ Une solution mère de catéchine à 0,5 mg/mL est préparée en dissolvant 6 mg catéchine dans 10 ml méthanol. À partir d'une solution mère nous avons préparé des dilutions de différentes concentrations : 0.025 ; 0.05 ; 0.1 ; 0.2 ; 0.3 mg/mL. Puis 400 µL de chaque concentration sont traités, avec la même procédure décrite ci-dessus.
- ✓ La lecture de l'absorbance des différentes concentrations est faite contre un blanc à 510 nm.

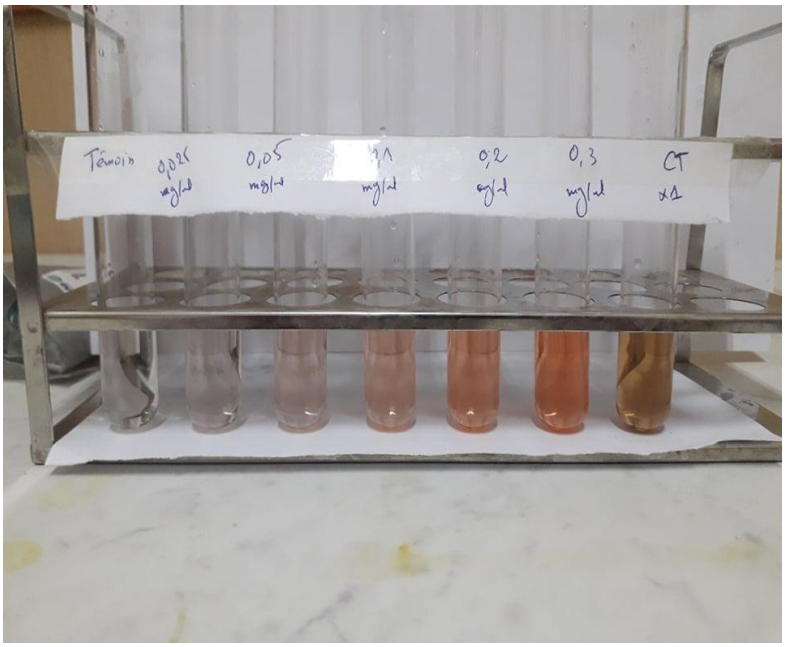


Figure 15 : Dosage des tanins condensés

- ***Expression des résultats***

A partir des densités optiques obtenues, nous avons pu déduire la teneur en tanins condensés dans l'échantillon selon l'équation suivante :

$$\mathbf{Abs = 2.4405\ c + 0.0091}$$

Où:

Abs: absorbance;

c: concentrations de tanins condensésrapportées à la catéchine en mg /mL**.**

IV.6. Mesure du pouvoir antioxydant de l'extrait brut des bulbes du *C. tinctoria*

- ***Principe***

Le mécanisme général de cette réaction est la réduction du radical libre 2:2 diphénylepicrylhydrazyl (DPPH$^{\bullet}$) ayant une couleur violette par les antioxydants (ArOH) en lui transférant un proton, alors il se transforme en composé jaune 2:2diphénylepicrylhydrazine stable DPPHH (figure16). L'intensité de la couleur violette est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à piéger les radicaux libres.

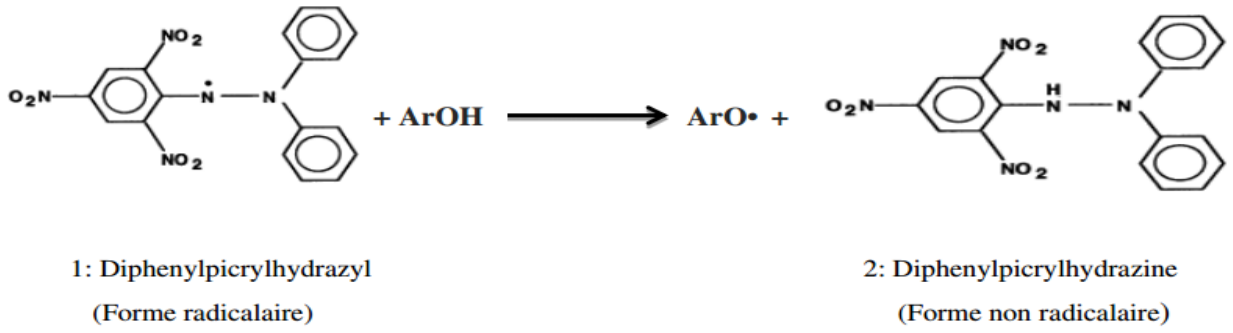


Figure16:réaction de réduction du DPPH$^{\bullet}$ par les antioxydants (Pyrzynska et Pekal, 2013).

- ***Mode opératoire***

Le pouvoir antioxydant de l'extrait brut a été mesuré selon la méthode de **Masuda*et al.*(1999)** avec légères modifications comme suit:

✓ Une solution méthanolique du DPPH$^{\bullet}$ à 5 mM a été préparée;

- ✓ à partir de chaque extrait des dilutions filles suivantes ont été préparées: 0,05- 0,1- 0,2- 0,4- 0,6- 0,8- 1- 1,2 mg/mL;
- ✓ pour chaque dilution, 02 tubes ont été préparés A0 et A1;
- ✓ dans le tube A0 :2000 µL du méthanol, 50 µL du DPPH$^{\bullet}$, 50 µL du MeOH ont été introduits (contrôle négatif du radical);
- ✓ dans le tube A1: 2000 µL du méthanol, 50 µL du DPPH$^{\bullet}$, 50µL de l'extrait ont été introduits (Contrôle positif);
- ✓ les tubes sont incubés pendant 30 min à une température 37°C à l'obscurité;
- ✓ la lecture de l'absorbance est faite à 517 nm.

- ***Expression des résultats***

Le taux de piégeage du radical DPPH$^{\bullet}$ est calculé comme suit:

$$\% \text{ piégeage} = \left(\frac{A0 - A1}{A0} \times 100\%\right)$$

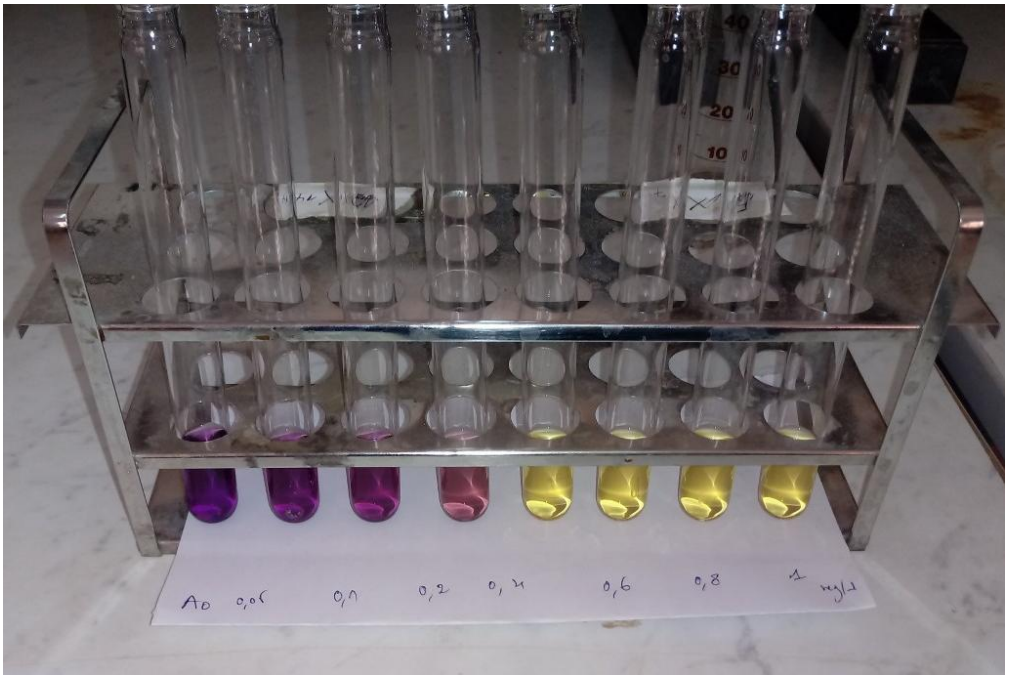


Figure17: photo montrant l'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH**.**

Chapitre 4 : ***Résultats & discussion***

I. Détermination du taux d'humidité

L'appréciation du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser reflète sa susceptibilité aux altérations microbiennes lors du stockage **(Ben Salah, 2011)**.

La dessiccation de la poudre du *Cistanche tinctoria* a révélé qu'elle contient un taux d'humidité estimé à 4,93 %. Cette valeur nous a permis de déduire le taux de la matière sèche en soustrayant le taux d'humidité du poids totale de la poudre. En effet la matière sèche occupe une proportion de 95, 07 %. Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par **Bensaid (2019)** qui a trouvé un taux moyen d'humidité de 4,90 % et 3,86 % pour *Cistanche tinctoria* et *Cistanche violacea* respectivement.

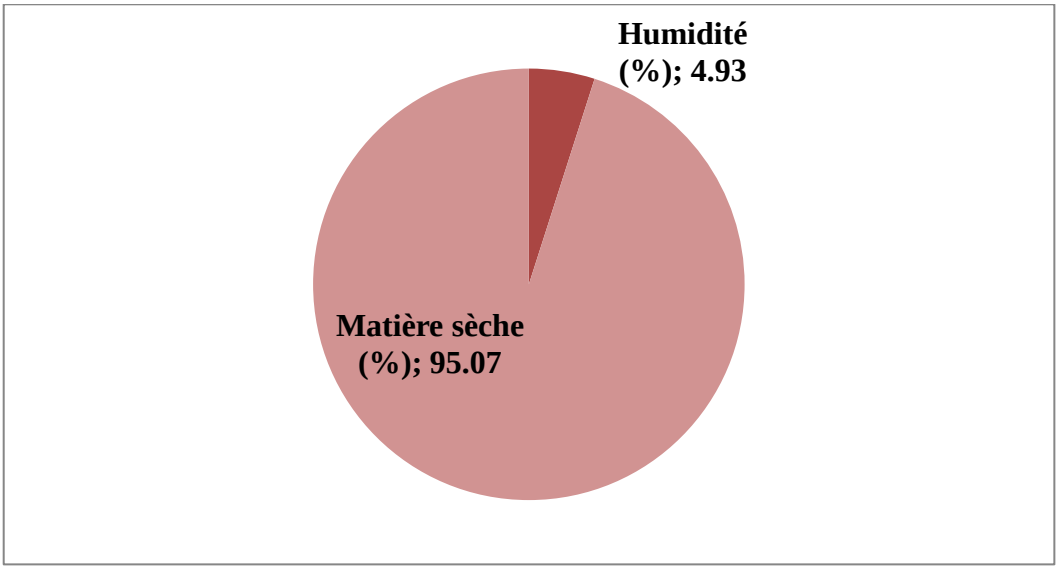


Figure18 : Pourcentage de l'humidité et de matière sèche.

II. Rendement d'extraction

Après avoir dégraissé le filtrat et évaporer le solvant d'extraction, le rendement d'extraction est déterminé par méthode gravimétrique. Il s'avère que le *Cistanche tinctoria* est riche en métabolites secondaires qui se révèle par un rendent d'extraction estimé à 55,9 %. Le rendement calculé dans notre étude est significativement supérieur à celui déterminé par

Bensaid(2019) qui a rapporté un rendement de 2,40 %. Cette différence pourrait être liée au système du solvant de l'extraction ainsi, à la durée de l'extraction semble influencer les résultats obtenu or nous avons procédé trois extractions consécutives au lieu de deux faites par **Bensaid (2019)**. Une autre étude a montré que le rendement de l'extraction de la partie aérienne du *Cistanche violacea* est d'environ 37,60 %**(Bouchouka, 2016)**.

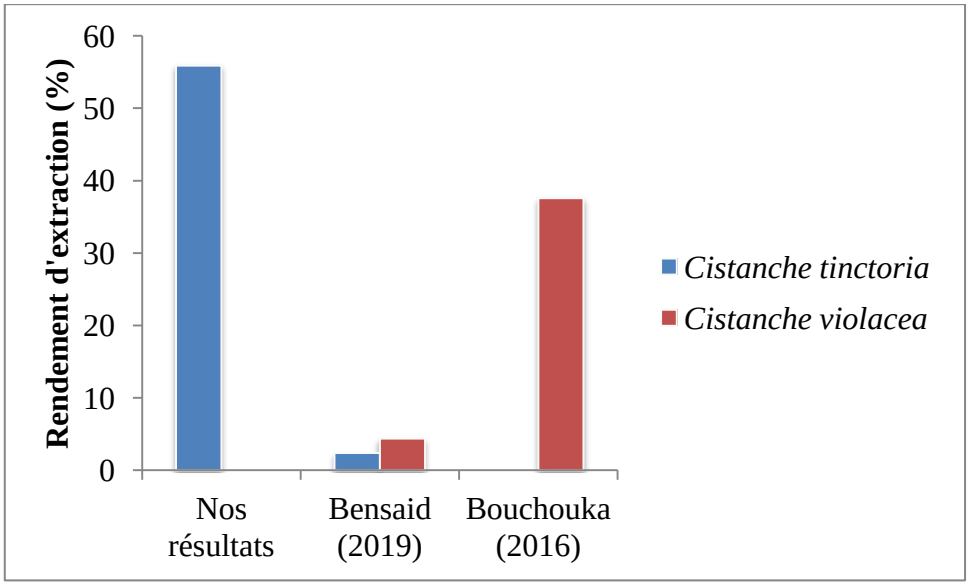


Figure19 : Rendement d'extraction (en %).

II.1. Détermination du taux des polyphénols

L'extrait sec obtenu par macération à froid de la poudre du *Cistanche tinctoria* avec un système ternaire des solvants à savoir : MeOH, Ac, et H_2O a été récupéré dans 20 mL MeOH absolu (à 98%). Cet extrait brut a fait l'objet de dosages colorimétriques des polyphénols, flavonoïdes, et tannins condensés.

Grâce à l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure20) nous avons pu calculer la proportion des polyphénols dans les bulbes du *Cistanchetinctoria*.

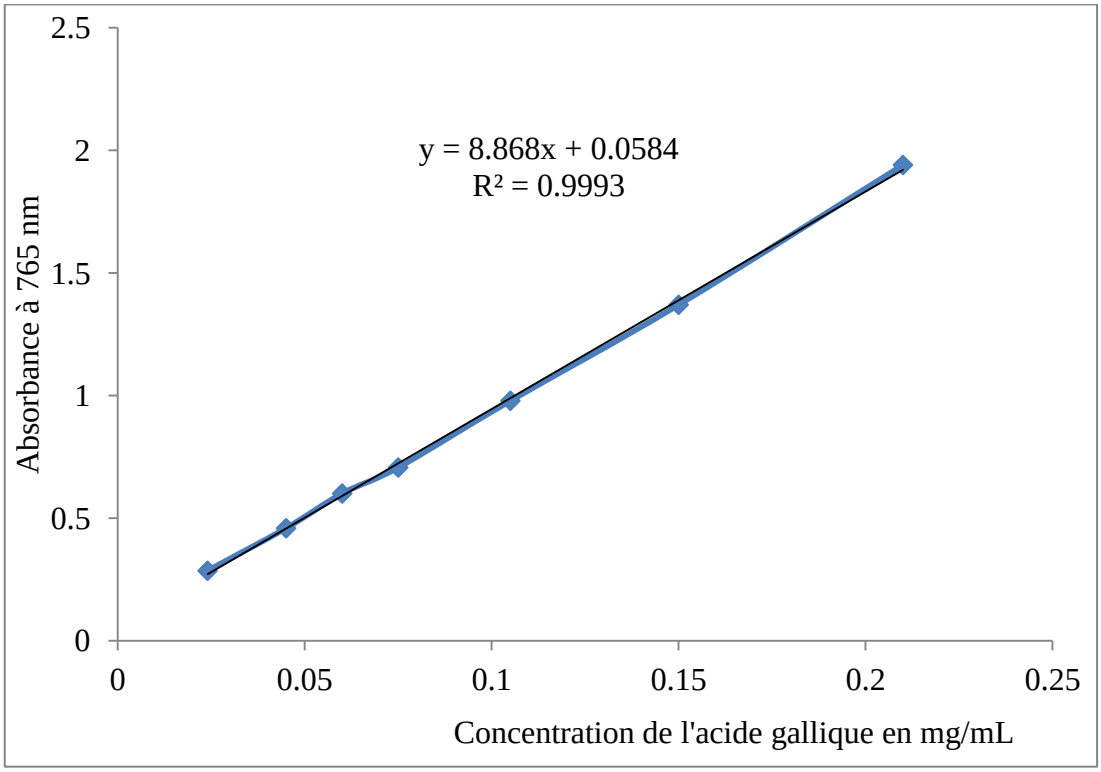


Figure 20 : Courbe d'étalonnage des polyphénols

Peu de travaux ont été réalisés sur phytochimie de la cistanche et l'espèce *Cistanche violacea* est la plus étudiées **(Debouba *et al*., 2012 ; Bouchouka, 2016 ; BOUGANDOURA *et al*., 2016 ;Zhang *et al.* 2019 ; Piwowarczyk *et al.*, 2020)**. Toutefois, à notre connaissance, aucune étude publiée n'a rapporté la teneur en phénols totaux dans l'espèce *Cistanche tinctoria*. Le dosage des polyphénols a montré que les bulbes du *Cistanche tinctoria* contiennent une teneur importante en polyphénols de 16,14 mg EAG/ g MS. **Wong *et al*. (2006)** ont trouvé des teneurs de polyphénols qui s'oscillent entre 13 et21, 1 mg/g dans *Cistanche deserticola*. Les mêmes auteurs ont montré que l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénols en le comparant avec l'extrait méthanolique. Une étude récente a révélé que la composition en substances phytochimiques tels que les dérivés de l'acide caféique est comprise entre 5,8 et 20,46 mg/ g dans *Cistanche armena*, et cette disparité dépend surtout à l'hôte de cette plante parasite **(Piwowarczyk *et al.*, 2020)**. Plusieurs facteurs pourraient influencer le contenu en polyphénols

tels que les facteurs biotiques à savoir: l'espèce, l'organe, et le stade physiologique. Les facteurs abiotiques, en d'autres parts, ont un impact sur la teneur en polyphénols ; on cite l'environnement, les solvants et le procédé d'extraction **(Ksouri *et al.*, 2008)**.

II.2 Détermination du taux des flavonoïdes

Dans la présente étude, le chlorure d'aluminium est employé en tant que chromophore qui sert à doser les flavonoïdes par colorimétrie. La courbe d'étalonnage du catéchine (figure21) nous a permis d'évaluer le taux des flavonoïdes dans les bulbes du *Cistanche tinctoria*.

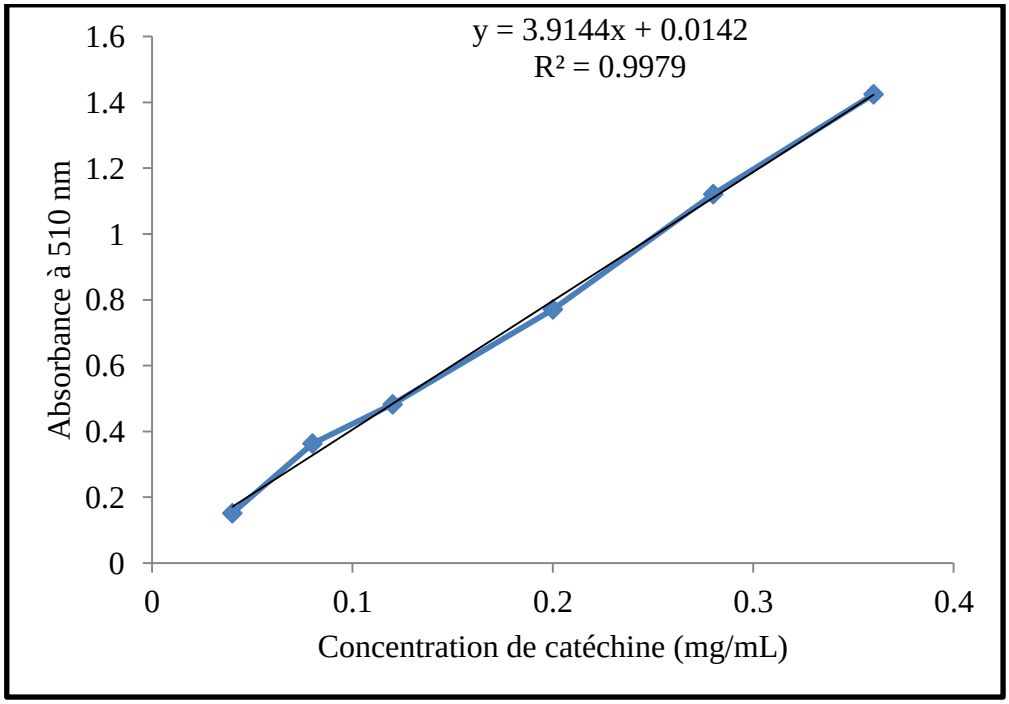


Figure 21 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

D'après l'équation de la régression linéaire de catéchine nous avons pu estimer une teneur de 11,31 mg EC/ g MS flavonoïdes dans les bulbes de *Cistanchetinctoria*. Cette teneur représente 70,08 % des polyphénols déterminés dans les bulbes de *Cistanche tinctoria*. D'ailleurs, avec plus de 6000 structures, les flavonoïdes forment la classe la plus prédominante dans la famille des polyphénols (**Ralston et *al.*, 2005**). Une

étude phytochimique des bulbes du *Cistanche violacea* a révélé une teneur en flavonoïdes estimée à 287,19 mg équivalent quercétine (EQ)/ g MS **(Debouba *et al.*, 2012)**.

II.3. Détermination du taux des tanins condensé

Les tannins condensés sont des polymères des flavonoïdes. De ce fait, la catéchine a été choisi comme étalon pour doser les tannins condensés dans notre échantillon.

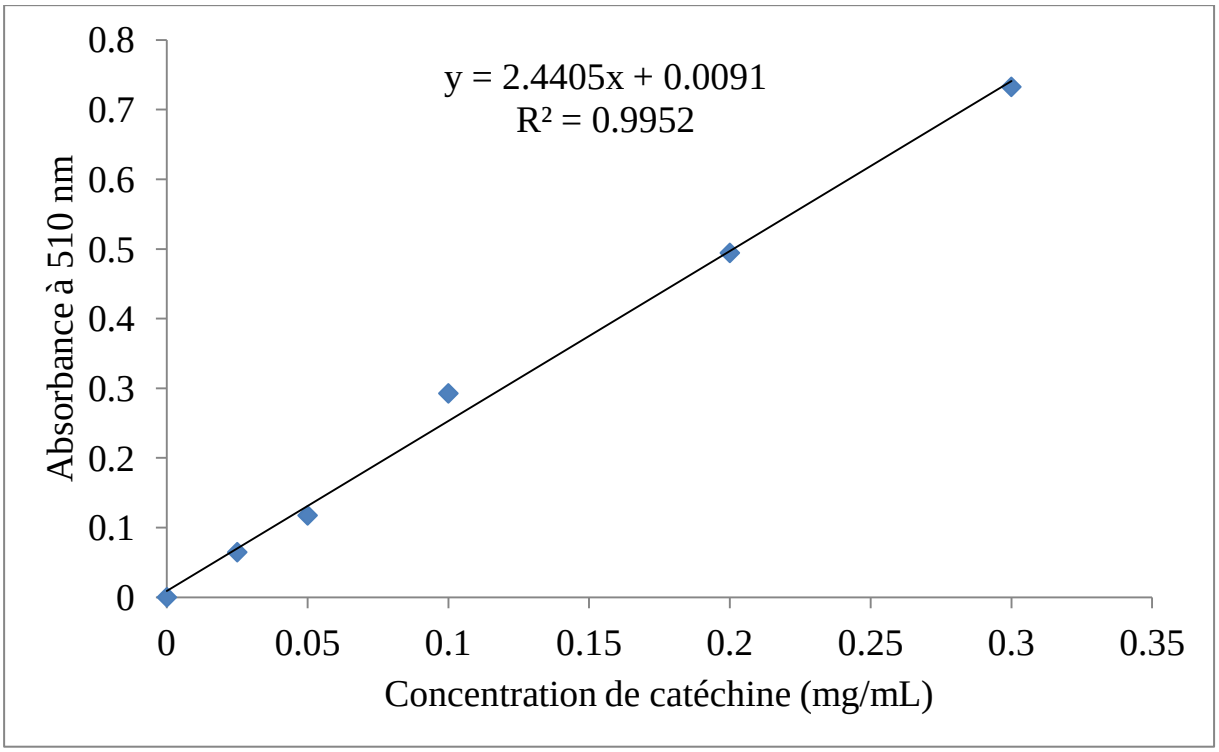


Figure22 : Courbe d'étalonnage des tanins condensé

Grâce à l'équation de la régression linéaire nous avons pu calculer la concentration des tanins condensés dans l'extrait brut, et par conséquent, la teneur des tanins condensés dans les bulbes du *Cistanche tinctoria*. Il révèle que le *Cistanche tinctoria* contient un taux non négligeable en tanins condensés estimé à 97,14 mg / 100 g MS. Les tanins condensés sont des polyphénols synthétisés par les plantes et qui interviennent surtout dans la lutte contre les attaques microbiennes **(Hemingway et al., 1989)**. En effet, il a

été démontré que *Cistanche tinctoria* exerce une activité antimicrobienne plus marquante que celle du *Cistanche violacea* **(Bensaid, 2019)**.

III. Evaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par la méthode DPPH

Ce test est considéré comme une méthode simple et précise pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux **(Sanchez-Moreno, 2002)**.

Le test DPPH a montré que l'extrait brut du *Cistanche tinctoria* a un pouvoir antioxydant mais qui reste inférieur à celui de l'acide gallique qui est utilisé en tant qu'antioxydant de référence.

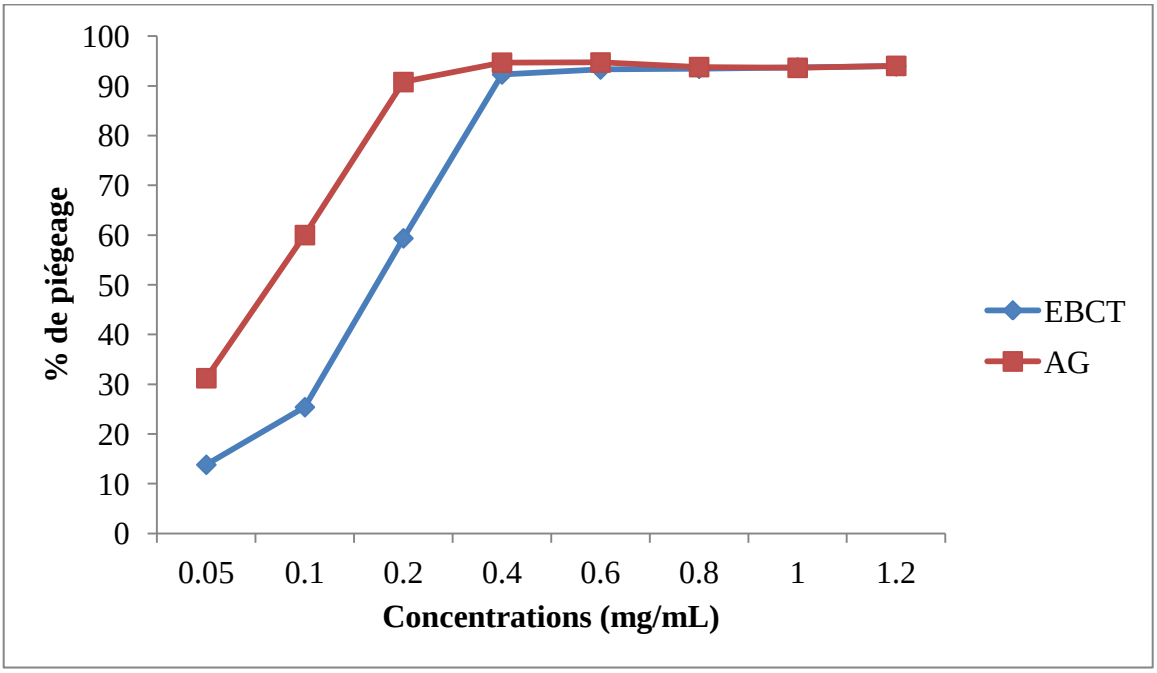


Figure23 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait brut du *cistanche tinctoria*

En utilisant cette méthode, l'efficacité et l'EC50 d'un antioxydant peut être mesuré **(Macdonald-wicks *et al.*, 2006)**. En effet, l'EC50 (Efficient concentration 50) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées en utilisant le

logiciel Origine **(Arous, 2012)**. Le calcul de l'EC50 a montré l'efficacité de l'extrait brut du *Cistanche tinctoria* avec une EC50 équivaut à 87,47 mg/ g DPPH.

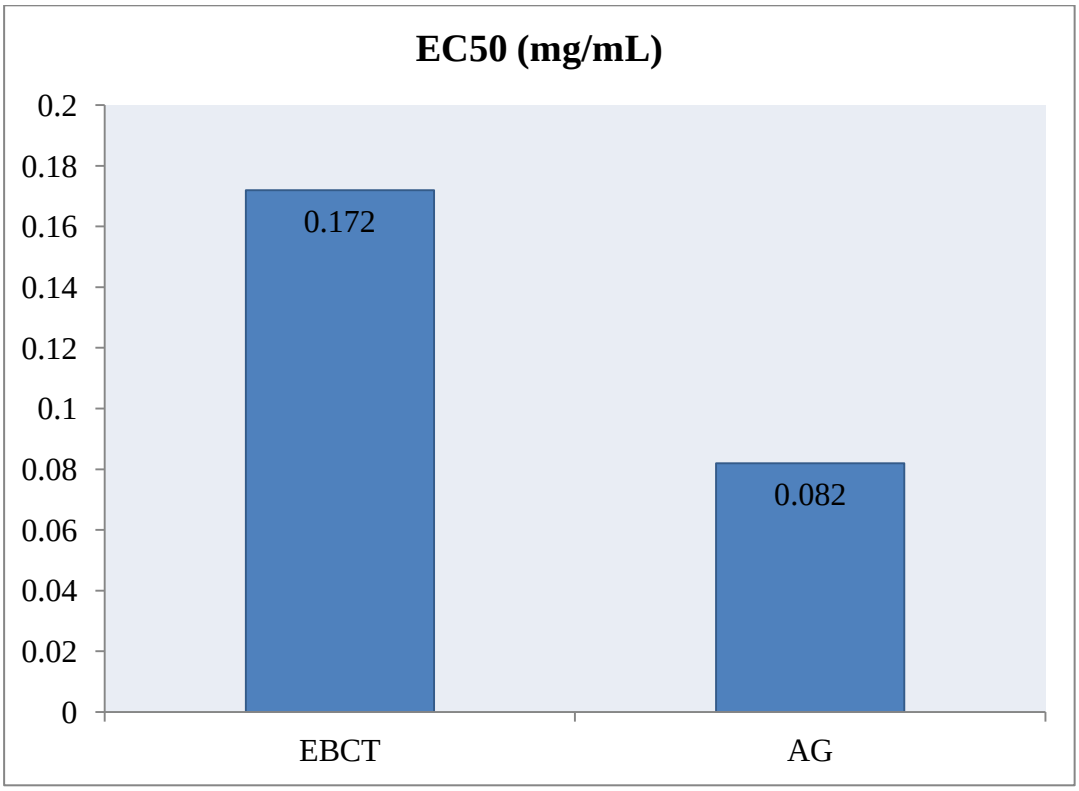


Figure24: Valeures d'EC50 en (mg/mL)

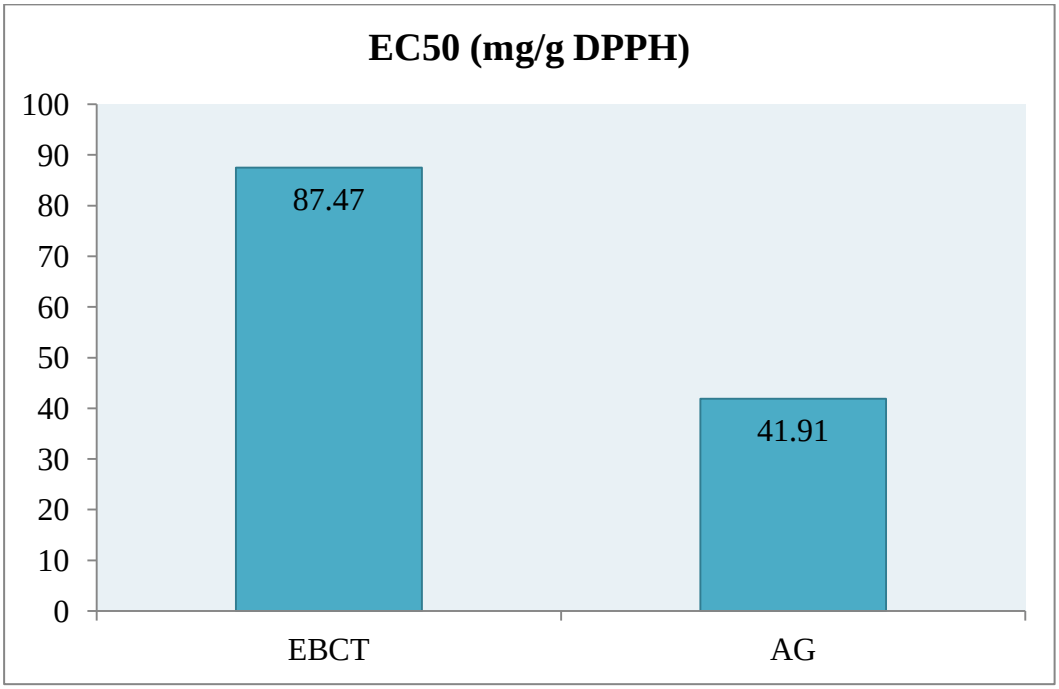


Figure25: Valeures d'EC50 en (mg/g DPPH)

L'activité antioxydante de l'extrait brut pourrait être due à sa richesse en composés phénoliques. En effet l'extrait brut riche en polyphénols du *Cistanche violacea* a été montré avoir un pouvoir antioxydant en testant son pouvoir antiradicalire par la méthode DPPH et par la méthode de chélation du fer ferreux (**Debouba et al., 2012**). Les propriétés antioxydantes que confèrent les métabolites secondaires aux plantes leurs permettent de résister aux maintes menaces environnementales. D'ailleurs, il a été démontré que de nombreux antioxydants non enzymatiques s'accumulent dans la plante pour s'adapter aux différents stress biotiques et abiotiques (**Hemingway *et al*. 1989; Benghersalla, 2015**). De plus ces antioxydants sont en grande partie à l'origine des vertus thérapeutiques des plantes médicinales qui peuvent avoir une activité antimicrobienne, antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreuse, etc. (**Prakash et Sharma, 2014**).

Conclusion générale

Conclusion

Les plantes riches en polyphénols suscitent un intérêt croissant pour leurs propriétés biologiques et potentielles thérapeutiques. *Cistanche tinctoria* est une plante parasite qui pousse dans la région d'Adrar où elle est connue par son appellation vernaculaire « *danoun* ». La Cistanche à différents usages dans la pharmacopée algérienne. L'objectif de cette étude consiste à déterminer la teneur en composés phénoliques des bulbes du *Cistanche tinctoria* ainsi, le pouvoir antioxydant de l'extrait brut des bulbes a été évalué par la méthode de DPPH. Nos résultats ont révélé que les bulbes du *Cistanche tinctoria* sont riches en polyphénols avec une proportion de 16,14 mg EAG/g MS. Les flavonoïdes paraissent la classe des polyphénols prépondérante avec une teneur de 11,31 mg EC/ g MS. Les tanins condensés, quant à eux, sont estimés à 97,14 mg EC/100 g MS. Le test de DPPH a montré que l'extrait brut des bulbes du *Cistanche tinctoria* possède un potentiel anti radicalaire important avec une EC50 de 87,47 mg/ g DPPH. De futures recherches devraient se focaliser sur des extractions sélectives ainsi que des séparations par des techniques chromatographiques et spectroscopiques des composés phénoliques des bulbes du *Cistanche tinctoria*. Il serait intéressant d'évaluer le pouvoir antioxydant des composés phénoliques des bulbes du *Cistanche tinctoria* par d'autres méthodes.

Références bibliographiques

- **Abderrazak M et Joël R., (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris.177p.
- **Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O. and Iwatsuki, K., (2001).** Antibacterial action of several tannins against Staphylococcus aureus. Journal of Antimicrobial Chemotherapyjac, 48 (4): 487-491.Antioxydant and Anticancer Propreties. Molecules, 15(10) : 7313-52.
- **Arous, Sofiane. , 2012** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de Fredolia aretioides. Mémoire de Master, Université de Tlemcen.
- **Beck, Gunther von Mannageta and Lerchenau ., (1904).** Cistanche tnctorria (forssk). Catalogue of the vascular plants of Madagascar, Bulletin de l'Herbier Boissier II, 4:685.
- **Bellakhdar J., 1997 -** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaire ., doctotrat. Metz- France. 764p..
- **Ben Salah M. Hellali R (2011).** Composition chimique des fruits de 15 cultivars tunisiens de palmier dattier (Phoenix dactylifera, L.). FAO 148 :19-25.
- **Benghersallah Nour El Houda (2015).** Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur (Triticum durum Desf) et sur leurs systèmes défensifs. Thèse de doctorat.Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Bensaid Acheur., 2019** Étude ethnobotanique et antifongique de Cistanche tinctoria Et Cistanche violacea dans la wilaya d'Adrar.. Mémoire de Master. Université Ahmed Draïa-Adrar.
- **Beyene B, Beyene B, Deribe H., 2006** Review on Application and Management of Medicinal Plants for the Livelihood of the Local Community. J Resources Development Management.;22:33-9.
- **Bogs, J., Downey, M.O., Harvey, J.S., Ashton, A.R., Tanner, G.J. and Robinson,S. P.(2005).**Proanthocyanidin SynthesisandExpressionofGenesencodingLeucoanthocyanidin Reductase and Anthocyanidin Reductase in Developing GrapeBerries and Grapevine Leaves. American Society of Plant Biologists, 139: 652-663.
- **Bouchouka, E., 2016** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat, Université BADJI MOKHTAR–ANNABA. ALGERIA. P: 49.
- **Bougandoura, Amina, D'abrosca, Brigida, Ameddah, Souad, et al., 2016** Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of Cistanche violacea Desf.(Orobanchaceae) extract. Fitoterapia, vol. 109, p. 248-253.
- **Borris RP., 1996** Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. J Ethnopharmacol; 51:29-38.
- **Cai, K. and Bennick, A., (2006).** Effet of Salivary Proteins on the transport of tannin and quercetin across intestinal epitheial cells in culture. Biochemical Pharmacology, 72: 974-980.
- **China Pharmacopoeia Committee, 2010** Chinese Pharmacopoeia, vol. I. China Medical Science and Technology Press, Beijing, p. 126.

- **Cowan MM., 1999** Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev.; 12(4):564-82.
- **Daij. and Mumper R J., 2010 -** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their .
- **Debouba, Mohamed, Balti, Rafik, Hwiwi, Sami, et al., 2012.** Antioxidant capacity and total phenols richness of Cistanche violacea hosting Zygophyllum album. International Journal of Phytomedicine, vol. 4, no 3, p. 399.
- **Delmas, D., Rebé, C., Lacour, S., Filomenko, R., Athias, A., Gambert, P., Malki, C.M., Jannin, B., Daloz, D.L., Latruffe, N. and Solar y, E.,(2003)**. Resveratolinduced apoptosis complex in colon cancer cells. The Journal of Biological Chemistry,278 (42): 41482-41490.
- **Domart A; Bourneuf J., (1988).** Nouveau Larousse des plantes médicinales. Librairie Larousse. Paris.
- **Dutertrej. M., 2011 -** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales,utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin generalist. Thèse doctorat d'état, Univ.Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences medicales, France, 33 p.
- **E. Blatter**., **1921** Flora Arabia III, Rec. Bot. Surv. India 8: 351.
- **Ebringerova, Z. Hromadkova, E. Machova, R. Naran, V. Hribalova**., **(1997)** Isolation and Characterization of MitogenicPectic Polysaccharides from CistanchedeserticolaY. C. Ma., Chem. Papers, 51 289-294.
- **Erdman Jr, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J.,Harnly, J, Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. and Burrowes, J. (2007).** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop. The Journal of Nutritionjn.nutrition.org, 137: 718-737.
- **Ghosh, D. and Konishi, T. (2007).** Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16(2):200-208.
- **Greathead H., 2003 -** Plants and plant extracts for improving animal productivity.
- **Guillaume B., 2008 -** La Chimie du Carbonyle et des Substitutions. COR301 Chimie
- **H. Chen, FC. Jing, CL. Li, PF. Tu, QS. Zheng, ZH. Wang., (2007)** Echinacoside prevents the striatal extracellular levels of monoamine neurotransmitters from diminution in 6-hydroxydopamine lesion rats. J. Ethnopharmacol., 114 285–289.
- **H. Kobayashi, H. Oguchi, N. Takizawa, T. Miyase, A. Ueno, K. Usmanghani, M. Ahmad**., **(1987)** New Phenylethanoid Glycosides from Cistanchetubulosa(SCHRENK) HOOK. f. I., Chem. Pharm. Bull., 35 3309–3314.
- **Harnly, J.M., Lin, L. and Bhagwat, S. (2007).** Profiling methods for the determination of phenolic compounds in foods and dietary supplements. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 389(1): 47-61.
- **Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & Therapeutics, 96: 67-202.

- **HEMINGWAY, Richard W. et KARCHESY, Joseph J. 1989** Chemistry and significance of condensed tannins. Springer Science & Business Media,.
- **Holderness, J., Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J., Freedman, B. and Jutila, M.A. (2008).** Response of γδ T cells to plant-derived tannins. Critical Review of Immunology, 28(5): 377-402.
- **Jiangsu New Medical College, 1977** Dictionary of Chinese MateriaMedica, Shanghai Science and Technology Press, Shanghai, 895-897.
- **K C. Agrawal**, **1984.** Ecological studies of CistanchetubulosaWight, In: C. Parker, L.J. Musselman, R.M. Polhill and A.K. Wilson (eds.), Proceedings of the 3rd International Symposium of Parasitic Weeds, -Aleppo, Syria. pp 31-39.
- **KAMRA D.N., AGARWAL N. and CHAUDHARY L.C., 2006 -** Inhibition of ruminal
- **Khanbabae, K. and Ree, T.R., (2001).** Tannins:Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry, 18: 641-649.
- **KSOURI, Riadh, MEGDICHE, Wided, FALLEH, Hanen, et al. , 2008** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. Comptes Rendus Biologies, vol. 331, no 11, p. 865-873.
- **LJ. Musselman, (1984)** Some Parasitic Angiosperms of Sudan, Hydronaceae, Orobanchaceae and Cuscuta(Convolvulaceae), -Notes RBG Edinb, 42 21-38.
- **Longo, L.,Vasapollo, G and Rescio, L. (2005):** Identification of anthocyanins in Rhamnus alaternus L. berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1723-1727.
- **Lutige U., Kluge M., Bauer G.,(2002).** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.
- **M. Yoshikawa, H. Matsuda, T. Morikawa, H. H. Xie, S. Nakamura, O. Muraoka**, **(2006)** Phenylethanoid oligo glycosides and acylatedoligosugars with vasorelaxant activity from Cistanchetubulosa, Bioorg. Med. Chem., 14 7468-7475.
- **Macdonald-Wicks, Lesley K., Wood, Lisa G., et Garg, Manohar L. 2006** Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 86, no 13, p. 2046-2056.
- **Macheix, J.J., A. Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. In : Les composés phénoliques des végétaux.Ed : Technique et documentation. Lavoisier. 10-15.
- **Massimo, A., Carmela, F., Roberta, D.B., Raffaella, G., Claudio, G. and Roberta, M. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Annali dell'Istituto superiore di sanità, 43: 348-361.
- **Masuda, T. et al., 1999.** Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. Journal of Agricultural and Food chemistry, 47(4), pp.1749–1754.

- **MC. Lu, (1998)** Studies on the sedative effect of Cistanche deserticola, J. Ethnopharmacol., 59 161-165Methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series, 1293: 156–163.
- **Michalak, A. (2006).** Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. Polish Journal of Environmental Study, 15(4): 523-530.
- **Nonaka, G. I (1989).** Isolation and structure elucidation of tannins. Pure & Application Chemistry, 61(3): 357-360. Organique II, Univ. Sherbrooke, Canada, 6 p.
- **Ozenda,p., 1991.**Flore et végétation du Sahara. Ed. CNRS, Paris. 662 p.
- **P. Ozenda**, **1993** Flore et Végétation du Sahara, Edition Paris,. 388.
- **Panche, A. N.; Diwan, A. D.; 2016** Chandra, S. R. Flavonoids: an overview. J. Nutr. Sci. 5, e47.
- **Paolini, V., Dorchies, Ph and Hoste, H. (2003).** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre.Alter. Agri., 17-19.
- **Piwowarczyk, Renata, Ochmian, Ireneusz, Lachowicz, Sabina, et al., 2020** Phytochemical parasite-host relations and interactions: A Cistanche armena case study. Science of The Total Environment, vol. 716, p. 137071.Proceedings of the Nutrition Society, 62: 279–290.
- **Psotovà, J., Lasovsky, J and Vicar, J. (2003).** Metal-chelating Propertys,lectrochemical Behavour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Natural phenolic. Biomedical Papers, 147(2): 147-153.
- **Pyrzynska, K. &Pękal, A., 2013.** Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. Analytical Methods, 5(17),pp.4288–4295.
- **Qin, C., Li, Y., Niu, W., Ding, Y., Zhang, R., Shang, X. (2010):** Analysis and characterisation of anthocyanins in mulberry fruit. Czech Journal of Food Sciences, 28: 117-126 .
- **Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouységu, L. (2011).** "Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis." Angewandte Chemie - AInternational Edition, 50(3): 586-621.
- **Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M and Yu, O. (2005).** Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type I and Type II Chalcone Isomerases. Plant Physiology, 137(4): 1375-1388.
- **Rates SMK., 2001** Plants as source of drugs. Toxicon.; 39:603–13.
- **RL. Cai, MH. Yang, Y. Shi, J. Chen, YC. Li, Y. Qi.,(2010)** Antifatigue activity of phenylethanoid-rich extract from Cistanchedeserticola, Phytotherapy research, 24, 313-315.
- **Roupe, K., Remsberg, C. M., Yonez, A et Davies, N. M .; (2006).** Pharmacometric of stilbènes: Seguing Towards the clinic. Current Clinical Pharmacology, 1(1): 81-101.
- **S. Maruyama, S. Hashizume, T. Tanji, K. Yamada, H. Tachibana.,(2008)** Cistanche salsa extract enhanced antibody production in human lymphnode lymphocytes, Pharmacology-online, 2 341-348.

- **SAEIDI, MEHRVARZ SHAHRIAR, and SHAVOUN R. SHAHI. , 2008** *Notes on the Genus Cistanche (Orobanchaceae) in Iran*. THE IRANIAN JOURNAL OF BOTANY.
- **Sanchez-Mareno C.;(2002)** Review: Methods used to evaluate the freeradical scavenging activity in foods and biological systems.Food Sci Technol Intern 8:121–137
- **Sarni-Manchado, P and Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 3-4.
- **Sava, C., Sirbu, R. and Dumitrescu, C. (2006).** Analyse qualitative et quantitative des anthocyanes dans des produits naturels. Scientific Study & research, vol. VII (4):785-798.
- **Scalbert A., Manach C., Morand C. and Rémésy C., 2005 -** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45 : 287–306.
- **Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S and Nacro, M. (2010).** Anatomie et concentration des tanins des plantes tanniferes du Burkina Faso. Journal des sciences, 10: 24 -32.
- **Sitouh.(1989)** Les planæsutiiesaûSatrara.Ann Inst. Nat.Agro. El-Harrach,Alger, Vol. 13,no 2, 1989,pp.583-658.
- **Stefek, M. (2011).** Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. Interdisciplinary. Toxicology, 4(2): 69–77.
- **T. Deyama, H. Kobayashi, S. Nishibe, T. Tu.,(2006)** Isolation, structure elucidation and bioactivities of phenylethanoid glycosides from Cistanche, Forsythia and Plantagoplants, Studies in Natural Products Chemistry – Bioactive Natural Products (Part M), 33 645-74.
- **T. Morikawa, Y. Pan, K. Ninomiya, K. Imura, H. Matsuda, M. Yoshikawa, D. Yuan, O. Muraoka.,(2010)**Acylatedphenylethanoidoligo glycosides with hepatoprotective activity from the desert plant Cistanchetubulosa,Bioorg.Med.Chem.,18 1882-1890.DOI: 10.1016/j.bmc.2010.01.047.
- **T. Namba. , 1994** In The Encyclopedia of Wakan-Yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines) with Color Pictures (Vol II), Hoikusha publishing Co. ltd. Osaka. 80pp.
- **T. Sato, S. Kozima, K. Kobayashi, H. Kobayashi.,(1985)** Pharmacological studies on CistanchisHerba. I. Effects of the constituents of CistanchisHerba on sex and learning behavior in chronic stressed mice (1) Yakugakuzasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 105 1131-1144.
- **T. Wang, X. Zhang, W. Xie., (2012)** Cistanche deserticola Y. C. Ma, Desert Ginseng: A Review, Am J of Chin Med., 40 1123-1141.
- **Tanner, G.J., Francki, K.T., Abrahams, S., Watson, J.M., Larkin, P.J and Ashton, A.R. (2003).** Proanthocyanidin biosynthesis in plants: purification of legume.
- **V. Hammiche, K. Maiza.,(2006)** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of TassiliN'ajjer, Journal of Ethnopharmacology, 105 358–367.
- **Wang, Ye, et al., 2019** "Chemical Diversity and Prediction of Potential Cultivation Areas of Cistanche Herbs." *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, Nature Publishing Group, pp. 1–13.

- **Wertz, J.L., Richel, A. and Gerin, P. (2015).** Molécules issues de la valorisation de la lignine. Ed. Wallonie, p. 01-37.
- **Winkel-Shirley, B. (2000).** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology, 5: 218–223.
- **Wong, Chi-Chun, LI, Hua-Bin, Cheng, Ka-Wing, et al. , 2006** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food chemistry, vol. 97, no 4, p. 705-711.
- **XC. Geng, LW. Song, XP. Pu, PF. Tu.,(2004)** Neuroprotective effects of phenylethanoid glycosides from Cistanches salsa against 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) induced dopaminergic toxicity in C57 mice, Biol Pharm Bull., 27 797-801. doi: 10.1248/bpb.27.797.
- **XM. Liu, J. Li, Y. Jiang, MB. Zhao, PF. Tu., (2013)** chemical constituents from Cistanche sinensis (Orobanchaceae), Biochem Syst Ecol., 47 21-24.
- **YN. Pan, T. Morikawa, K. Ninomiya, K. Imura, D. Yuan, M. Yoshikawa, O. Muraoka., (2010)** Bioactive Constituents from Chinese Natural Medicines. XXXVI. Four New AcylatedPhenylethanoidOligoglycosides, Kankanosides J(1), J(2), K-1, and K-2, from Stems of Cistanchetubulosa, Chem. Pharm. Bull., 58 575–578.
- **Zhang, Ying, Wang, Yuewu, Yang, Song, et al.; 2019** The difference of chemical components and biological activities of the raw products slices and the wine steam-processed product from Cistanche deserticola. Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine, 2019, vol..

Résumé

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes qui ont de maintes propriétés biologiques que tel que le pouvoir antioxydant. Ce travail a pour but de procéder une extraction des composés phénoliques des bulbes du *Cistanche tinctoria* avec un système de solvant « ternaire » composé de méthanol/acétone/eau ; 7/7/6 ; V/V/V. Les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins condensés sont dosés, par colorimétrie, dans l'extrait brut ainsi obtenu. Le pouvoir antioxydant de l'extrait brut est évalué par la méthode DPPH. Les résultats ont révélé que les bulbes du *Cistanche tinctoria* sont riches en polyphénols, flavonoïdes, et tanins condensés avec des teneurs de 16,14 mg EAG/g MS, 11,31 mg EC/ g MS, 97,14 mg / 100 g MS respectivement. Le test DPPH a montré que l'extrait brut des bulbes du *Cistanche tinctoria* a un potentiel anti radicalaire notable avec une EC50 de 87,47 mg/ g DPPH. Enfin, la richesse des bulbes du *Cistanche tinctoria* en polyphénols pourrait expliquer le recours à son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Mots clés : *Cistanche tinctoria*, bulbes, composés phénoliques, pouvoir antioxydant, DPPH.

Abstract

Polyphenols are secondary metabolites of plants which have many biological properties such as antioxidant power. The aim of this work is to extract the phenolic compounds from the bulbs of *Cistanche tinctoria* with a ternary solvent system composed of methanol / acetone / water; 7/7/6; V / V / V. Polyphenols, flavonoids and condensed tannins are determined, by colorimetry, in the obtained crude extract. The antioxidant power of the crude extract is assessed by the DPPH method. The results revealed that the bulbs of *Cistanche tinctoria* are rich in polyphenols, flavonoids, and condensed tannins with contents of 16.14 mg EAG / g MS, 11.31 mg EC / g MS, 97.14 mg / 100 g MS respectively. The DPPH test showed that the crude extract from the bulbs of *Cistanche tinctoria* has a notable free radical scavenging capacity with an EC50 determined at 87.47 mg / g DPPH. Finally, the richness of the bulbs of *Cistanche tinctoria* in polyphenols could explain its use in traditional medicine.

Key words: *Cistanche tinctoria*, bulbs, phenolic compounds, antioxidant power, DPPH.

ملخص

البوليفينول عبارة عن مركبات ايضية ثانوية نباتية لها العديد من الخصائص البيولوجية مثل القوة المضادة للأكسدة. يهدف هذا العمل إلى استخلاص المركبات الفينولية من بصيلات *Cistanche tinctoria* بنظام المذيبات الثلاثي المكون من الميثانول / الأسيتون / الماء ؛ 6/7/7 ؛ V / V / V. يتم تحديد البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف ، عن طريق قياس شدة اللون ، في المستخلص الخام الذي تم الحصول عليه. يتم تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلص الخام بواسطة تقنية DPPH. أظهرت النتائج أن بصيلات *Cistanche tinctoria* غنية بالبوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف بمحتويات 16.14 مجم EAG / جم MS و 11.31 مجم EC / جم MS و 97.14 مجم / 100 جم MS على التوالي. أظهر اختبار DPPH أن المستخلص الخام لبصيلات *Cistanche tinctoria* لديه إمكانات كبيرة مضادة للجذور الحرة الملحوظة مع القيمة EC50 حددت ب87.47 مجم / جم DPPH. أخيرًا ، يمكن لغنى *Cistanche tinctoria* بالبوليفينول أن يُفسر اللجوء إلى استخدامها في الطب التقليدي.

الكلمات الأساسية: *Cistanche tinctoria* ، البصيلات، المركبات الفينولية ، القوة المضادة للأكسدة ، DPPH.