



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –**



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

**Laboratoire :**

Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie : Synthèse et activité biologique

**Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

**Thème :**

**Etude phytochimique et évaluation des activités  
antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* des extraits  
bruts d'écorce de *Salix alba* L. de la région de Tlemcen**

**Présenté par : Mlle BENYOUSFI Anfel**

**Soutenu le 24/06/2026 devant les membres de jury :**

|                     |                |            |               |
|---------------------|----------------|------------|---------------|
| <b>Présidente</b>   | MEZOUAR Dounia | <b>MCA</b> | Univ. Tlemcen |
| <b>Examinatrice</b> | ABBOU Fayza    | <b>MCB</b> | Univ. Tlemcen |
| <b>Encadrant</b>    | AZZI Rachid    | <b>Pr</b>  | Univ. Tlemcen |

**Année universitaire : 2025/2026**

# *Remerciements*

Je commence par rendre grâce à **Allah**, le Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la patience et le courage nécessaires pour accomplir ce travail dans les meilleures conditions.

J'adresse mes plus sincères remerciements à mon encadrant, **M. AZZI Rachid**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de diriger ce travail. Je lui suis profondément reconnaissante pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité constante, ses orientations judicieuses ainsi que pour la rigueur scientifique dont il a fait preuve tout au long de cette étude. Ses précieux conseils, son soutien indéfectible et ses remarques constructives ont été d'une aide inestimable dans la réalisation de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon plus grand respect.

Mes profonds remerciements sont adressés au **Dr MEZOUAR Dounia**, Maître de conférences classe A au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.

J'adresse également mes sincères remerciements au **Dr ABBOU Fayza**, Maître de conférences classe B au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et de lui accorder de leur temps précieux. L'honneur qu'ils me font en examinant ce mémoire est pour moi une source de fierté et d'encouragement.

Je tiens également à adresser mes plus sincères remerciements à la doctorante **AZZOUZ Marwa** pour son soutien précieux, sa disponibilité et sa présence constante tout au long de ce travail. Au-delà de son aide et de ses conseils, elle a toujours fait preuve de bienveillance et d'encouragement à mon égard. Sa générosité, son écoute et son accompagnement ont été d'un grand réconfort durant cette période. Je lui suis profondément reconnaissante pour tout ce qu'elle m'a apporté et lui souhaite, de tout cœur, beaucoup de réussite, d'épanouissement et l'accomplissement de tous ses projets et aspirations.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble du corps enseignant du département de Biologie de l'Université de Tlemcen pour la formation de qualité dispensée tout au long de mon cursus, ainsi qu'au personnel des laboratoires pour leur aide technique et leur bienveillance.

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement **Mme BOUCHERIT Zahia**, dont la bienveillance et le soutien ont illuminé les périodes les plus difficiles de mon parcours. Sa présence, ses paroles réconfortantes et sa confiance m'ont apporté une force précieuse lorsque j'en avais le plus besoin. Les mots me semblent insuffisants pour exprimer toute ma reconnaissance. Je lui serai toujours sincèrement et profondément reconnaissante pour tout ce qu'elle a fait pour moi.

# **Dédicaces**

*Je dédie ce modeste travail, fruit de longues années d'efforts et de persévérance, à tous ceux qui me sont chers et dont l'amour, le soutien et la présence ont illuminé mon chemin tout au long de ce parcours.*

## **À la mémoire de ma très chère mère,**

*Il est difficile de trouver les mots justes pour exprimer ce que tu représentes pour moi. Ton amour, ta tendresse et les valeurs que tu m'as transmises continuent de guider chacun de mes pas. Même si ton absence laisse un vide immense dans mon cœur, ta présence demeure vivante dans chacun de mes souvenirs et dans tout ce que je suis devenue. Je rends grâce à Dieu pour m'avoir accordé le privilège d'être ta fille. Cette réussite, comme toutes les autres, t'est dédiée avec tout mon amour. Puisses-tu reposer en paix.*

## **À la mémoire de ma chère grand-mère,**

*Tu as été bien plus qu'une grand-mère : tu as été une éducatrice, un modèle et une source inépuisable d'affection. C'est grâce à ton amour, à tes enseignements et à ta force que je suis devenue la femme que je suis aujourd'hui. Ton souvenir m'accompagne chaque jour et continue d'éclairer mon chemin. Ce travail est un humble hommage à tout ce que tu m'as apporté. Que Dieu t'accorde Sa miséricorde et Son paradis éternel.*

## **À ma tante, Amina,**

*Toi qui as été pour moi une seconde mère depuis l'enfance, merci pour ton amour, ta présence constante et tous les sacrifices consentis pour mon bonheur. Tu as su combler, par ta tendresse et ton dévouement, les moments les plus difficiles de ma vie. Je te serai éternellement reconnaissante.*

## **À mon père, Djamel,**

*Pour ton affection, ton soutien et tes efforts silencieux mais constants. Je t'adresse à travers ce travail toute ma reconnaissance et mon profond respect.*

**À mes chers frères, Bachir et Mounir,**

*Pour votre présence, votre affection et les liens précieux qui nous unissent. Je vous souhaite tout le bonheur et toute la réussite que vous méritez.*

**À mes chers oncles, Larbi, Abdelkrim et Mohammed,**

*Pour votre soutien, vos encouragements et votre bienveillance. Que vous trouviez ici l'expression de ma sincère gratitude.*

**À mon amie la plus chère, Sara ABI AYAD,**

*Merci pour ton amitié sincère, ton écoute et ton soutien indéfectible. Dans les moments de joie comme dans les épreuves, tu as toujours été présente. Ta place dans mon cœur est unique, et je te remercie pour tout ce que tu représentes dans ma vie.*

**À une présence précieuse**

*Dans les moments où tout semblait plus lourd, tu as été un refuge, une lumière et une source de force. Par ta présence, ta douceur et ton soutien, tu as su redonner de l'espoir aux jours les plus difficiles. Aucun mot ne saurait traduire toute l'affection et la reconnaissance que je porte dans mon cœur. Merci d'avoir été là, tout simplement.*

**À moi-même**

*À celle qui n'a jamais cessé d'espérer, même dans les moments les plus difficiles.*

***Et finalement À tous ceux que j'aime, à ceux qui m'ont soutenue et à ceux qui continuent de vivre à travers mes souvenirs,***

*Je dédie ce travail avec amour, respect et reconnaissance.*

**Anfel**

## الملخص

الصفصاف الأبيض (*Salix alba* L.) شجرة ثنائية المسكن تنتمي إلى الفصيلة الصفصافية يبلغ ارتفاع الأشجار حوالي 25 متراً و تتميز هاته الأخيرة بلحاء متشقق وتُعرف في الجزائر بالاسم المحلي ( صفصاف لبياض ). يتميز لحاؤها بغناه بمشتقات الساليسيل، لا سيما الساليسين، إلى جانب الفلافونويدات والتانينات المكثفة، مما يمنحها خصائص مسكنة للألم ومضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة.

جرى إزالة الدهون من اللحاء أولاً بالاستخلاص بجهاز سوكسلت باستخدام الكلوروفورم ثم خُصِّرت المستخلصات الخام في خليط ميثانول/ماء مقطر بنسبة (70/30)

أظهر مستخلص الغليان مردوداً بلغ 5,21%، أي ما يقارب ضعف مردود مستخلص النقع المقدّر بـ 2,61%. يتميز كلا المستخلصين بلون بني وقابلية ذوبان تامة في الماء المقطر.

كشف تقدير المركبات الفينولية أن مستخلص الغليان يحتوي على أعلى تركيز من البوليفينولات الكلية بقيمة  $0,0740 \pm 0,56$  ميلليغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص الجاف. في المقابل، سجّل مستخلص النقع قيمة  $0,0606 \pm 0,47$  ميلليغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص الجاف. أما محتوى الفلافونويدات، فكان أعلى في مستخلص النقع بقيمة  $0,14 \pm 0,0654$  ميلليغرام مكافئ كاتيشين/ملغ مستخلص جاف، مقابل  $0,076 \pm 0,0880$  في مستخلص الغليان. وفيما يخص التانينات المكثفة، سجّل مستخلص الغليان الأعلى بقيمة  $0,78 \pm 0,029$  ميلليغرام مكافئ كاتيشين/ملغ، مقابل  $0,52 \pm 0,0016$  لـ مستخلص النقع.

أكد الفحص الفيتوكيميائي النوعي وجود التانينات والفلافونويدات والتيربينويدات والكينونات الحرة والمركبات المختزلة في كلا المستخلصين.

أظهر اختبار **DPPH** أن مستخلص النقع يمتلك  $IC_{50}$  بقيمة 215 ميكروغرام/مل، وهي أقل من تلك الخاصة بـ مستخلص الغليان البالغة 242 ميكروغرام/مل، مما يعكس قدرة اختزال أعلى للجذور الحرة في مستخلص النقع. أكد اختبار **FRAP** هذا الاتجاه، بقيم  $EC_{50}$  بلغت 240 ميكروغرام/مل لـ مستخلص النقع و 287,5 ميكروغرام/مل لـ مستخلص الغليان.

فيما يخص النشاط المضاد للالتهابات، المُقيّم بطريقة تثبيط تمسخ بروتين ألبومين البيض، سجّل متخلص النقع قيمة  $IC_{50}$  تساوي 555,55 ميكروغرام/مل، مقابل 763,8 ميكروغرام/مل لمستخلص الغليان، مما يؤكد التفوق النسبي لمستخلص النقع.

**الكلمات المفتاحية:** صفصاف أبيض، لحاء، المركبات الفينولية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات، تمسخ البروتينات.

## Résumé

Le Saule Blanc (*Salix alba* L.) est un arbre dioïque de la famille des Salicaceae, atteignant une hauteur de 25 mètres, caractérisé par une écorce crevassée. Il est localement connu en Algérie sous l'appellation de « Safsaf Labyadh ». Son écorce est riche en dérivés salicylés, notamment la salicine, ainsi qu'en flavonoïdes et en tanins condensés, ce qui lui confère des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antioxydantes reconnues.

Ce travail porte sur l'étude phytochimiques, dosage des composés phénoliques, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits bruts hydrométhanoliques obtenus par macération et décoction à partir de l'écorce de Saule Blanc (*Salix alba*).

L'écorce a été préalablement dégraissée par extraction au Soxhlet au chloroforme, puis les extraits bruts hydrométhanoliques ont été préparés dans un mélange méthanol/eau distillée (70/30). L'extrait obtenu par décoction a présenté un rendement de 5,21 %, soit près du double de celui obtenu par macération, établi à 2,61 %. Les deux extraits se distinguent par une coloration marron et une solubilité totale dans l'eau distillée.

Le dosage des composés phénoliques a révélé que l'extrait brut préparé par décoction présente une teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés de l'ordre de  $0,56 \pm 0,0740$  mg EAG/mg ES et  $0,78 \pm 0,029$  mg EC/mg ES, supérieure à celle de l'extrait brut préparé par macération ( $0,47 \pm 0,0606$  mg EAG/mg ES et  $0,52 \pm 0,016$  mg EC/mg ES), respectivement. En revanche, la teneur en flavonoïdes est plus élevée dans l'extrait brut préparé par macération ( $0,14 \pm 0,0654$  mg EC/mg ES) que dans l'extrait brut préparé par décoction ( $0,076 \pm 0,0880$  mg EC/mg ES).

Le criblage phytochimique qualitatif a confirmé la présence de tanins, de flavonoïdes, de terpénoïdes, de quinones libres et de composés réducteurs.

Quant aux propriétés antioxydantes, l'analyse du piégeage du radical DPPH démontre que l'extrait brut préparé par macération possède une capacité antiradicalaire plus optimale que l'extrait brut préparé par décoction, au vu de sa concentration inhibitrice  $CI_{50}$  de 215  $\mu\text{g/mL}$  plus faible contrairement à 242  $\mu\text{g/mL}$ . Le test FRAP a confirmé cette tendance, les valeurs d' $EC_{50}$  obtenues restant inférieures (et donc plus performantes) pour l'extrait obtenu par macération ( $EC_{50}$  de 240  $\mu\text{g/mL}$ ) comparativement au décocté 287,5  $\mu\text{g/mL}$ .

Concernant l'activité anti-inflammatoire, évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf, l'extrait brut préparé par macération a affiché une  $CI_{50}$  de 555,55  $\mu\text{g/mL}$  contre 763,8  $\mu\text{g/mL}$  pour l'extrait brut préparé par décoction.

**Mots clés :** *Salix alba*, Ecorce, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, dénaturation des protéines.

## Abstract

White Willow (*Salix alba* L.) is a dioecious tree belonging to the Salicaceae family, capable of reaching 25 metres in height, characterised by its deeply furrowed bark, is locally known in Algeria as "Safsaf Labyadh". Its bark is notably rich in salicylate derivatives, particularly salicin, as well as flavonoids and condensed tannins, conferring recognised analgesic, anti-inflammatory, and antioxidant properties.

The bark was first defatted by Soxhlet extraction with chloroform, after which crude hydromethanolic extracts were prepared in a methanol/distilled water mixture (70/30). The decoction extract yielded 5.21%, nearly double that of the maceration extract at 2.61%. Both extracts were characterised by a brown colour and complete solubility in the hydromethanolic mixture.

Quantification of phenolic compounds showed that the crude decoction extract contained a higher total polyphenol content of  $0,56 \pm 0,0740$  mg GAE/mg dry extract compared to the crude maceration extract ( $0,47 \pm 0,0606$  mg GAE/mg dry extract). Conversely, the flavonoid content was higher in the crude maceration extract ( $0,14 \pm 0,0654$  mg CE/mg dry extract) than in the crude decoction extract ( $0,076 \pm 0,0880$  mg CE/mg dry extract). For condensed tannins, crude decoction extract again recorded the highest content at  $0,78 \pm 0,029$  mg CE/mg dry extract, compared to  $0,52 \pm 0,0016$  mg CE/mg dry extract for the crude maceration extract. Qualitative phytochemical screening confirmed the presence of tannins, flavonoids, terpenoids, free quinones, and reducing compounds in both extracts.

Antioxidant activity assessed by the DPPH radical scavenging test revealed that the crude maceration extract exhibited an  $IC_{50}$  of 215  $\mu\text{g/mL}$ , lower than that of the crude decoction extract (242  $\mu\text{g/mL}$ ), indicating stronger free radical scavenging activity for the maceration extract. The FRAP assay confirmed this trend, with  $EC_{50}$  values of 240  $\mu\text{g/mL}$  for the crude maceration extract and 287.5  $\mu\text{g/mL}$  for crude decoction extract.

Regarding anti-inflammatory activity, evaluated through the egg albumin denaturation inhibition test, crude maceration extract displayed an  $IC_{50}$  of 555.55  $\mu\text{g/mL}$  compared to 763.8  $\mu\text{g/mL}$  for the crude decoction extract, confirming the superior activity of the maceration extract.

**Keywords:** *Salix alba*, White Willow, bark, , phenols compounds , antioxidant activity, anti-inflammatory activity, protein denaturation.

# Table des matières

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| Remerciements .....                                                    |    |
| Dédicaces .....                                                        |    |
| الملخص .....                                                           |    |
| Résumé .....                                                           |    |
| Abstract .....                                                         |    |
| Liste des abréviations .....                                           |    |
| Liste des figures .....                                                |    |
| Liste des tableaux .....                                               |    |
| Synthèse bibliographique .....                                         | 15 |
| Matériel et méthodes .....                                             | 7  |
| 1. Matériel végétal .....                                              | 7  |
| 2. Préparation des extraits .....                                      | 8  |
| Dégraissage de la matière végétale .....                               | 8  |
| 2.1. Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par Macération ..... | 9  |
| 2.2. Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par Décoction .....  | 10 |
| 2.3. Calcul du rendement .....                                         | 10 |
| 3. Dosage des composés phénoliques .....                               | 10 |
| 3.1. Dosage des polyphénols totaux .....                               | 10 |
| 3.2. Dosage des flavonoïdes .....                                      | 12 |
| 3.3. Dosage des tanins condensés .....                                 | 13 |
| 4. Tests phytochimiques .....                                          | 14 |
| 4.1. Les composés azotés .....                                         | 14 |
| 4.2. Les composés phénoliques .....                                    | 15 |
| 4.3. Les composés terpéniques .....                                    | 15 |
| 4.4. Les composés réducteurs .....                                     | 16 |
| 5. Evaluation de l'activité antioxydante .....                         | 16 |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1. Test du piégeage du radical libre DPPH .....                             | 16 |
| 5.2. Pouvoir réducteur de fer (Ferric Reducing Antioxidant Power ; FRAP)..... | 17 |
| 6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....                           | 18 |
| Résultats et interprétations .....                                            | 20 |
| 1. Caractéristiques des extraits préparés .....                               | 20 |
| 2. Dosage des composés phénoliques .....                                      | 21 |
| 2.1. Dosage des polyphénols totaux.....                                       | 21 |
| 2.2. Dosage des flavonoïdes.....                                              | 22 |
| 2.3. Dosage des tanins condensés .....                                        | 23 |
| 3. Tests phytochimiques .....                                                 | 24 |
| 4. Evaluation de l'activité antioxydante .....                                | 26 |
| 4.1. Test Piégeage du radical libre DPPH.....                                 | 26 |
| 4.2. Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP) .....                            | 29 |
| 5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....                           | 32 |
| Discussion .....                                                              | 35 |
| Conclusion.....                                                               | 37 |
| Références bibliographiques .....                                             | 39 |

## Liste des abréviations

**AINS** : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

**BHA** : Butylhydroxyanisole (Antioxydant de référence)

**CE<sub>50</sub>** : Concentration Efficace à 50 %

**CI<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice à 50 %

**COX** : Cyclooxygénase

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (Radical libre utilisé pour le test antioxydant)

**EBD** : Extrait Brut Hydrométhanolique préparé par Décoction

**EBM** : Extrait Brut Hydrométhanolique préparé par Macération

**ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène

**FRAP** : *Ferric Reducing Antioxidant Power* (Pouvoir réducteur du fer)

**GPx** : Glutathion Peroxydase

**IL** : Interleukine (ex. IL-1, IL-6)

**MDA** : Malondialdéhyde

**TNF- $\alpha$**  : *Tumor Necrosis Factor-alpha* (Facteur de nécrose tumorale alpha)

## Liste des figures

|                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1 :</b> Figure composite illustrant différentes parties de Salix Alba :(A) Feuilles ; (B) Ecorce et (C) Arbre ( <b>Incroyables Plantes ; Robino, J</b> ) .....                                                                         | 3  |
| <b>Figure 2 :</b> Carte de distribution indigène de Salix alba en Europe, en Afrique du Nord et en Asie occidentale ( <b>Houston Durrant et al., 2016</b> ).....                                                                                 | 4  |
| <b>Figure 3 :</b> Transformation métabolique des dérivés de la salicine du Saule Blanc en Acide salicylique ( <b>Sărăcilă et al., 2021</b> ).....                                                                                                | 5  |
| <b>Figure 4 :</b> Ecorce de Saule Blanc (Salix Alba) séchée ( <b>Photo personnelle</b> ).....                                                                                                                                                    | 7  |
| <b>Figure 5 :</b> Montage expérimental d'une extraction solide-liquide au Soxhlet ( <b>LAPSAB, 2026</b> ) .....                                                                                                                                  | 8  |
| <b>Figure 6:</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique (dosage des polyphénols totaux).....                                                                                                                                                       | 21 |
| <b>Figure 7:</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée pour le dosage des flavonoïdes .....                                                                                                                                               | 22 |
| <b>Figure 8:</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée pour la détermination des tanins condensés .....                                                                                                                                   | 23 |
| <b>Figure 9:</b> Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique et du BHA (Molécules de références).....                                                                  | 27 |
| <b>Figure 10:</b> Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ( <b>EBM</b> ) d'écorce du Saule Blanc (Salix alba). .....          | 27 |
| <b>Figure 11:</b> Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ( <b>EBD</b> ) d'écorce du Saule Blanc (Salix alba). .....           | 28 |
| <b>Figure 12:</b> Le pouvoir réducteur du fer (FRAP) en présence des molécules de référence : Acide ascorbique et BHA.....                                                                                                                       | 29 |
| <b>Figure 13:</b> Pouvoir réducteur du fer en présence d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ( <b>EBM</b> ) d'écorce du Saule Blanc (Salix Alba).....                                                                          | 30 |
| <b>Figure 14:</b> Pouvoir réducteur du fer en présence d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ( <b>EBD</b> ) d'écorce du Saule Blanc (Salix alba).....                                                                           | 30 |
| <b>Figure 15:</b> Evolution des pourcentages d'inhibition de dénaturation d'albumine en fonction des différentes concentrations du diclofénac (Molécule de référence) .....                                                                      | 32 |
| <b>Figure 16:</b> Evolution des pourcentages d'inhibition de dénaturation d'albumine en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ( <b>EBM</b> ) d'écorce du Saule Blanc (Salix alba)..... | 33 |

**Figure 17:** Evolution des pourcentages d'inhibition de dénaturation d'albumine en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (**EBD**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*) ..... 33

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1 :</b> Méthode du dosage des polyphénols totaux .....                                                                                                                                                             | 11 |
| <b>Tableau 2 :</b> Méthode du dosage des flavonoïdes .....                                                                                                                                                                    | 13 |
| <b>Tableau 3 :</b> Méthode du dosage des tanins condensés .....                                                                                                                                                               | 14 |
| <b>Tableau 4:</b> Caractéristiques physico-chimiques des extraits hydrométhanoliques d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) obtenus par macération et par décoction .....                                              | 20 |
| <b>Tableau 5:</b> Teneurs en polyphénols totaux des deux extraits d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) .....                                                                                                         | 21 |
| <b>Tableau 6:</b> Teneurs en flavonoïdes des deux extraits d'écore du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) ....                                                                                                                  | 22 |
| <b>Tableau 7:</b> Teneurs en Tanins condensés des deux extraits d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) .....                                                                                                           | 23 |
| <b>Tableau 8:</b> Résultats des tests phytochimiques des extraits d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) obtenues par macération et décoction .....                                                                    | 24 |
| <b>Tableau 9:</b> Les valeurs de CI50 obtenues lors du piégeage du DPPH de l'acide ascorbique, BHA et les extraits bruts ( <b>EBM</b> ) et ( <b>EBD</b> ) d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) .....                 | 28 |
| <b>Tableau 10:</b> Les valeurs des EC50 du pouvoir réducteur du fer d'acide ascorbique, BHA et des extraits bruts ( <b>EBM</b> ) et ( <b>EBD</b> ) d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) .....                        | 31 |
| <b>Tableau 11:</b> Les valeurs de CI50 obtenues lors du test d'inhibition de dénaturation d'albumine du diclofénac et les extraits bruts ( <b>EBM</b> ) et ( <b>EBD</b> ) d'écorce du Saule Blanc ( <i>Salix alba</i> ) ..... | 34 |

# **Synthèse bibliographique**

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique ancienne dont les connaissances, transmises de génération en génération, ont été peu à peu rassemblées pour constituer les bases des pharmacopées traditionnelles. L'étude des relations entre les sociétés humaines et les plantes a été nommée « ethnobotanique » par Harshberger en 1895, avant que Jones (1941) et Schultes (1968) ne précisent les liens étroits unissant l'être humain à la végétation de son environnement **(Laouar, 2025)**. Sur le plan scientifique, la validation de ces remèdes anciens a franchi une étape importante en 1971 avec l'identification de la cyclooxygénase comme cible moléculaire, confirmant l'intérêt biologique de substances naturelles utilisées depuis des millénaires **(Gheddab, 2016)**. Ce savoir empirique, aujourd'hui confirmé par la recherche phytochimique moderne, reste un pilier essentiel de la santé des populations **(Gheddab, 2016; Laouar, 2025)**.

En Algérie, les premières descriptions structurées de la flore médicinale datent de 1942, suivies d'un développement notable après l'indépendance, notamment grâce aux travaux de référence de Farid Baba-Aïssa sur les plantes médicinales algériennes publiés en 1991 **(Laouar, 2025)**. À l'échelle mondiale, les ressources végétales représentent un secteur économique majeur, avec un marché estimé à 40 milliards de dollars, qui pourrait dépasser les 400 milliards d'ici 2026 **(Latif & Nawaz, 2025)**. Cette croissance est portée par une demande industrielle croissante pour des molécules bioactives, dont la valeur commerciale progresse de façon significative **(Liu et al., 2026)**. En effet, environ un quart des médicaments cliniques actuels sont issus ou dérivés de produits naturels, à l'image de molécules anticancéreuses comme le paclitaxel **(Botelho et al., 2025 ; Chaudhary et al., 2025)**. L'innovation s'accélère aujourd'hui grâce à l'intégration de technologies avancées telles que la biologie synthétique et les méthodes modernes d'analyse moléculaire, qui contribuent à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les maladies chroniques et la découverte de principes actifs sûrs et efficaces **(Botelho et al., 2025 ; Gadhoudi et al., 2025 ; Latif & Nawaz, 2025 ; Liu et al., 2026)**.

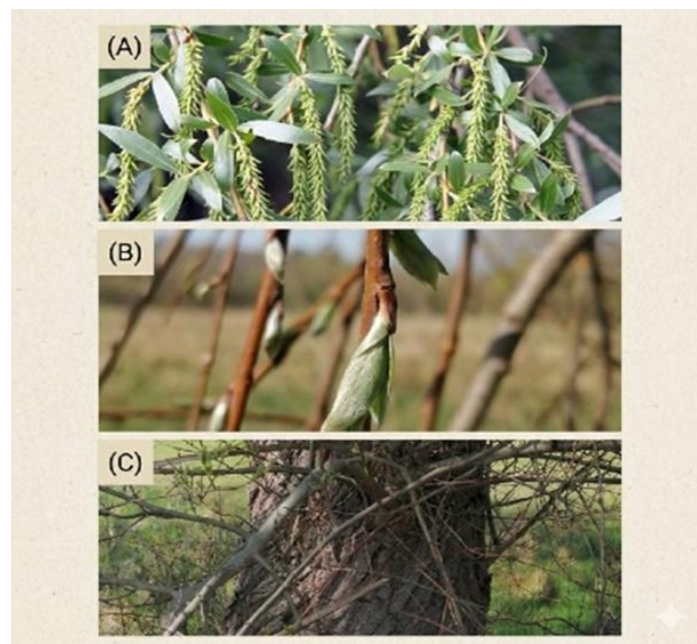
Parmi les cibles thérapeutiques les plus étudiées figure le stress oxydatif, un déséquilibre cellulaire impliqué dans de nombreuses pathologies chroniques. Un radical libre se définit comme une molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe, ce qui lui confère une grande instabilité et une réactivité biologique très élevée **(Derbal & Fedali, 2015 ; Haioun & Hamoudi, 2015)**. De façon plus large, le terme « espèces réactives

de l'oxygène » (ERO) désigne un ensemble de molécules dérivées de l'oxygène, incluant ces radicaux libres ainsi que des molécules non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène, toutes dotées d'un fort pouvoir oxydant **(Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Liu et al., 2026)**. L'oxydation cellulaire se produit lorsque la production de ces espèces dépasse les capacités de défense de l'organisme, entraînant des dommages à plusieurs niveaux **(Liu et al., 2026)**. Ainsi, les lipides des membranes cellulaires subissent une peroxydation qui génère des produits toxiques comme le malondialdéhyde (MDA), altérant l'intégrité membranaire **(Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Liu et al., 2026)**. Les protéines subissent également des dommages irréversibles tels que la carbonylation, entraînant une perte de leur fonction biologique **(Derbal & Fedali, 2015 ; Liu et al., 2026)**. Enfin, les acides nucléiques peuvent subir des modifications oxydatives de leurs bases ainsi que des cassures de brins d'ADN, constituant la base des processus de mutation, de vieillissement cellulaire et de développement des cancers **(Derbal & Fedali, 2015 ; Haïoun & Hamoudi, 2015)**. Face à ces agressions, l'organisme dispose de systèmes de défense antioxydants, qui se divisent en deux catégories : les défenses produites par l'organisme lui-même, comprenant des enzymes comme la catalase et la Glutathion peroxydase GPx, et celles apportées par l'alimentation, représentées notamment par les vitamines et les composés phénoliques **(Derbal & Fedali, 2015 ; Liu et al., 2026)**. Ces derniers, présents dans la quasi-totalité des végétaux, jouent un rôle protecteur important grâce à leurs groupements hydroxyles, en neutralisant les radicaux libres, en capturant les ions métalliques qui favorisent l'oxydation, et en modulant l'activité d'enzymes pro-oxydantes **(Derbal & Fedali, 2015 ; Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Roumili, 2024)**.

Le stress oxydatif est étroitement lié à un autre processus pathologique fondamental : l'inflammation. La réaction inflammatoire a pour but de neutraliser une agression et de rétablir l'équilibre de l'organisme, et se déroule en trois phases successives : une phase vasculaire avec dilatation des vaisseaux et formation d'un œdème, une phase cellulaire avec recrutement des globules blancs par migration à travers les parois vasculaires, et enfin une phase de résolution correspondant à la cicatrisation **(Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Roumili, 2024)**. Cette cascade est déclenchée par des médiateurs chimiques tels que le système du complément, l'histamine, les cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) et les prostaglandines, ces dernières étant directement impliquées dans la genèse de la douleur **(Derbal & Fedali, 2015 ; Roumili, 2024)**. Le stress oxydatif et l'inflammation forment un cercle vicieux : lors de la réponse immunitaire, les globules blancs produisent massivement des ERO pour éliminer les agents pathogènes, mais un excès de ces molécules perturbe le fonctionnement des mitochondries et entraîne la

libération de signaux moléculaires (DAMPs) qui activent davantage de cellules immunitaires, amplifiant ainsi le cycle inflammatoire **(Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Roumili, 2024 ; Liu et al., 2026)**. Pour contrôler ce phénomène, deux grandes classes de médicaments sont utilisées : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), qui bloquent les cyclooxygénases (COX), et les anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes), qui réduisent la production de cytokines pro-inflammatoires **(Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Roumili, 2024)**. Cependant, les effets secondaires de ces traitements de synthèse justifient la recherche active d'alternatives naturelles, parmi lesquelles les polyphénols et les flavonoïdes végétaux retiennent particulièrement l'attention, car ils sont capables d'agir simultanément sur plusieurs voies de l'inflammation (COX, LOX, TNF- $\alpha$ ), associant ainsi l'efficacité et la bonne tolérance **(Aichour et al., 2018 ; Malhotra et al., 2025 ; Roumili, 2024 ; Sifi et al., 2026)**.

C'est dans ce contexte que le Saule blanc (*Salix alba* L.), plante médicinale aux propriétés reconnues confirmées depuis l'Antiquité, fait l'objet d'un intérêt scientifique croissant. Appartenant à la famille des Salicaceae et à l'ordre des Salicales, c'est un arbre à sexes séparés (dioïque) pouvant atteindre environ 25 mètres de hauteur, au tronc droit et à l'écorce crevassée (marquée de fissures profondes), avec des feuilles caduques (caractérisé par une abscission automnale) en forme de lance (5 à 15 cm), une face supérieure verte et un revers grisâtre, et des fleurs en chatons cylindriques apparaissant entre avril et mai (Figure 1) **(Roumili, 2024)**.



**Figure 1 :** Figure composite illustrant différentes parties de *Salix Alba* : (A) Feuilles ; (B) Ecorce et (C) Arbre **(Incroyables Plantes ; Robino, J)**

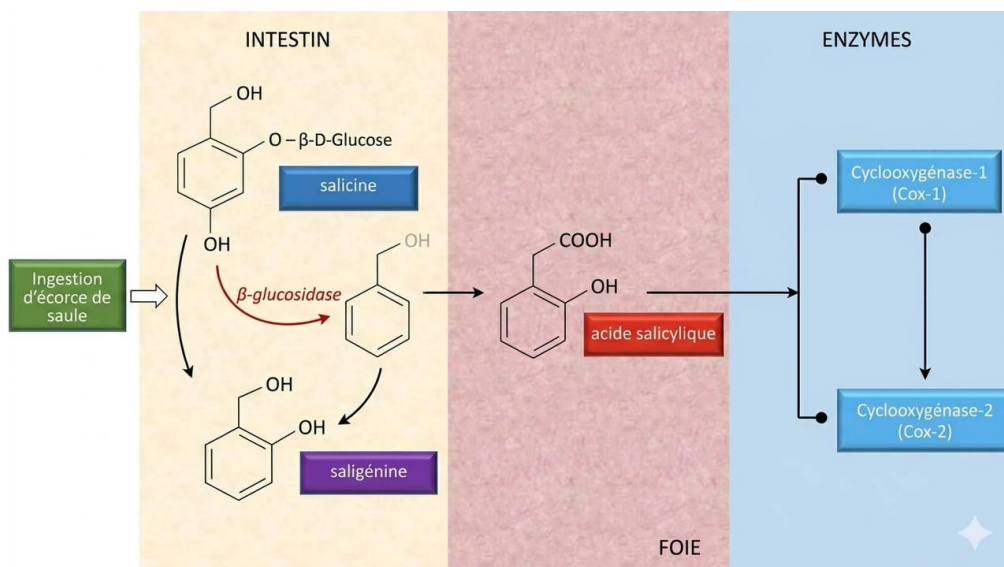
Il pousse préférentiellement en bordure de cours d'eau et dans les zones humides de l'hémisphère Nord. En Algérie, désigné sous le nom local de « Safsaf Labyadh », il est présent dans les régions nord du pays, notamment dans le Nord-Est au niveau de la wilaya de Sétif, avec une distribution pouvant être irrégulière selon les caractéristiques des zones de montagne et la disponibilité en eau (Figure 2) (Baker et al., 2022 ; Roumili, 2024 ; Roumili et al., 2022).



**Figure 2 :** Carte de distribution indigène de *Salix alba* en Europe, en Afrique du Nord et en Asie occidentale (Houston Durrant et al., 2016).

Sur le plan chimique, l'écorce de *S. alba* est riche en dérivés salicylés, dont la salicine est le composé principal, accompagnée de la salicortine et de la trémulacine, ainsi qu'en flavonoïdes et en tanins condensés, pouvant représenter jusqu'à 20 % de la matière sèche (Baker et al., 2022 ; Oketch-Rabah et al., 2019 ; Roumili, 2024 ; Zaiter et al., 2016). La complémentarité entre ces hétérosides salicylés et ces composés phénoliques explique le potentiel thérapeutique global de l'espèce (Nahrstedt et al., 2007 ; Roumili, 2024). Ses propriétés analgésiques découlent de la salicine, transformée dans l'organisme en acide salicylique, précurseur de l'aspirine, dont l'isolement au XIXe siècle a d'ailleurs mené à la synthèse de cette dernière en 1897 (Baker et al., 2022 ; Latif & Nawaz, 2025 ; Wu et al., 2024 ; Zaiter et al., 2016). Son activité anti-inflammatoire repose sur le blocage des COX-2 et la réduction du TNF- $\alpha$ , tandis que son pouvoir antioxydant notable lui permet de neutraliser les radicaux libres et de bloquer la peroxydation des lipides (Malhotra et al., 2025 ; Roumili, 2024 ; Wu et al., 2024 ; Zaiter

**et al., 2016).** Aujourd'hui, des extraits standardisés de *S. alba* sont utilisés pour traiter les maux de tête, les douleurs lombaires et l'arthrose, avec une meilleure tolérance digestive que les médicaments de synthèse (Figure 3) (**Baker et al., 2022 ; Roumili, 2024**).



**Figure 3 : Transformation métabolique des dérivés de la salicine du Saule Blanc en Acide salicylique (Săracilă et al., 2021)**

L'extraction de ces principes actifs repose sur la décoction aqueuse ou la macération dans des solvants organiques comme le méthanol, favorisant la récupération d'une grande diversité de molécules, avec des approches modernes comme l'extraction assistée par ultrasons également employées, suivies d'étapes de filtration et de concentration par lyophilisation (**Gadhoumi et al., 2025 ; Roumili, 2024 ; Sifi et al., 2026 ; Zaiter et al., 2016**). La quantification des composés bioactifs repose sur le protocole de Folin-Ciocalteu pour les polyphénols totaux, exprimant les résultats en équivalents d'acide gallique, et sur la méthode au chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) calibrée par rapport à la quercétine pour les flavonoïdes (**Gadhoumi et al., 2025 ; Lakas et al., 2026 ; Roumili, 2024**). L'évaluation du potentiel antioxydant utilise plusieurs tests complémentaires : le test DPPH mesure la capacité d'un extrait à neutraliser un radical stable de couleur violette qui vire au jaune lorsqu'il est réduit, le test FRAP évalue la capacité des extraits à réduire le fer ferrique en fer ferreux, et le test de piégeage du radical hydroxyle mesure la neutralisation de cette espèce très réactive produite par la réaction de Fenton (**Derbal & Fedali, 2015 ; Haïoun & Hamoudi, 2015 ; Lakas et al., 2026 ; Roumili, 2024 ; Sifi et al., 2026**). Quant à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, elle comprend des tests en laboratoire tels que l'inhibition de la dénaturation des protéines, le blocage des lipoxigénases et la réduction de la production de monoxyde d'azote (NO), ainsi

que des validations sur des modèles animaux par le test de l'œdème de la patte au carraghénane pour l'inflammation aiguë et le test du granulome à la pelote de coton pour l'inflammation chronique (**Chaudhary et al., 2025 ; Lakas et al., 2026 ; Roumili, 2024**).

Dans ce travail, nous avons procédé à la caractérisation phytochimique des extraits bruts de *Salix alba*, incluant le dosage des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins condensés. L'activité antioxydante des extraits hydrométhanolique obtenus par macération et par décoction a été évaluée par deux méthodes complémentaires : le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

Enfin, l'activité anti-inflammatoire des extraits a été étudiée *in vitro* par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines, en utilisant l'albumine d'œuf comme substrat. Les matériels et méthodes mis en œuvre pour la réalisation de ces analyses sont présentés ci-après.

# **Matériel et méthodes**

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico-chimie, synthèse et activité biologique », relevant de la faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

Cette étude a pour objectif de réaliser des tests phytochimiques, de doser les composés phénoliques, ainsi que d'évaluer les activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits bruts hydrométhanoliques obtenus par macération et décoction à partir de l'écorce de Saule Blanc (*Salix alba*).

### 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué d'écorces de Saule blanc (*Salix alba*). Les troncs ont été achetés auprès de la pépinière Boudaoud, située dans la commune de Remchi, wilaya de Tlemcen. L'écorce a ensuite été prélevée à l'aide d'un couteau et de lames (Figure 4).

Le matériel obtenu a été conservé dans des boîtes hermétiquement fermées et à l'abri de la lumière, jusqu'à son utilisation.



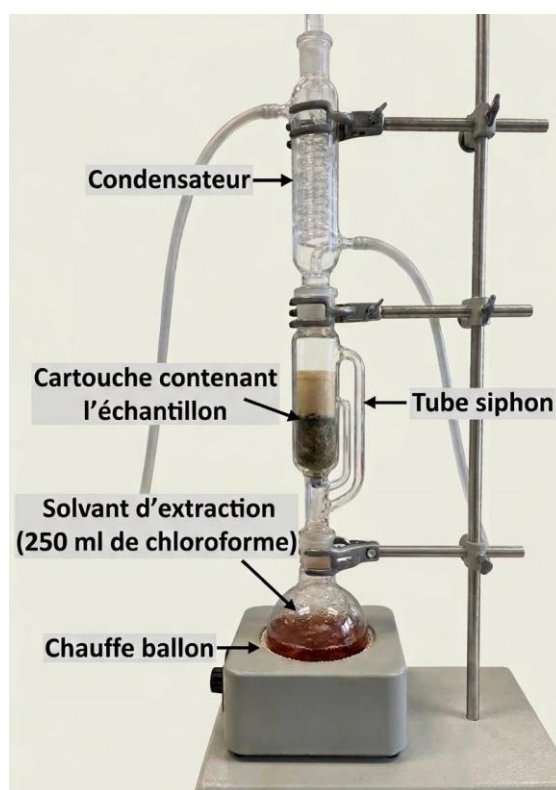
**Figure 4 :** Ecorce de Saule Blanc (*Salix Alba*) séchée (Photo personnelle)

## 2. Préparation des extraits

### Dégraissage de la matière végétale

#### ➤ Principe

L'extraction par Soxhlet constitue une méthode de référence largement utilisée en raison de son efficacité supérieure à celle des techniques d'extraction conventionnelles, à l'exception des composés thermolabiles pour lesquels son application reste limitée (**De Castro et Priego-Capote, 2010**). Parmi les différents solvants testés, le chloroforme s'est révélé le plus performant pour l'extraction des lipides, permettant d'obtenir un rendement optimal pour une durée d'extraction de 3 heures (Figure 5) (**Ramluckan et al., 2014**).



**Figure 5 :** Montage expérimental d'une extraction solide-liquide au Soxhlet (**LAPSAB, 2026**)

### ➤ Mode opératoire

Cette opération a été réalisée en cinq essais dans les mêmes conditions expérimentales :

- Placer 26 g d'écorce du Saule Blanc séchée dans une cartouche en cellulose ;
- Ajouter 250 mL de chloroforme dans le ballon du Soxhlet ;
- Chauffer le ballon jusqu'à l'ébullition du solvant ;
- Maintenir la température stable pour permettre l'extraction pendant 3 heures.

Le contenu du ballon obtenu lors d'extraction est récupéré et recueilli dans une fiole à l'abri de la lumière dans une température ambiante.

Le chloroforme sera ensuite évaporé à l'aide d'un Rotavapor à 45°C, afin de calculer le rendement en huile par la formule suivante :

$$\mathbf{R\ (\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100}$$

- ✓ R (%) : Rendement exprimé en pourcentage ;
- ✓ P1 : poids du tube rempli ;
- ✓ P2 : poids du tube vide ;
- ✓ P3 : poids de la matière végétale insérée dans la cartouche ;

Le marc obtenu est ensuite récupéré pour préparer des extraits bruts hydrométhanoliques par macération et décoction.

#### 2.1. Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par Macération

- Dans un bécher, introduire 20 g de matière végétale dégraissée (marc) avec 300 mL d'un mélange méthanol/eau distillée dans un rapport de (70/30), puis laisser macérer pendant 72 heures à l'obscurité et à température ambiante ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre et récupérer le filtrat.

L'extrait obtenu (**EBM**) est ensuite mis dans une étuve jusqu'à séchage à 37°C pour obtenir un extrait sec.

Il est conservé dans des tubes Eppendorf à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation pour les tests phytochimiques, dosage des polyphénols totaux, des tanins et des flavonoïdes ainsi que pour l'évaluation des activités biologiques.

## 2.2. Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par Décoction

- Introduire 10 g de marc d'écorce dégraissée dans un ballon muni d'un réfrigérant, puis ajouter 150 mL d'un mélange méthanol/eau distillée (70/30) ;
- Porter le mélange à ébullition et le maintenir sous reflux à température constante pendant 45 minutes ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre et récupérer le filtrat.

L'extrait obtenu (**EBD**) est ensuite mis dans une étuve jusqu'à séchage à 37°C pour obtenir un extrait sec. Ils sont conservés dans des tubes Eppendorf à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation pour les tests phytochimiques, dosage des polyphénols totaux, des tanins et des flavonoïdes ainsi que pour l'évaluation des activités biologiques.

## 2.3. Calcul du rendement

Le rendement des extraits bruts aqueux obtenus par macération et par décoction est déterminé selon l'équation suivante :

$$R (\%) = (M1 / M0) \times 100$$

- ✓ **R (%)** : rendement exprimé en pourcentage ;
- ✓ **M1** : masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu ;
- ✓ **M0** : masse en gramme « g » du matériel végétal ;

## 3. Dosage des composés phénoliques

### 3.1. Dosage des polyphénols totaux

#### ➤ Principe

La quantification des polyphénols totaux des extraits végétaux étudiés a été réalisée selon la méthode colorimétrique décrite par **Vermerius et Nicholson (2006)**, reposant sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif, de couleur jaune, est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). En présence de composés phénoliques, il induit une réaction d'oxydation conduisant à la formation d'un complexe coloré en bleu, composé de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ), dont l'absorbance est mesurée à 700 nm.

### ➤ Mode opératoire

- Introduire 100  $\mu\text{L}$  d'extrait (1 mg/mL) dans 2 mL d'une solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 2 % ;
- Agiter le mélange puis incubé pendant 5 minutes ;
- Ajouter 100  $\mu\text{L}$  du réactif de Folin-Ciocalteu (1 N), puis incubé durant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- Mesurer l'absorbance à 700 nm contre un blanc (Tableau 1).

Dans les mêmes conditions expérimentales, une courbe d'étalonnage est établie à l'aide de l'acide gallique utilisé comme composé de référence (contrôle positif), à partir d'une solution mère de concentration 4 mg/mL.

### ➤ Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits étudiés (**EBM** et **EBD**) ont été déterminées par interpolation à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $y = ax$ ), établie à l'aide de concentrations croissantes d'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (mg EAG/mg ES).

**Tableau 1 : Méthode du dosage des polyphénols totaux**

|                                                                            | La gamme d'étalon (acide gallique) |      |     |      |     |      |     |      |     |      |      | Extrait (1mg/mL) |     |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|------|------------------|-----|
|                                                                            |                                    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |      | EBM              | EBD |
| [Acide gallique] $\mu\text{g/mL}$                                          | Blanc                              | 50   | 100 | 150  | 200 | 250  | 300 | 350  | 400 | 450  | 500  | -                | -   |
| Acide gallique (mL)                                                        | -                                  | 0,05 | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 | 0,45 | 0,5  | -                | -   |
| Eau distillé (mL)                                                          | 0,1                                | 0,95 | 0,9 | 0,85 | 0,8 | 0,75 | 0,7 | 0,65 | 0,6 | 0,55 | 0,50 | -                | -   |
| Extraits (mL)                                                              | -                                  | -    | -   | -    | -   | -    | -   | -    | -   | -    | -    | 0,1              | 0,1 |
| $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (2%) (mL)                                         | 2                                  | 2    | 2   | 2    | 2   | 2    | 2   | 2    | 2   | 2    | 2    | 2                | 2   |
| Agitation et incubation pendant 5 min                                      |                                    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |      |                  |     |
| Folin-Ciocalteu (1N) (mL)                                                  | 0,1                                | 0,1  | 0,1 | 0,1  | 0,1 | 0,1  | 0,1 | 0,1  | 0,1 | 0,1  | 0,1  | 0,1              | 0,1 |
| Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min |                                    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |      |                  |     |
| Mesure de l'absorbance à 700nm                                             |                                    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |      |                  |     |

### 3.2. Dosage des flavonoïdes

#### ➤ Principe

La quantification des flavonoïdes totaux des extraits végétaux étudiés a été effectuée selon la méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al. (1999)**. Cette méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin, en présence de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) et de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), conduisant à la formation d'un complexe coloré en rose dont l'absorbance est mesurée à 510 nm.

#### ➤ Mode opératoire

- Mélanger 250  $\mu\text{L}$  d'extrait (1 mg/mL) avec 1 mL d'eau distillée et 75  $\mu\text{L}$  de solution de  $\text{NaNO}_2$  à 15 % ;
- Incuber pendant 6 minutes à température ambiante, puis ajouter 75  $\mu\text{L}$  de solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10 % ;
- Après 6 minutes, ajouter 1 mL de solution de  $\text{NaOH}$  à 4 %, puis compléter le volume total à 2,5 mL avec de l'eau distillée ;
- Agiter le mélange et incuber pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- Mesurer l'absorbance à 510 nm (Tableau 2).

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle en utilisant la catéchine comme contrôle positif, pour des concentrations comprises entre 50 et 500  $\mu\text{g/mL}$ .

#### ➤ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts étudiés a été déterminée par interpolation à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $y = ax$ ), établie à l'aide de concentrations croissantes de catéchine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (mg EC/mg ES).

**Tableau 2 : Méthode du dosage des flavonoïdes**

|                                                  | La gamme d'étalon (Catéchine) |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Extrait (1mg/mL) |      |
|--------------------------------------------------|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------------------|------|
|                                                  |                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | EBM              | EBD  |
| [Catéchine] µg/mL                                | Blanc                         | 50   | 100  | 150  | 200  | 250  | 300  | 350  | 400  | 450  | 500  | -                | -    |
| Catéchine (µL)                                   | -                             | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | -                | -    |
| Extraits (µL)                                    | -                             | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 250              | 250  |
| NaNO <sub>2</sub> 7% (mL)                        | 75                            | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75               | 75   |
| Incubation pendant 6 min à température ambiante  |                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |
| AlCl <sub>3</sub> 10% (mL)                       | 75                            | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75   | 75               | 75   |
| Incubation pendant 5min à température ambiante   |                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |
| NaOH (1M) (µL)                                   | 1000                          | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000             | 1000 |
| Eau distillée (µL)                               | 2500                          | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500 | 2500             | 2500 |
| Incubation pendant 30 min à température ambiante |                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |
| Mesure de l'absorbance à 510nm                   |                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |

### 3.3. Dosage des tanins condensés

#### ➤ Principe

Le dosage des tanins condensés est effectué à l'aide du réactif de vanilline, selon la méthode décrite par **Sun et al. (1998)**. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et réagissent avec la vanilline pour former des anthocyanidols de couleur rouge, présentant une absorbance à 550 nm. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la teneur en tanins condensés présents dans les extraits.

#### ➤ Mode opératoire

- Mélanger 50 µL de chaque extrait (1mg/ml) avec 1500µL de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) ;
- Agiter les tubes au vortex et ajouter 750µl du HCl(35%) ;
- Laisser le mélange incubé pendant 20min à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 550 nm.

Une gamme d'étalonnage de la catéchine, couvrant des concentrations comprises entre 100 et 1000 µg/mL, est préparée dans les mêmes conditions expérimentales.

### ➤ Expression des résultats

La teneur en tanins condensés des extraits bruts étudiés a été déterminée par interpolation à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $y = ax$ ), établie à l'aide de concentrations croissantes de catéchine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (mg Eq C/mg ES).

**Tableau 3 : Méthode du dosage des tanins condensés**

|                                                    | La gamme d'étalon (Catéchine) |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Extraits (1mg/mL) |      |
|----------------------------------------------------|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------------|------|
| Tube                                               | Blanc                         | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | EBD               | EBM  |
| [Catéchine] $\mu\text{g/mL}$                       | -                             | 50   | 100  | 150  | 200  | 250  | 300  | 350  | 400  | 450  | 500  | -                 | -    |
| Catéchine ( $\mu\text{L}$ )                        | -                             | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   | -                 | -    |
| Méthanol ( $\mu\text{L}$ )                         | 50                            | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -                 | -    |
| Extrait ( $\mu\text{L}$ )                          | -                             | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 50                | 50   |
| Solution vanilline/méthanol (4%) ( $\mu\text{L}$ ) | 1500                          | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500              | 1500 |
| HCl concentré ( $\mu\text{L}$ )                    | 750                           | 750  | 750  | 750  | 750  | 750  | 750  | 750  | 750  | 750  | 750  | 750               | 750  |
| Mesure de l'absorbance à 550nm                     |                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                   |      |

## 4. Tests phytochimiques

Afin de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires dans les extraits bruts (EBM et EBD) des écorces de Saule Blanc (*Salix Alba*), un criblage phytochimique qualitatif a été réalisé, reposant sur des réactions de coloration, de précipitation ainsi que sur l'observation sous lumière ultraviolette. Cette analyse a été conduite selon les protocoles établis par Bruneton (1999) et Harborne (1998).

### 4.1. Les composés azotés

#### • Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 mL de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu avec quelques gouttes de HCl (1 %), puis ajouter 0,5 mL du réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 mL du réactif de Wagner dans le second. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle respectivement la présence d'alcaloïdes.

#### 4.2. Les composés phénoliques

- **Les tanins**

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser puis ajouter 250  $\mu$ L d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  (1 %). Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante, l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre indique la présence de tanins.

- **Les flavonoïdes**

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser, puis ajouter 1 mL de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune met en évidence la présence de flavonoïdes.

- **Les quinones libres**

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser et ajouter 100  $\mu$ L de NaOH (1 %). L'apparition d'une coloration jaune, rouge ou violette indique la présence de quinones libres.

- **Les anthraquinones**

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser puis ajouter 1 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) avant agitation. L'apparition d'une coloration violette révèle la présence d'anthraquinones.

- **Les coumarines : fluorescence UV**

Dans deux tubes à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser. Le premier tube sert de témoin, tandis que 100  $\mu$ L de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10 %) est ajouté au second. Déposer ensuite une goutte de chaque préparation sur un papier filtre et observer sous lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence de coumarines.

#### 4.3. Les composés terpéniques

- **Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 10 mL de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes puis laisser reposer pendant 15 minutes. La formation d'une mousse persistante d'une hauteur supérieure à 1 cm indique la présence de saponines.

- **Terpénoïdes**
- ❖ **Test de Slakowski**

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser, puis ajouter 400  $\mu$ L de chloroforme et 600  $\mu$ L d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases ainsi qu'une coloration marron à l'interface indiquent la présence de terpénoïdes.

#### 4.4. Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, mélanger 1 mL de liqueur de Fehling (500  $\mu$ L du réactif A et 500  $\mu$ L du réactif B) avec 1 mL de l'extrait à analyser, puis incubé pendant 8 minutes dans un bain-marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

### 5. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 5.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

##### ➤ Définition

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour l'étude de la relation entre la structure et l'activité antioxydante des composés phénoliques. Ce composé se caractérise par la présence d'un électron non apparié localisé sur un atome du pont azoïque (**Popovici et al., 2010**).

##### ➤ Principe

Ce test est fondé sur la capacité des extraits à réduire le radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), de couleur violette caractéristique, en sa forme réduite de teinte jaune. La décoloration qui en résulte, proportionnelle à l'activité antioxydante de l'extrait, est quantifiée par spectrophotométrie selon la méthode décrite par **Brand-Williams et al. (1995)**.

##### ➤ Mode opératoire

- Ajouter 50  $\mu$ L des solutions d'extraits à différentes concentrations (0,2 à 2 mg/mL) à 1950  $\mu$ L de solution méthanolique de DPPH (0,0025 g fraîchement préparé dans le méthanol) ;
- Pour chaque concentration, préparer un blanc en mélangeant 50  $\mu$ L de l'extrait avec 1950  $\mu$ L de méthanol ;
- En parallèle, préparer un contrôle négatif en mélangeant 50  $\mu$ L de méthanol avec 1950  $\mu$ L de solution méthanolique de DPPH ;

- Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm ;
- Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant standard et analysé dans les mêmes conditions que les extraits ;
- Chaque concentration est testée en triplicat.

#### ➤ Calcul du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$I\% = [(A_{cont} - A_{échan}) / A_{cont}] \times 100$$

Avec :

- $I\%$  : pourcentage d'inhibition ;
- $A_{cont}$  : absorbance du contrôle négatif ;
- $A_{échan}$  : absorbance de l'échantillon testé.

#### ➤ Calcul de la $CI_{50}$

La  $CI_{50}$  correspond à la concentration de l'extrait capable d'inhiber 50 % du radical libre DPPH. Elle est déterminée graphiquement à partir des régressions logarithmiques du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés.

Plus la valeur de la  $CI_{50}$  est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est importante.

## 5.2. Pouvoir réducteur de fer (Ferric Reducing Antioxidant Power ; FRAP)

### ➤ Principe

Le pouvoir réducteur constitue un indicateur important de l'activité antioxydante d'un extrait. Cette méthode repose sur la capacité des composés antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) du complexe ferricyanure de potassium  $[K_3Fe(CN)_6]$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) (Karagözler et al., 2008).

### ➤ Mode opératoire

- Mélanger 100  $\mu$ L d'extrait à différentes concentrations (0,2 à 2 mg/mL) avec 250  $\mu$ L de solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 250  $\mu$ L de solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1 % ;
- Incuber le mélange à 50 °C pendant 20 minutes ;

- Laisser refroidir à température ambiante ;
- Ajouter 250  $\mu\text{L}$  d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % afin de stopper la réaction ;
- Centrifuger le mélange à 3000 rpm pendant 10 minutes ;
- Prélever 500  $\mu\text{L}$  du surnageant et les mélanger avec 500  $\mu\text{L}$  d'eau distillée et 100  $\mu\text{L}$  d'une solution aqueuse de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1 % ;
- Mesurer l'absorbance à 700 nm contre un blanc préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée ;
- Chaque concentration est analysée en triplicat.

Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence. Celui-ci est testé dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits, à des concentrations comprises entre 0,01 et 0,4 mg/mL.

Une augmentation de l'absorbance traduit une augmentation du pouvoir réducteur des extraits étudiés.

#### ➤ Calcul de la $\text{CE}_{50}$

Les résultats sont exprimés sous forme d'une courbe de régression linéaire représentant l'absorbance en fonction des différentes concentrations de chaque extrait. Cette courbe permet de déterminer la  $\text{CE}_{50}$ , correspondant à la concentration nécessaire pour atteindre une absorbance de 0,5.

La  $\text{CE}_{50}$  (concentration efficace à 50 %) représente la concentration de l'extrait capable d'exercer 50 % de son pouvoir réducteur sur le fer ferrique, exprimée en mg/mL.

Plus la valeur de la  $\text{CE}_{50}$  est faible, plus le pouvoir réducteur de l'extrait est élevé.

## 6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est réalisée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines décrite par **Chandra et al. (2012)**.

#### ➤ Principe

Cette méthode repose sur le principe que la dénaturation des protéines constitue l'un des mécanismes impliqués dans les phénomènes inflammatoires. Les composés capables de prévenir ou de limiter cette dénaturation sont susceptibles de posséder une activité anti-inflammatoire. Le test consiste à soumettre l'albumine d'œuf à une dénaturation induite par la chaleur en présence ou en absence des extraits étudiés. L'activité anti-inflammatoire est ensuite

évaluée par la mesure de l'absorbance à 660 nm, permettant de déterminer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique.

➤ **Mode opératoire**

- Préparer un mélange réactionnel de 5 mL contenant 0,2 mL d'albumine d'œuf fraîche, 2,8 mL de solution de tampon phosphate salin (PBS, pH 6,4) et 2 mL d'extrait à différentes concentrations ;
- Préparer un blanc en remplaçant l'extrait par le même volume de PBS ;
- Incuber les mélanges à 37°C pendant 15 minutes ;
- Chauffer ensuite les tubes à 72 °C à l'aide du bain-marie pendant 5 minutes afin d'induire la dénaturation des protéines ;
- Laisser refroidir les préparations à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 660 nm contre un blanc ;
- Réaliser chaque essai en triplicat.

Le contrôle positif est représenté par le diclofénac sodique, utilisé comme anti-inflammatoire de référence et testé dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits.

➤ **Calcul du pourcentage d'inhibition**

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

$$I\% = [(A_{cont} - A_{échan}) / A_{cont}] \times 100$$

Avec :

- $I\%$  : pourcentage d'inhibition ;
- $A_{cont}$  : absorbance du contrôle négatif ;
- $A_{échan}$  : absorbance de l'échantillon testé.

➤ **Calcul de la  $CI_{50}$**

Une courbe de régression est établie en portant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits ou de standard. Cette courbe permet de déterminer la  $CI_{50}$ , correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % de la dénaturation protéique.

Plus la valeur de la  $CI_{50}$  est faible, plus l'activité anti-inflammatoire de l'extrait est importante.

# **Résultats et interprétations**

## 1. Caractéristiques des extraits préparés

Les extraits aqueux bruts issus de la macération et de la décoction (**EBM** et **EBD**) d'écorces du Saule Blanc (*Salix alba*) préalablement séchées et dégraissées sont soumis à une pesée afin de déterminer leur masse sèche respective. Les rendements d'extraction sont ensuite calculés par rapport à la masse initiale de matière végétale sèche et à la masse de l'extrait sec obtenu.

L'extraction au Soxhlet à l'aide du chloroforme a été réalisée dans le but de dégraisser la matière végétale avant l'extraction hydrométhanolique. Cette opération avait pour objectif d'éliminer les lipides et autres composés gras susceptibles d'interférer avec l'extraction hydrométhanolique ultérieure et d'influencer la composition des extraits obtenus. Ainsi, l'extrait chloroformique n'a pas fait l'objet d'une évaluation quantitative du rendement. Seul le marc dégraissé obtenu après cette étape a été utilisé pour l'extraction hydrométhanolique.

Les caractéristiques physico-chimiques des extraits hydrométhanoliques, notamment la couleur, l'aspect, la solubilité ainsi que leurs rendements d'extraction, sont présentées dans le tableau ci-après (Tableau 4)

**Tableau 4:** Caractéristiques physico-chimiques des extraits hydrométhanoliques d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*) obtenus par macération et par décoction

| Extraits   | Rendements % | Solubilité    | Couleur | Aspect              |
|------------|--------------|---------------|---------|---------------------|
| <b>EBM</b> | 2,61%        | Eau distillée | Marron  | Cristallisé         |
| <b>EBD</b> | 5,21%        | Eau distillée | Marron  | Poudre cristallisée |

**EBD** : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

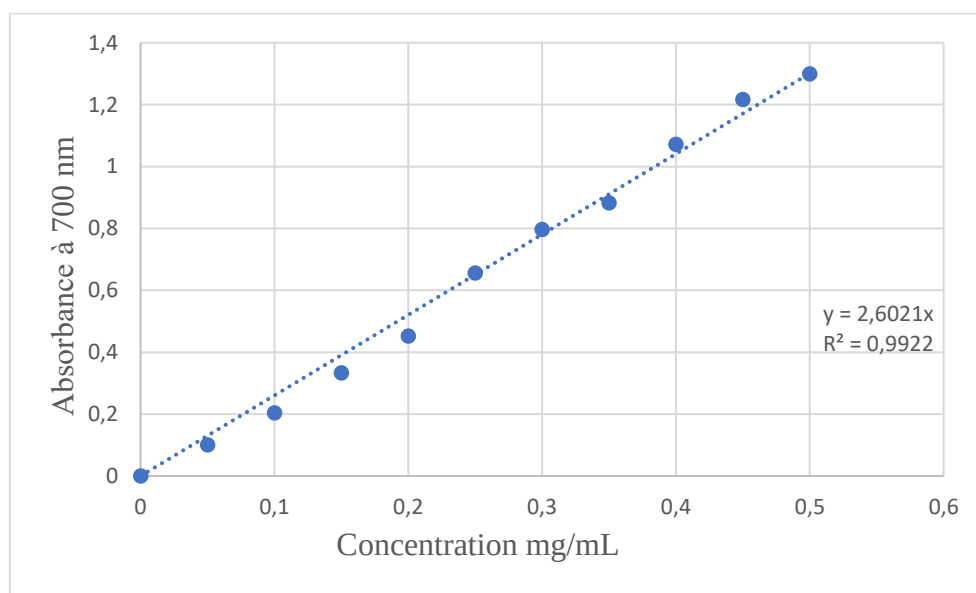
Ces résultats révèlent que les extraits d'écorces de *Salix alba* présentent de fortes similitudes sur le plan qualitatif, tout en accusant des différences notables sur le plan quantitatif. En effet, les deux extraits partagent une coloration marron identique ainsi qu'une solubilité totale dans l'eau distillée. Concernant l'aspect physique, l'extrait par macération (**EBM**) se présente sous forme cristallisée, tandis que l'extrait par décoction (**EBD**) se distingue par une texture de poudre cristallisée, une différence due à la chaleur lors du processus d'extraction. Sur le plan des rendements, une divergence significative est observée : l'extraction par décoction (**EBD**) affiche un rendement de 5,21 %, soit près du double de celui obtenu par macération (**EBM**), établi à 2,61 %. Cet écart s'explique par l'effet de la température élevée propre à la décoction, qui favorise une meilleure extraction des composés solubles présents dans les écorces du Saule Blanc (*salix alba*).

## 2. Dosage des composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés des extraits hydrométhanoliques bruts issus de la macération et de la décoction (**EBM** et **EBD**) des écorces du Saule Blanc a été déterminée par dosage spectrophotométrique UV-visible.

### 2.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux est réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu, sur la base d'une mesure d'absorbance à 700 nm, en utilisant l'acide gallique comme étalon de référence pour la construction de la courbe d'étalonnage. Les teneurs sont exprimées en milligrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (mg EAG/mg ES) et calculées à partir de l'équation de régression linéaire  $y = 2.6021 x$ , obtenue avec un coefficient de corrélation de  $R^2 = 0.9975$  (Figure 6).



**Figure 6:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique (dosage des polyphénols totaux)

Le tableau ci-dessous présente les teneurs en polyphénols totaux des deux extraits, exprimées en mg Eq AG/ mg d'extrait.

**Tableau 5:** Teneurs en polyphénols totaux des deux extraits d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

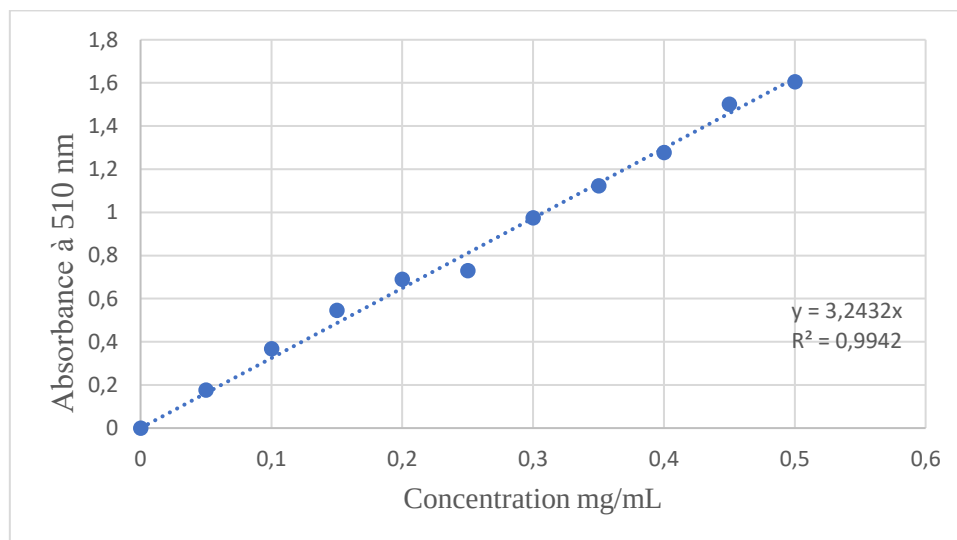
| Extraits   | Teneurs en Polyphénols totaux (mg Eq AG/ mg ES) $\pm$ Ecart type (n=3) |
|------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b>EBM</b> | 0,47 $\pm$ 0,0606                                                      |
| <b>EBD</b> | 0,56 $\pm$ 0,0740                                                      |

**EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

Ces résultats ont montré que l'extrait préparé par décoction (**EBD**) donne une teneur en polyphénols plus élevée ( $0,56 \pm 0,0740$  mg Eq AG/mgES) qu'à celui préparé par macération (**EBM**) ( $0,47 \pm 0,0606$  mg Eq AG/mgES). Cette variation pourrait être attribuée à l'impact de la température élevée pendant la décoction qui favorise une extraction plus efficace des composés phénoliques.

## 2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*) obtenus par macération et par décoction a été évaluée par spectrophotométrie UV-visible. Une courbe d'étalonnage a été établie à partir de la catéchine comme standard de référence (Figure 7), en mesurant l'absorbance en fonction de concentrations croissantes. Les teneurs en flavonoïdes de chaque extrait ont ensuite été déduites à partir de l'équation de régression linéaire correspondante ( $y = 3,2432x$  ;  $R^2 = 0,9942$ ).



**Figure 7:** Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée pour le dosage des flavonoïdes

Le tableau ci-dessous présente les teneurs en flavonoïdes des deux extraits, exprimées en mg Eq C/mg d'extrait sec.

**Tableau 6:** Teneurs en flavonoïdes des deux extraits d'écore du Saule Blanc (*Salix alba*)

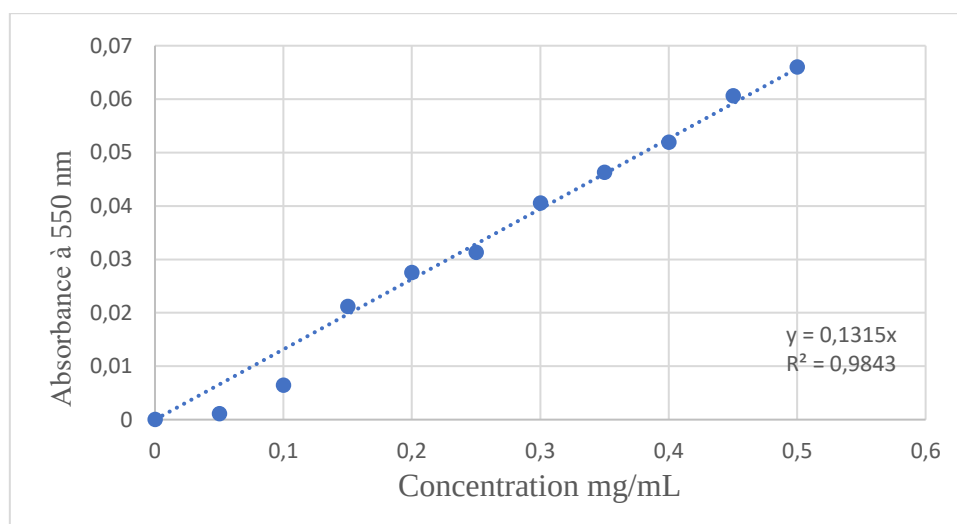
| Extraits   | Teneurs en Flavonoïdes (mg Eq C/mg ES) $\pm$ Ecart type (n=3) |
|------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>EBM</b> | $0,14 \pm 0,0654$                                             |
| <b>EBD</b> | $0,076 \pm 0,0880$                                            |

**EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

Ces résultats montrent que la macération permet d'extraire une quantité plus importante de flavonoïdes que la décoction. Cette différence s'explique par la sensibilité thermique des flavonoïdes, qui peuvent se dégrader ou s'oxyder sous l'effet de la chaleur lors de la décoction. La macération à température ambiante représente donc le procédé le plus approprié pour extraire et préserver ces composés.

### 2.3.Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés dans les extraits obtenus par macération et par décoction a été effectuée par spectrophotométrie, selon une méthode fondée sur la réaction des tanins avec la vanilline en milieu acide. Les teneurs ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine comme étalon de référence, en appliquant l'équation de régression linéaire correspondante avec  $y = 0,1315x$  et  $R^2 = 0,9843$  (Figure 8).



**Figure 8:** Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée pour la détermination des tanins condensés

Le tableau ci-dessous présente les teneurs en tanins condensés des deux extraits, exprimées en mg Eq C/mg d'extrait sec.

**Tableau 7:** Teneurs en Tanins condensés des deux extraits d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

| Extraits   | Teneurs en Tanins (mg Eq C/ mg ES) $\pm$ Ecart type (n=3) |
|------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>EBM</b> | 0,52 $\pm$ 0,0016                                         |
| <b>EBD</b> | 0,78 $\pm$ 0,029                                          |

**EBM** : Extrait brut hydrométhanologique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanologique préparé par décoction.

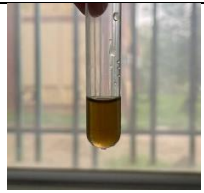
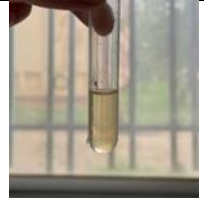
Ces résultats montrent une tendance inverse à celle observée pour les flavonoïdes totaux. L'extrait par décoction (**EBD**) enregistre la teneur la plus élevée avec  $0,78 \pm 0,029$  mg Eq C/mg

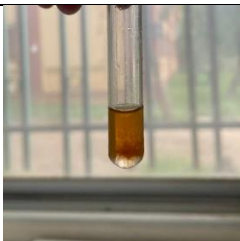
ES, contre  $0,52 \pm 0,0016$  mg Eq C/mg ES pour l'extrait de macération (**EBM**). Cette différence s'explique par l'effet de la chaleur appliquée lors de la décoction. Cette-ci représente donc le procédé le plus approprié pour extraire ces composés.

### 3. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à identifier les principaux groupes chimiques à l'aide de réactifs spécifiques, par observation de changements de couleur, de précipitation ou de formation de mousse. Les résultats obtenus pour les extraits **EBM** et **EBD** sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 8:** Résultats des tests phytochimiques des extraits d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*) obtenues par macération et décoction

| Métabolites secondaires | Tests et réactifs      | Résultats                                                                           | Remarques                                                                | EBM | EBD |
|-------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Saponines               | Test de mousse         |   | Présence de saponines dans EBM<br>Absence de saponines dans EBD          | ++  | —   |
| Alcaloïdes              | Mayer                  |  | Absence totale de précipitation ce qui signifie l'absence des alcaloïdes | —   | —   |
|                         | Wagner                 |                                                                                     |                                                                          | —   | —   |
| Tanins                  | FeCl <sub>3</sub> (1%) |  | Coloration verdâtre : présence de tanins                                 | +++ | +++ |
| Flavonoïdes             | MgCl <sub>2</sub>      |  | Coloration jaune pale indique la présence des flavonoïdes                | +++ | +++ |

|                                |                                                                                                             |                                                                                     |                                                                                                     |     |     |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| <b>Quinones libres</b>         | NaOH (1%)                                                                                                   |    | Présence de quinones libres indiquée par une variation de couleurs entre jaune et rouge             | ++  | +++ |
| <b>Anthraquinones</b>          | NH <sub>4</sub> OH (10%)                                                                                    |    | Absence de la coloration violette qui indique la présence des anthraquinones                        | —   | —   |
| <b>Térpenoides (Slokowski)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• CHCl<sub>3</sub></li> <li>• H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></li> </ul> |   | Présence de térpenoides marqué par la formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase | +++ | +++ |
| <b>Coumarines</b>              | NH <sub>4</sub> OH (10%)                                                                                    |  | Absence totale de fluorescence                                                                      | —   | —   |
| <b>Composés réducteurs</b>     | Liqueur de Fehling                                                                                          |  | Test positif marqué par une précipitation rouge brique                                              | +++ | ++  |

**EBM** : Extrait brut hydrométhanologique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanologique préparé par décoction.

(-) : Test négatif ; (+) : Test positif ; (++) : Test moyennement positif ; (+++) : Test fortement positif

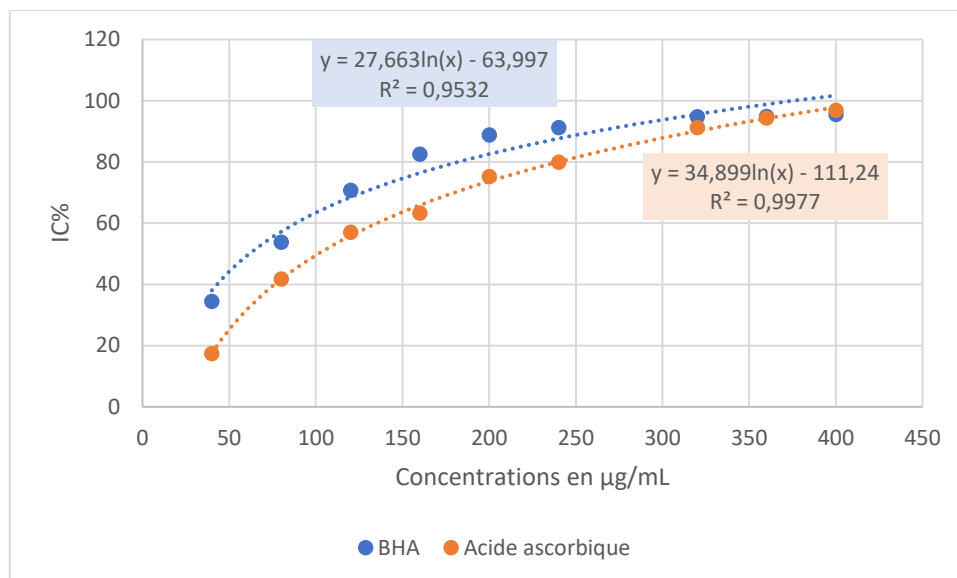
Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits hydrométhanologiques d'écorces de *Salix alba* obtenus par macération (**EBM**) et par décoction (**EBD**) révèlent des profils chimiques globalement similaires, mais avec des variations quantitatives selon le procédé utilisé. Les tanins, mis en évidence par une coloration verdâtre au chlorure ferrique, et les flavonoïdes, révélés par une coloration jaune pâle au chlorure de magnésium, sont fortement présents et à

des teneurs comparables dans les deux extraits. Les terpénoïdes, testés par la méthode de Salkowski, affichent également une forte présence identique dans l'**EBM** et l'**EBD**, caractérisée par la formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase. Les quinones libres sont détectées dans les deux préparations, bien que leur intensité soit plus marquée dans le décocté que dans le macérat. Les saponines, en revanche, ne sont présentes que de façon modérée dans l'**EBM** et totalement absentes dans l'**EBD**, ce qui témoigne de leur sensibilité à la chaleur. Les composés réducteurs, révélés par la formation d'un précipité rouge brique à la liqueur de Fehling, sont fortement concentrés dans l'**EBM** et modérément dans l'**EBD**. À l'opposé, les alcaloïdes sont totalement absents des deux extraits, les tests de Mayer et de Wagner n'ayant donné aucune précipitation. Il en est de même pour les anthraquinones et les coumarines, dont l'absence est confirmée respectivement par le défaut de coloration violette et l'absence de fluorescence sous rayonnement ultraviolet. Ces résultats soulignent la richesse de l'écorce de *Salix alba* en métabolites secondaires et confirment que le procédé d'extraction influence de manière significative la composition qualitative et quantitative des extraits obtenus.

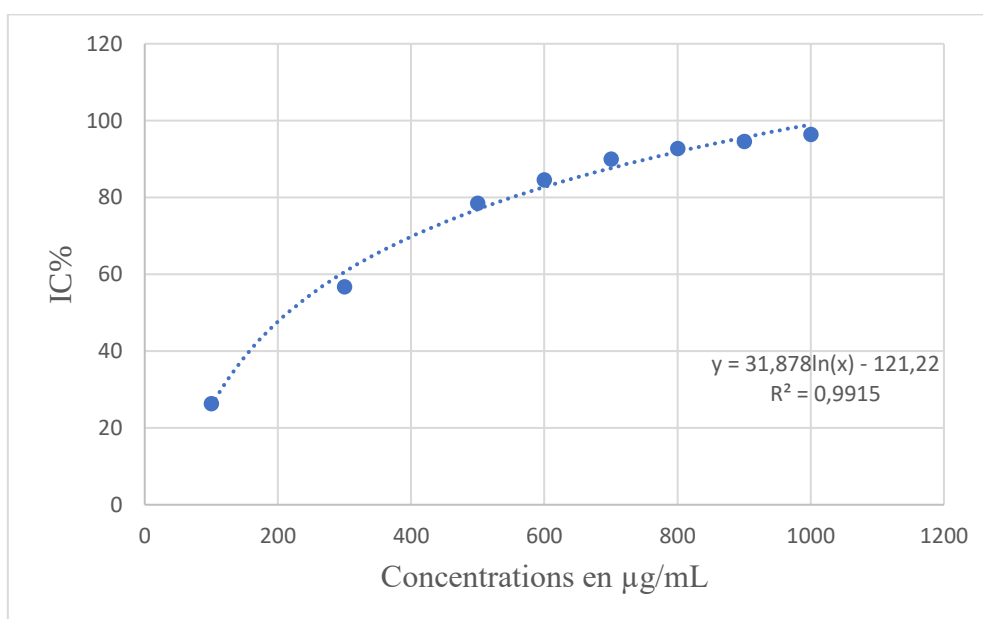
#### **4. Evaluation de l'activité antioxydante**

##### **4.1. Test Piégeage du radical libre DPPH**

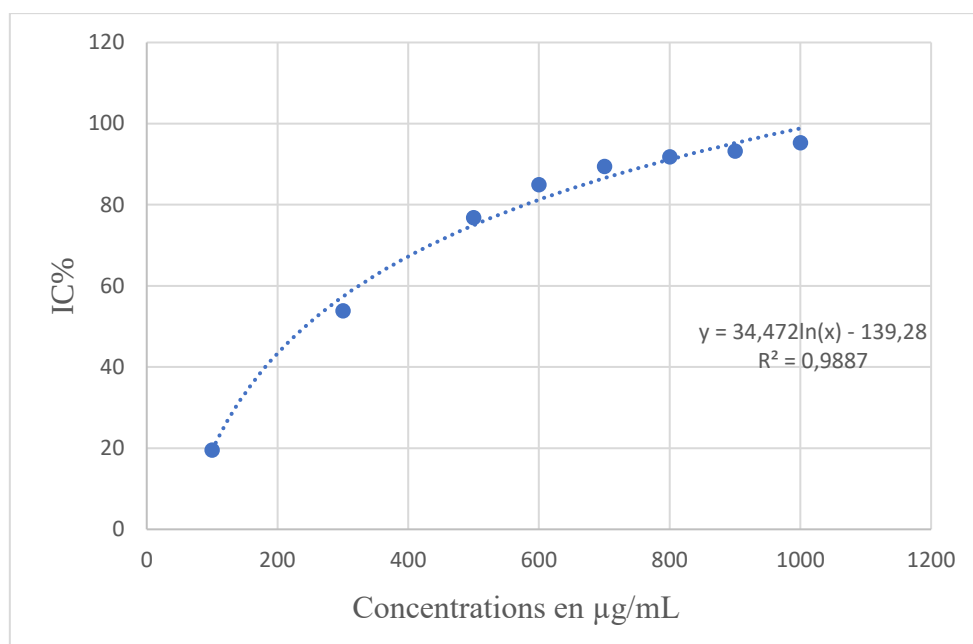
L'activité antiradicalaire des extraits d'écorces de *Salix alba* a été évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH, en mesurant l'absorbance à 517 nm, ce qui a permis de calculer les pourcentages d'inhibition correspondants. Les figures (9), (10) et (11) présentent respectivement les variations du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration, de l'acide ascorbique et le BHA (Butylated Hydroxyanisole) utilisés comme références, l'extrait hydrométhanolique obtenu par macération (**EBM**) et l'extrait hydrométhanolique obtenu par décoction (**EBD**).



**Figure 9:** Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique et du BHA (Molécules de références)



**Figure 10:** Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'extract brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*).



**Figure 11:** Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (**EBD**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*).

#### ➤ Détermination de la concentration inhibitrice de 50 % (CI50)

Les valeurs de CI50, exprimées en µg/ml, correspondent à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres DPPH. Elles ont été déterminées graphiquement à partir des équations de régression logarithmique des figures (9), (10) et (11), pour les deux extraits hydrométhanolique bruts obtenus par macération (**EBM**) et par décoction (**EBD**), ainsi que pour l'acide ascorbique et le BHA utilisés comme références.

Les résultats sont présentés dans le tableau 9.

Une valeur de CI50 faible reflète un pouvoir antioxydant élevé, ce critère servant de base à la comparaison du potentiel antiradicalaire des extraits étudiés.

**Tableau 9:** Les valeurs de CI50 obtenues lors du piégeage du DPPH de l'acide ascorbique, BHA et les extraits bruts (**EBM**) et (**EBD**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

|                     | Extrait |     | Référence        |       |
|---------------------|---------|-----|------------------|-------|
|                     | EBM     | EBD | Acide ascorbique | BHA   |
| <b>CI50 (µg/mL)</b> | 215     | 242 | 101,51           | 61,61 |

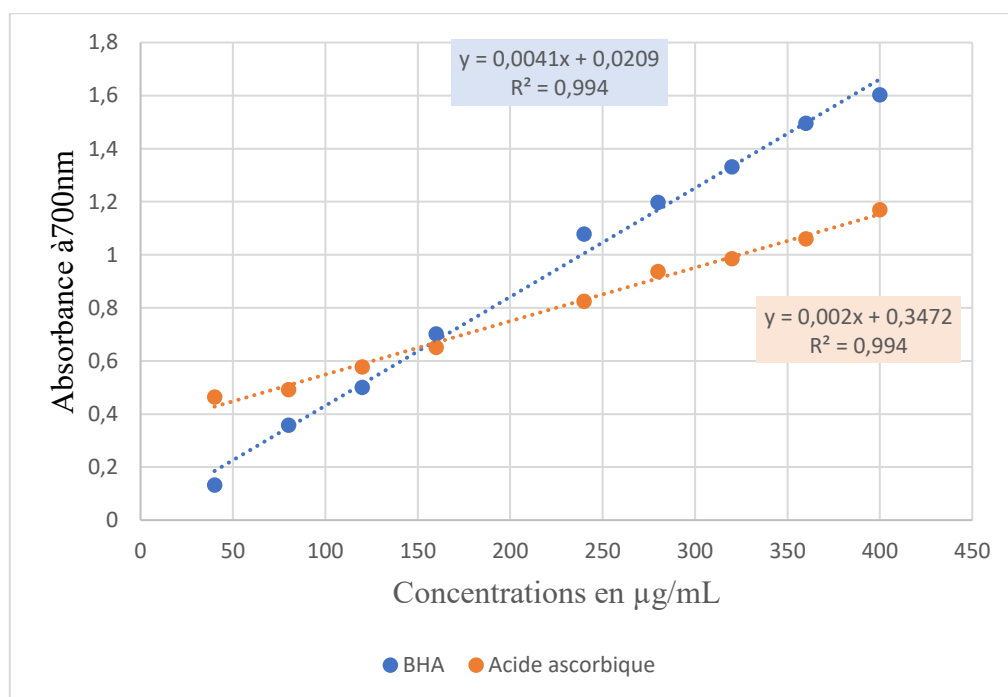
**EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction

Les molécules de référence, le BHA (CI50 = 61,61 µg/mL) et l'acide ascorbique (CI50 = 101,51 µg/mL), affichent logiquement le potentiel antioxydant le plus élevé en tant que

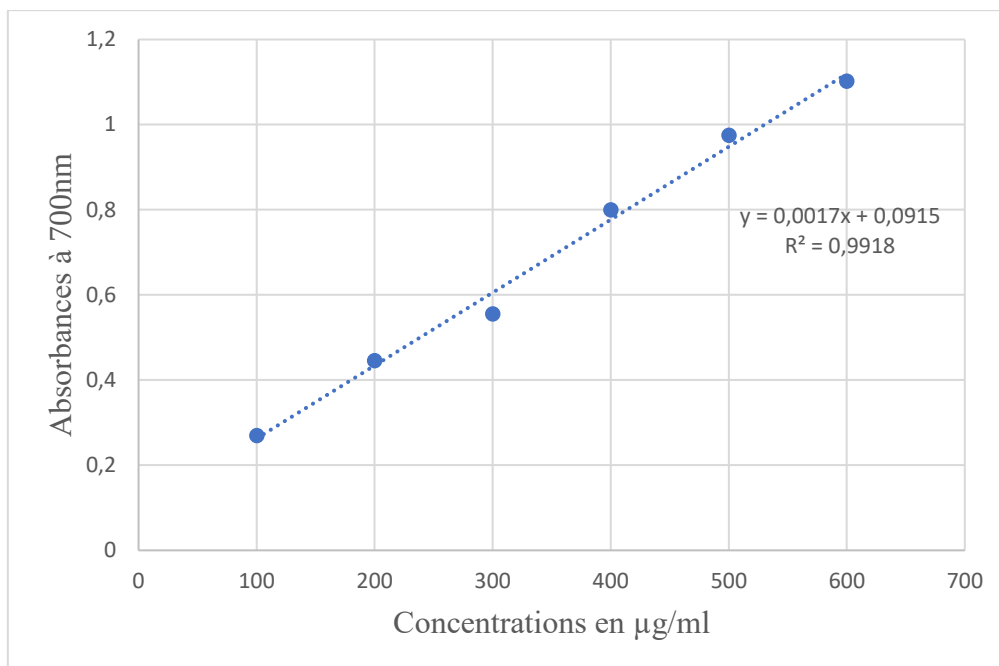
composés purs. Parmi les extraits d'écorces de *Salix alba*, l'**EBM** présente une meilleure activité avec une CI50 de 215 µg/mL, contre 242 µg/mL pour l'**EBD**. Cette supériorité de l'**EBM** s'explique par le fait que la macération à température ambiante favorise la préservation des composés antioxydants, qui peuvent être altérés par la chaleur lors de la décoction.

#### 4.2. Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

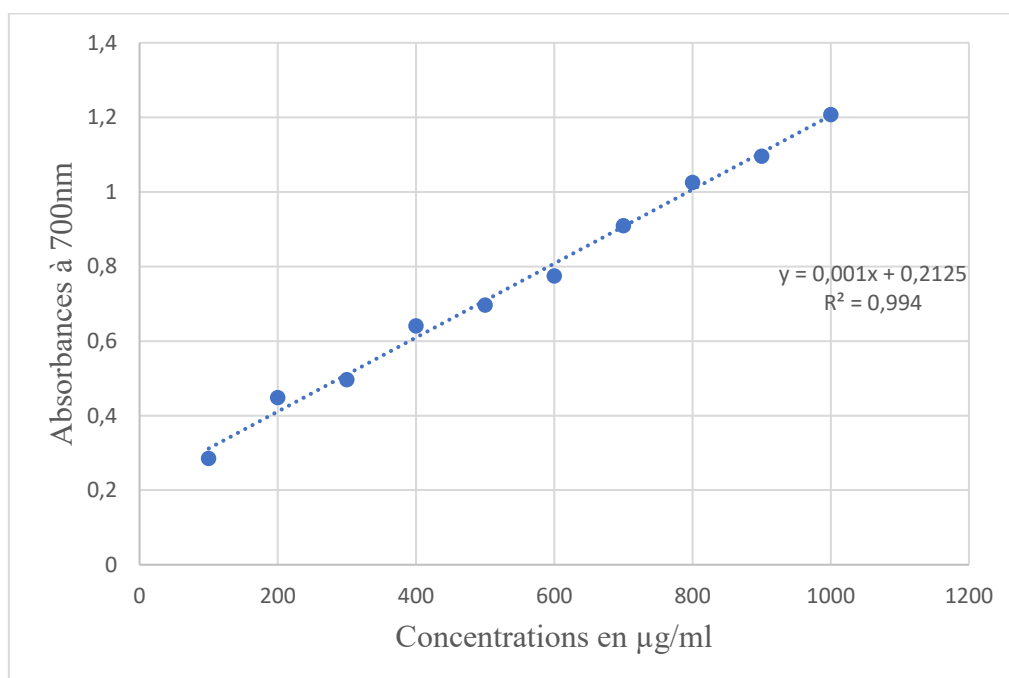
La capacité réductrice des extraits d'écorces de *Salix alba* a été évaluée par la méthode FRAP, basée sur la réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Cette activité a été mesurée par spectrophotométrie à 700 nm, en comparaison avec l'acide ascorbique et le BHA comme références. Les valeurs d'absorbance obtenues à différentes concentrations pour chaque extrait et pour la référence ont été représentées sous forme de courbes de régression linéaire, présentées dans les figures (12), (13) et (14).



**Figure 12:** Le pouvoir réducteur du fer (FRAP) en présence des molécules de référence : Acide ascorbique et BHA



**Figure 13:** Pouvoir réducteur du fer en présence d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (**EBM**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix Alba*)



**Figure 14:** Pouvoir réducteur du fer en présence d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (**EBD**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

➤ **Détermination de la concentration efficace (EC50)**

Les valeurs d'EC50 correspondent à la concentration efficace pour laquelle l'absorbance atteint 0,5. Elles ont été déterminées graphiquement à partir des équations de régression linéaire établies pour chaque extrait et pour l'acide ascorbique utilisé comme référence, sur la base des figures (12), (13) et (14). Les résultats sont consignés dans le tableau 10.

**Tableau 10:** Les valeurs des EC50 du pouvoir réducteur du fer d'acide ascorbique, BHA et des extraits bruts (**EBM**) et (**EBD**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

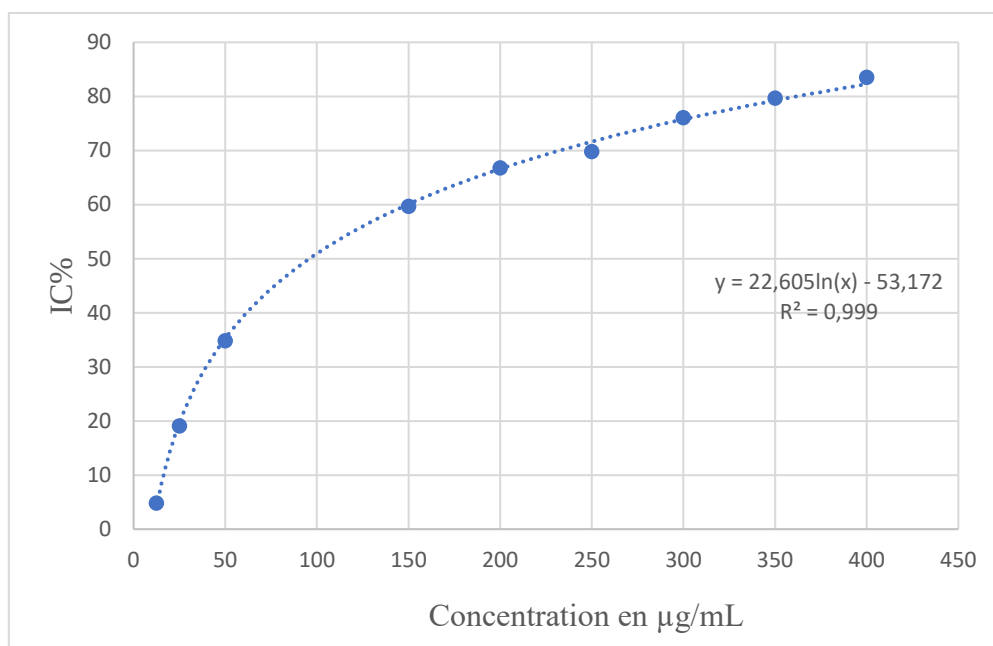
|                     | Extrait |       | Référence        |     |
|---------------------|---------|-------|------------------|-----|
|                     | EBM     | EBD   | Acide ascorbique | BHA |
| <b>EC50 (µg/mL)</b> | 240     | 287,5 | 76,4             | 117 |

**EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction

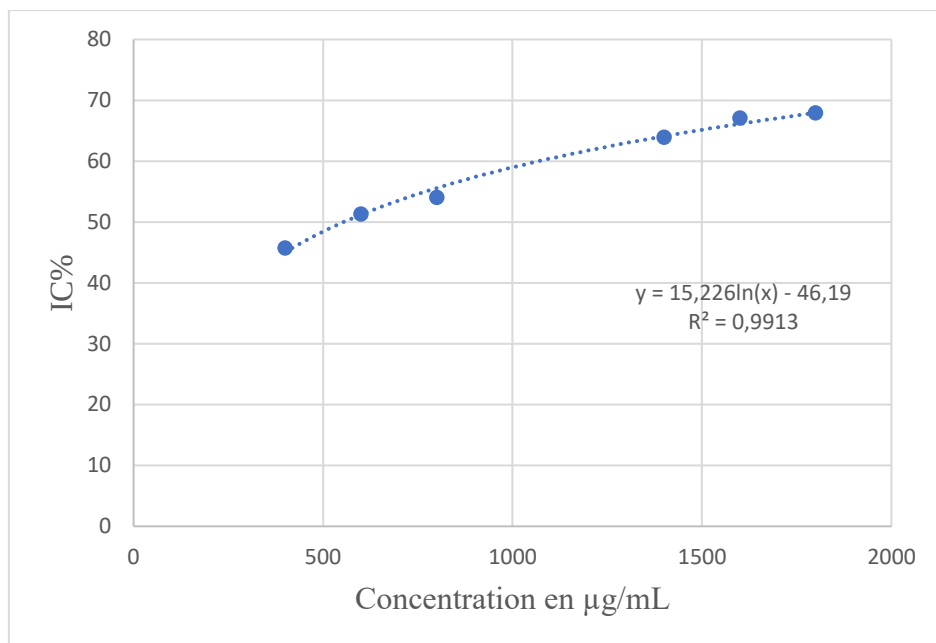
Les résultats consignés dans le tableau 10 montrent que l'acide ascorbique présente le pouvoir réducteur le plus élevé suivis par le BHA, avec une EC50 de 76,4 µg/mL et 117 µg/mL, respectivement, ce qui confirme leurs puissance antioxydante en tant que références. Les extraits d'écorces de *Salix alba* affichent des valeurs d'EC50 plus élevées, traduisant une activité inférieure à celle de la référence. Entre les deux extraits, l'**EBM** se distingue par une meilleure efficacité, avec une EC50 de 240 µg/mL, contre 287,5 µg/mL pour l'**EBD**. Rappelons qu'une valeur d'EC50 faible reflète une activité antioxydante plus importante, une plus faible quantité de substance étant alors suffisante pour atteindre l'absorbance cible de 0,5.

## 5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

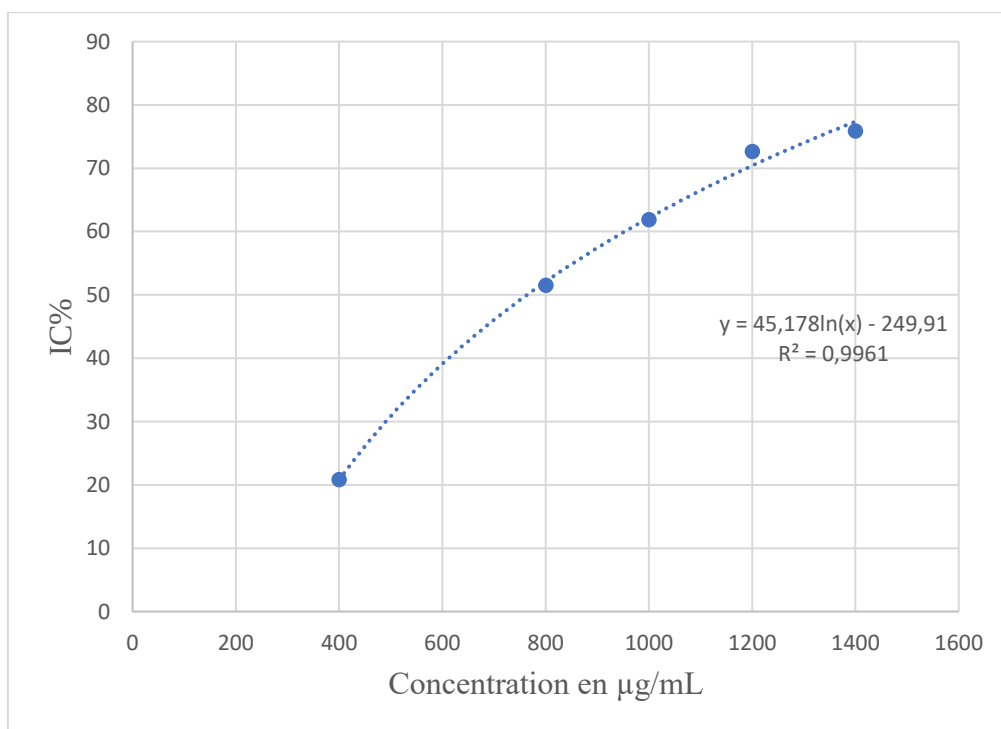
L'activité anti-inflammatoire des extraits d'écorces de *Salix alba* a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf, basé sur la mesure de l'absorbance à 660 nm. Les pourcentages d'inhibition obtenus pour le diclofénac utilisé comme molécule de référence, l'**EBM** et l'**EBD** sont représentés graphiquement en fonction de la concentration dans les figures (15), (16) et (17) respectivement.



**Figure 15:** Evolution des pourcentages d'inhibition de dénaturation d'albumine en fonction des différentes concentrations du diclofénac (Molécule de référence)



**Figure 16:** Evolution des pourcentages d'inhibition de dénaturation d'albumine en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)



**Figure 17:** Evolution des pourcentages d'inhibition de dénaturation d'albumine en fonction des différentes concentrations d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

### ➤ Détermination de la concentration inhibitrice de 50% (CI50)

Les valeurs de CI50, exprimées en µg/ml, correspondent à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % de dénaturation d'albumine. Elles ont été déterminées graphiquement à partir des équations de régression logarithmique des figures (15), (16) et (17), pour les deux extraits hydrométhanolique bruts obtenus par macération (**EBM**) et par décoction (**EBD**), ainsi que pour le diclofénac utilisé comme référence.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-après (Tableau 11).

Une valeur de CI50 faible reflète un pouvoir anti-inflammatoire élevé, ce critère servant de base à la comparaison du potentiel anti-inflammatoire des extraits étudiés.

**Tableau 11:** Les valeurs de CI50 obtenues lors du test d'inhibition de dénaturation d'albumine du diclofénac et les extraits bruts (**EBM**) et (**EBD**) d'écorce du Saule Blanc (*Salix alba*)

|                     | Extrait |       | Référence  |
|---------------------|---------|-------|------------|
|                     | EBM     | EBD   | Diclofénac |
| <b>CI50 (µg/mL)</b> | 555,55  | 763,8 | 96         |

**EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **EBD** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction

L'**EBM** affiche une CI50 de 555,55 µg/mL, inférieure à celle de l'**EBD** établie à 763,8 µg/mL, ce qui indique une meilleure activité anti-inflammatoire pour l'extrait obtenu par macération.

Les deux extraits restent cependant nettement moins actifs que le diclofénac, dont la CI50 de 96 µg/mL témoigne d'une efficacité inhibitrice bien supérieure.

La différence observée entre les deux extraits pourrait s'expliquer par une meilleure préservation des composés bioactifs lors de la macération à température ambiante, la chaleur appliquée durant la décoction étant susceptible de dégrader certaines molécules thermosensibles.

# Discussion

L'analyse approfondie des résultats obtenus sur l'écorce de *Salix alba* L. trouvée dans la région de Tlemcen révèle des caractéristiques physico-chimiques et biologiques qui, bien que confirmant le potentiel thérapeutique de l'espèce, se distinguent de manière significative des données rapportées dans la littérature algérienne, notamment par **(Roumili 2024)**, et mettent en lumière des variations biogéochimiques notables soulignant l'influence prépondérante du terroir sur le métabolisme secondaire des Salicaceae.

En premier lieu, l'évaluation des rendements d'extraction démontre une supériorité quantitative de la décoction (5,21 %) sur la macération (2,61 %), un phénomène thermodynamique classique où l'apport de chaleur favorise la solubilisation des métabolites en accroissant la solubilité des solutés. Ces valeurs demeurent néanmoins largement inférieures au rendement exceptionnel de 40,03 % rapporté par **(Roumili 2024)** pour l'extrait méthanolique d'écorce de Sétif. Cette disparité majeure pourrait s'expliquer à la fois par des différences de polarité des solvants et par l'impact déterminant des facteurs environnementaux sol, climat et variations écologiques extrêmes entre l'Ouest et le Nord-Est du pays sur le métabolisme secondaire de la plante.

Sur le plan de la composition phytochimique, notre étude identifie une stabilité thermique des polyphénols totaux, dont la concentration est optimale dans le décocté (0.56 mg Eq AG/mg) comparativement au macérat, suggérant une meilleure extraction de ces composés lors d'une chauffe prolongée. À l'inverse, les flavonoïdes semblent mieux préservés par macération (0.14 mg Eq C/mg), illustrant une thermosensibilité de ces métabolites, en accord avec les profils de **Piątczak et al. (2020)** qui précisent que les flavanols et procyanidines peuvent constituer jusqu'à 77,1 % des composés phénoliques de l'écorce de *Salix alba*. Cette nette dégradation des flavonoïdes lors d'une exposition thermique prolongée s'explique par des mécanismes d'oxydation accélérée et de scission hydrolytique des liaisons glycosidiques **Volkova et al., (2021)**. À l'inverse, la stabilité apparente ou l'augmentation des polyphénols totaux dans le décocté pourrait résulter de la libération de composés phénoliques initialement liés aux polymères de la paroi cellulaire (tels que les tanins condensés ou les lignines), sous l'action combinée de la chaleur et de la pression de vapeur **Juhaimi et al., (2018)**.

L'évaluation du potentiel antioxydant via le piégeage du radical DPPH confirme la supériorité de l'extrait préparé par macération ( $CI_{50} = 215 \mu\text{g/mL}$ ) sur l'extrait préparé par décoction ( $CI_{50} = 242 \mu\text{g/mL}$ ), une tendance validée par le test FRAP où la macération permet une meilleure préservation des molécules dotées d'un pouvoir réducteur capable de convertir le

fer ferrique en fer ferreux. Néanmoins, cette puissance antiradicalaire reste modeste face aux performances des extraits récoltés dans la région de Sétif ( $CI_{50} = 6,7 \mu\text{g/mL}$ ) selon **(Roumili, 2024)**. Ces écarts suggèrent une concentration moins dense en principes actifs dans nos échantillons, possiblement liée à une récolte à un stade phénologique différent, à des variations d'exposition lumineuse ou à des facteurs saisonniers, comme l'ont documenté **Förster et al. (2008)** pour les variations de glycosides phénoliques chez le genre *Salix*. Cette variabilité quantitative en principes actifs dicte directement le profil antioxydant ; la supériorité de l'extrait par macération face au radical DPPH s'aligne avec sa richesse préservée en flavonoïdes, reconnus pour leur capacité à céder facilement un atome d'hydrogène grâce à leurs groupements hydroxyles libres **Sulaiman et al., (2013)**. La corrélation étroite observée entre le pouvoir réducteur (FRAP) et la teneur en composés thermosensibles indique que le potentiel d'oxydoréduction de l'écorce de Tlemcen repose sur des structures moléculaires spécifiques, altérées par la décoction, ce qui différencie nos échantillons de ceux de Sétif **(Roumili, 2024)**.

Enfin, l'activité anti-inflammatoire mesurée par l'inhibition de la dénaturation des protéines révèle une meilleure efficacité pour l'**EBM** ( $CI_{50} = 555,55 \mu\text{g/mL}$ ) par rapport à l'**EBD** ( $CI_{50} = 763,8 \mu\text{g/mL}$ ), bien que ces performances demeurent très éloignées du Diclofénac ( $CI_{50} = 96 \mu\text{g/mL}$ ). Ce pouvoir inhibiteur est intrinsèquement lié à la synergie entre les flavonoïdes et les dérivés salicylés (salicine, salicortine), qui, comme l'explique **Gheddab (2016)** et le confirment **Wu et al. (2024)** sur *Salix tetrasperma*, agissent en modulant les voies NF- $\kappa$ B et en inhibant la cyclooxygénase-2 (COX-2), réduisant ainsi la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que le TNF- $\alpha$ . Ces données valident scientifiquement l'usage ancestral du Saule Blanc comme ancêtre naturel de l'aspirine, offrant une alternative thérapeutique alliant l'efficacité et l'innocuité digestive par rapport aux molécules de synthèse.

# Conclusion

Le présent travail s'inscrit dans une approche intégrée de valorisation des plantes médicinales locales, en mettant en évidence le potentiel de l'écorce de *Salix alba* L. trouvée dans la région Tlemcen comme source naturelle de composés bioactifs à intérêt thérapeutique. Les analyses réalisées ont permis de confirmer la présence de métabolites secondaires majeurs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, dont la répartition et la concentration sont étroitement liées aux conditions d'extraction et aux caractéristiques écologiques de la région de récolte.

Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait hydrométhanolique issu de la décoction se caractérise par une teneur plus élevée en polyphénols totaux, ce qui se traduit par une bonne activité antioxydante, mise en évidence à travers les tests DPPH et FRAP. À l'inverse, l'extrait obtenu par macération présente une meilleure teneur en flavonoïdes ainsi qu'une activité anti-inflammatoire légèrement différenciée selon la méthode d'extraction. Cette dualité met en évidence non seulement l'influence déterminante de la méthode d'extraction, mais également la complexité des relations entre la composition chimique et les activités biologiques : l'activité antioxydante dépend principalement de la quantité totale de composés phénoliques, tandis que l'activité anti-inflammatoire est davantage liée à la synergie entre les flavonoïdes et les dérivés salicylés, notamment la salicine.

Les activités observées dans notre étude restent significatives dans le cadre d'une approche privilégiant des procédés simples, aqueux et compatibles avec un usage thérapeutique traditionnel. Ces résultats confirment que les variations biogéochimiques liées au terroir influencent la densité en principes actifs, sans pour autant remettre en cause le potentiel pharmacologique intrinsèque de l'espèce.

Toutefois, certaines limites doivent être prises en considération, notamment le caractère *in vitro* des essais réalisés ainsi que l'absence d'identification précise des composés actifs par des méthodes chromatographiques avancées telles que la HPLC ou la LC-MS. De même, l'influence du stade phénologique de récolte, de la saisonnalité et des conditions pédoclimatiques locales sur la composition phytochimique mériterait d'être approfondie. Ainsi, des études complémentaires, incluant des analyses structurales poussées et des essais *in vivo*, sont nécessaires afin de confirmer ces résultats, d'élucider les mécanismes d'action précis et d'envisager une standardisation des extraits.

En définitive, notre étude confirme que *Salix alba* de Tlemcen constitue une ressource pharmacologique authentique et bio-active précieuse, dont les propriétés antioxydantes et anti-

inflammatoires sont optimisées par une extraction à froid, pour la lutte contre le stress oxydatif et les pathologies inflammatoires.

# **Références bibliographiques**

- Baba Aissa, F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb. Substance végétale, Éditions Librairie Moderne, Rouiba, p145.
- Baker, P., Charlton, A., Johnston, C., Leahy, J. J., Lindegaard, K., Pisano, I., Prendergast, J., Preskett, D., & Skinner, C. (2022).** A review of Willow (*Salix* spp.) as an integrated biorefinery feedstock. *Industrial Crops & Products*, 189, Article 115823.
- Botelho, C., Ferreira-Sousa, D., Quero, J., Costa-Barbosa, A., Teixeira-Guedes, C., Sampaio, P., Rodríguez-Yoldi, M. J., & Ferreira-Santos, P. (2025).** Characterizing the phenolic composition and exploring the antioxidant, anti-cancer, and anti-inflammatory potential of medicinal plant infusions. *Pharmacological Research - Natural Products*, Article 10010.
- Boukhatem, M. N., et al. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1653-1659.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012).** Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3, Suppl. 1), S178–S180.
- Chaudhary, D., Patel, S., Gururani, R., Chak, P., Jain, S., Dwivedi, J., & Sharma, S. (2025).** A comprehensive review on anti-inflammatory plants: a mechanistic insight through preclinical and clinical studies. *Inflammopharmacology*, 33, 2447–2476.
- Derbal, N., & Fedali, H. (2015).** L'activité antioxydante, anti-inflammatoire et analgésique de plante médicinale Algérienne *Inula Viscosa* [Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine].
- El Juhaimi, F., Ghafoor, K., Özcan, M. M., Jahurul, M. H. A., Babiker, E. E., Ahmed, I. A. M., & Al-Juhaimi, A. M. (2018).** Effect of various water extraction conditions on total phenolic, antioxidant activity and phenolic compounds of selected medicinal plants. *Journal of Food Science and Technology*, 55(5), 1848–1856. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3102-1>
- Gadhoumi, H., Yeddes, W., Chaabani, E., Hammami, M., Tounsi, M. S., & Hayouni, E. A. (2025).** Assessment of Phytochemical Content, Polyphenolic Composition, Antioxidant and

Antibacterial Screening of Selected Traditional Medicinal Plants from Tunisia. *Biology Bulletin*, 52, 139.

**Gheddab, N. (2016).** Inhibition de la cyclooxygénase par les flavonoïdes : Étude bibliographique [Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine].

**Haïoun, A., & Hamoudi, F. Z. (2015).** *Les radicaux libres et stress oxydant* [Titre de chapitre de mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine].

**Houston Durrant, T., de Rigo, D., & Caudullo, G. (2016).** *Salix alba* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. Dans San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., & Mauri, A. (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species* (p. e01153e). Publication Office of the European Union.

**Lakas, M., Sifi, I., & Eloff, J. N. (2026).** Anti-inflammatory and antioxidant activities and nitric oxide inhibition of acetone extracts of three Algerian Saharan medicinal plants in LPS-stimulated RAW 264.7 Cells. *European Journal of Integrative Medicine*, 84, 102653.

**Laouar, O. (2025).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales à usage thérapeutique traditionnel dans la commune de Hamma Bouziane de la wilaya de Constantine [Mémoire de Master, Université Constantine 1 Frères Mentouri].

**Latif, R., & Nawaz, T. (2025).** Medicinal plants and human health: a comprehensive review of bioactive compounds, therapeutic effects, and applications. *Phytochemistry Reviews*, 25, 2299–2342.

**Liu, H., Jiao, Y., Wang, P.-C., Chen, Y., Xu, M., Zhang, X., Zheng, X., & Yang, Z. (2026).** Oxidative stress and antioxidant therapeutic mechanisms. *Pharmacology & Therapeutics*, 278, 108962.

**Liu, Y., Ji, A., Jia, H., & Sun, H. (2026).** Advanced applications of synthetic biology technology in biosynthesis of bioactive compounds from medicinal plants. *Chinese Herbal Medicines*, 18, 11–28.

**Malhotra, R., Husain, A., Ahmad, F., & Rakhra, G. (2026).** Role of flavonoids as anti-inflammatory agents in inflammatory diseases. *PharmaNutrition*, 35, 100464. Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et de ses régions désertiques méridionales* (Tome II). Paris: Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.

- Piąteczak, E., Dybowska, M., Pluciennik, E., Kośla, K., Kolniak-Ostek, J., & Kalinowska-Lis, U. (2020).** Identification and accumulation of phenolic compounds in the leaves and bark of *Salix alba* (L.) and their biological potential. *Biomolecules*, 10(10), 1391.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2010).** Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.
- Robino, J. (s. d.).** *Saule blanc* [Photographie]. Naturobino.
- Roumili, I. (2024).** *Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits de Salix alba et Equisetum arvense* [Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif].
- Roumili, I., Mayouf, N., Charef, N., Arrar, L., & Baghiani, A. (2022).** HPLC analysis, acute toxicity and anti-inflammatory effects of *Salix alba* L. barks extracts on experimental animal models. *Indian Journal of Experimental Biology*, 60, 842-850.
- Sărăcilă, M., Panaite, T., Papuc, C., & Criste, R. D. (2021).** *An overview of the metabolism of salicin derivatives from willow bark* [Schéma]. ResearchGate.
- Sulaiman, S. F., Aminah, A. A., & Tariq, M. S. (2013).** Relationship between total phenolic contents and antioxidant capacities of various extracts of local *Salix* species. *Industrial Crops and Products*, 43, 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.0>
- Volkova, N., Shkondrov, A., & Krasteva, I. (2021).** Thermal stability and decomposition kinetics of flavonoids and phenolic acids during conventional extraction processes. *Phytochemical Analysis*, 32(4), 512–521. <https://doi.org/10.1002/pca.3001>
- Zaiter, A., Becker, L., Petit, J., Zimmer, D., Karam, M. C., Baudelaire, É., Scher, J., & Dicko, A. (2016).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of different granulometric classes of *Salix alba* (L.) bark powders. *Powder Technology*, 301, 649–656.

## الملخص

الصفصاف الأبيض (*Salix alba* L.) شجرة ثنائية المسكن تنتمي إلى الفصيلة الصفصافية يبلغ ارتفاع الأشجار حوالي 25 متراً و تتميز هاته الأخيرة بلحاء مثشق وتُعرف في الجزائر بالاسم المحلي ( صفصاف لبياض ). يتميز لحاؤها بغناه بمشتقات الساليسيل، لا سيما الساليسين، إلى جانب الفلافونويدات والتانينات المكثفة، مما يمنحها خصائص مسكّنة للألم ومضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة.

جرى إزالة الدهون من اللحاء أولاً بالاستخلاص بجهاز سوكسليت باستخدام الكلوروفورم ثم حُصرت المستخلصات الخام في خليط ميثانول/ماء مقطر بنسبة (70/30)

أظهر مستخلص الغليان مردوداً بلغ 5,21%، أي ما يقارب ضعف مردود مستخلص النقع المقدّر بـ 2,61%. يتميز كلا المستخلصين بلون بني وقابلية ذوبان تامة في الماء المقطر.

كشف تقدير المركبات الفينولية أن مستخلص الغليان يحتوي على أعلى تركيز من البوليفينولات الكلية بقيمة  $0,56 \pm 0,0740$  ميليغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص الجاف. في المقابل، سجّل مستخلص النقع قيمة  $0,47 \pm 0,0606$  ميليغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص الجاف. أما محتوى الفلافونويدات، فكان أعلى في مستخلص النقع بقيمة  $0,14 \pm 0,0654$  ميليغرام مكافئ كاتيشين/ملغ مستخلص جاف، مقابل  $0,076 \pm 0,0880$  في مستخلص الغليان. وفيما يخص التانينات المكثفة، سجّل مستخلص الغليان الأعلى بقيمة  $0,78 \pm 0,029$  ميليغرام مكافئ كاتيشين/ملغ، مقابل  $0,52 \pm 0,0016$  لـ مستخلص النقع.

أكد الفحص الفيتوكيميائي النوعي وجود التانينات والفلافونويدات والتيربينويدات والكينونات الحرة والمركبات المختزلة في كلا المستخلصين.

أظهر اختبار **DPPH** أن مستخلص النقع يمتلك  $IC_{50}$  بقيمة 215 ميكروغرام/مل، وهي أقل من تلك الخاصة بـ مستخلص الغليان البالغة 242 ميكروغرام/مل، مما يعكس قدرة اختزال أعلى للجذور الحرة في مستخلص النقع. أكد اختبار **FRAP** هذا الاتجاه، بقيم  $EC_{50}$  بلغت 240 ميكروغرام/مل لـ مستخلص النقع و 287,5 ميكروغرام/مل لـ مستخلص الغليان.

فيما يخص النشاط المضاد للالتهابات، المُقيّم بطريقة تثبيط تمسخ بروتين ألبومين البيض، سجّل متخلص النقع قيمة  $IC_{50}$  تساوي 555,55 ميكروغرام/مل، مقابل 763,8 ميكروغرام/مل لمستخلص الغليان، مما يؤكد التفوق النسبي لمستخلص النقع.

**الكلمات المفتاحية:** صفصاف أبيض، لحاء، المركبات الفينولية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات، تمسخ البروتينات.

## Résumé

Le Saule Blanc (*Salix alba* L.) est un arbre dioïque de la famille des Salicaceae, atteignant une hauteur de 25 mètres, caractérisé par une écorce crevassée. Il est localement connu en Algérie sous l'appellation de « Safsaf Labyadh ». Son écorce est riche en dérivés salicylés, notamment la salicine, ainsi qu'en flavonoïdes et en tanins condensés, ce qui lui confère des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antioxydantes reconnues.

Ce travail porte sur l'étude phytochimiques, dosage des composés phénoliques, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits bruts hydrométhanoliques obtenus par macération et décoction à partir de l'écorce de Saule Blanc (*Salix alba*).

L'écorce a été préalablement dégraissée par extraction au Soxhlet au chloroforme, puis les extraits bruts hydrométhanoliques ont été préparés dans un mélange méthanol/eau distillée (70/30). L'extrait obtenu par décoction a présenté un rendement de 5,21 %, soit près du double de celui obtenu par macération, établi à 2,61 %. Les deux extraits se distinguent par une coloration marron et une solubilité totale dans l'eau distillée.

Le dosage des composés phénoliques a révélé que l'extrait brut préparé par décoction présente une teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés de l'ordre de  $0,56 \pm 0,0740$  mg EAG/mg ES et  $0,78 \pm 0,029$  mg EC/mg ES, supérieure à celle de l'extrait brut préparé par macération ( $0,47 \pm 0,0606$  mg EAG/mg ES et  $0,52 \pm 0,016$  mg EC/mg ES), respectivement. En revanche, la teneur en flavonoïdes est plus élevée dans l'extrait brut préparé par macération ( $0,14 \pm 0,0654$  mg EC/mg ES) que dans l'extrait brut préparé par décoction ( $0,076 \pm 0,0880$  mg EC/mg ES).

Le criblage phytochimique qualitatif a confirmé la présence de tanins, de flavonoïdes, de terpénoïdes, de quinones libres et de composés réducteurs.

Quant aux propriétés antioxydantes, l'analyse du piégeage du radical DPPH démontre que l'extrait brut préparé par macération possède une capacité antiradicalaire plus optimale que l'extrait brut préparé par décoction, au vu de sa concentration inhibitrice  $CI_{50}$  de 215 µg/mL plus faible contrairement à 242 µg/mL. Le test FRAP a confirmé cette tendance, les valeurs d' $EC_{50}$  obtenues restant inférieures (et donc plus performantes) pour l'extrait obtenu par macération ( $EC_{50}$  de 240 µg/mL) comparativement au décocté 287,5 µg/mL.

Concernant l'activité anti-inflammatoire, évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf, l'extrait brut préparé par macération a affiché une  $CI_{50}$  de 555,55 µg/mL contre 763,8 µg/mL pour l'extrait brut préparé par décoction.

**Mots clés :** *Salix alba*, Ecorce, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, dénaturation des protéines.

## Abstract

White Willow (*Salix alba* L.) is a dioecious tree belonging to the Salicaceae family, capable of reaching 25 metres in height, characterised by its deeply furrowed bark, is locally known in Algeria as "Safsaf Labyadh". Its bark is notably rich in salicylate derivatives, particularly salicin, as well as flavonoids and condensed tannins, conferring recognised analgesic, anti-inflammatory, and antioxidant properties.

The bark was first defatted by Soxhlet extraction with chloroform, after which crude hydromethanolic extracts were prepared in a methanol/distilled water mixture (70/30). The decoction extract yielded 5.21%, nearly double that of the maceration extract at 2.61%. Both extracts were characterised by a brown colour and complete solubility in the hydromethanolic mixture.

Quantification of phenolic compounds showed that the crude decoction extract contained a higher total polyphenol content of  $0,56 \pm 0,0740$  mg GAE/mg dry extract compared to the crude maceration extract ( $0,47 \pm 0,0606$  mg GAE/mg dry extract). Conversely, the flavonoid content was higher in the crude maceration extract ( $0,14 \pm 0,0654$  mg CE/mg dry extract) than in the crude decoction extract ( $0,076 \pm 0,0880$  mg CE/mg dry extract). For condensed tannins, crude decoction extract again recorded the highest content at  $0,78 \pm 0,029$  mg CE/mg dry extract, compared to  $0,52 \pm 0,0016$  mg CE/mg dry extract for the crude maceration extract. Qualitative phytochemical screening confirmed the presence of tannins, flavonoids, terpenoids, free quinones, and reducing compounds in both extracts.

Antioxidant activity assessed by the DPPH radical scavenging test revealed that the crude maceration extract exhibited an  $IC_{50}$  of 215 µg/mL, lower than that of the crude decoction extract (242 µg/mL), indicating stronger free radical scavenging activity for the maceration extract. The FRAP assay confirmed this trend, with  $EC_{50}$  values of 240 µg/mL for the crude maceration extract and 287.5 µg/mL for crude decoction extract. Regarding anti-inflammatory activity, evaluated through the egg albumin denaturation inhibition test, crude maceration extract displayed an  $IC_{50}$  of 555.55 µg/mL compared to 763.8 µg/mL for the crude decoction extract, confirming the superior activity of the maceration extract.

**Keywords:** *Salix alba*, White Willow, bark, , phenols compounds , antioxidant activity, anti-inflammatory activity, protein denaturation.