



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
و البحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire

THESE de DOCTORAT en SCIENCES

Spécialité : Sciences de vie

Intitulée

**Activités biologiques de quelques plantes médicinales de
la région de Mascara (Algérie).**

Présentée par : M^{me} SOLTANI Fatima Zohra.

Soutenue le : 11/12/2024 à la bibliothèque SNV

Devant le jury :

Présidente	M ^{me} CHOUITAH Ourida	Pr	Université de Mascara
Examineur	Mr KAHLOULA Khaled	Pr	Université de Saïda
Examineur	Mr AOUAS Abdelkader	Pr	Université d'Oran 1
Examineur	Mr MAROUKI Ahmed	Pr	Université de Sidi Bel-Abbès
Examinatrice	M ^{me} CHELLI Nadia	MCA	Université de Mascara
Directeur de thèse	Mr MEDDAH Boumediène	Pr	Université de Mascara

Année Universitaire : 2024 – 2025.

Remerciements

الحمد لله حمدا كثيرا

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury de ma thèse.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Mr MEDDAH B.**, professeur à l'université de Mascara et directeur de ma thèse, pour son soutien indéfectible, ses conseils avisés et sa confiance tout au long de ce parcours. Votre expertise et votre passion pour la recherche m'ont profondément inspirée.

Mes remerciements vont également à **M^{me} CHELLI N.**, maître de conférences à l'université de Mascara et ma co-encadrante, dont les conseils judicieux et les critiques constructives ont grandement contribué à l'amélioration de mon travail. Votre soutien m'a permis de surmonter les défis rencontrés et d'affiner mes idées.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **M^{me} CHOUTAH O.**, professeur à l'université de Mascara, pour avoir accepté la présidence de mon jury de soutenance. Je lui suis reconnaissante pour le temps et l'attention qu'elle a consacrés à l'évaluation de mes travaux.

J'adresse mes remerciements à **Mr KAHLOULA K.**, professeur à l'université de Saïda. C'est un véritable honneur d'avoir eu votre présence parmi nous. Votre participation au jury de cette thèse est très appréciée, et je vous exprime toute ma gratitude et mon respect sincère.

Je remercie également **Mr AOUAS A.**, professeur à l'université d'Oran 1. Vos commentaires et votre jugement sur mon travail scientifique ont été d'une grande valeur pour moi, et je vous en suis très reconnaissante.

Je remercie également **Mr MAROUKI A.**, professeur à l'université de Sidi Bel-Abbès, pour sa présence et ses contributions en tant qu'examineur de ma thèse. Son soutien à mon travail m'est très précieux.

Un grand merci à **Mr BOUKHARI Y.**, maître de conférences à l'université de Mascara, et à **Mr MEGHARBI A.**, maître de conférences à l'université de Relizane, dont le soutien dans l'étude statistique a été inestimable. Je n'oublie pas **M^{me} KHADEM H.**, docteur à l'université de Tiaret, qui m'a beaucoup aidée tout au long de ce processus. Votre expertise et vos conseils ont été essentiels à la réussite de ce travail.

Je ne saurais conclure sans adresser mes chaleureux remerciements à ma famille et à toutes les personnes qui m'ont soutenue tout au long de ce parcours.

Dédicaces

À vous qui m'avez soutenue, ce travail de recherche n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide précieuse de certaines personnes. Par ces quelques lignes, je souhaite leur exprimer ma profonde gratitude.

À mes très chers parents, pour votre soutien indéfectible pendant toutes ces années d'études, je vous aime.

À mes frères et ma sœur, votre soutien a compté, merci pour tout.

À mon cher époux, pour ton aide et ta compréhension qui ont rendu ce travail possible.

À mes merveilleux enfants, cette réussite est pour vous donner confiance en l'avenir.

À mes chères amies, Hafidha, Fadhéla, Sara et Malika votre soutien m'a aidée, je n'oublierai pas.

Résumé

Les plantes médicinales *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*, couramment utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne, représentent des sources potentielles de biomolécules bioactives. L'objectif de cette étude était d'évaluer le potentiel antioxydant et antimicrobien de ces plantes ainsi que d'explorer leur composition phytochimique. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation et les extraits ont été préparés par macération dans différents solvants : l'hexane, l'acétone et le méthanol. L'extrait aqueux déodorisé correspond à la phase aqueuse résiduelle de l'hydrodistillation. Les analyses chimiques qualitatives ont permis d'identifier divers composés, tels que les polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, stérols, coumarines et saponines, dans les extraits des deux plantes. Les analyses quantitatives ont révélé que l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus* était le plus concentré avec $49,21 \pm 0,51$ mg EAG/g en polyphénols, $43,12 \pm 3,39$ mg EC/g en flavonoïdes et $7,93 \pm 0,74$ mg EC/g de tanins. Pour *Centaurium erythraea*, l'extrait hydrométhanolique a présenté les teneurs les plus élevées, $64,66 \pm 0,35$ mg EAG/g en polyphénols et $12,07 \pm 0,97$ mg EC/g en tanins condensés. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) a permis d'identifier 72 et 35 composés respectivement dans les huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*. Dans l'huile essentielle d'*A. halimus*, les composés majoritaires étaient le viridiflorol (40,23%), le phytol (18,24%) et le germacrène D (6,94%). Pour *C. erythraea*, les composés dominants étaient le β -copaen-4 α -ol (38,41%), le manool (8,2%) et le carvacrol (6,43%). Les tests d'activité antioxydante ont montré une efficacité notable, avec des IC50 respectives de 502,24 et 402,4 μ g/ml pour l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus*, et de 433,64 et 180,5 μ g/ml pour l'extrait hydroalcoolique de *Centaurium erythraea*. Les extraits et huiles essentielles ont été évalués contre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* par diffusion sur disque et microdilution. Les résultats ont révélé une activité antibactérienne prometteuse contre les germes étudiés, notamment à Gram positif et négatif. L'activité antifongique était également observée, notamment contre *Candida albicans*, qui s'est révélée particulièrement sensible. En revanche, *Enterococcus faecalis* a montré une plus grande résistance aux extraits et huiles essentielles. Ces résultats mettent en lumière le potentiel de ces plantes en tant que sources naturelles d'antioxydants et d'agents antimicrobiens, ouvrant ainsi des perspectives d'applications thérapeutiques.

Mots clés : *Atriplex halimus*, *Centaurium erythraea*, activité antioxydante, activité antimicrobienne, extraits, huile essentielle.

Abstract

Medicinal plants *Atriplex halimus* and *Centaurium erythraea*, commonly used in traditional Algerian medicine, represent potential sources of bioactive biomolecules. The objective of this study was to evaluate the antioxidant and antimicrobial potential of these plants, as well as to explore their phytochemical composition. Essential oils were extracted by hydrodistillation, and extracts were prepared by maceration in different solvents: hexane, acetone, and methanol. The deodorized aqueous extract corresponds to the residual aqueous phase of hydrodistillation. Qualitative chemical analyses identified various compounds such as polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, sterols, coumarins, and saponins in the extracts of both plants. Quantitative analyses revealed that the acetonic extract of *Atriplex halimus* was the most concentrated, with 49.21 ± 0.51 mg EAG/g of polyphenols, 43.12 ± 3.39 mg EC/g of flavonoids, and 7.93 ± 0.74 mg EC/g of tannins. For *Centaurium erythraea*, the hydro-methanolic extract showed the highest concentrations, with 64.66 ± 0.35 mg EAG/g of polyphenols and 12.07 ± 0.97 mg EC/g of condensed tannins. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis identified 72 and 35 compounds, respectively, in the essential oils of *Atriplex halimus* and *Centaurium erythraea*. In the essential oil of *A. halimus*, the major compounds were viridiflorol (40.23%), phytol (18.24%), and germacrene D (6.94%). For *C. erythraea*, the dominant compounds were β -copaen-4 α -ol (38.41%), manool (8.2%), and carvacrol (6.43%). Antioxidant activity tests showed notable effectiveness, with IC₅₀ values of 502.24 and 402.4 μ g/ml for the acetonic extract of *Atriplex halimus*, and 433.64 and 180.5 μ g/ml for the hydroalcoholic extract of *Centaurium erythraea*. The extracts and essential oils were evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans* using disk diffusion and microdilution methods. The results revealed promising antibacterial activity against the studied strains, particularly both Gram-positive and Gram-negative bacteria. The antifungal activity was also observed, particularly against *Candida albicans*, which proved to be especially sensitive. In contrast, *Enterococcus faecalis* showed greater resistance to the extracts and essential oils. These results illuminate the potential of these plants as natural sources of antioxidants and antimicrobial agents, opening up therapeutic application prospects.

Keywords: *Atriplex halimus*, *Centaurium erythraea*, antioxidant activity, antimicrobial activity, extracts, essential oil.

المخلص

تمثل النباتات الطبية القطف (*Atriplex halimus*) والقنطريون الصغير (*Centaurium erythraea*)، المستخدمة بشكل شائع في الطب التقليدي الجزائري، مصادر محتملة للجزيئات الحيوية النشطة. كان هدف هذه الدراسة هو تقييم الإمكانيات المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لهذه النباتات، بالإضافة إلى استكشاف تركيبها الكيميائي النباتي. تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي، وتم تحضير المستخلصات بواسطة النقع في مذيبات مختلفة: الهكسان، والأسيتون، والميثانول. يتمثل المستخلص المائي المعطر في المرحلة المائية المتبقية من التقطير المائي. سمحت التحليلات الكيميائية النوعية بتحديد مركبات متنوعة مثل البوليفينولات، والفلافونويدات، والتانينات، والقلويدات، والستيرولات، والكومارينات، والصابونينات في مستخلصات كلا النباتين. أظهرت التحليلات الكمية أن المستخلص الأسيتوني من القطف كان الأكثر تركيزاً، حيث احتوى على 0.51 ± 49.21 ملغ EAG/g من البوليفينولات، و 43.12 ± 3.39 ملغ EC/g من الفلافونويدات، و 0.74 ± 7.93 ملغ EC/g من التانينات. بالنسبة للقنطريون الصغير، أظهر المستخلص الهيدرو-ميثانولي أعلى التركيزات، حيث احتوى على 0.35 ± 64.66 ملغ EAG/g من البوليفينولات و 0.97 ± 12.07 ملغ EC/g من التانينات المكثفة. سمحت تحليلات الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة (GC-MS) بتحديد 72 و 35 مركباً، على التوالي، في الزيوت الأساسية للقطف والقنطريون الصغير. في زيت القطف الأساسي، كانت المركبات الرئيسية هي الفيريديفلورول (40.23%)، والفيتول (18.24%)، والجيرماكين (6.94%) D. بالنسبة للقنطريون الصغير، كانت المركبات السائدة هي β -copaen-4 α -ol (38.41%)، والمانول (8.2%)، والكارفكرول (6.43%). أظهرت اختبارات النشاط المضاد للأكسدة فعالية ملحوظة، مع قيم IC50 مقدارها 502.24 و 402.4 ميكروغرام/مل من المستخلص الأسيتوني للقطف، و 433.64 و 180.5 ميكروغرام/مل من المستخلص الهيدروالكحولي للقنطريون الصغير. تم تقييم المستخلصات والزيوت الأساسية ضد *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Candida albicans* باستخدام طريقة انتشار الأقراص والتمبيع المجهرية. كشفت النتائج عن نشاط مضاد للبكتيريا واعد ضد السلالات المدروسة، لا سيما كل من البكتيريا موجبة السلبية وموجبة الجرام. كما كان النشاط المضاد للفطريات ملحوظاً ضد *Candida albicans*، التي أثبتت حساسيتها بشكل خاص. على العكس من ذلك، أظهر *Enterococcus faecalis* مقاومة أكبر للمستخلصات والزيوت الأساسية. تبرز هذه النتائج الإمكانيات الكبيرة لهذه النباتات كمصادر طبيعية لمضادات الأكسدة وعوامل مضادة للميكروبات، مما يفتح آفاقاً للتطبيقات العلاجية.

الكلمات المفتاحية: القطف، القنطريون الصغير، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، المستخلصات، الزيت الأساسي.

Liste des abréviations

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

BPCO : Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive.

COX-2 : Cyclo-oxygénase 2.

CPG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EAG: Equivalent Acide Gallique.

EC: Equivalent catéchine.

EQ: Equivalent quercétine.

ERA : Espèces Réactives de l'Azote.

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power.

GO : Gallate d'octyle.

GP : Gallate de Propyle.

GPx : Glutathion Peroxydase.

LPS: Lipopolysaccharides.

NOX : NADPH Oxydase.

RAM : Résistance aux Agents Antimicrobiens.

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique.

SOD : Superoxyde Dismutase.

TBHQ : Tert-Butylhydroquinone.

UFC : Unités Formant Colonie.

Liste des figures

Figure 1 : Structures électroniques des espèces réactives de l'oxygène courantes.....	04
Figure 2 : Effet du déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libres	06
Figure 3 : Dommages macromoléculaires causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	08
Figure 4 : Schéma des maladies induites par le stress oxydatif chez l'humain	10
Figure 5 : Processus antioxydant	11
Figure 6 : Cibles cellulaires des antibiotiques	15
Figure 7 : mode d'action des antifongiques	16
Figure 8 : Les mécanismes généraux de résistance aux antibiotiques.....	18
Figure 9 : Organigramme des phytochimiques dérivés des plantes et leur rôle mécanistique en tant qu'agents antimicrobiens	21
Figure 10 : Structure chimique des alcaloïdes.....	23
Figure 11 : Mécanisme antibactérien des alcaloïdes naturels	26
Figure 12 : La structure de base des flavonoïdes	27
Figure 13 : La structure de base des acides phénoliques.....	29
Figure 14 : La structure de base des xanthones	29
Figure 15 : La structure de base des stilbènes (le resvératrol)	30
Figure 16 : La structure de base des lignanes.....	30
Figure 17 : La structure de base des tanins.....	31
Figure 18 : Certains terpénoïdes acycliques.....	33
Figure 19 : Morphologie illustrée d' <i>Atriplex halimus</i>	40
Figure 20 : <i>Centaurium erythraea</i> Rfn.	44
Figure 21 : Localisation des lieux de récolte	50
Figure 22 : Plantes étudiées.	50
Figure 23 : Protocole d'extraction	54
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux .	58
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	59
Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés	60

Liste des figures

Figure 27 : Méthode de microdilution pour la détermination de la CMI	66
Figure 28 : Paramètres physicochimiques d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i> : Humidité, matière sèche, minéraux et matière organique	68
Figure 29 : Les rendements d'extraction des différents extraits et huiles essentielles.....	70
Figure 30 : Chromatogrammes des extraits apolaires d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i> obtenus par le système de solvants: ligroïne/acétate d'éthyle (2/1)	78
Figure 31 : Chromatogrammes des extraits polaires d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i> obtenus par le système de solvants: n-butanol/acide acétique/eau (60/15/25)	80
Figure 32 : Chromatogrammes des extraits polaires d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i> obtenus par le système de solvants: chloroforme/méthanol/eau (65/35/5).	83
Figure 33 : Chromatogrammes des huiles essentielles d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i> obtenus par le système de solvants: ligroïne/acétate d'éthyle/hexane (2/1/1).	84
Figure 34 : Teneur moyenne en polyphénols totaux des extraits d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i>	86
Figure 35 : Teneur moyenne en flavonoïdes des extraits d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i>	89
Figure 36 : Teneur moyenne en tanins condensés des extraits d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i>	91
Figure 37 : L'activité de piégeage des radicaux DPPH, représentée par le pourcentage d'inhibition, des extraits d' <i>Atriplex halimus</i>	100
Figure 38 : L'activité de piégeage des radicaux DPPH, représentée par le pourcentage d'inhibition, des extraits de <i>Centaurium erythraea</i>	101
Figure 39 : L'activité de piégeage des radicaux DPPH, représentée par le pourcentage d'inhibition, des huiles essentielles d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i>	101
Figure 40 : Potentiel antioxydant des extraits d' <i>Atriplex halimus</i> déterminé par la méthode FRAP.	107
Figure 41 : Potentiel antioxydant des extraits de <i>Centaurium erythraea</i> déterminé par la méthode FRAP	107
Figure 42 : Potentiel antioxydant des huiles essentielles des plantes étudiées déterminé par la méthode FRAP	108
Figure 43 : Activité antimicrobienne des extraits et l'huile essentielle d' <i>Atriplex halimus</i> exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm)	115
Figure 44 : Activité antimicrobienne des extraits et l'huile essentielle de <i>Centaurium erythraea</i> exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm).....	116

Liste des tableaux

Tableau 1: Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique	04
Tableau 2 : Classification des alcaloïdes selon la structure chimique.	24
Tableau 3 : Souches microbiennes testées et leurs caractéristiques microbiologiques.	51
Tableau 4 : Disques d'antibiotiques employés.	64
Tableau 5: Screening phytochimique des extraits des deux plantes étudiées.	73
Tableau 6: CCM des extraits apolaires ; développant ligroïne/acétate d'éthyle (2/1).	77
Tableau 7: CCM des extraits polaires ; développant n-butanol/acide acétique/eau (60/15/25).	79
Tableau 8: CCM des extraits polaires ; développant chloroforme/méthanol/eau (65/35/5).	82
Tableau 9: CCM des huiles essentielles; développant ligroïne/acétate d'éthyle/hexane (2/1/1).	85
Tableau 10 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Atriplex halimus</i>	93
Tableau 11 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Centaurium erythraea</i>	94
Tableau 12 : Valeurs d'IC50 (µg/ml) des huiles essentielles et des extraits des plantes étudiées.	102
Tableau 13 : Valeurs d'IC50 (µg/ml) des huiles essentielles et des extraits des plantes étudiées.	108
Tableau 14 : Corrélations entre la capacité antioxydante et la teneur totale en composés phénoliques dans les extraits d' <i>Atriplex halimus</i> et <i>Centaurium erythraea</i>	110
Tableau 15 : Résultats de l'antibiogramme.	114
Tableau 16 : Valeurs des CMI et CMB/CMF des différents extraits (mg/ml) et huiles essentielles (µl/ml) contre les souches microbiennes étudiées.	121
Tableau 17 : Les rapports CMB/CMI ou CMF/CMI pour les extraits et les huiles essentielles actives.	122

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE 01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Métabolites bioactifs dans les plantes médicinales

I.1. Définitions	03
I.1.1. Métabolites secondaires des plantes médicinales	03
I.1.2. Composés bioactifs des plantes médicinales	03
I.2. Principales groupes de métabolites bioactives	04
I.2.1. Alcaloïdes	04
I.2.1.1. Définition	04
I.2.1.2. Classification	04
I.2.1.3. Activités biologiques	06
I.2.2. Composés phénoliques	07
I.2.2.1. Définition	07
I.2.2.2. Classification	07
I.2.2.3. Activités biologiques	12
I.2.3. Terpénoides	14
I.2.3.1. Définition	14
I.2.3.2. Classification	14
I.2.3.3. Activités biologiques	16
I.2.4. Huiles essentielles	17
I.2.4.1. Définition	17
I.2.4.2. Composition chimique	17
I.2.4.3. Procédés d'extraction	18
I.2.4.4. Activités biologiques	20

CHAPITRE II : Plantes sélectionnées : Exploration botanique

II.1. <i>Atriplex halimus</i>	21
II.1.1. Morphologie et anatomie	21
II.1.2. Distribution géographique	22
II.1.3. Taxonomie et classification	22
II.1.4. Composition phytochimique	22
II.1.5. Usages traditionnels et médicinaux	23
II.1.6. Propriétés biologiques	24
II.2. <i>Centaurium erythraea</i>	24
II.2.1. Morphologie et anatomie	24
II.2.2. Distribution géographique	25
II.2.3. Taxonomie et classification	26
II.2.4. Composition phytochimique	26
II.2.5. Usages traditionnels et médicinaux	27
II.2.6. Propriétés biologiques	28

CHAPITRE III : Radicaux libres et antioxydants

III.1. Radicaux libres	30
III.2. Radicaux libres rencontrés en Biologie	30
III.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	30
III.2.2. Les espèces réactives de l'azote (ERA)	31
III.3. Stress oxydant	32
III.3.1. Définition d'un stress oxydant	32
III.3.2. Cibles cellulaires des radicaux libres	33
III.3.3. Implications pathologiques du stress oxydatif	35
III.4. Antioxydants	37
III.5. Processus antioxydant	37
III.6. Classification des antioxydants	38
III.6.1. Antioxydants enzymatiques	38
III.6.2. Antioxydants non enzymatiques	39

CHAPITRE IV : Résistance aux antimicrobiens

IV. 1. Définitions et concepts	41
IV. 2. Mode d'action des antimicrobiens	42
IV.2.1. Mode d'action des antibiotiques	42
IV.2.2. Mode d'action des antifongiques	43
IV.3. Résistance aux agents antimicrobiens	43
IV.3.1. La résistance aux ATB.....	43
IV.3.2. La résistance aux antifongiques	45
IV.4. Facteurs favorisant l'émergence de résistance.....	46
IV.5. Impacts de la résistance aux antimicrobiens	46
IV.6. Plantes: Sources potentielles d'antimicrobiens innovants	47

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Objectifs	49
I.2. Matériels biologiques	49
I.2.1. Matériel Végétal.....	49
I.2.1.1. Lieux de récolte.....	49
I.2.1.2. Séchage	50
I.2.2. Souches microbiennes.....	51
I.3. Méthodes.....	51
I.3.1. Analyse physicochimique des plantes	51
I.3.1.1. Détermination de la teneur en eau (perte à la dessiccation)	51
I.3.1.2. Détermination de la matière sèche	52
I.3.1.3. Détermination de la matière organique et minérale	52
I.3.2. Extraction.....	52
I.3.2.1. Extraction des huiles essentielles	52
I.3.2.2. Préparation des extraits	53
I.3.2.3. Calcul de rendement	53
I.3.3. Phytochimie qualitative des extraits préparés.....	54

I.3.3.1. Essais de caractérisation en tube	54
I.3.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits et des huiles essentielles	56
I.3.4. Phytochimie quantitative des extraits préparés	57
I.3.4.1. Estimation quantitative des polyphénols totaux	57
I.3.4.2. Estimation quantitative des flavonoïdes	58
I.3.4.3. Estimation quantitative des tanins condensés	59
I.3.5. Composition chimique des huiles essentielles	60
I.3.6. Activités biologiques	61
I.3.6.1. Activité antioxydante	61
I.3.6.1.1. Piégeage du radical DPPH	61
I.3.6.1.2. Réduction du fer	62
I.3.6.2. Activité antimicrobienne	62
I.3.6.2.1. Contrôle de pureté des souches microbiennes	62
I.3.6.2.2. Revivification des souches et préparation des pré-cultures	62
I.3.6.2.3. Préparation de l'inoculum	63
I.3.6.2.4. Préparation des extraits et des huiles essentielles à tester	63
I.3.6.2.5. Préparation des disques	63
I.3.6.2.6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	63
I.4. Analyse statistique des données	66

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Partie chimique	68
II.1.1. Résultats de l'analyse physicochimique des plantes	68
II.1.2. Résultats des rendements d'extraction	69
II.1.3. Résultats de la phytochimie qualitative des extraits préparés	72
II.1.3.1. Caractérisation en tube	72
II.1.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)	76
II.1.4. Résultats de la phytochimie quantitative des extraits	86
II.1.4.1. Dosage des polyphénols totaux	86

II.1.4.2. Dosage des flavonoides totaux	89
II.1.4.3. Dosage des tanins condensés	91
II.1.5. Résultats de la composition chimique des huiles essentielles	92
II.1.6. Résultats de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	99
II.1.6.1. Piégeage du radical DPPH..	99
II.1.6.2. Réduction du fer	106
II.1.6.3. Corrélations	110
II.2. Partie microbiologique	113
II.2.1. Résultats de l'antibiogramme des souches étudiées (control positif)	113
II.2.2. Résultats de la toxicité du DMSO (control négatif)	114
II.2.3. Résultats de l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antimicrobienne	115
II.2.3.1. Résultats de la méthode de diffusion en disque	115
II.2.3.2. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB/CMF)	120
CONCLUSION GENERALE	123
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	125
ANNEXES	

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Les plantes médicinales ont une valeur inestimable en raison de leurs composés bioactifs, qui présentent de nombreuses applications thérapeutiques dans le domaine de la santé humaine (Ahad *et al.*, 2021). Depuis des millénaires, elles jouent un rôle crucial en tant que sources essentielles de nutrition et de médecine pour l'humanité. Bien que les plantes soient largement consommées pour leurs bienfaits nutritionnels, une grande partie de la population mondiale dépend encore des remèdes à base de plantes pour répondre à ses besoins en matière de santé, que ce soit par la médecine traditionnelle ou des approches complémentaires et alternatives (Che et Zhang, 2019).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), jusqu'à 80 % des populations des pays en développement continuent de s'appuyer sur les médecines traditionnelles, principalement basées sur l'utilisation des plantes, pour prévenir et traiter diverses maladies (Tran et Le, 2020). Cette approche est perçue par les gouvernements comme un moyen économique d'améliorer l'accès aux soins de santé. Dans les pays développés, on observe également une tendance croissante vers les thérapies à base de plantes, de plus en plus considérées comme des alternatives viables à la médecine moderne (Tomlinson et Akerele, 2015). Cette évolution illustre un intérêt généralisé pour les approches naturelles et complémentaires afin de maintenir et d'améliorer la santé.

L'Algérie, située dans le bassin méditerranéen, se distingue par une biodiversité floristique exceptionnelle, abritant plus de **4000 taxons** répartis en **917 genres** et **131 familles** (Durazzo *et al.*, 2022). Cette richesse botanique est le reflet d'un territoire étendu et varié, propice au développement d'une flore diversifiée. Avec plus de **3139 espèces**, l'Algérie fait partie des régions les plus biodiverses d'Afrique. Dans ce contexte, les pratiques ethnopharmacologiques sont profondément ancrées dans la culture locale, où l'utilisation des plantes médicinales persiste et les savoirs traditionnels se transmettent de génération en génération (Mechaala *et al.*, 2022). Cependant, malgré cette abondance, la flore algérienne demeure encore largement sous-explorée en termes d'études phytochimiques et pharmacologiques (Imene *et al.*, 2023).

L'utilisation croissante d'antibiotiques, associée à leur mauvaise utilisation, a entraîné l'émergence de résistances chez de nombreux pathogènes humains et animaux, créant un défi majeur pour la santé publique mondiale (García-Salinas *et al.*, 2018). Au début du XXe siècle, les maladies infectieuses étaient la principale cause de morbidité et de mortalité dans le monde (Gasu *et al.*, 2018). Cependant, aujourd'hui, l'augmentation de la résistance aux antibiotiques et les effets secondaires liés à leur utilisation nécessitent la recherche de solutions alternatives (Bouyahya *et al.*, 2017).

En parallèle, les radicaux libres, facteurs déclencheurs de plusieurs maladies chroniques telles que le cancer, l'athérosclérose et les affections cardiovasculaires, sont un autre enjeu majeur de santé publique (Annapandian et Rajagopal, 2017). Les antioxydants synthétiques, souvent utilisés pour neutraliser ces radicaux libres, présentent des risques toxiques et cancérigènes (Srivastava, 2013). Face à ces problématiques, les plantes médicinales apparaissent comme une alternative prometteuse pour offrir des solutions thérapeutiques naturelles.

Les recherches actuelles se concentrent ainsi sur la découverte des composés bioactifs des plantes médicinales et de leurs analogues chimiques aux potentiels thérapeutiques (Swamy, 2020). Parmi les composés les plus étudiés figurent les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles, reconnus pour leurs propriétés antibactériennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et immunomodulatrices (Dar *et al.*, 2023).

Dans ce cadre, cette thèse vise à explorer l'activité antioxydante et antimicrobienne de deux plantes médicinales spécifiques, *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*, originaires de la région de Mascara en Algérie. L'étude s'attache à caractériser la composition chimique des huiles essentielles et des extraits de ces plantes, ainsi qu'à évaluer leurs propriétés biologiques. En étudiant la composition et les propriétés de ces plantes, notamment à travers la détermination de leurs profils chromatographiques, cette recherche aspire à mieux comprendre leur potentiel thérapeutique et à contribuer à leur utilisation locale en tant que sources de principes actifs naturels pour le développement de thérapies alternatives.

Cette thèse est organisée en plusieurs chapitres. Le premier chapitre propose une revue approfondie sur les radicaux libres et le rôle crucial des antioxydants dans la protection de la santé humaine. Le deuxième chapitre se concentre sur la problématique de l'antibiorésistance et explore le potentiel des plantes comme source d'agents antimicrobiens alternatifs aux antibiotiques traditionnels. Le troisième chapitre présente une description détaillée des caractéristiques botaniques, de la composition phytochimique et des usages traditionnels des deux plantes étudiées. Le quatrième chapitre expose le protocole expérimental, comprenant les méthodes d'extraction des composés actifs et l'évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes *in vitro*. Enfin, le cinquième chapitre discute des résultats obtenus et de leurs implications, avec une réflexion sur les perspectives futures.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Métabolites bioactifs dans les plantes médicinales

I.1. Définitions

I.1.1. Métabolites secondaires des plantes médicinales

Les plantes synthétisent différents métabolites comprenant des métabolites primaires nécessaires à leur croissance et développement tels que les glucides, les acides aminés, les protéines et les lipides, et des métabolites secondaires (Antolak et Kregiel, 2017 ; Vyas et *al.*, 2023). Ces derniers correspondent à de nombreux composés chimiques produits via des voies métaboliques dérivées des voies primaires (Hussein et El-Anssary, 2019). Bien que non essentiels, ils jouent un rôle clé dans la survie de la plante en assurant sa protection (Vyas et *al.*, 2023) et en interagissant avec son environnement (Pagare et *al.*, 2015; Bennett et Wallsgrove, 1994). Ils confèrent aux plantes leurs caractéristiques sensorielles et leur identité à travers leurs propriétés organoleptiques et colorées (Antolak et Kregiel, 2017; Bennett et Wallsgrove, 1994). Formés de manière spécifique, ce sont des molécules organiques carbonées intervenant dans les mécanismes de défense (Pagare et *al.*, 2015; Bennett et Wallsgrove, 1994).

I.1.2. Composés bioactifs des plantes médicinales

Le terme "bioactif" est dérivé de la combinaison des mots "bio" et "actif". "Bio" vient du grec "*bios*" qui signifie "vie", et "actif" vient du latin "*activus*" qui se réfère à une activité biologique dynamique (Tiwari et Shukla, 2020). Les composés bioactifs dans les plantes correspondent aux métabolites secondaires végétaux induisant des effets pharmacologiques ou toxicologiques chez l'homme et les animaux (Bernhoft et *al.*, 2010). Ces composés sont naturellement présents dans différentes parties végétales comestibles à de faibles concentrations, et ont la capacité de modifier les processus métaboliques pour promouvoir la santé (Antolak et Kregiel, 2017). Ils sont responsables des propriétés médicinales et des bienfaits santé des plantes (Antolak et Kregiel, 2017). En effet, la majorité des composés antimicrobiens et anticancéreux sur le marché aujourd'hui sont issus des métabolites secondaires végétaux (Vyas et *al.*, 2023). Cependant, certains composés bioactifs peuvent également avoir des effets toxiques, soulignant leur caractère ambivalent (Antolak et Kregiel, 2017).

I.2. Principaux groupes de métabolites bioactifs

Les plantes contiennent principalement trois types majeurs de substances bioactives : les alcaloïdes (environ 12000 types), les substances phénoliques (environ 8000 espèces) et les terpénoïdes (environ 25000 variétés) (Azmir et *al.*, 2013).

I.2.1. Alcaloïdes

I.2.1. 1. Définition

Les alcaloïdes forment un groupe important de métabolites secondaires (Debnath et *al.*, 2018) abondamment représentés dans la nature, notamment chez 25% des plantes (Gutiérrez-Grijalva et *al.*, 2020). Ils sont une classe de composés chimiques contenant de l'azote (Shi et *al.*, 2014) proviennent principalement du métabolisme des acides aminés chez les plantes (Heinrich et Amirkia, 2021), groupe qui englobe les angiospermes constituant leur source principale (Roy, 2017). Dérivant étymologiquement du terme "alcalin", les alcaloïdes correspondent généralement à des bases organiques formant des sels acides et solutions alcalines lors de leur solubilisation (Heinrich et Amirkia, 2021). Outre les végétaux, on les rencontre chez certains champignons, bactéries, animaux, insectes, invertébrés et microorganismes (Shi et *al.*, 2014; Gutiérrez-Grijalva et *al.*, 2020).

I.2.1.2. Classification

La classification des alcaloïdes végétaux représente un défi en raison de leur diversité structurelle (Saxena et *al.*, 2013). Cependant, une approche systématique consiste à les regrouper en familles en fonction de la présence d'un hétérocycle azoté dans leur structure. Les alcaloïdes hétérocycliques, également appelés alcaloïdes typiques, sont caractérisés par la présence d'un atome d'azote au sein d'un cycle hétérocyclique. En revanche, les alcaloïdes non hétérocycliques, ou atypiques, présentent de l'azote dans une chaîne carbonée latérale (Cushnie et *al.*, 2014).

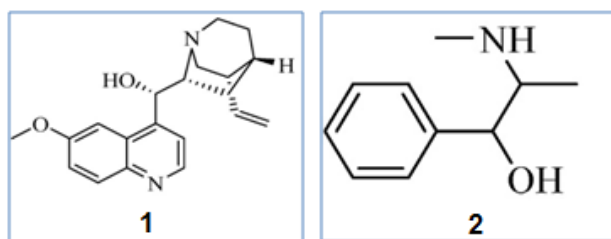


Figure 10 : Structure chimique des alcaloïdes (Debnath et *al.*, 2018).

(1) Quinine (alcaloïde hétérocyclique) ; (2) Hordénine (alcaloïde non hétérocyclique).

Le tableau 2 présente les alcaloïdes non hétérocycliques (protoalcaloïdes) et les alcaloïdes hétérocycliques (alcaloïdes typiques).

Tableau 2 : Classification des alcaloïdes selon la structure chimique (Adibah et Azzreena, 2019).

Types d'alcaloïdes		Exemples représentatifs
Les alcaloïdes non hétérocycliques		Hordénine ou N-Méthyltyramine, Mescaline, Éphédrine, Colchicine, Érythromycine, Jurubine, Pachysandrine A, Taxol.
Les alcaloïdes hétérocycliques	Pyrrole et pyrrolidine	Hygrine, Stachydrine.
	Pyrrolizidine	Symphitine, Échimidine, Sénécionine, Sénéciophylline
	Pyridine et pipéridine	Trigonelline, Coniine, Arécoline, Lobéline, Péletière, Nicotine, Anabasine, Pipérine, Ricinine.
	Tropane	Hyoscyamine, Atropine, Hyoscine, Météloïdine, Calystégines, Cocaïne, Pseudo-péletière.
	Quinoline	Quinine, Quinidine, Cinchonine, Cinchonidine, Cusparine
	Isoquinoline	Papavérine, Narcéine, Narcotine, Corydaline, Hydrastine, Berbérine, Émétine, Céphaline, Tubocurarine, Morphine, Codéine, Érythraline, Galantamine.
	Aporphine	Boldine
	Quinolizidine	Sparteine, Cytisine, Lupanine, Laburnine
	Indole ou benzopyrrole	Ergométrine, Ergotamine, Lysergamide acide, Alcaloïdes de clavine, Physostigmine, Ajmaline, Serpentine, Réserpine, Yohimbine, Aspidospermine, Vinblastine, Vincristine, Strychnine, Brucine.
	Indolizidine	Castanospermine, Swainsonine
	Imidazole ou glyoxaline	Pilocarpine
	Purine (pyrimidine/imidazole)	Caféine, Théobromine.
	Stéroïdal (certains combinés sous forme de glycosides)	Solanidine, Esters d'alkamine de Veratrum et leurs glycosides, Conessine, Funtumine.
	Terpénoïde	Aconitine, Atisine, Lyctonine

I.2.1. 3. Activités biologiques

Les alcaloïdes présentent de nombreuses activités biologiques telles que des effets émétiques, anticholinergiques, antitumoraux, diurétiques, sympathomimétiques, antiviraux, antihypertenseurs, analgésiques, antidépresseurs, relaxants musculaires, anti-inflammatoires, antiulcéreux et antimicrobiens (Adejoke et *al.*, 2019). Concernant leurs propriétés antibactériennes, Yan et *al.* (2021) ont montré que de nombreux alcaloïdes extraits de diverses plantes ont montré des propriétés antibactériennes contre un large spectre de bactéries, tant Gram-positives que Gram-négatives en agissant via différents mécanismes. (Fig. 11).

D'un point de vue thérapeutique, les alcaloïdes sont particulièrement connus comme agents anesthésiques, cardioprotecteurs et anti-inflammatoires (Heinrich et *al.*, 2021). Parmi les alcaloïdes végétaux utilisés comme médicaments, on peut citer la morphine, la codéine, l'apomorphine, la papavérine (Bribi, 2018), la strychnine, la quinine, l'éphédrine ou la nicotine (Heinrich et *al.*, 2021).

De plus, les alcaloïdes agissent directement sur le système nerveux central et peuvent également affecter l'ADN et l'ARN (Rajput et *al.*, 2022). De nombreux alcaloïdes sont également toxiques, ce qui constitue une fonction écologique défensive pour les plantes (Debnath et *al.*, 2018).

Certains alcaloïdes présentent par ailleurs des propriétés neuroprotectrices prometteuses dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (Adibah et Azzreena, 2019). Les alcaloïdes sont aujourd'hui étudiés pour leurs effets stimulants, antipaludiques, analgésiques et vasoactifs en médecine. Ces propriétés, ainsi que leur toxicité, continuent d'être un domaine de recherche important (Gutiérrez-Grijalva et *al.*, 2019).

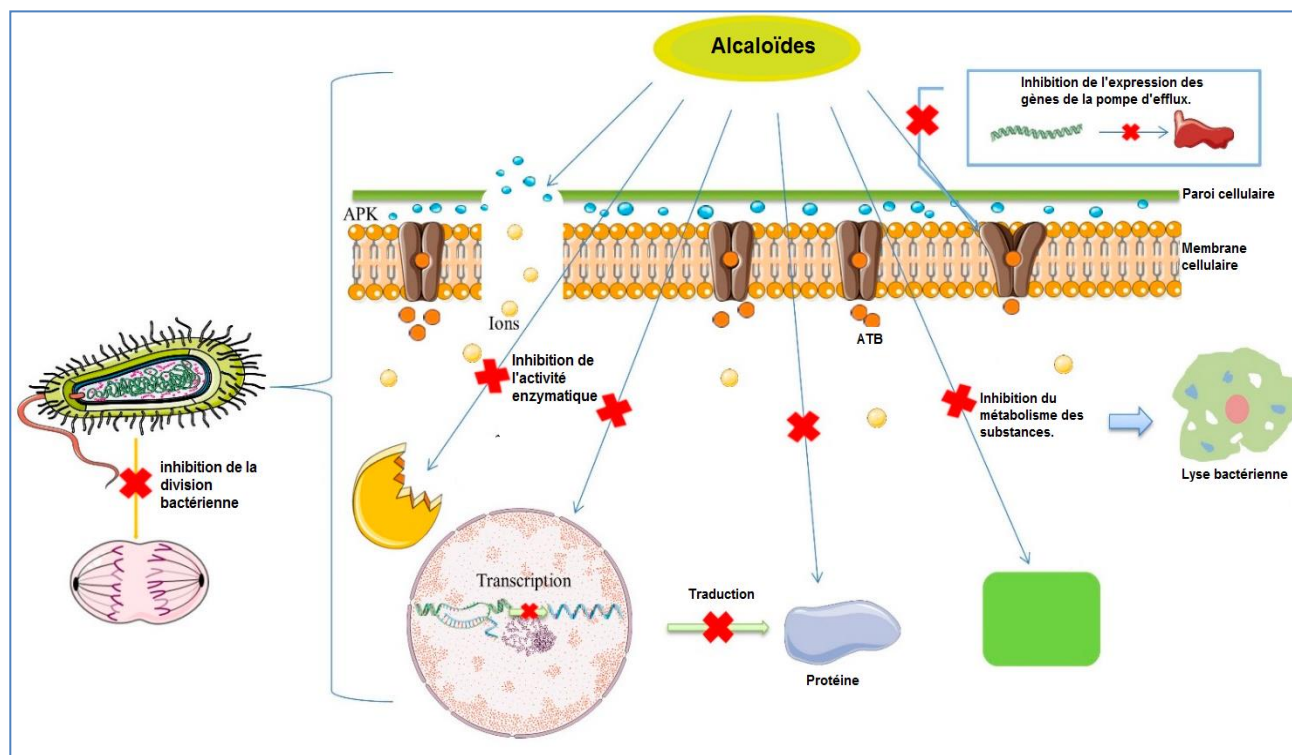


Figure 11 : Mécanisme antibactérien des alcaloïdes naturels (Yan et *al.*, 2021)

I.2.2. Composés phénoliques

I.2.2.1. Définition

Les polyphénols sont des métabolites végétaux secondaires présents naturellement dans de nombreux aliments tels que les fruits, légumes, céréales et boissons. Ils jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes contre les radiations UV et les maladies (Rahman et al., 2021). Ces composés phénoliques possèdent un noyau aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyle, et leur structure peut varier d'une molécule phénolique simple à un polymère complexe de masse moléculaire élevée. Ils sont synthétisés par les plantes lors de leur développement normal et en réponse à différentes situations telles que le stress et les radiations UV (Haminiuk et al., 2012). Les polyphénols sont majoritairement sous forme conjuguée à des résidus de sucres liés à leur fonction hydroxyle ou directement au cycle aromatique. Les sucres associés incluent des mono-, di- et oligosaccharides (Cutrim et Cortez, 2018).

I.2.2.2. Classification

La classification des polyphénols fait l'objet de divergences. L'une des approches les plus largement utilisées dans la littérature scientifique consiste à distinguer deux grands

groupes principaux de composés phénoliques: les flavonoïdes (anthocyanins, flavanols, flavanones, flavonols, flavones, et les isoflavones) et les polyphénols non flavonoïdes (acides phénoliques, xanthones, stilbènes, lignanes et tanins) (Durazzo et *al.*, 2019).

A. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires présents en abondance dans les plantes, les fruits et les graines, et ils jouent un rôle essentiel dans les caractéristiques de couleur, de parfum et de saveur. Ils possèdent une structure de base constituée de quinze atomes de carbone formant un squelette flavone, C₆-C₃-C₆, avec deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un cycle pyrane à trois atomes de carbone (C), comme illustré dans la figure 12 (Dias et *al.*, 2021). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes distinctes :

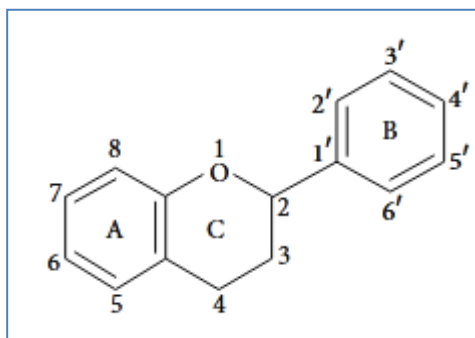


Figure 12 : La structure de base des flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013).

- **Anthocyanins**

Les anthocyanes sont des pigments colorants essentiels présents dans divers organes des plantes tels que la tige, la feuille, la fleur, le fruit, la racine et les tubercules. Ils sont responsables des couleurs vives comme l'orange, le rouge, le violet et le bleu (Pervaiz et *al.*, 2017). Elles sont dérivées des flavonols qui possèdent un groupe hydroxyle en position 3. Leur structure est donc fondamentalement décrite comme étant un ion flavylum (Albuquerque et *al.*, 2021).

- **Flavonols**

Les flavonols, représentés par des composés tels que la quercétine, la kaempférol et la myricétine, sont une classe diversifiée de flavonoïdes présents dans de nombreuses plantes comestibles et médicinales (Albuquerque et *al.*, 2021). Ils se

caractérisent par une double liaison entre les positions C2 et C3 et une liaison entre la position C3 et un groupe hydroxyle (Mutha et *al.*, 2021).

- **Flavanones**

Les flavanones sont couramment des composés glycosylés dans lesquels un disaccharide est attaché à la position C7. Elles se distinguent par une saturation entre les positions C2 et C3 et la présence d'un atome d'oxygène en position C4 (Mutha et *al.*, 2021). Les agrumes sont reconnus comme la principale source de flavanones, mais on trouve également de tels composés dans d'autres plantes aromatiques (Abbas et *al.*, 2017).

- **Flavanols**

Les flavanols, ou flavan-3-ols, comprennent la catéchine, l'épicatéchine, la gallate d'épicatéchine, la gallocatéchine, l'épigallocatéchine et la gallate d'épigallocatéchine (Dias et *al.*, 2021). Ils sont présents dans une large gamme de sources botaniques à la fois sous forme de monomères et d'oligomères de procyanidines (Hackman et *al.*, 2008).

- **Flavones**

Les flavones se distinguent des autres flavonoïdes par leur double liaison entre les atomes de carbone C2 et C3 dans la structure de flavonoïde. Contrairement aux autres flavonoïdes, elles ne présentent aucune substitution à la position C3 et subissent une oxydation à la position C4. Les flavones et les flavonols sont les principaux pigments dans les fleurs de couleur blanche ou crème. De plus, les flavones agissent en tant que copigments avec les anthocyanes dans les fleurs bleues (Hostetler et *al.*, 2017).

- **Isoflavones**

La structure des isoflavones comprend un lien entre l'anneau C et l'anneau B, où l'anneau C est attaché à l'anneau B par son bord C3 (Abbas et *al.*, 2017). Ces composés se trouvent presque exclusivement dans la famille des légumineuses (Durazzo et *al.*, 2019). Parmi ces composés, le genistin, le glycitin, le daidzin et les glycosides d'isoflavones malonylés sont particulièrement abondants dans les graines de soja (Dias et *al.*, 2021).

B. Polyphénols non flavonoïdes**• Acides phénoliques**

Les acides phénoliques représentent la classe la plus simple des composés phénoliques. Leur structure de base se compose d'un noyau phénolique substitué par une fonction acide carboxylique. Par leur squelette carboné, on distingue les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Fig. 13). Ces derniers comme l'acide caféïque et férulique sont prédominants dans les légumes, fruits et céréales consommés (Albuquerque et *al.*, 2021). À l'inverse, la rareté des acides hydroxybenzoïques dans l'alimentation humaine explique leur contribution mineure à la santé (Abbas et *al.*, 2017).

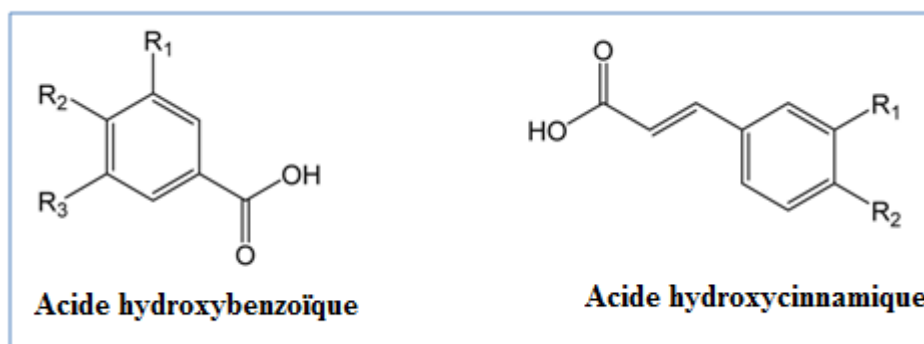


Figure 13 : La structure de base des acides phénoliques (Rahman et *al.*, 2021).

• Xanthones

Les xanthones sont des pigments jaunes présents dans les fleurs (Vermerris et *al.*, 2006). Ce sont des molécules très stables appartenant à une famille de composés symétriques à hétérocycle oxygéné, avec une structure de type dibenzo- γ -pyrone (Fig. 14) (Durazzo et *al.*, 2019).

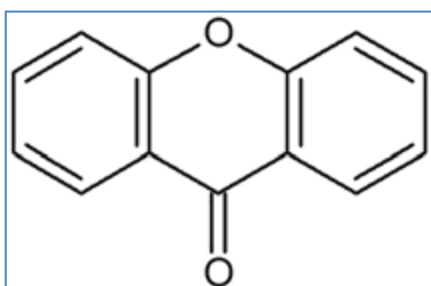


Figure 14 : La structure de base des xanthones (Vermerris et *al.*, 2006).

- **Stilbènes**

Les stilbènes se distinguent par leur structure chimique C6-C2-C6, avec deux cycles benzéniques reliés par une double liaison. On compte plus de 400 stilbènes connus, mais leur présence est limitée aux familles de plantes qui possèdent l'enzyme clé nécessaire à leur biosynthèse (Albuquerque et *al.*, 2021). Ils sont présents en quantités limitées dans l'alimentation humaine, et leur représentant principal est le resvératrol (Fig. 15), principalement sous forme glycosylée (Haminiuk et *al.*, 2012).

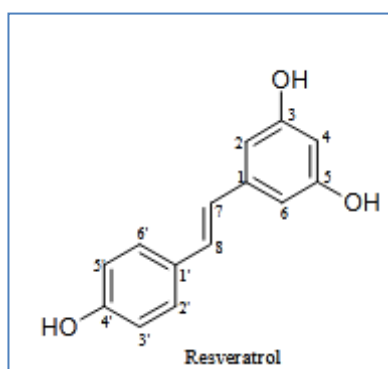


Figure 15 : La structure de base des stilbènes (le resvératrol) (Pereira et *al.*, 2009).

- **Lignanes**

Les lignanes sont des composés naturels qui se caractérisent par des structures carbonées dérivées de deux unités de phénylpropane (Fig. 16). Ces unités sont reliées entre elles par au moins une liaison carbone-carbone située entre les carbones β centraux des chaînes C3 (lignanes) ou par d'autres types de liaisons en dehors de la liaison carbone-carbone $\beta\beta'$ (néolignanes). Les cycles aromatiques présents dans les lignanes sont généralement substitués par des groupes oxy, principalement en position para par rapport à la substitution de la chaîne latérale (Ferrazzano et *al.*, 2011).

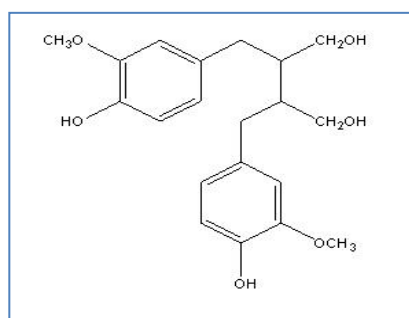


Figure 16 : La structure de base des lignanes (Li et *al.*, 2014).

- **Tanins**

Les tanins sont une sous-classe de polyphénols végétaux qui se distinguent des autres polyphénols par leur capacité à former des complexes avec des protéines et à les précipiter (Naumann et al., 2017). Selon les caractéristiques structurales et les propriétés chimiques (Fig. 17), les tanins peuvent être classés en deux catégories principales :

- Les tanins hydrolysables : sont ceux qui peuvent être fractionnés en leurs composants par hydrolyse. Cette catégorie inclut les gallotanins et les ellagitannins
- Les tanins condensés : quant à eux, sont représentés par les proanthocyanidines oligomériques et polymériques et ne peuvent pas être hydrolysés en leurs constituants (Khanbabaee et Van Ree, 2001).

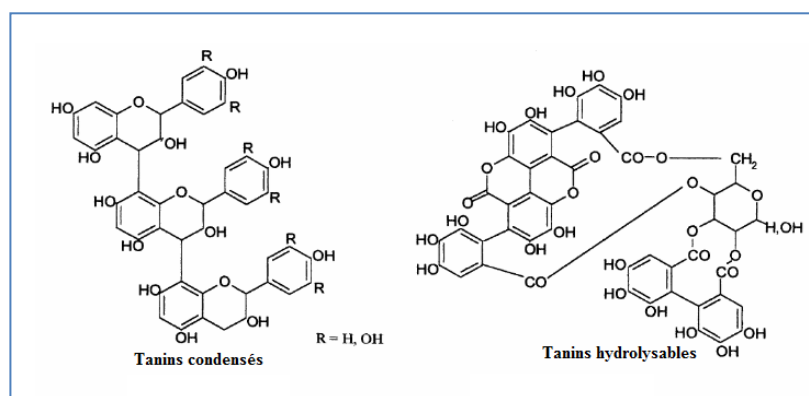


Figure 17 : La structure de base des tanins (Chang et al., 2019).

I.2.2.3. Activités biologiques

Les composés phénoliques sont reconnus pour leurs nombreuses propriétés biologiques bénéfiques, bien que les mécanismes précis par lesquels ils exercent leurs effets préventifs restent à élucider (Rahman et al., 2021). De plus, ils ont démontré leur potentiel dans la prévention de diverses maladies telles que le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, l'inflammation, l'obésité et les infections, grâce à leurs capacités antioxydantes et pro-oxydantes (do Carmo et al., 2018).

Par ailleurs, en tant qu'antioxydants, ils sont connus pour neutraliser les radicaux libres et réduire le stress oxydatif en se comportant comme des donneurs d'électrons, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs (Carocho et Ferreira, 2021).

De plus, les polyphénols extraits du chou rouge et de la carotte violette démontrent des effets anti-inflammatoires du fait que les anthocyanines acylées présents dans ces extraits inhibent l'enzyme cyclo-oxygénase 2 (COX-2) impliquée dans l'inflammation (Mizgier et *al.*, 2016).

Ensuite, Martins et *al.* (2015) ont montré que les extraits de plantes riches ainsi que les composés isolés ont montré un potentiel antifongique contre *Candida* spp. en ciblant l'ergostérol, les acides nucléiques et le glucane. Par ailleurs, les flavan-3-ols, flavonols et tanins présentent une large activité antimicrobienne (Daglia, 2012).

De plus, les polyphénols sont aussi capables de protéger le foie contre diverses pathologies, notamment l'hépatite, la stéatose hépatique non alcoolique et la cirrhose, en favorisant sa régénération (Saha et *al.*, 2021).

En outre, les polyphénols du thé ont des effets bénéfiques contre l'obésité. Ils agissent en stimulant le métabolisme des lipides, en inhibant les enzymes digestives responsables de la dégradation des graisses, en augmentant la dépense énergétique, en modulant l'appétit et en supprimant l'activité de l'enzyme lipogénique synthase des acides gras. Ces mécanismes contribuent à la réduction de l'accumulation de graisses dans le corps et à la lutte contre l'obésité (Lin et Lin-Shiau, 2006).

D'après Aryaeian et *al.* (2017), les composés alimentaires comme les flavonoïdes et acides phénoliques améliorent la gestion du diabète. Ils ont conclu qu'ils ont la capacité de réduire l'hyperglycémie, d'améliorer la sécrétion d'insuline et la sensibilité à l'insuline, en se référant à des études menées sur des modèles animaux ainsi qu'un nombre limité d'études sur l'homme.

Enfin, les composés phénoliques peuvent également prévenir le cancer en induisant l'apoptose dans les cellules cancéreuses, les impliquant ainsi dans la sénescence cancéreuse (Perron et Brumaghim, 2009).

I.2.3. Terpénoïdes

I.2.3.1. Définition

Les terpénoïdes, également appelés terpènes ou isoprénoïdes, constituent une classe majeure de composés naturels représentée par plus de soixante mille molécules découvertes à ce jour (Jahangeer et *al.*, 2021).

Leur nom "terpène" dérive du mot "terpentine", produit des résines oléorésineuses des conifères dont ils sont des constituants majeurs (Mabou et Yossa, 2021).

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures oxygénés issus de l'assemblage d'unités d'isoprène à cinq atomes de carbone, liées de façon tête-à-queue ou dans d'autres configurations avec divers degrés d'insaturation, d'oxydation ou de fermeture de cycles (Mabou et Yossa, 2021). Présents dans tous les organismes vivants, on les retrouve notamment au sein des huiles essentielles végétales où ils contribuent à l'odeur caractéristique des plantes (Bhargava et *al.*, 2013).

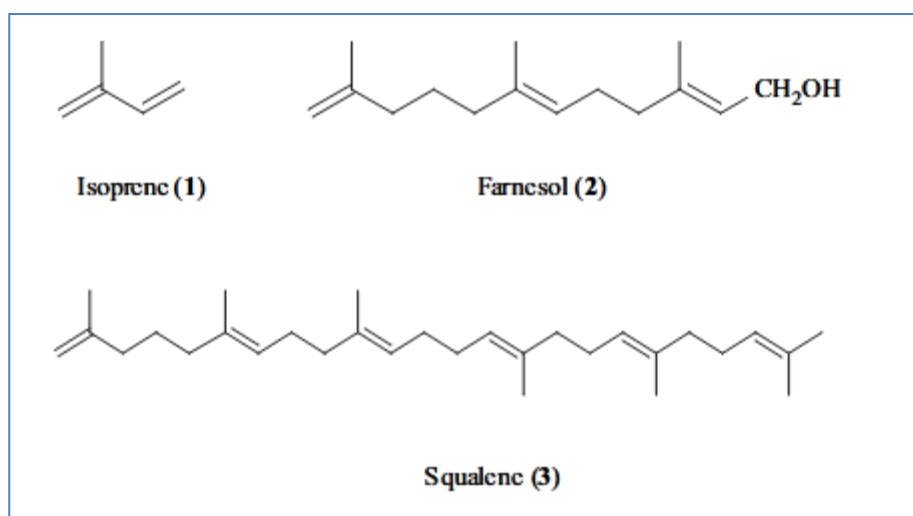


Figure 18 : Certains terpénoïdes acycliques (Las Heras et *al.*, 2003).

I.2.3.2. Classification

La classification des terpénoïdes se fait en fonction du nombre d'unités d'isoprène C₅ présentes dans leur structure moléculaire. Les hémiterpénoïdes, monoterpénoïdes, sesquiterpénoïdes, diterpénoïdes, sésterpénoïdes, triterpénoïdes et tétraterpénoïdes ou caroténoïdes correspondent aux principales classes identifiées (Las Heras et *al.*, 2003) :

- **Hémiterpénoïdes**

Les hémiterpénoïdes ou hémiterpènes sont les terpénoïdes les plus simples. Ce sont des molécules présentes surtout sous forme d'huiles insolubles dans l'eau, bien que certaines formes glyconées puissent être solubles. Le nombre répertorié d'hémiterpénoïdes aglycones ne dépasse pas la centaine. On les retrouve dans diverses parties des plantes, avec comme représentant le plus connu l'isoprène, unité constitutive de base de tous les terpénoïdes (Mabou et Yossa, 2021).

- **Monoterpénoïdes**

Composés de 10 atomes de carbone issus de la jonction de deux unités d'isoprène, les monoterpénoïdes forment une classe abondante de molécules présentes dans les huiles essentielles. Parmi les représentants majeurs de cette famille figurent le pinène, le myrcène, le limonène et le thymol (Noriega, 2020).

- **Sesquiterpénoïdes**

Composés de trois unités d'isoprène pour une formule en $C_{15}H_{24}$, les sesquiterpénoïdes sont des métabolites secondaires végétaux pouvant adopter une configuration linéaire ou cyclique. Certains sesquiterpénoïdes se présentent également sous la forme d'un cycle lactonique (Negi et *al.*, 2020).

- **Diterpénoïdes**

Les diterpénoïdes forment un groupe diversifié de composés caractérisés par un squelette carboné en C_{20} (Jahangeer et *al.*, 2021), correspondant à une formule moléculaire de $C_{20}H_{32}$ comprenant quatre unités d'isoprène (Negi et *al.*, 2020).

- **Sésterpénoïdes**

Les sesterterpénoïdes représentent le groupe le plus rare de terpénoïdes découvert à ce jour, et quelque peu plus de 1000 sesterterpénoïdes ont été isolés jusqu'à présent à partir de diverses sources naturelles. De plus, ils sont largement retrouvés chez les bactéries, les champignons, les insectes et les plantes (Chen et *al.*, 2021). Ces composés présentant la formule $C_{25}H_{40}$ sont composés de 25 atomes de carbone dérivant de 5 unités d'isoprène (Mabou et Yossa, 2021).

- **Triterpénoïdes**

Les triterpénoïdes sont des hydrocarbures en C30 biosynthétisés à partir de six unités d'isoprène, dont le précurseur cyclique commun est le squalène. De par les nombreuses possibilités de cyclisation du squalène, une grande diversité de squelettes peuvent être formés. On distingue deux grands groupes de triterpénoïdes: les stéroïdiens en C27, comme le cholestérol, et les pentacycliques en C30, tels que l'hopane (Abdallah et Quax, 2017).

- **Tétraterpénoïdes**

Les tétraterpénoïdes sont constitués de 40 atomes de carbone et de huit unités d'isoprène (Noriega, 2020). Le groupe le plus connu est celui des pigments caroténoïdes, dont le lycopène et la zéaxanthine font partie (Abdallah et Quax, 2017).

I.2.3.3. Activités biologiques

Les terpénoïdes ont été étudiés pour leur activité antitumorale. Des composés tels que le périllyl alcool, le géraniol et le paclitaxel ont montré des effets anticancéreux (Yang et *al.*, 2020). De plus, les terpènes sont considérés comme une source prometteuse d'agents antimicrobiens efficaces contre les virus, les bactéries, les champignons et les protozoaires (Hassan et *al.*, 2015).

Des recherches menées par Jeppesen et *al.* (2006) ont révélé les propriétés hypoglycémiantes du stevioside, un glucoside terpénique, qui stimule la sécrétion d'insuline et inhibe la sécrétion de glucagon, entraînant ainsi une diminution significative de la glycémie chez les rats diabétiques.

Plusieurs études antérieures ont également souligné l'effet anti-inflammatoire des terpénoïdes dérivés de plantes médicinales (Bi et *al.*, 2017; Qu et *al.*, 2017; Han et *al.*, 2016).

L'artémisinine, une lactone sesquiterpénique endoperoxyde, est particulièrement reconnue pour son activité antipaludique élevée (Mabou et Yossa, 2021).

Certains terpénoïdes, tels que les ginsenosides, présentent des propriétés préventives et thérapeutiques prometteuses contre diverses maladies cardiovasculaires, notamment la régulation de la fonction vasculaire, l'inhibition de l'hypertrophie des cardiomyocytes et l'inhibition de la thrombose (Gao et *al.*, 2012).

I.2.4. Huiles essentielles

I.2.4.1. Définition

Selon l'Agence française de normalisation (AFNOR), les huiles essentielles peuvent être définies comme (NF T 75-006) : "L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, ou par une "distillation à sec".

Le terme "huile essentielle" remonte au XVI^e siècle et dérive du médicament Quinta Essentia, nommé par Paracelse von Hohenheim en Suisse. Les huiles essentielles tirent leur nom de leurs caractéristiques inflammables (Hanif et *al.*, 2019).

Les huiles essentielles sont des composés volatils, naturels et complexes, caractérisés par une forte odeur et formés par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (Bakkali et *al.*, 2008). Elles sont lipophiles, atteignent une masse inférieure à un poids moléculaire de 300, et peuvent être physiquement séparées des autres composants végétaux ou du tissu membranaire (Turek et Stintzing, 2013). Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Elles sont généralement liquides et incolores à température ambiante, avec une densité inférieure à l'unité, à l'exception de quelques cas (cannelle, saffras et vétiver) (Dhifi et *al.*, 2016).

Les huiles essentielles sont produites à partir de diverses parties des plantes, telles que les écorces, les feuilles, les fleurs, les boutons, les graines et autres (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

I.2.4.2. Composition chimique

Les huiles essentielles présentent une grande diversité de composition. Elles peuvent contenir seulement quelques composants, ou au contraire s'avérer être un mélange complexe de plus d'une centaine de substances distinctes, bien que ces différents éléments soient souvent apparentés sur le plan structural (Turek et Stintzing, 2013).

Couramment, la méthode de Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS) est utilisée pour déterminer les constituants présents dans les huiles essentielles. Ces constituants peuvent être classés en deux fractions :

- La fraction volatile comprend principalement des mono- et sesquiterpènes ainsi que leurs dérivés oxygénés tels que des alcools, aldéhydes et esters aliphatiques.
- La fraction non volatile représente 1 à 10% de la masse de l'huile essentielle isolée. Elle contient des caroténoïdes, acides gras, flavonoïdes et cires (Aziz et *al.*, 2018).

I.2.4.3. Procédés d'extraction

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de diverses plantes par diverses méthodes. La méthode d'extraction est un facteur clé qui détermine la qualité de l'huile essentielle. Une mauvaise procédure d'extraction peut endommager ou altérer la composition chimique de l'huile, entraînant une perte d'activité biologique et de caractéristiques naturelles (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

Différentes techniques peuvent être utilisées pour extraire les huiles essentielles :

- **Méthode de distillation**

La distillation est la méthode la plus ancienne et la plus simple d'extraction des huiles essentielles. Différentes variantes de distillation, telles que l'hydrodistillation, la vapor-hydrodistillation et la distillation à la vapeur, sont utilisées en fonction de la présence ou de l'absence d'eau en contact avec le matériau végétal (Dima et Dima, 2015). Cependant, la distillation provoque parfois la dégradation de composés sensibles à la chaleur (Reyes-Jurado et *al.*, 2015).

A. Hydrodistillation

Le procédé HD se caractérise par l'immersion complète de la matière végétale dans de l'eau bouillante. Lors de ce processus, l'eau en ébullition est ainsi directement au contact de la matière première (Reyes-Jurado et *al.*, 2015).

B. Distillation à la vapeur

L'échantillon végétal est chauffé à la vapeur ou dans de l'eau bouillante, provoquant l'éclatement et la décomposition de sa structure cellulaire. Cela permet la libération des composés aromatiques et des huiles essentielles. La température de chauffage doit être suffisante pour décomposer le matériau végétal et extraire ces substances (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

C. Hydro-diffusion

Dans ce procédé, de la vapeur d'eau est fournie à un récipient contenant des matériaux végétaux séchés. Contrairement à la distillation à la vapeur, la vapeur est appliquée depuis le haut du générateur. Ce processus est réalisé à basse pression ou sous vide, permettant de réduire la température de vapeur en dessous de 100°C (Aziz et *al.*, 2018).

- **Extraction par solvant**

La matière végétale est mélangée à un solvant approprié, généralement des hydrocarbures, pour extraire l'huile essentielle. La solution est ensuite filtrée et concentrée par distillation. L'huile est récupérée en ajoutant de l'alcool pur qui est ensuite évaporé. Cependant, cette méthode présente l'inconvénient de laisser des résidus de solvant potentiellement allergènes (Hanif et *al.*, 2019).

- **Extraction assistée par micro-ondes**

Cette méthode utilise le rayonnement micro-ondes pour chauffer le mélange solvant-échantillon. Le chauffage par micro-ondes est instantané et se produit à l'intérieur de l'échantillon, ce qui permet une extraction très rapide (Reyes-Jurado et *al.*, 2015).

- **Extraction à l'eau subcritique**

Le procédé utilise de l'eau surchauffée à des températures comprises entre 100 et 375°C, sous haute pression (>20 bars). Dans ces conditions, la polarité de l'eau diminue, permettant d'extraire les composés non polaires des matières végétales (Dima et Dima, 2015).

- **Extraction par CO₂ super critique**

Les méthodes conventionnelles comme l'extraction par solvant et la distillation à la vapeur présentent des inconvénients tels qu'un temps de préparation long et une grande quantité de solvants organiques. Le dioxyde de carbone (CO₂) dans des conditions de haute pression se transforme en liquide, ce qui en fait un milieu très inerte et sûr pour extraire les molécules aromatiques de la matière première (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

I.2.4.4. Activités biologiques

Les huiles essentielles riches en composés phénoliques comme le carvacrol, l'eugénol et le thymol ont une importante activité antibactérienne. Ces composés perturbent la membrane cytoplasmique, le transport actif, la force motrice des protons et le flux d'électrons, entraînant la coagulation du contenu cellulaire (Dhifi et *al.*, 2016). En effet, certains composants des huiles essentielles sont également efficaces contre les virus (Pilau et *al.*, 2011) et les champignons (Sonboli et *al.*, 2006 ; Bruni et *al.*, 2004).

Les huiles essentielles et leurs composés aromatiques constitutifs ont fait montre d'une activité inhibitrice du cancer lorsqu'ils ont été testés sur un éventail de lignées de cellules cancéreuses humaines, englobant notamment le gliome, le cancer colorectal, le cancer gastrique, les tumeurs hépatiques, les tumeurs pulmonaires, le cancer du sein et la leucémie, entre autres (Edris, 2007).

De plus, les huiles essentielles pourraient avoir des effets bénéfiques sur certaines maladies cardiovasculaires. Certaines, riches en composés phénoliques, inhibent l'oxydation du LDL, un processus clé dans l'athérosclérose. D'autres, comme l'huile de lavande et les composés de l'ail, ont un effet antiagrégant plaquettaire, ce qui peut prévenir la thrombose (Shuaib et *al.*, 2016).

Certains composés des huiles essentielles, comme le thymol et le carvacrol, ont une structure similaire aux antioxydants phénoliques végétaux et présentent la plus forte activité antioxydante. Les huiles essentielles agissent comme antioxydants par divers mécanismes, comme la prévention de l'initiation de l'oxydation, le piégeage de radicaux libres, le pouvoir réducteur, la terminaison des peroxydes, l'inhibition de l'abstraction d'hydrogène, l'extinction de l'oxygène singulet et la chélation de métaux (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

Plusieurs études antérieures ont montré l'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles (Maruyama et *al.*, 2005 ; Koh et *al.*, 2002). Ils ont récemment été utilisées dans des contextes cliniques pour traiter diverses maladies inflammatoires, telles que le rhumatisme, les allergies ou l'arthrite (Dhifi et *al.*, 2016).

CHAPITRE II

Plantes sélectionnées : Exploration botanique

II.1. *Atriplex halimus*

II.1.1. Morphologie et anatomie

Atriplex halimus, communément appelé « Guétaf » (Fig.19), est un arbuste succulent appartenant à la famille des Amaranthaceae (Slama et *al.*, 2020). Il présente un port buissonnant pouvant atteindre 1 à 2 mètres de longueur, avec des tiges dressées, ligneuses et une écorce grise blanchâtre (Baba-Aïssa, 2000). Il se ramifie généralement depuis la base et peut mesurer de 1 à 3 mètres de hauteur pour un diamètre maximal de 3 mètres, avec des inflorescences formées d'épis denses de fleurs jaunâtres (Saad et Said, 2011). Ses fleurs sont de petite taille, organisées de façon unisexuée ou bisexuée en panicules lâches (Ghazanfar, 1994). Cet arbuste est xéro-halophyte et présente un polymorphisme morphologique floral en fonction de la salinité, notamment au niveau des styles, des ovules et de l'orientation radicale (Ksouri et *al.*, 2012). Il s'agit d'un arbuste halophyte vivace, monoïque et de type photosynthétique C4 (Aouissat et *al.*, 2011 ; Hassine et *al.*, 2008). Le genre *Atriplex* comporte plus de 400 espèces méditerranéennes et tempérées-subtropicales (Chaouche et *al.*, 2021). La majorité des espèces poussent dans des milieux arides et salés, certaines dans les marais salants ou d'eau douce (Kelley et *al.*, 1982).



Figure 19 : Morphologie illustrée d'*Atriplex halimus* (Ghazanfar, 1994).

II.1.2. Distribution géographique

Cette espèce se rencontre naturellement dans la région macaronésienne, le bassin méditerranéen et au-delà jusque dans l'ouest de l'Asie (Walker et *al.*, 2014). On la trouve plus particulièrement dans le sud du Portugal, en France méditerranéenne, dans le sud et l'est de l'Espagne y compris aux îles Canaries, en Italie, en Grèce, à Malte, dans le sud de la Turquie, à Chypre, en Palestine, en Syrie, au Liban, en Jordanie, en Tunisie, au Maroc, en Algérie, en Libye et en Égypte ainsi qu'en Arabie saoudite. Elle colonise des milieux semi-arides à subhumides du nord du bassin méditerranéen et les zones arides d'Afrique du Nord et de l'est méditerranéen (Hassine et *al.*, 2008). Le genre *Atriplex* auquel elle appartient est largement représenté en Europe et en Afrique du Nord, notamment dans le Sahara algérien et marocain (Bounouar et *al.*, 2022).

II.1.3. Taxonomie et classification

- Règne : *Plantae*
- Sous règne : *Phanérogame*
- Embranchement : *Spermaphytes*
- Sous embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Eudicotylédones*
- Sous classe: *Préeuclidot*
- Ordre : *Caryophyllales*
- Famille : *Chénopodiacées (Amarantacées)*
- Genre : *Atriplex*.
- Espèce: *Atriplex halimus* L. (Baba Aissa, 2000).

II.1.4. Composition phytochimique

De nombreuses études menées au cours des dernières décennies se sont attachées à caractériser la composition phytochimique complexe de l'espèce halophyle *Atriplex halimus*. Leurs résultats ont permis de mettre en évidence la richesse et la diversité surprenantes des métabolites secondaires synthétisés par cette plante.

Les travaux précédents d'Emam (2011) ont initialement identifié au sein de cette halophyte la présence de stérols, de divers flavonoïdes tels que des flavonols, flavonones et flavones, ainsi que d'alcaloïdes. Par ailleurs, les recherches approfondies de Clauser et collaborateurs (2013) ont permis d'isoler quatre flavonoïdes glycosylés à partir de parties

aériennes récoltées en Sardaigne. Ces composés étaient : le 3',5'-Diméthoxymyricétine-3-O- β -D-xylopyranosyle-7-O- α -L-fucopyranosyle-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside, le 3'-Méthoxyquercétine-7-O- β -D-fucopyranosyle-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyle-3-O- β -xylopyranosyle-(1 \rightarrow 4)- β -xylopyranoside, le 3'-Méthoxyquercétine-7-O- α -L-rhamnopyranosyle-3-O- α -L-arabinofuranosyle-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside et le 3',5'-Diméthoxymyricétine-7-O- α -L-fucopyranosyle-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside. De plus, cette étude a également révélé la présence d'autres glycosides de myricétine, quercétine et isorhamnétine, ainsi que d'acides phénoliques et d'esters simples.

L'étude de Kabbash et Soeib (2012) a mené à la découverte de deux nouveaux glycosides de flavonol, à savoir l'atriplexoside A et B, dans des spécimens collectés en Égypte, outre six composés préalablement élucidés, dont des glucosides phénoliques, un écdystéroïde et des glycosides de flavonoïdes méthoxylés. Plus récemment les recherches d'El-Aasr et *al.* (2016) ont conduit à l'extraction supplémentaire de deux glycosides de flavonol : le syringetin 3-O- β -D-rutinoside et le syringetin 3-O- β -D-glucopyranoside.

II.1.5. Usages traditionnels et médicinaux

Atriplex halimus est connue en thérapie traditionnelle pour ses propriétés remarquables dans le traitement de diverses pathologies dans les régions méditerranéennes.

Elle est notamment utilisée comme hypoglycémiant pour le traitement du diabète (Idm'hand et *al.*, 2020; Ksouri et *al.*, 2012; Mohammedi, 2016). Dans la péninsule arabe, une décoction est recommandée pour traiter la syphilis et ses feuilles sont utilisées pour soigner les maladies cardiaques et le rhumatisme (Parvez et *al.*, 2018). D'autres applications traditionnelles concernent le traitement des troubles thoraciques comme laxatif, le soulagement des douleurs musculaires et stomacales et la régulation des sécrétions de la vésicule biliaire (Chikhi et *al.*, 2014). Elle est également utilisée pour traiter l'hypertension, les infections urinaires (Idm'hand et *al.*, 2020), l'eczéma et les piqûres d'insectes (Miara et *al.*, 2019).

La plante sert aussi de purge et d'antiparasitaire en médecine vétérinaire (Ksouri et *al.*, 2012; Stevanovic et *al.*, 2019). En Algérie notamment, une décoction de ses graines est utilisée de manière traditionnelle dans le traitement du cancer du sein (Benarba, 2015). Elle aurait par ailleurs des vertus antitumorales (Alves-Silva et *al.*, 2017; Bounouar et *al.*, 2022). Ses graines sont parfois utilisées comme émétique (Ghazanfar, 1994). De plus, elle présente également un intérêt traditionnel pour le traitement de l'anémie (Mohammedi, 2016), des

maladies de la thyroïde et de divers kystes (Khadidja et *al.*, 2020). Enfin, l'infusion ou la décoction des feuilles d'*Atriplex halimus* est utilisée comme traitement anti-stérilité chez les femmes, anti-lithiase, anti-inflammatoire et pour la régénération cutanée dans les brûlures profondes (Bounouar et *al.*, 2022).

II.1.6. Propriétés biologiques

Atriplex halimus fait preuve de multiples activités pharmacologiques d'intérêt selon les études menées. Des effets antioxydants ont notamment été mis en évidence (Benhamou et *al.*, 2009 ; Belhadj-Tahar et *al.*, 2015). La plante présente également des propriétés antimicrobiennes (Walker et *al.*, 2014) et antidiabétiques (Chikhi et *al.*, 2014). De plus, une étude révèle son fort potentiel antioxydant et anticancéreux (Alhamadani et Al-Waheeb, 2022).

Différents extraits, dont aqueux, démontrent des effets hépto- et néphroprotecteurs contre la toxicité du tétrachlorure de carbone chez le rat (Slama et *al.*, 2020; Slama et *al.*, 2021). Un extrait méthanolique révèle des activités anti-inflammatoires et hémostatiques (Yahia et *al.*, 2023). Une recherche souligne le potentiel scolicide de l'extrait aqueux contre *Echinococcus granulosus* (Bouaziz et *al.*, 2021). La plante possède aussi des propriétés antifongiques (Abd-Ellatif et *al.*, 2011), antibactériennes et molluscicides (Morad et *al.*, 2023).

II.2. *Centaurium erythraea*

II.2.1. Morphologie et anatomie

Le *Centaurium erythraea* (Fig. 20) a fait l'objet de diverses dénominations taxonomiques (Baresova, 1988 ; Nadjafi et Kanani, 2023). Son nom botanique d'origine est *Centaurium erythraea* Rafn. mais différents synonymes ont été employés tels que *C. minus* proposé par Moench, *C. umbellatum* par Gilibert et *Erythraea centauryum* (L.) par Persoon (Baresova, 1988). Il a également porté divers noms vernaculaires français ou anglais comme centauree commune, centauree rouge ou herbe amère/à fièvre (Subotic et *al.*, 2006 ; Baresova, 1988). En arabe, il est appelé « Qanturyon saghir », « Mararet el-hnech », « qlilou », « tikoukt » (Nadjafi et Kanani, 2023 ; Baba Aissa, 2000).

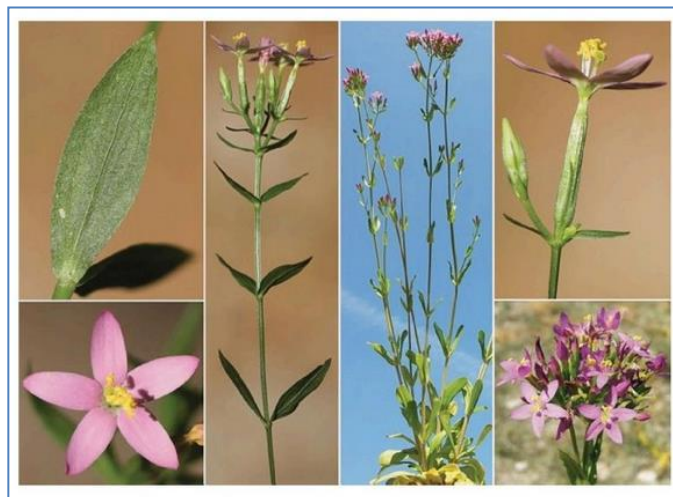


Figure 20 : *Centaurium erythraea* Rfn. (Segneau, 2024).

Centaurium erythraea est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle mesurant entre 20 et 60 cm de hauteur (El Menyiy et *al.*, 2021). Appartenant à la famille des *Gentianacées* et au genre *Centaurium* qui compte environ 28 espèces, cette plante (Fig. 20) présente une rosette basale distincte de feuilles et généralement une tige dressée unique, parfois ramifiée au sommet (El Menyiy et *al.*, 2021; Van Wyk et Wink, 2018). Ses feuilles disposées en rosette mesurent de 1 à 5 cm de long sur 0,8 à 2 cm de large et ont une forme obovale à elliptique. Ses fleurs, sessiles ou subsessiles, sont de couleur rose à pourpre ou parfois blanches (Nadjafi et Kanani, 2023) et regroupées en cyme dense ou lâche en corymbe (Baresova, 1988). Leur corolle s'ouvre par un tube de 6 à 11 mm muni à son extrémité de lobes de 4 à 9 mm (Nadjafi et Kanani, 2023). Chaque fleur présente 5 étamines terminées par des anthères visibles (Subotic et *al.*, 2006) et ne s'épanouit que pendant la journée, uniquement lorsque le soleil brille (Subotic et *al.*, 2006).

II.2.2. Distribution géographique

Centaurium erythraea est une plante qui se trouve principalement dans les plaines et les montagnes, où elle pousse dans les prairies, les pâturages humides, les buissons et les lisières forestières (Segneau, 2024). Originaires d'Europe occidentale, elle est présente dans des régions telles que la Grande-Bretagne, la Scandinavie, la Méditerranée, le sud-ouest de l'Asie et l'Afrique du Nord (Subotic, 2006). Aujourd'hui, elle est largement répandue en Europe océanique et méditerranéenne (Baresova, 1988). Autrefois récoltée dans toute l'Europe, sa récolte est désormais principalement effectuée dans les populations sauvages de la région méditerranéenne, notamment en Yougoslavie, en Algérie et au Maroc (Baresova,

1988). Sa distribution naturelle s'étend également à travers l'Afrique, l'Europe, les Amériques et l'Australasie (Nadjafi et Kanani, 2023). Elle a été introduite dans les régions tempérées et est désormais naturalisée en Amérique du Nord, avec des foyers importants en Californie et au Mexique (Subotic, 2006). Elle est très répandue dans la majeure partie de l'Europe jusqu'en Afghanistan, avec une limite au sud formée par l'Afrique du Nord. Cette plante glabre colonise également spontanément l'Amérique (El Menyiy et *al.*, 2021).

II.2.3. Taxonomie et classification

- Règne: *Plantae*
- Embranchement: *Anthophytes*
- Classe: *Magnoliopsida (Magnoliopsida)*
- Ordre: *Gentianales*
- Famille: *Gentianaceae*
- Genre: *Centaurium*
- Espèce: *Centaurium erythraea* Rafn. (Baba-Aïssa, 2000 ; Segneau, 2024).

II.2.4. Composition phytochimique

De nombreuses études se sont intéressées aux métabolites secondaires présents dans cette espèce. Elles ont permis de caractériser la présence de divers composés au sein de *Centaurium erythraea*.

Des terpénoïdes, xanthones et acides phénoliques ont notamment été identifiés (Valentão et *al.*, 2003). Parmi les terpénoïdes, on retrouve le néophytadiène isomère III, le carvacrol, le p-camphorène et le thymol (Jovanović et *al.*, 2009).

Plusieurs études ont permis d'isoler des glycosides de sécoïridoïdes tels que la gentiopicroside et la sweroside, ainsi que le di-hydroxy-diméthoxyxanthone (Guedes et *al.*, 2019). Cette même étude a montré que cette plante renfermait également de faibles quantités de composés dérivés des caroténoïdes. L'étude d'Aberham et *al.* (2011) a décrit des sécoïridoïdes supplémentaires, comme la swertiamarine et l'amarogentine. Elle a également permis de caractériser 25 xanthones dont le 1, 3,8-trihydroxy-5,6-diméthoxyxanthone.

D'autres analyses ont révélé la présence des polyphénols (Sandru et *al.*, 2016). Vingt-deux dérivés flavonoïdiques, dont la quercétine, la rhamnétine, l'isoquercétine et la

kaempférol-3-O-rutinoside ont été caractérisés (Kachmar et *al.*, 2019). Un alcaloïde nommé gentianine a pu être également isolé (Bishay et *al.*, 1978).

II.2.5. Usages traditionnels et médicinaux

Centaurium erythraea est une plante médicinale traditionnelle utilisée dans la phytothérapie pour traiter divers problèmes de santé. Elle offre un large éventail d'applications thérapeutiques.

Pour les affections gastro-intestinales, *Centaurium erythraea* est utilisée traditionnellement pour traiter les troubles de l'estomac, du tractus digestif et la dyspepsie (Skidmore-Roth, 2009). Elle est également employée pour lutter contre l'helminthiase, stimuler la vésicule biliaire (Merzouki et *al.*, 2000), traiter les infections biliaires, ainsi que pour stimuler l'appétit (Benítez et *al.*, 2010). De plus, elle est utilisée pour traiter les pathologies hépatiques (Chda et *al.*, 2020).

Concernant les affections cutanées, son macéré floral est appliqué localement pour traiter l'inflammation cutanée (Bouyahya et *al.*, 2017).

Grâce à ses propriétés hypotensives et cardio-régulatrices, cette plante présente un intérêt certain dans le traitement des pathologies cardiovasculaires, notamment l'hypertension artérielle (Calvo et Cavero, 2014 ; Bellakhdar, 1991). Par ailleurs, elle présente également un effet anti-apoplectique et Anticoagulant (Agelet et Valles, 2003).

En pédiatrie, *Centaurium erythraea* est utilisée dans la phytothérapie traditionnelle pour traiter divers troubles chez les nourrissons et les enfants, tels que l'anxiété, les troubles du sommeil, la tension, les coliques, le syndrome de l'intestin irritable et les symptômes du trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité (Skidmore-Roth, 2009).

Elle est également employée traditionnellement pour traiter d'autres affections, telles que l'asthme (Kültür, 2007), le diabète (Chda et *al.*, 2020 ; Bellakhdar, 1991), les calculs rénaux (Skidmore-Roth, 2009), la fièvre, la fièvre de Malte et la goutte (Benítez et *al.*, 2010). La plante présente également des effets toniques, dépuratifs et sédatifs (Valentão et *al.*, 2003) et est utilisée pour traiter les maladies respiratoires et rhumatismales (Chda et *al.*, 2020).

II.2.6. Propriétés biologiques

Les usages traditionnels de *Centaurium erythraea* sont étayés par des études *in vitro* et *in vivo*. Ces recherches soutiennent certaines utilisations ancestrales de cette plante en mettant en évidence ses propriétés biologiques.

Dans une étude *in vivo*, Berkan *et al.* (1991) ont démontré que l'extrait aqueux de *Centaurium erythraea* présentait des activités anti-inflammatoires et antipyrétiques.

Chda *et al.* (2020) ont confirmé les propriétés antihypertensives revendiquées de la plante. Leur étude a montré que son extrait induisait une vasodilatation endothélium-dépendante et inhibait la prolifération des fibroblastes cardiaques. De même, Chda *et al.* (2016) ont mis en évidence l'action spasmolytique d'un extrait aqueux de *Centaurium erythraea*, qui agissait en bloquant l'entrée de calcium dans les cellules musculaires lisses et en activant la voie de l'oxyde nitrique/cGMP. Ces propriétés peuvent expliquer son utilisation traditionnelle pour soulager les troubles digestifs et les spasmes intestinaux.

Une étude réalisée par Valentão *et al.* (2001) a montré que l'infusion lyophilisée des sommités fleuries de *Centaurium erythraea* présentait des propriétés antioxydantes intéressantes, en éliminant les radicaux superoxydes et en inhibant la xanthine oxydase.

Haloui *et al.* (2000) ont observé un effet diurétique de son extrait aqueux chez les rats. De plus, Tuluçe *et al.* (2011) ont démontré que l'extrait de cette plante possédait des effets gastroprotecteurs, antioxydants et anti-inflammatoires.

Des études ont évalué les effets hypoglycémiantes et protecteurs sur le pancréas. Sefi *et al.* (2011) ont montré des activités hypoglycémiantes, antioxydantes et une protection des cellules bêta pancréatiques. Stefkov *et al.* (2014) ont observé une réduction de la glycémie et une régulation lipidique.

Les extraits de *Centaurium erythraea* ont également montré des activités antiradicalaires, antibactériennes, antifongiques, antileishmaniennes et anticancéreuses, selon les études menées par Bouyahya *et al.* (2017, 2018), Šiler *et al.* (2014) et Ivanišová *et al.* (2017).

Par ailleurs, Mroueh *et al.* (2004) ont rapporté un effet hépatoprotecteur de son extrait méthanolique des feuilles chez les rats.

Enfin, Bouyahya et *al.* (2019) ont constaté des effets variables des huiles essentielles de *Centaurium erythraea*, notamment des activités antioxydantes, antidiabétiques, dermoprotectrices et antibactériennes, qui variaient en fonction du stade de développement de la plante.

CHAPITRE III

Radicaux libres et antioxydants

III.1. Radicaux libres

La plupart des substances chimiques présentent des orbitales électroniques occupées par des paires d'électrons de spins opposés (Lauwerys et *al.*, 2007). Cependant, les radicaux libres sont des entités chimiques (atomes, molécules ou ions) qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés dans leur orbitale externe, les rendant chimiquement instables (Di Meo et Venditti, 2020). Ces radicaux libres cherchent à atteindre la stabilité en s'associant avec des électrons arrachés à des molécules voisines afin de former finalement des liaisons stables (Wang et *al.*, 2021). Malgré leur grande réactivité, les radicaux libres ont une durée de vie très brève dans les systèmes biologiques, généralement inférieure à 10^{-6} s (Engwa, 2018).

Les radicaux libres peuvent se former par scission homolytique d'une liaison covalente, où chaque atome récupère l'électron qu'il avait initialement partagé. Ils peuvent également se former par transfert mono-électronique, où un atome prend l'électron célibataire d'un autre radical libre (Southorn et Powis, 1988).



Les radicaux libres proviennent de sources à la fois endogènes (mitochondries, peroxyosomes, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires, etc.) et exogènes (pollution, alcool, fumée de tabac, métaux lourds, métaux de transition, solvants industriels, pesticides, certains médicaments tels que l'halothane, le paracétamol et les radiations) (Lushchak, 2014)..

III.2. Radicaux libres rencontrés en Biologie

Les RL et leurs dérivés activés sont continuellement produits dans les cellules, notamment lors du métabolisme oxydatif. Les radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote sont connus respectivement sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'espèces réactives de l'azote (ERA) (Tab.1). Les plus importants en biologie sont :

III.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'oxygène est essentiel au fonctionnement du corps et fait partie des éléments constitutifs des molécules organiques, avec l'hydrogène, le carbone, l'azote et le soufre. Lors de la phosphorylation oxydative, qui se déroule dans les mitochondries, la majeure partie de

l'oxygène est utilisée par les cellules. Cependant, une petite fraction de cet oxygène entraîne la formation d'espèces réactives de l'oxygène dans les mitochondries (Alver et al., 2021).

Les espèces réactives de l'oxygène (Fig.1) (en anglais : ROS pour *reactive oxygen species* comprennent le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), l'oxygène singulet (1O_2), le radical peroxy (LOO^{\cdot}), le radical alcoxy (LO^{\cdot}), l'hydroperoxyde lipidique ($LOOH$), le peroxyde nitrite ($ONOO^{\cdot}$), l'acide hypochloreux ($HOCl$) et l'ozone (O_3) (Ahmed et Mohammed, 2020).

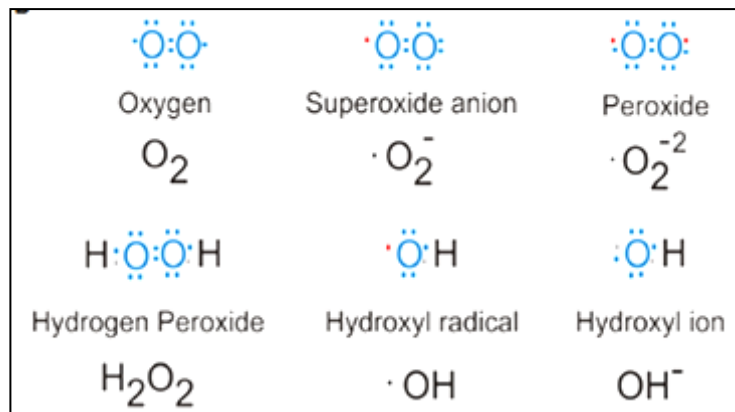


Figure 1 : Structures électroniques des espèces réactives de l'oxygène courantes (Madkour, 2019)

III.2.2. Les espèces réactives de l'azote (ERA)

Les espèces réactives de l'azote sont des radicaux à base d'azote, comprenant les trois espèces chimiques du chemin de Beckman-Radi-Freeman (NO , oxyde nitrique ; $ONOO^{\cdot}$, peroxyde nitrite ; NO_2 , dioxyde d'azote) (Martemucci et al., 2022).

Tableau 1: Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique (Mohammed et al., 2015).

Espèces réactives	symbole	Demi-vie (en sec s).	Réactivité/Remarques.
Espèces réactives de l'oxygène (ERO) :			
Le superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	$10^{-6}s$	Généré dans les mitochondries, dans

			le système cardiovasculaire et autres.
Le radical hydroxyle	$\cdot\text{OH}$	10^{-9}s	Très hautement réactif, généré dans la réaction de Fenton.
Le peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Stable	Formé dans le corps par un grand nombre de réactions.
Le radical peroxyde	$\text{LOO}\cdot$	S	Réactif et formé à partir de lipides, d'ADN, de protéines, etc.
L'hydroperoxyde Organique	ROOH	Stable	Réagit avec les ions de métaux de transition pour produire des espèces réactives.
L'oxygène singulet	$^1\text{O}_2$	10^{-4}s	Hautement réactif, se forme lors de la photosensibilisation et des réactions chimiques.
L'ozone	O_3	S	Présent dans l'atmosphère.
Les espèces réactives de l'azote (ERA) :			
L'oxyde nitrique	$\cdot\text{NO}$	S	Neurotransmetteur et régulateur de la pression sanguine.
Le peroxyde nitrite	ONOO^-	10^{-3}s	Se forme à partir du superoxyde et de l'oxyde nitrique.
Le dioxyde d'azote	NO_2	S	Se forme pendant la pollution atmosphérique.

III .3. Stress oxydant

III.3.1. Définition d'un stress oxydant

En conditions physiologiques normales, il existe un état délicat d'équilibre au sein des cellules entre la production de dérivés réactifs de l'oxygène et les mécanismes internes de défense antioxydante (Joanny, 2005). Les cellules déploient à cette fin des processus biochimiques et génétiques hautement complexes leur permettant de maintenir de manière constante ce fragile équilibre redox. Le déséquilibre cellulaire relatif entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les antioxydants, nommé « stress oxydant », se produit lorsque ce délicat équilibre est rompu par une production excessive des ROS par rapport aux antioxydants (Fig.2). Cela entraîne des effets physiopathologiques dus à cette prédominance des ROS (Hayes *et al.*, 2020).

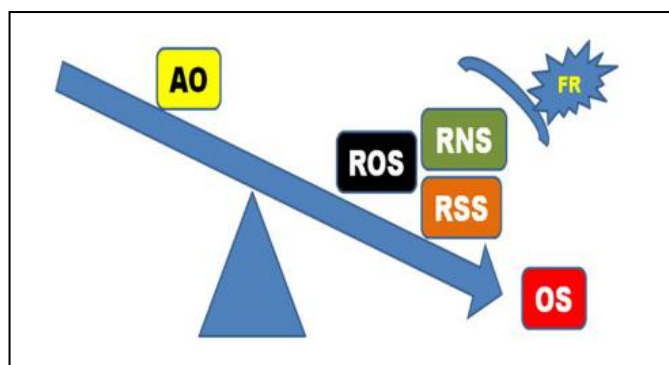


Figure 2 : Effet du déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libres (Kumar et Pandey, 2015).

(AO - antioxydant, ROS - espèces réactives de l'oxygène, RNS - espèces réactives de l'azote, RSS - espèces réactives du soufre, FR - radicaux libres, OS - stress oxydatif)

III.3.2. Cibles cellulaires radicaux libres

Les ERO (espèces réactives de l'oxygène) peuvent attaquer toutes les molécules biologiques présentes dans notre corps. Chaque jour, une cellule humaine est ciblée en moyenne 105 fois par le radical hydroxyle et d'autres espèces similaires, ce qui entraîne un stress oxydatif [33]. Les protéines, les molécules d'ADN et d'ARN, les sucres et les lipides sont les principales cibles des ERO et des radicaux libres (Kumar et Pandey, 2015).

- **Effets sur les glucides**

Les radicaux libres tels que $\bullet\text{OH}$ réagissent avec les glucides en extrayant de manière aléatoire un atome d'hydrogène d'un des atomes de carbone. Cela crée un radical centré sur le carbone, ce qui entraîne des ruptures de chaînes dans des molécules importantes comme l'acide hyaluronique. Lors d'une inflammation, une accumulation et une activation de neutrophiles dans le liquide synovial entourant les articulations génèrent des quantités importantes d'oxyradicaux. Ces oxyradicaux sont fortement impliqués dans le développement de la polyarthrite rhumatoïde (Devasagayam et *al.*, 2004).

- **Effets sur les protéines**

Les acides aminés présents dans les protéines sont vulnérables à l'oxydation causée par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Parmi eux, les résidus de méthionine et de cystéine sont particulièrement sensibles aux dommages oxydatifs (Fig. 3B). L'oxydation de la méthionine conduit à la formation de méthionine sulfoxyde, tandis que la cystéine peut

donner lieu à divers produits oxydés. Une modification largement étudiée, résultant du stress oxydatif, est la formation de dérivés carbonyles sur les résidus de lysine, d'arginine, de proline, d'histidine, de cystéine et de thréonine (Bokov *et al.*, 2004). Ces altérations peuvent avoir des conséquences variées pour la cellule, allant de la perte des propriétés fonctionnelles des protéines à l'induction de processus cellulaires tels que l'apoptose et la nécrose (Barbosa *et al.*, 2020).

- **Effets sur les ARN**

Les ERO peuvent attaquer les ARN produits dans le corps. En raison de leur structure à simple brin, les ARN sont plus susceptibles aux dommages oxydatifs que l'ADN. Contrairement à l'ADN, l'ARN ne dispose pas d'un mécanisme actif de réparation des dommages oxydatifs et est moins protégé par les protéines. De plus, les ARN cytoplasmiques se trouvent à proximité des mitochondries, où une grande quantité de ERO est produite. Il a été constaté que l'ARN subit plus de dommages oxydatifs que l'ADN chez les humains (Phaniendra *et al.*, 2015).

- **Effets sur les lipides**

Les acides gras polyinsaturés présents dans les membranes cellulaires rendent ces membranes sensibles aux dommages causés par les radicaux libres. L'un des principaux effets des ERO est la peroxydation des lipides (Fig. 3C). Lorsque les phospholipides de la membrane entrent en contact avec un agent d'oxydation des ERO, un radical libre oxyde une chaîne lipidique insaturée, ce qui conduit à la formation d'un lipide hydroperoxydé et d'un radical alkyle. Cette lipoperoxydation altère la structure de la membrane, affecte sa fluidité et compromet son intégrité (Yadav *et al.*, 2019)

- **Effets sur les ADN**

Les radicaux libres, tels que le radical ($\cdot\text{OH}$), réagissent avec les bases de l'ADN, en particulier la guanine (Fig. 3A), ce qui entraîne la formation de radicaux d'adduit. Ces radicaux d'adduit modifient la structure de l'ADN et peuvent être convertis en d'autres produits réactifs par des réactions d'oxydation et de réduction. Par exemple, la guanine peut être transformée en 8-hydroxyguanine. De plus, les radicaux libres réagissent également avec d'autres bases de l'ADN, comme la thymine et la cytosine, entraînant la formation de radicaux d'adduit spécifiques. Ces altérations de l'ADN peuvent perturber la structure et la fonction de l'ADN bicaténaire (Nimse et Pal, 2015).

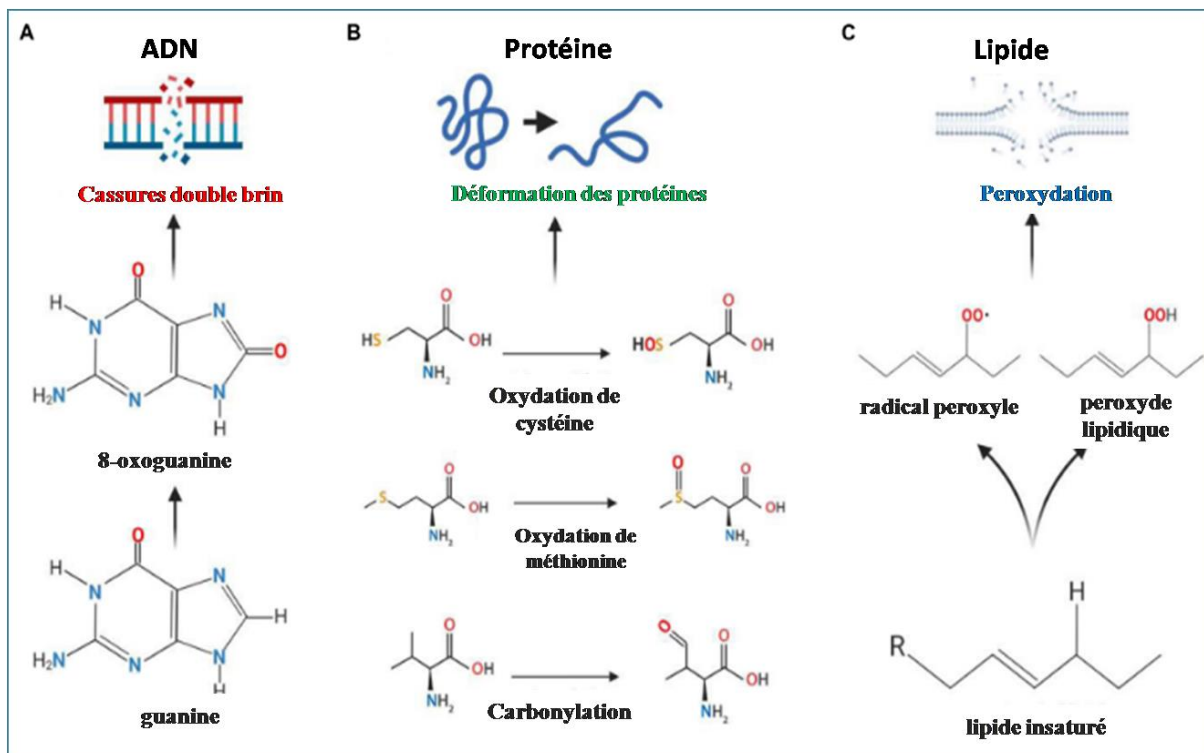


Figure 3 : Dommages macromoléculaires causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Shields et al., 2021).

III.3.3. Implications pathologiques du stress oxydatif

En raison de leur capacité à endommager presque tous les types de molécules dans l'organisme, les radicaux libres ont été incriminés dans la pathogénie d'un grand nombre de pathologies (Fig.4), tant aiguës que chroniques (Liguori et al., 2018). Il est bien établi que le stress oxydatif joue un rôle dans de nombreuses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, les maladies pulmonaires obstructives chroniques, les maladies rénales aiguës et chroniques, la dégénérescence maculaire, les maladies biliaires, diabètes et le cancer (Liguori et al., 2018 ; Kıran et al., 2023).

Dans les maladies cardiovasculaires, le stress oxydatif vasculaire et la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle important. Ils contribuent aux mécanismes de dysfonctionnement vasculaire et sont impliqués dans des pathologies telles que l'hypertension, l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde, les lésions d'ischémie/reperfusion et la resténose après angioplastie ou pontage veineux (Levonen et al., 2008). L'anion superoxyde, source majeure de stress oxydatif, réduit l'activité biologique du monoxyde d'azote (NO) en limitant la vasodilatation endothélium-dépendante. Une production excessive de superoxyde active et recrute davantage les plaquettes, favorisant la

formation de thrombus. Par ses impacts sur les plaquettes et l'endothélium, le stress oxydatif facilite ainsi la survenue d'accidents thrombotiques à l'origine de nombreuses pathologies cardiovasculaires (Kumar et *al.*, 2015).

Dans les maladies neurodégénératives, le stress oxydatif joue un rôle central en générant des dommages cellulaires par la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote au niveau neuronal. En effet, les principales ERO impliquées comme l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle, de même que certaines ERA comme le monoxyde d'azote, induisent des lésions oxydatives responsables de la dégénérescence des cellules nerveuses (Melo et *al.*, 2011). Les maladies dégénératives du système nerveux, telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington et la sclérose latérale amyotrophique (SLA), présentent fréquemment des niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène et d'espèces réactives de l'azote, ainsi que des défenses antioxydantes altérées (Domanskyi et Parlato, 2022).

Dans les maladies pulmonaires, le stress oxydatif joue un rôle important. De par sa grande surface exposée à l'environnement, le poumon est vulnérable aux agressions oxydatives exogènes. Ses nombreux types cellulaires peuvent aussi générer des espèces réactives de l'oxygène de manière endogène via le métabolisme ou les enzymes NOX notamment. L'asthme, la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), la fibrose pulmonaire et le cancer du poumon sont associés à un déséquilibre redox se traduisant par des modifications oxydatives des protéines et de l'ADN ainsi qu'une dysfonction mitochondriale et une expression altérée des systèmes antioxydants (van der Vliet et *al.*, 2018).

Dans le cancer, de nombreuses tumeurs seraient le résultat d'interactions entre les radicaux libres et l'ADN, provoquant des mutations susceptibles d'altérer le cycle cellulaire et conduisant à la néoplasie (Sharifi-Rad et *al.*, 2020).

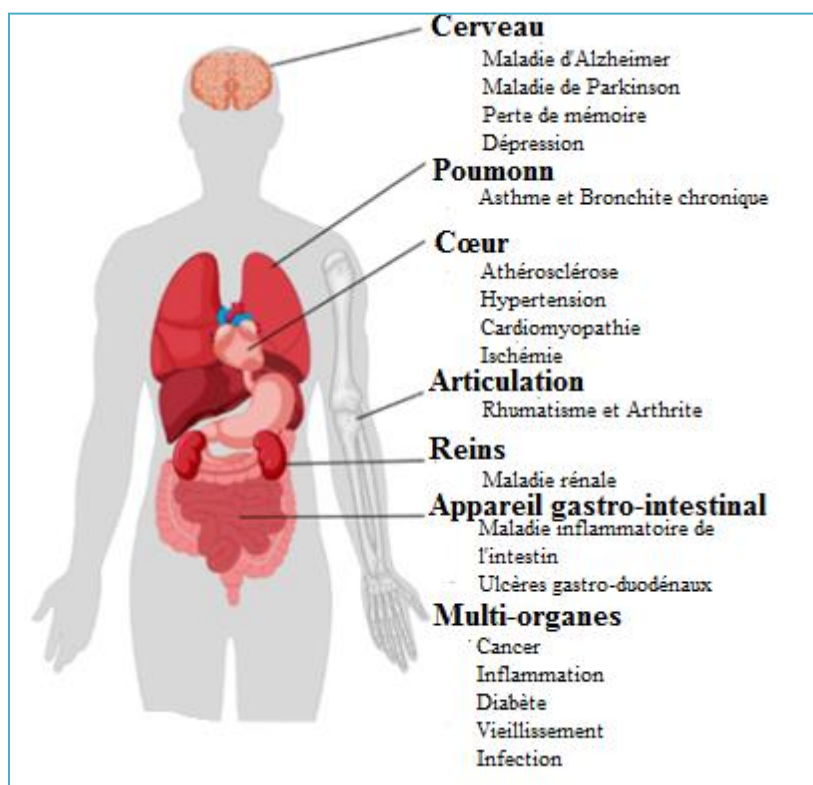


Figure 4 : Schéma des maladies induites par le stress oxydatif chez l'humain (Vona et al., 2021).

III.4. Antioxydants

Les antioxydants jouent un rôle crucial dans l'organisme en inhibant l'oxydation et en neutralisant les radicaux libres, des espèces chimiques réactives potentiellement nocives. Ils protègent les cellules contre le stress oxydatif en rendant les radicaux libres moins actifs et toxiques, les transformant en une forme plus stable et moins dangereuse (Santos-Sánchez et al., 2019). Les antioxydants peuvent être produits naturellement par l'organisme (source endogène) ou être obtenus par le biais de l'alimentation ou de compléments alimentaires (source exogène) (Al-Dalaen et Al-Qtaitat, 2014).

III.5. Processus antioxydant

Le processus antioxydant peut s'exercer selon deux modes : la rupture de chaîne et la prévention. Dans le premier cas, lorsqu'un radical cède ou capture un électron, un second radical est généré (Fig.5). Ce dernier réagit de même avec une autre molécule et ainsi de suite, jusqu'à ce que le radical formé soit stabilisé par un antioxydant de rupture de chaîne, comme la vitamine C, E ou les caroténoïdes, ou se dégrade en un composé inoffensif (Gupta et al., 2014).

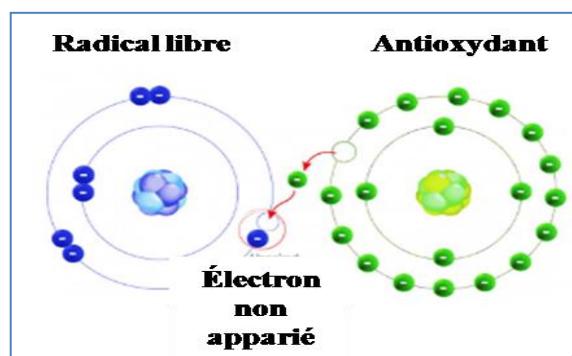


Figure 5 : Processus antioxydant (Jamshidi-Kia et al., 2020).

III.6. Classification des antioxydants

Les antioxydants endogènes cellulaires se répartissent en deux catégories principales: les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques.

III.6.1. Antioxydants enzymatiques

- ***Superoxyde dismutase (SOD)***

La superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme qui joue un rôle important dans la détoxification des radicaux libres oxygénés dans le corps. Elle catalyse la dismutation du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène et dioxygène, empêchant ainsi la formation du peroxyde réactif issu de la réaction du radical superoxyde avec le monoxyde d'azote (Maritim et al., 2003). Trois isoformes de SOD ont été identifiées, se distinguant par leur localisation et leur cofacteur métallique. La SOD1 ou SOD cuivre/zinc est cytoplasmique, la SOD2 ou SOD manganèse est mitochondriale et la SOD3 ou SOD extracellulaire est située à l'extérieur des cellules et utilise comme les deux autres le cuivre et le zinc comme cofacteurs (Afonso et al., 2007).

- **Catalase**

Les catalases sont des enzymes tétramériques à ferrihème qui catalysent efficacement la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Présentes dans la grande majorité des organismes aérobies, elles jouent un rôle protecteur important en détoxifiant le peroxyde d'hydrogène produit au cours du métabolisme oxydatif (Gebicka et Krych-Madej, 2019). La catalase est utilisée comme agent thérapeutique contre de nombreuses maladies liées au stress oxydatif (Nandi et al., 2019).

- **Glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme présente dans le cytoplasme et les mitochondries, agissant en collaboration avec d'autres enzymes telles que la catalase. Son rôle principal est de réduire les niveaux de peroxyde d'hydrogène dans la cellule. La GPx est particulièrement efficace dans la détoxification de divers peroxydes, y compris les peroxydes lipidiques, contribuant ainsi à maintenir l'équilibre oxydant-antioxydant au sein de la cellule (Shields et *al.*, 2021).

III.6.2. Antioxydants non enzymatiques

- **Vitamine E**

Elle joue un rôle clé d'antioxydant de par sa capacité à se positionner dans les membranes cellulaires. Sous sa forme active α -tocophérol, elle neutralise efficacement les radicaux peroxydes lors de la peroxydation lipidique, protégeant ainsi les cellules contre le stress oxydatif. Atout majeur de par son double effet préventif sur la formation des radicaux libres et inducteur de l'apoptose des cellules cancéreuses (Birben et *al.*, 2012)..

- **Vitamine C (acide ascorbique)**

C'est un micronutriment essentiel à l'être humain agissant comme un puissant antioxydant. Elle présente la particularité d'être hydrosoluble et assure principalement une protection contre l'oxydation du cholestérol LDL dans le plasma sanguin et les tissus (Kale et *al.*, 2015) .

- **Glutathion**

Le GSH (L-y-glutamyl-L-cystéinyl-glycine) est un thiols non protéique qui atteint des concentrations millimolaires dans la plupart des types cellulaires. Sa forme réduite (GSH) est biologiquement active. Il fonctionne comme une défense antioxydante contre les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, ainsi qu'en collaboration avec des enzymes de détoxification telles que les glutathion peroxydases et les glutathion S-transférases (Aguilar et *al.*, 2016).

- **Mélatonine**

Elle est une hormone produite par la glande pinéale qui joue de multiples rôles dans l'organisme. Elle module notamment l'activité immunitaire, limite les processus de tumorigénèse et inhibe efficacement le stress oxydatif en neutralisant les radicaux formés lors du métabolisme de l'oxygène. De par son action protectrice sur l'ADN, les protéines et les

membranes cellulaires contre les dommages radicalaires, la mélatonine pourrait avoir un rôle important dans les pathologies liées au stress oxydatif telles que le diabète (Rahimi et *al.*, 2005).

- **Antioxydants phytochimiques**

Les plantes contiennent une grande variété de substances qui possèdent une activité antioxydante, y compris les composés phénoliques, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les xanthophylles, les tanins et les coumarines (Chanwitheesuk et *al.*, 2005 ; Larkins et Wynn, 2004).

- **Antioxydants synthétiques**

Se sont des composés développés pour mesurer et comparer leur activité antioxydante à celle des antioxydants naturels. Ils sont ajoutés aux aliments pour prolonger leur durée de conservation en empêchant l'oxydation des lipides pendant le traitement et le stockage. Parmi les antioxydants synthétiques les plus utilisés figurent des composés phénoliques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la tert-butylhydroquinone (TBHQ), le gallate de propyle (GP) et le gallate d'octyle (GO) (Gulcin, 2020).

CHAPITRE IV

Résistance aux antimicrobiens

IV.1. Définitions et concepts

- **Agent antimicrobien**

Les agents antimicrobiens sont des substances capables d'interagir avec les microorganismes et d'en modifier la croissance ou la viabilité. Selon leur mode d'action, on distingue plusieurs types d'activité :

- ✓ Un agent sera qualifié de bactéricide s'il provoque la mort des bactéries au contact. A l'inverse, un produit bactériostatique n'entraîne que l'inhibition temporaire de leur multiplication, sans les détruire.
- ✓ Contre les champignons, un principe actif peut être soit fongicide en tuant les levures et moisissures, soit fongistatique en ne faisant que stopper leur développement de façon transitoire.
- ✓ Certains agents antimicrobiens possèdent également une activité sporicide contre les spores microbiennes ou virucide contre les virus (Gassier et Morel-Haziza, 2003).

Les agents antimicrobiens se divisent en trois catégories : les agents naturels, les agents semi-synthétiques et les agents synthétiques (Abushaheen et al., 2020).

A. Antibiotique

Les antibiotiques (ATB) sont des substances chimiques produites par des microorganismes ou par synthèse chimique. Ils empêchent le développement des microorganismes ou les détruisent (Faure et al., 2007). Les antibiotiques diffèrent dans leur spectre d'activité, c'est-à-dire leur efficacité contre différentes espèces bactériennes. Certains antibiotiques ont un spectre étroit, agissant sur un nombre limité de bactéries, tandis que d'autres ont un spectre large, agissant sur un grand nombre de bactéries (Molinier et Massol, 2008). Il existe également des antibiotiques à spectre très étroit, qui ciblent une seule bactérie spécifique (Offret et al., 2003).

B. Antifongique

Le traitement des infections fongiques ou mycoses nécessite l'utilisation d'agents antifongiques. Il s'agit de substances chimiques capables soit d'inhiber temporairement la croissance fongique (activité fongistatique), soit de détruire les champignons pathogènes (activité fongicide). Bien que de nombreuses molécules présentent *in vitro* des propriétés

antifongiques, très peu sont réellement actives *in vivo* du fait d'une toxicité souvent importante pour l'organisme humain (Meyer *et al.*, 2004; Harley *et al.*, 2010).

IV.2. Mode d'action des antimicrobiens

IV.2.1. Mode d'action des antibiotiques

La puissance antimicrobienne de la plupart des classes d'antibiotiques est dirigée contre une caractéristique structurelle ou fonctionnelle essentielle des bactéries. Leurs cibles incluent la paroi cellulaire bactérienne, la membrane cellulaire, les acides nucléiques et les protéines (Fig. 6). Plus précisément, les principaux mécanismes d'action des antibiotiques sont les suivants. Certains antibiotiques inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, élément de structure externe fondamental pour les bactéries. D'autres dégradent ou perturbent la structure et le fonctionnement de la membrane cellulaire, autre composant vital. De même, certains antibiotiques altèrent la structure et les fonctions des acides nucléiques bactériens ou bloquent la synthèse protéique, deux processus indispensables au développement bactérien. Enfin, d'autres antibiotiques interfèrent avec des voies métaboliques clés pour la survie des bactéries (Etebu et Arikekpar, 2016 ; Abushaheen *et al.*, 2020).

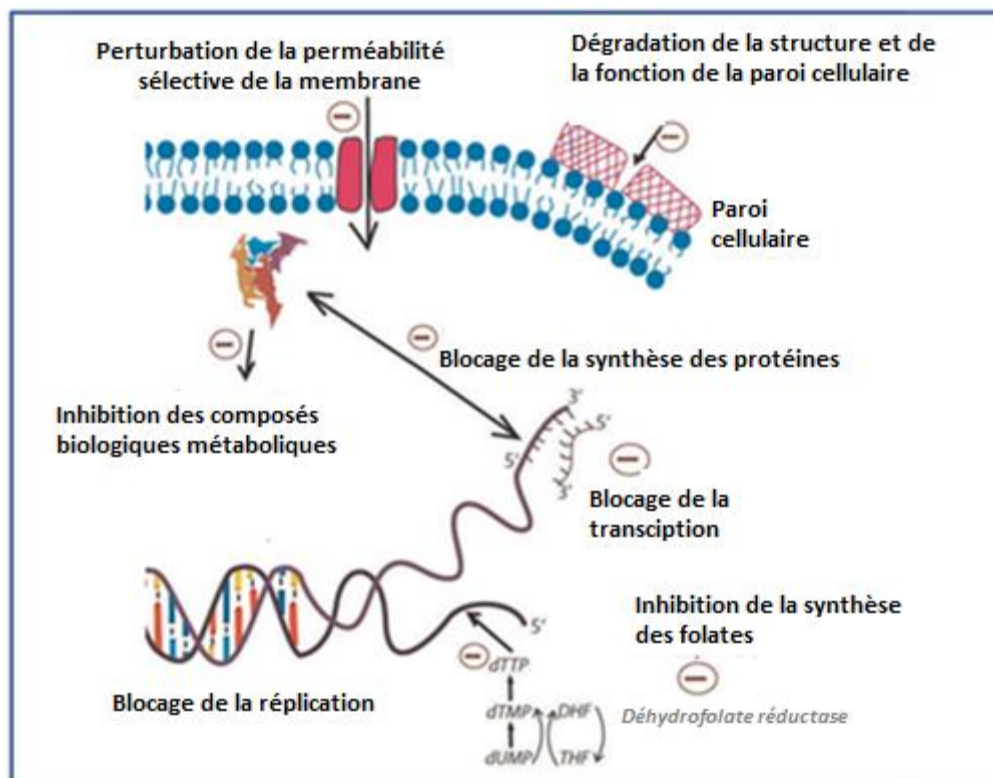


Figure 6 : Mode d'action des antibiotiques (Kirmusaoglu *et al.*, 2019).

IV.2.2. Mode d'action des antifongiques

Les antifongiques comprennent deux grands groupes qui inhibent la synthèse des membranes cellulaires fongiques : les polyènes et les azoles (Fig. 7). Les polyènes se lient directement à l'ergostérol, composant essentiel des membranes fongiques. Les azoles quant à eux bloquent la dernière étape de la biosynthèse de l'ergostérol, empêchant ainsi la formation correcte des membranes. En ciblant l'ergostérol, élément clé des parois fongiques, ces antifongiques perturbent l'intégrité structurale des champignons pathogènes (Prescott et *al.*, 2018).

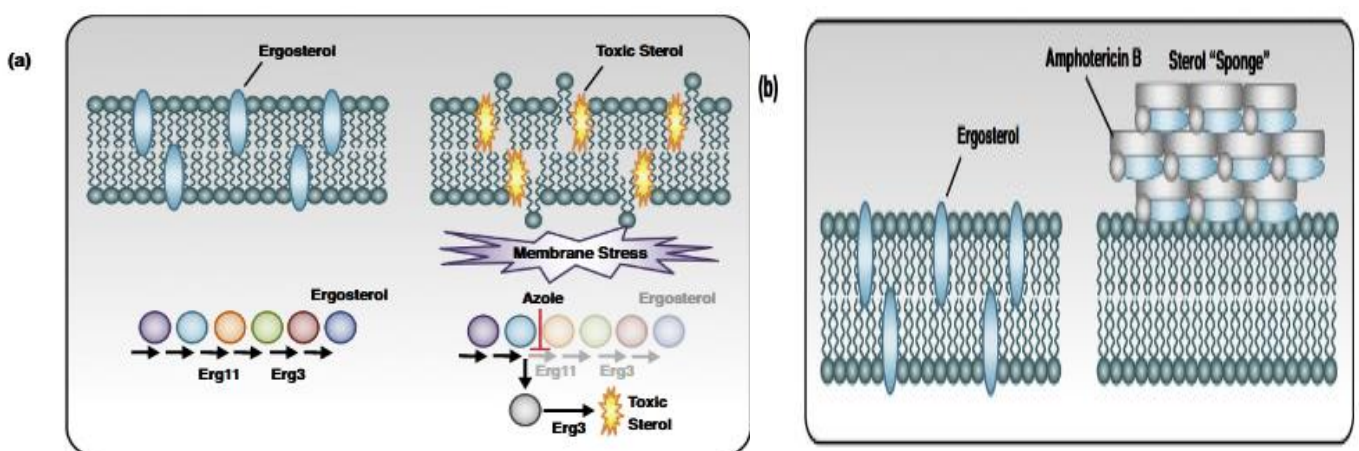


Figure 7 : mode d'action des antifongiques (Revie et *al.*, 2018).

(a) Les azoles, (b) les polyènes, comme l'amphotéricine B.

IV.3. Résistance aux agents antimicrobiens

La résistance aux agents antimicrobiens (RAM) se réfère à la capacité des microorganismes de survivre et de rester viables en présence d'agents antimicrobiens qui sont normalement actifs contre eux (Founou et *al.*, 2017 ; Abushaheen et *al.*, 2020). On distingue :

IV.3.1. La résistance aux ATB

- **Historique**

Si l'apparition des premiers antibiotiques, sulfamides en 1935 puis pénicilline après la seconde guerre mondiale, avait suscité un espoir de voir les maladies infectieuses à jamais jugulés, ce dernier fut déçu très rapidement par l'apparition de bactéries devenues résistantes. L'utilisation ultérieure d'autres antibiotiques connut une évolution comparable.

A l'heure actuelle, le phénomène de résistance bactérienne est connu pour toutes les familles d'antibiotiques et concerne toutes les espèces bactériennes (Vaubourdolle, 2007).

- **Mécanismes de résistance**

On distingue deux grands types de résistance aux agents antimicrobiens :

- La résistance intrinsèque ou naturelle: certains microorganismes ne peuvent naturellement pas être affectés par certains médicaments, soit parce qu'ils ne possèdent pas la cible visée, soit en raison d'une perméabilité membranaire limitant la pénétration du principe actif. C'est le cas inhérent à l'organisme, indépendamment de tout contact avec l'antibiotique.
- La résistance acquise: à l'opposé, des microorganismes initialement sensibles peuvent devenir résistants suite à l'acquisition de mécanismes leur permettant d'échapper à l'action thérapeutique. Cette acquisition peut se faire par mutation du génome ou transfert horizontal de gènes (Dugassa et Shukuri, 2017).

Les mécanismes de résistance acquise incluent :

- La présence d'enzymes qui inactivent les agents antimicrobiens, telles que les β -lactamases qui hydrolysent les β -lactamines comme la pénicilline.
- La présence d'enzymes alternatives aux enzymes ciblées par les antimicrobiens.
- Des mutations dans les cibles des antimicrobiens réduisant la liaison des antimicrobiens.
- La modification post-transcriptionnelle ou post-traductionnelle des cibles des antimicrobiens.
- La réduction de l'entrée des antimicrobiens dans les cellules bactériennes.
- L'efflux actif des antimicrobiens hors des cellules bactériennes, ce qui permet de maintenir de faibles concentrations intracellulaires (Toma et Deyno, 2015).

De plus, les bactéries multirésistantes ont développé des mécanismes permettant le transfert de déterminants génétiques de résistance aux espèces pathogènes, que ce soit dans les environnements cliniques, l'industrie de production alimentaire, l'intestin humain ou l'agriculture (Varela et *al.*, 2021).

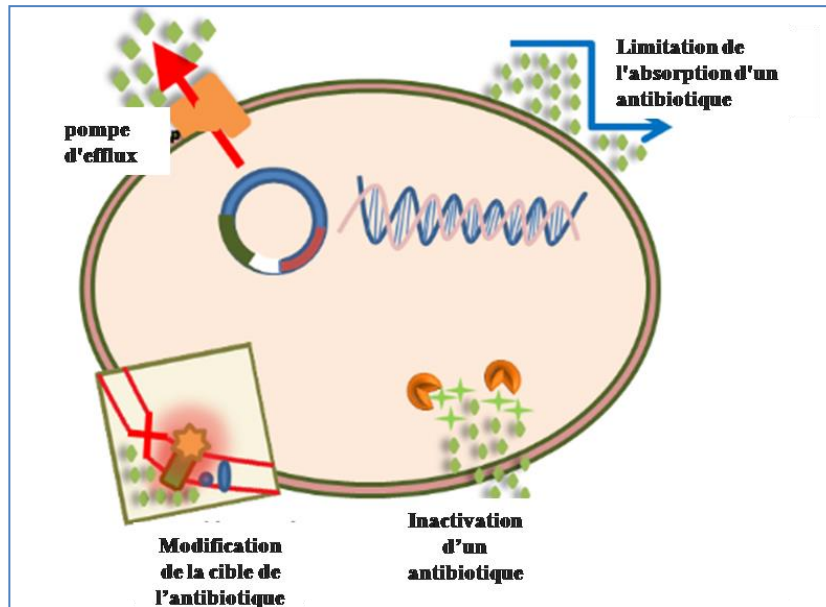


Figure 8 : Les mécanismes généraux de résistance aux antibiotiques (Reygaert, 2018).

IV.3.2. La résistance aux antifongiques

• Historique

C'est à partir des années 1980 et de l'émergence de *Candida lusitanae* comme résistant à l'amphotéricine B que des études sérieuses sur la résistance aux antifongiques ont commencé à être menées (Meyer et *al.*, 2004).

• Mécanismes de résistance

Les principaux mécanismes de résistance antifongique sont:

- Efflux actif des antifongiques hors de la cellule fongique, médiée par des pompes à efflux surexprimées. C'est un mécanisme majeur contre les azolés.
- Mutations au niveau de la cible des azolés, l'enzyme Erg11p, par des substitutions d'acides aminés diminuant l'affinité cible-médicament.
- Mutations touchant les enzymes Fks1/Fks2 de synthèse de la paroi fongique, diminuant l'efficacité des échinocandines.
- Modifications de la composition en stérols de la membrane fongique, diminuant l'action des polyènes et autres molécules ciblant les stérols.
- Formation de biofilms conférant une résistance très élevée via différents mécanismes cellulaires, physiologiques et matriciels (Srinivasan et *al.*, 2014).

IV.4. Facteurs favorisant l'émergence de résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques émerge en raison de plusieurs facteurs. L'utilisation extensive et prolongée des antibiotiques dans le monde offre aux bactéries davantage d'occasions de développer des mécanismes de résistance plus complexes (Khameneh et *al.*, 2016 ; Tenover, 2006). L'utilisation prolongée et extensive des antibiotiques a conduit au développement de la résistance aux antimicrobiens (RAM) chez les bactéries (Read et Woods, 2014). La résistance des bactéries aux antibiotiques entrave l'efficacité de leur utilisation dans les soins de santé, et il existe des preuves significatives démontrant que l'utilisation inappropriée des antibiotiques finira par conduire au développement de la résistance (Alam et *al.*, 2019 ; Prestinaci et *al.*, 2015). De plus, la mauvaise utilisation et surutilisation des agents antibactériens dans les soins de santé et l'industrie agricole ainsi que l'abus d'antibiotiques et les pratiques de prescription inappropriées sont des facteurs contribuant à l'augmentation du taux de résistance aux antimicrobiens (Bartlett et *al.*, 2013 ; Dadgostar, 2019). L'évolution spontanée des microorganismes, les mutations bactériennes et le transfert horizontal des gènes de résistance favorisent également l'émergence de la résistance (Dadgostar, 2019).

Par conséquent, si cette situation persiste, elle pourrait éventuellement conduire à une "ère post-antibiotique" où les infections courantes et les blessures mineures deviendraient des causes majeures de décès (Alam et *al.*, 2019).

IV.5. Impacts de la résistance aux antimicrobiens

La résistance aux antibiotiques a un impact économique et clinique majeur à l'échelle mondiale. Elle affecte non seulement les patients mais également les prestataires de soins, les industries pharmaceutiques, les organisations de soins et les décideurs nationaux et internationaux. Son impact économique est considéré comme catastrophique car elle compromet l'efficacité des antibiotiques disponibles (Ahmad et Khan, 2019). L'impact économique est difficile à quantifier car il faut prendre en compte les coûts plus élevés liés aux antibiotiques de deuxième ligne souvent plus chers, aux séjours hospitaliers prolongés et aux procédures d'isolement (Ahmad et Khan, 2019).

La résistance aux antibiotiques a un impact clinique et économique majeur dans les pays en développement, elle est associée à un risque de mortalité élevé et des coûts accrus (Founou

et *al.*, 2017). Son impact en termes de mortalité et coût pour la santé publique est difficile à estimer (Prestinaci et *al.*, 2015).

IV.6. Plantes : Sources potentielles d'antimicrobiens innovants

développement croissant de bactéries résistantes aux antimicrobiens a renforcé l'importance de trouver de nouveaux antibiotiques ou de nouvelles formulations d'antibiotiques existants (Dilbato et *al.*, 2019). Les métabolites naturels produits par les plantes offrent une grande variété de structures moléculaires complexes. L'étude de ces métabolites permet aux chercheurs en chimie pharmaceutique de découvrir de nouveaux chémotypes utiles pour le développement d'outils chimiques et de principes actifs thérapeutiques (Rodrigues et *al.*, 2016).

Les plantes biosynthétisent des métabolites secondaires, qui sont de petites molécules organiques non essentielles à leur croissance, mais qui jouent un rôle dans leurs processus de défense et de reproduction. Ces métabolites, tels que les alcaloïdes, les tanins, les terpénoïdes, les huiles essentielles, les flavonoïdes, les quinones, les coumarines, les polyphénols, ainsi que d'autres molécules comme les enzymes et les composés phénoliques, confèrent aux plantes des propriétés antibactériennes et antifongiques (Das et Satyaprakash, 2018). Les mécanismes d'action utilisés par certains phytochimiques sont présentés dans la Figure 9.

Cependant, les plantes médicinales sont perçues comme une source alternative prometteuse pour la découverte de nouveaux antimicrobiens. Ces derniers temps, certains acteurs de l'industrie pharmaceutique ont pris conscience de ce potentiel et ont initié des programmes de recherche ciblant les plantes médicinales, en particulier dans les régions tropicales (Abdallah, 2011).

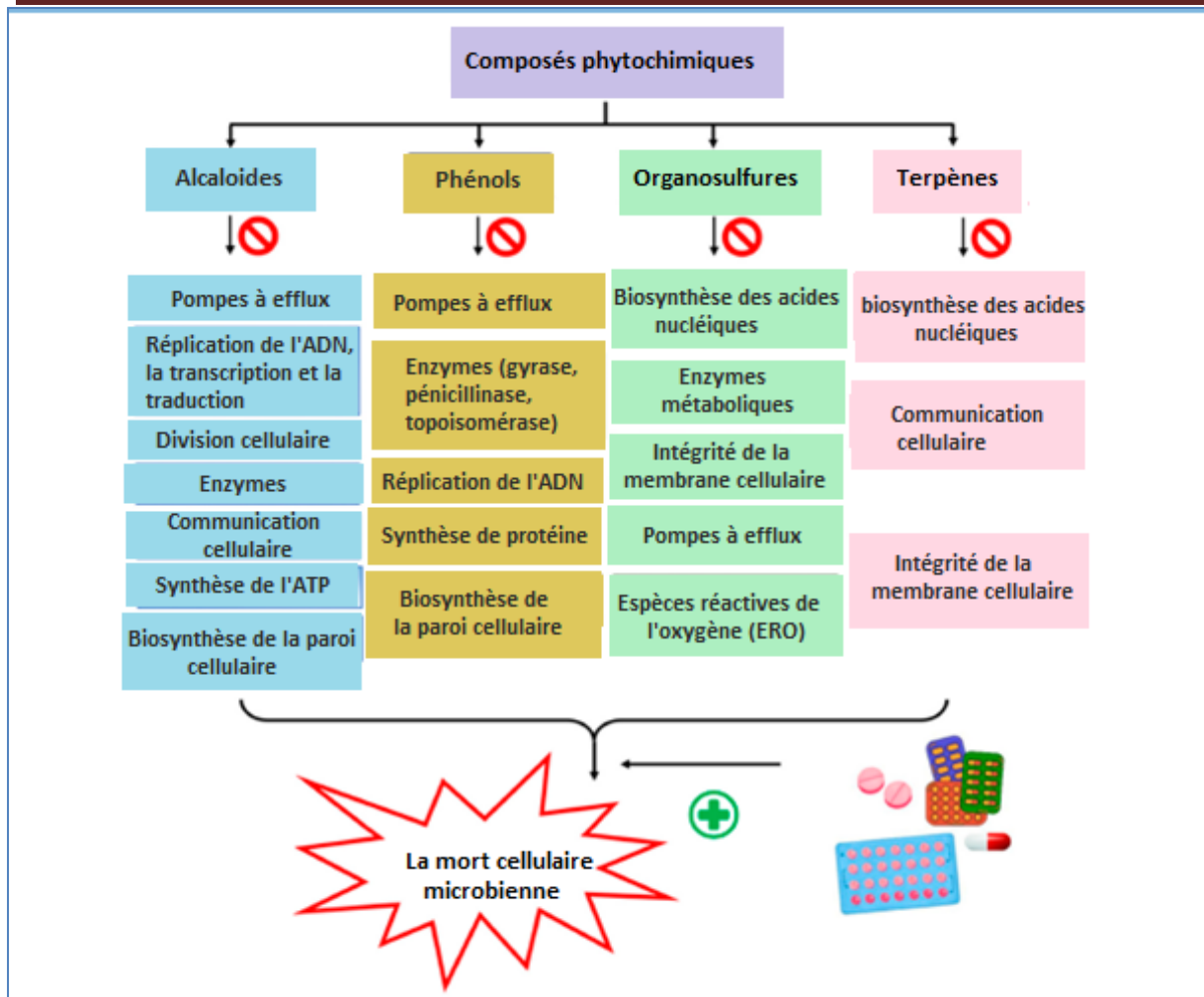


Figure 9 : Organigramme des phytochimiques dérivés des plantes et leur rôle mécanistique en tant qu'agents antimicrobiens (Ashraf et al., 2023).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

Matériels et méthodes

I.1. Objectifs

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de Recherche en Bioconversion, Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire (L.B.G.M.S.S) et les laboratoires de Microbiologie et de Biochimie de la Faculté de Science de la Nature et de la Vie de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara. La chromatographie CPG-SM des huiles essentielles extraites a été réalisée dans le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) de Tipaza.

Nous sommes intéressés à étudier deux plantes médicinales, utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Mascara (Algérie) : *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

Nos objectifs étaient axés sur :

- La caractérisation chimique, qualitative et quantitative, des extraits préparés à partir des deux plantes.
- L'extraction des huiles essentielles et identification par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) les composés des huiles essentielles extraites de ces deux plantes choisies.
- L'évaluation, *in vitro*, du potentiel antioxydant des extraits de plantes et de leurs huiles essentielles.
- L'évaluation, *in vitro*, de l'activité antimicrobienne des extraits et huiles essentielles contre des pathogènes microbiens, en déterminant les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB/CMF).

I.2. Matériels biologiques

I.2.1. Matériel Végétal

I.2.1.1. Lieux de récolte

Atriplex halimus (Guettaf) a été recueilli au stade des graines pendant le mois de décembre dans la région de Bouhanifia, une commune de la Wilaya de Mascara, est située à une altitude de 237 m, une latitude de 35°18'58" Nord et une longitude de 0°2'54" Ouest.

Centaurium erythraea (Mararet El-hnech) a été collecté durant la période Mai - Juin en stade de fleuraison à Ain-Farès, cette commune de la Wilaya de Mascara, est située à une altitude de 804 m, une latitude de 35°28'48" Nord et une longitude de 0°14'42" Est.

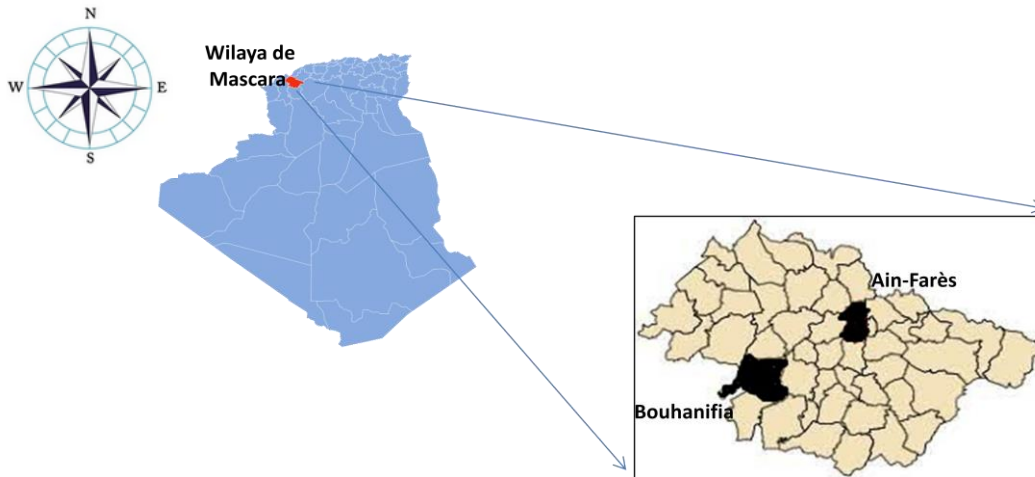


Figure 21 : Localisation des lieux de récolte.

L'identification botanique des deux plantes a été réalisée par un botaniste spécialiste au département d'Agronomie de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara.

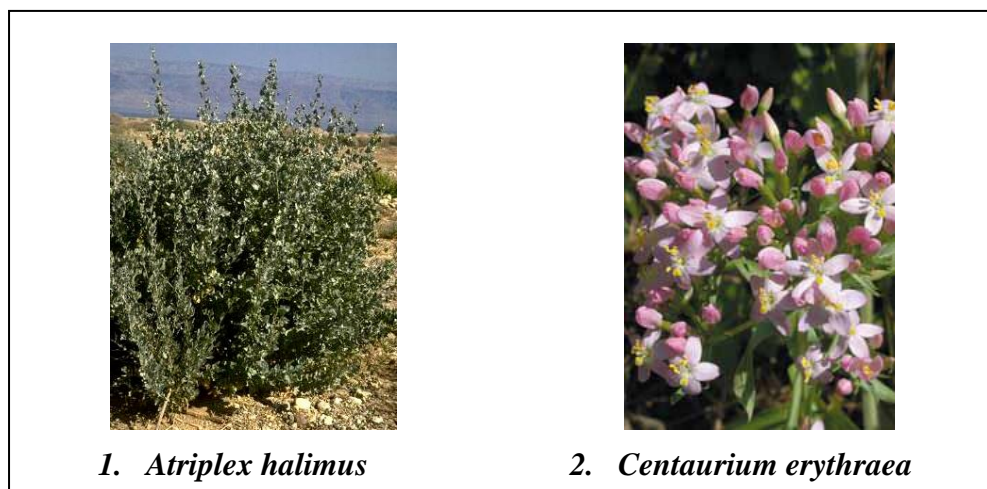


Figure 22 : Plantes étudiées

I.2.1.2. Séchage

Les parties aériennes des plantes sélectionnées ont été séchées à l'ombre pendant quelques semaines, puis broyées en utilisant un broyeur de type IKA, ce qui permet un contact avec le solvant le plus grand possible. Les poudres obtenues sont ensuite conservées à l'obscurité dans un endroit sec avant l'extraction.

I.2.2. Souches microbiennes

Nous avons sélectionné certains microorganismes responsables de diverses infections chez l'homme et résistants aux antibiotiques. Cinq souches microbiennes fournies sont utilisées pour cette étude dont les caractéristiques microbiologiques sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 3 : Souches microbiennes testées et leurs caractéristiques microbiologiques.

Souche microbienne	Caractères microbiologiques (Hamilton et al. , 2016).	Origine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacille aéro-anaérobie facultative Gram négatif.	Laboratoire de Recherche en Santé Environnement (L.R.S.E) »,
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25853	Bacille aérobie strict Gram négatif.	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Coque aéro-anaérobie facultative Gram positif.	Université d'Oran Es-Sénia.
<i>Enterococcus faecalis</i> souche sauvage	Coque aéro-anaérobie facultative Gram positif	
<i>Candida albicans</i> souche sauvage	levure diploïde aérobie facultative (Ciurea et al., 2020).	Le laboratoire L.B.G.M.S.S

I.3. Méthodes

I.3.1. Analyse physicochimique des plantes

I.3.1.1. Détermination de la teneur en eau (perte à la dessiccation)

La détermination de la teneur en eau est réalisée en adoptant le protocole de Seow et al. (2013), deux grammes de matériel végétal (frais ou séché) sont pesés dans un creuset à l'aide d'une balance précise à 0,0001g, puis séchés dans une étuve à une température de 105°C pendant 24 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La teneur en eau est calculée par la formule suivante :

$$T_{\text{eau}} \% = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

T_{eau}: Teneur en eau.

M₁: Masse de matière végétale avant dessiccation.

M₂: Masse de matière végétale après dessiccation.

I.3.1.2. Détermination de la matière sèche

Cette formule permet de déterminer la teneur en matière sèche : **M.S% = 100- T_{eau} %**

I.3.1.3. Détermination de la matière organique et minérale

La méthode adoptée pour déterminer la matière minérale est celle décrite par Linden (1981). Un creuset contenant la matière sèche est introduit dans un four à 550°C pendant six heures. La teneur en matière organique est d'abord calculée par la formule suivante :

$$M.O\% = \frac{M_1 - M_2}{PE} \times 100$$

M.O%: Matière organique

M₁: Poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination.

M₂: Poids de la capsule et de l'échantillon après calcination.

PE: Prise d'essai.

La matière minérale est ensuite déterminée par la différence entre la matière sèche et la matière organique.

$$M.M\% = M.S\% - M.O\%$$

I.3.2. Extraction

L'huile essentielle et les extraits de chaque plante ont été préparés suivant le protocole de Kartal et *al.* (2007), illustré dans la figure 23.

I.3.2.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation simple. Brièvement, 100 g de matériel végétal séché, provenant des parties aériennes, ont été soumis à une hydrodistillation pendant 3 heures, en utilisant un appareil de type Clevenger. A cause du faible rendement,

l'huile essentielle est extraite du distillat par extraction liquide-liquide avec du n-hexane. Ensuite, le solvant a été évaporé et les huiles essentielles ont été récupérées et déshydratées avec du sulfate de sodium anhydre, puis stockées à +4 °C à l'abri de la lumière après filtration, jusqu'à leur analyse (Kartal et *al.*, 2007).

I.3.2.2. Préparation des extraits

- **Préparation des extraits aqueux déodorisés**

L'extrait aqueux désodorisé est obtenu à partir du liquide retenu à la fin de l'hydrodistillation de chaque plante après leur filtration et évaporation à sec à 40°C.

- **Préparation des extraits hexaniques**

L'extraction par Soxhlet est appliquée pour préparer les extraits hexaniques. Dans un appareil Soxhlet, les poudres (25g) de chacune des deux plantes sélectionnées sont extraites par 200ml de l'hexane pour une durée de six heures. La phase hexanique est après évaporée à sec à 40°C.

- **Préparation des extraits acétoniques**

Après extraction à l'hexane, le résidu solide est mélangé avec 200 ml d'acétone. Après 24 h d'agitation magnétique à 30°C et filtration. Les extraits obtenus des deux plantes sont évaporés à sec à l'aide d'un rotavapeur à 38°C.

- **Préparation des extraits hydrométhanoliques**

Les résidus solide de l'extraction à l'acétone sont séchés et réextraits avec un mélange méthanol-eau (1:1, 250 ml) à 30°C pendant 24 h sous agitation magnétique. Les solutions obtenues sont ensuite filtrées et évaporées à sec à 40°C.

I.3.2.3. Calcul de rendement

Le rendement d'extraction est estimé en pourcentage, défini comme le rapport entre la masse d'extrait ou d'huile obtenue et la masse initiale de matériel végétal utilisé. Il est calculé selon la formule suivante (Selvakumar et *al.*, 2012) :

Rendement (%) = (masse d'extrait ou d'huile/masse initiale de matériel végétal) x 100

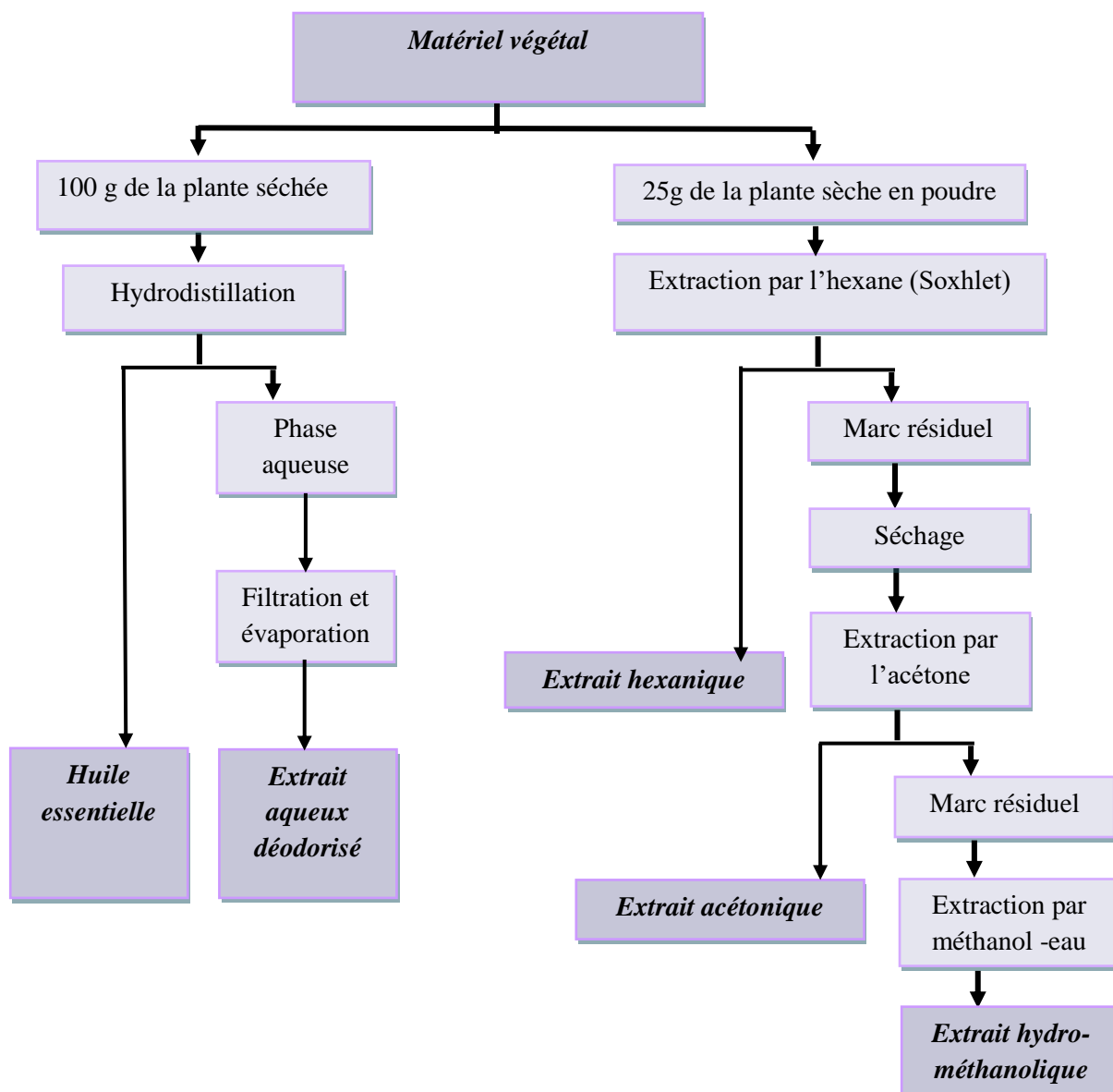


Figure 23: Protocole d'extraction

I.3.3. Phytochimie qualitative des extraits préparés

I.3.3.1. Essais de caractérisation en tube

Des essais de caractérisation en tube sont réalisés pour mettre en évidence les principaux groupes chimiques contenus dans les différents extraits. Ce sont des réactions simples, rapides à mettre en œuvre, réalisées le plus souvent en tube à essai. Chaque test est pratiqué trois fois.

Pour caractériser les alcaloïdes, les carbohydrates, les saponines, les protéines et les stérols dans les extraits préparés, les méthodes décrites par Raaman (2006) ont été pratiquées.

- **Recherche des alcaloïdes (réactif de Mayer)**

50 mg d'extrait sec sont repris avec quelques ml d'HCl dilué puis filtrés. L'apparition d'un précipité blanc ou crémeux, après l'ajout d'une goutte ou deux de réactif de Mayer à quelques ml de filtrat, indique que le test est positif.

- **Recherche des stérols (Test de Lieberman-Buchard)**

50mg de chaque extrait sont dissous dans deux ml d'anhydride acétique. L'addition lente d'une ou deux gouttes d'acide sulfurique concentré développe en présence de phytostérols des changements de couleur.

- **Recherches de saponines (Indice de mousse)**

50 mg d'extrait sont dilués avec de l'eau distillée et le volume est complété à 20 ml dans un tube à essai. Le tube est agité verticalement pendant 15 min. Une hauteur de mousse de deux centimètres indique la présence de saponines.

- **Recherche des carbohydrates (Test de Fehling)**

A un (ml) de chaque extrait, on a ajouté 1ml de solution de Fehling A et 1ml de solution de Fehling B. Les tubes sont ensuite placés au bain marie bouillant. La présence de composés réducteurs est indiquée par l'apparition d'un précipité rouge.

- **Recherche des protéines (Test de Biuret)**

On dissout chaque extrait (100 mg) dans 10 ml d'eau distillée et on le filtre à l'aide d'un papier filtre Whatmann N°1. Deux (ml) de chaque filtrat sont traités par une goutte d'une solution de sulfate de cuivre à 2%. Après l'addition de 1ml d'éthanol et KOH en excès, l'apparition d'une coloration rose dans la couche éthanolique indique la présence des protéines.

- **Recherche de composés phénoliques**

- a. **Recherche des polyphénols**

Pour rechercher la présence de polyphénols, nous ajoutons une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% à 2 ml de nos extraits. Si des dérivés polyphénoliques sont présents, cela se manifeste par l'apparition d'une coloration bleue ou vert foncé.

b. Recherche des tanins

La méthode adoptée pour ce test est celle décrite par Karumi (2004), 1 ml d'extrait est mélangé à 10 ml d'eau distillée et filtré. 3 gouttes de réactif de chlorure ferrique sont ajoutées au filtrat. La présence d'un précipité bleu-noir ou vert confirme la présence de tanins galliques ou de tanins catéchiques respectivement.

c. Recherche des flavonoïdes

La détection des flavonoïdes a été déterminée par le test de Shibata suivant le protocole de Yadav et Agarwala (2011), Quelques gouttes de Hcl concentré et deux à trois copeaux de magnésium sont ajoutés à 1 ml de chaque extrait. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une coloration rouge violacée

d. Recherche de coumarines

En suivant le protocole de Zohra et *al.* (2012), Cinq (ml) de chaque extrait sont évaporés à sec. Le résidu est repris par un à deux ml d'eau distillée chaude. Après refroidissement, la solution est divisée entre deux tubes à essai. La présence de coumarines est révélée après l'ajout de 0.5 ml de NH₄OH à 25% dans l'un des deux tubes et observation d'une fluorescence sous la lampe UV à 366 nm.

I.3.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits et des huiles essentielles

La chromatographie sur couche mince est une technique permettant de séparer les constituants de mélanges grâce à leur distribution différentielle entre deux phases. Un dépôt de l'échantillon est réalisé sur une fine couche solide servant de phase stationnaire. Une phase mobile liquide est ensuite mise en contact avec cette couche et s'écoule par capillarité. Les molécules du mélange migreront ainsi de manière sélective selon leur affinité respective pour l'une ou l'autre phase. Cette migration différentielle des composés leur permettra de se répartir de façon distincte sous forme de taches sur la couche mince. L'évaluation de la séparation s'effectue au moyen du facteur de rétention R_f, calculé comme le rapport entre la distance parcourue par une tache donnée et celle parcourue par le front de solvant (Bele et Khale, 2011).

- **Mode opératoire**

Tous les extraits et les huiles essentielles obtenus à partir des deux plantes étudiées (*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*) sont analysés qualitativement par chromatographie sur couche mince (CCM).

La phase stationnaire (couche mince) utilisée est une plaque de Silicagel 60 F254 d'épaisseur 0.2 mm et de dimension 20x20 cm.

3 µl de chaque échantillon ainsi les étalons (catéchine et acide gallique) sont déposés, sous forme de spot à la ligne de base, par appositions successives d'une micropipette et éventuellement séchés au sèche-cheveux. La plaque de silice est ensuite placée, en position verticale légèrement inclinée, dans une cuve, quand cette dernière est saturée en vapeur de solvant d'élution.

Quatre systèmes de solvants d'élution sont utilisés : ligroïne/acétate d'éthyle (2:1) pour les extraits apolaires, n-butanol/ acide acétique/eau (60:15:25) et chloroforme/méthanol/eau (65:35:5) pour les extraits polaires (Diallo et al., 2004), et ligroïne/acétate d'éthyle/n-hexane (2:1: 1) pour les huiles essentielles. Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à la température ambiante et observées sous une lampe UV à 254 et 366 nm dans une chambre noire.

Pour chaque tâche, nous avons calculé son facteur de rétention (R_f), qui correspond au rapport de la distance parcourue par la molécule séparée à celle parcourue par la phase mobile. Les R_f sont ensuite comparés à ceux des étalons utilisés comme référence :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la molécule}}{\text{Distance parcourue par la phase mobile}}$$

I.3.4. Phytochimie quantitative des extraits préparés

I.3.4.1. Estimation quantitative des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* est effectué par une méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par Zhigang et al. (2011).

Cette méthode est basée sur l'oxydation des polyphénols par un molybdotungstate dans le réactif pour donner un produit coloré dont l'absorbance maximale est entre 745 et 750 nm (Hu et Xu, 2011).

Pratiquement, 100 µl de chaque extrait dilué sont mélangés avec 4.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu, dix fois dilué. Après 5 min d'incubation, trois (ml) d'une solution de carbonate de sodium à 7.5% sont ajoutés au milieu réactionnel, puis les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 60 min à la température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 765 nm contre le blanc.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g).

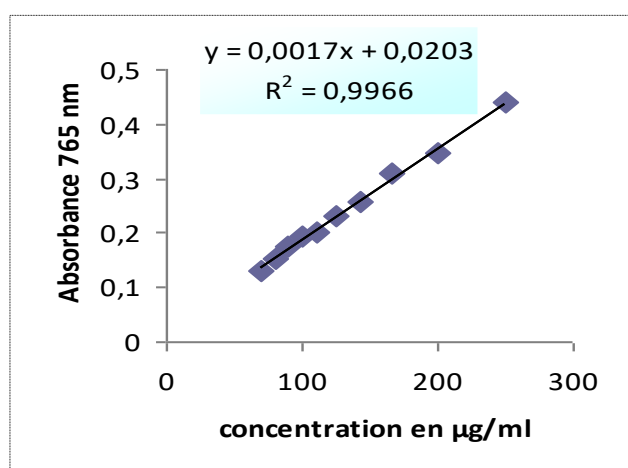


Figure 24: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

I.3.4.2. Estimation quantitative des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans les extraits des deux plantes étudiées est calculée par la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) suivant le protocole de Breghente et *al.* (2007).

De sa nature très électropositive, l'aluminium (Al^{3+}) attire les noyaux des cycles aromatiques des flavonoïdes présents dans l'extrait analysé en formant un complexe stable en milieu aqueux, et qui est ensuite réagit avec le nitrite de sodium en pH alcalin pour donner

un produit de couleur rose, mesuré par spectrophotométrie à 510 nm (Shanmugam et al. , 2010).

Brièvement, 2 ml d'une solution d' AlCl_3 sont ajoutés à 2 ml de l'extrait, le mélange est incubé à la température ambiante pendant 1h, ensuite l'absorbance est mesurée à 415 nm .La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine (C)/g d'extrait sec. La courbe d'étalonnage des flavonoïdes a été établie à des concentrations différentes de catéchine (Fig. 25).

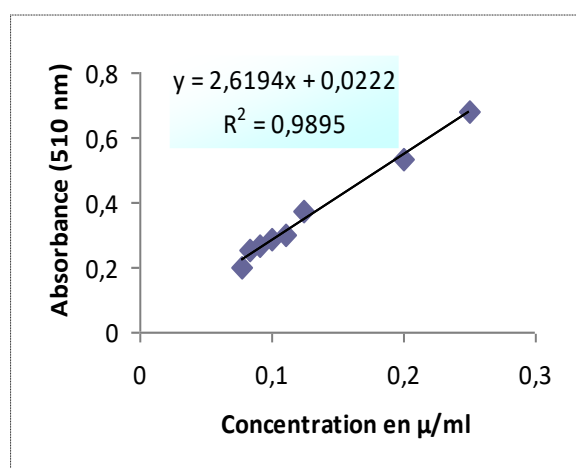


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

I.3.4.3. Estimation quantitative des tanins condensés

Pour déterminer les tanins condensés, la méthode à *la vanilline en milieu acide décrite par Falleh et al. (2008)* a été adoptée. Cette méthode est basée sur la réaction de la vanilline avec des unités de tanin en présence d'acide pour former un complexe de couleur rouge mesuré à 500 nm (Shweta et al., 2010).

Pratiquement, 50 µl de chaque extrait dilué sont ajoutés à 3 ml d'une solution méthanolique de vanilline à 4% et 1.5 ml d'acide sulfurique concentré. Après 15 min d'incubation, les absorbances sont lus à 500 nm contre le blanc.

La concentration des tanins dans les extraits est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie par la catéchine (Fig. 26). La teneur en tanins condensés est exprimée en mg équivalent de catéchine (C)/g d'extrait sec.

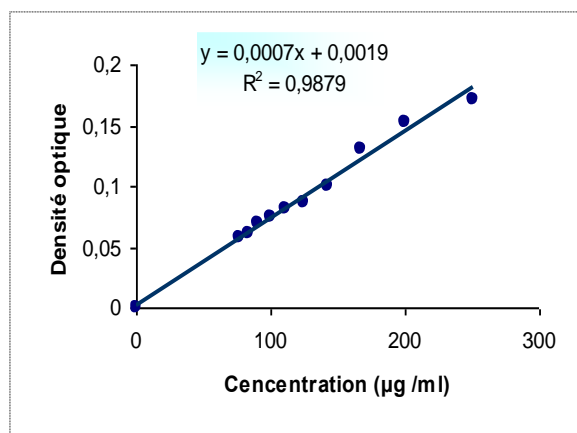


Figure 26: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

I.3.5. Composition chimique des huiles essentielles

Le pourcentage des composants de chaque huile essentielle a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse CPG couplé à la Spectrométrie de masse, réalisée dans le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) de Tipaza.

Un chromatographe Hewlett-Packard HP 6890 équipé d'une colonne capillaire en silice fondue DB-5 (30 m x 0,25 mm de diamètre interne x 0,25 µm d'épaisseur de film, J&W Scientific), d'un détecteur FID réglé à 270°C, alimenté par un mélange gazeux H₂/air et d'un injecteur Split-splitless réglé à 240°C sont utilisés. Le mode d'injection était Split (Split ratio: 1/50, débit : 66 ml/min). L'hélium est utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 0,5 ml/min. La température de la colonne est programmée de 60 à 250°C à un taux de 2°C/min. Les indices de rétention ont été calculés en utilisant le temps de rétention des n-alcanes qui ont été injectés après l'huile essentielle dans les mêmes conditions chromatographiques.

L'identification des composants de l'huile a été basée sur leur indice de Kováts (KI) et sur la comparaison de leurs schémas de fragmentation spectrale de masse avec ceux rapportés dans la littérature, et les spectres de masse obtenus par l'analyse CPG-SM sur un instrument Hewlett-Packard HP6890/HP5973 équipé d'une colonne capillaire DB-5 en silice fondue (30 m x 0,25 mm de diamètre interne x 0,25 µm d'épaisseur de film) ; l'hélium est utilisé comme gaz porteur à un débit de 2 ml/min. Les paramètres analytiques de la GPC sont les mêmes que

ceux énumérés ci-dessus, et la spectrométrie de masse est réalisée en impact électronique à 70 eV.

I.3.6. Activités biologiques *in vitro*

Les extraits et les huiles essentielles des plantes sélectionnées sont testés pour leurs activités antioxydante et antimicrobienne.

I.3.6.1. Activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes (AA) des extraits des plantes. Pour évaluer les activités antioxydantes de nos deux plants étudiées, nous avons utilisé deux méthodes:

I.3.7.1.1. Piégeage du radical DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits et des huiles essentielles est évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH suivant le protocole de Mighri et *al.* (2010).

D'abord, la solution de DPPH est préparée en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de méthanol absolu. Nos extraits, huiles essentielles et antioxydants de référence (catéchine, acide ascorbique) ont été dissous dans du méthanol à différentes concentrations.

Ensuite, 1 ml de la solution précédente de DPPH est ajouté à la solution à tester (1 ml). Après agitation, le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min et les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le méthanol. Toutes les déterminations sont effectuées en *triplicate*. Un blanc est préparé en mélangeant 1 ml de méthanol avec 1 ml de la solution de DPPH.

Le pourcentage d'inhibition de formation des radicaux DPPH libres est calculé selon la formule suivante:

$$PI\% = [A_o - A_e] / A_o \cdot 100$$

Sachant que:

A_o : Représente l'absorbance du blanc

A_e : Représente l'absorbance de l'échantillon

À partir du graphique de régression linéaire, les valeurs EC50 (concentration efficace ou IC50, concentration inhibitrice, concentration qui inhibe 50 % des radicaux libres présents dans le milieu réactionnel) ont été calculées.

I.3.6.1.2 Réduction du fer

L'activité antioxydante est aussi évaluée par le biais du pouvoir réducteur selon la procédure décrite par Ferreira et *al.* (2007).

Pratiquement, Une quantité aliquote (2.5 ml) de chaque dilution de nos extraits, nos huiles essentielles et nos antioxydants de référence (catéchine, acide ascorbique), solubilisés dans le méthanol, est mélangée avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH : 6,6) et 2,5 ml de solution aqueuse d'hexacyanoferrate de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] à 1 %. Après 20 minutes d'incubation à 50 °C, 2,5 ml de la solution d'acide trichloracétique à 10 % est ajoutée et le mélange est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant dix minutes. Une aliquote (5 ml) du surnageant est combiné avec 5 ml d'eau distillée et 1 ml de solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1 % puis l'absorbance est mesurée à 700 nm (trois lectures). Une absorbance élevée indique une AA élevée. Les valeurs EC50 ont été calculées.

I.3.6.2. Activité antimicrobienne

I.3.6.2.1. Contrôle de pureté des souches microbiennes

Dans le but de vérifier l'absence de contaminants microbiens des souches testées, des frottis bactériens sont préparées et colorées au Gram, puis examinées au microscope pour observer la forme des cellules bactériennes et le type de Gram. Pour la levure, *Candida albicans*, une coloration au bleu de méthylène à l'état frais est réalisée.

Pour les souches sauvages (*Candida albicans* et *Enterococcus faecalis*), nous les avons égalementensemencées sur des milieux sélectifs pour confirmer leur pureté et détecter d'éventuels contaminants. De plus, nous avons réalisé quelques tests biochimiques pour assurer une identification précise des souches.

I.3.6.2.2. Revivification des souches et préparation des pré-cultures

Cette méthode consiste à revivifier les souches microbiennes en les ensemençant sur bouillon nutritive (les bactéries) ou bouillon Sabouraud (la levure). Les tubes sont ensuite incubés respectivement à 37°C pendant 24h et 48-72h.

Pour obtenir des cultures jeunes de 18 à 24 h, Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (pour les bactéries) ou la gélose Sabouraud (pour les levures), puis incubées dans les conditions de croissance appropriées à chaque souche. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

I.3.6.2.3. Préparation des inoculums

A partir des cultures microbiennes jeunes et à l'aide d'une anse stérile, on émulsionne quelques colonies bien isolées dans une eau physiologique stérile (0.9%), puis on agite pendant quelques minutes.

La turbidité de la suspension est ajustée à 0.5 McFarland à l'aide d'un spectrophotomètre à 600nm. Une DO de 0.08-0.1 correspond à une concentration de 10^6 cellule/ml.

I.3.6.2.4. Préparation des extraits et des huiles essentielles à tester

Les extraits, évaporés à sec, sont solubilisés dans du DMSO (pour les extraits hexanique, acétonique et hydrométhanolique) ou dans de l'eau distillée stérile (pour l'extrait aqueux), à une concentration de 100 mg/mL, obtenue en dissolvant 2 g de chaque extrait dans 20 mL de DMSO ou d'eau distillée. Ensuite les extraits et les huiles essentielles sont stérilisés par filtration à l'aide des filtres stériles de 0.45 μ m de diamètre. Un test préliminaire a été mené afin d'évaluer l'impact de différents pourcentages de diméthylsulfoxyde (DMSO) sur la croissance des micro-organismes ciblés.

I.3.6.2.5. Préparation des disques

Les disques de papier filtre utilisés ont été préparés selon la procédure décrite par Okibgo et *al.* (2009). Des disques circulaires de 6 mm ont été découpés dans du papier filtre Whatman (No 1). Après avoir été bouillis dans de l'eau distillée pendant une heure pour éliminer les résidus, ils ont été bien égouttés. Ensuite, les disques ont été placés dans une bouteille et autoclavés à 121 °C pendant 15 minutes.

I.3.6.2.6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

L'évaluation des propriétés antimicrobiennes est réalisée par deux méthodes:

- Méthode de détermination des diamètres des zones d'inhibition

- Méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB/CMF).

A. Méthode de diffusion en disque

Selon la procédure rapportée par **Hajlaoui** et *al.* (2010), 1 ml de l'inoculum ajusté auparavant (10^6 UFC/ml) est aseptiquement ensemencé par inondation sur milieu Mueller Hinton (bactéries) et gélose Sabouraud (la levure). À l'aide d'une pince stérile, les disques, déjà préparés et chargés par les extraits et les huiles essentielles, sont déposés et pressés doucement sur la surface de la gélose. Les disques imprégnés d'un volume équivalent de DMSO ont été utilisés comme contrôle négatif et les antibiotiques (**Tab. 3**) comme control positif

Ensuite, les boites sont laissées diffuser pendant 30 minutes à une température de 4°C, puis incubées dans les conditions de croissance appropriées à chaque souche. L'expérience est réputée deux fois pour chaque espèce microbienne.

Après le temps d'incubation approprié à chaque germe, la lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition sur le fond de chaque boîte à l'aide d'une règle (en mm).

Selon les diamètres des zones d'inhibition, l'effet de l'extrait ou l'huile essentielle peut être considéré comme suit : < 8mm : résistant, 8-14 mm : modérément sensible, 14-20 mm : sensible, >20 mm : extrêmement sensible (Ambrosio et *al.*, 2017).

Tableau 4 : Disques d'antibiotiques employés.

Antibiotique	Sigle	Charge
Tétracycline	Tc	30 µg
Gentamicine	Gn	10 µg
Ampicilline	Amp	10 µg
Erythromycine	Er	15 UI
Spiromycine	Sp	100 µg

Amoxicilline	Amx	25 µg
Clotrimazole	Cl	10 µg

B. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides/fongicide (CMB/CMF).

• **Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)**

Ce test a été réalisé à l'aide de microplaques stériles à 96 puits selon le protocole décrit par Boumediene et *al.* (2011) et Tamokou et *al.* (2009). Brièvement, 100 µl de bouillon Muller Hinton (bactéries) et bouillon Sabouraud (la levure) sont transférés dans les puits de la microplaque, puis 100 µl de chaque extrait ou huile essentielle sont ajoutés dans les premiers puits de la plaque et des dilutions binaires en série ont été effectuées en transférant 100 µl des puits de la rangée A aux puits de la rangée B, et ainsi de suite (Fig. 28). Ensuite, 100 µl de l'inoculum, ajusté à 10^6 UFC/ml, sont ajoutés à tous les puits. Pour la colonne 11, le DMSO est utilisé comme control négatif. Pour la colonne 12, 100 µl d'inoculum et 100 µl de bouillon MH ont été ajoutés, servant de contrôle négatif. Les plaques sont ensuite incubées à 37 °C, respectivement pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour la levure. La plus faible concentration de la gamme dépourvue de croissance microbienne visible a été considérée comme la CMI.

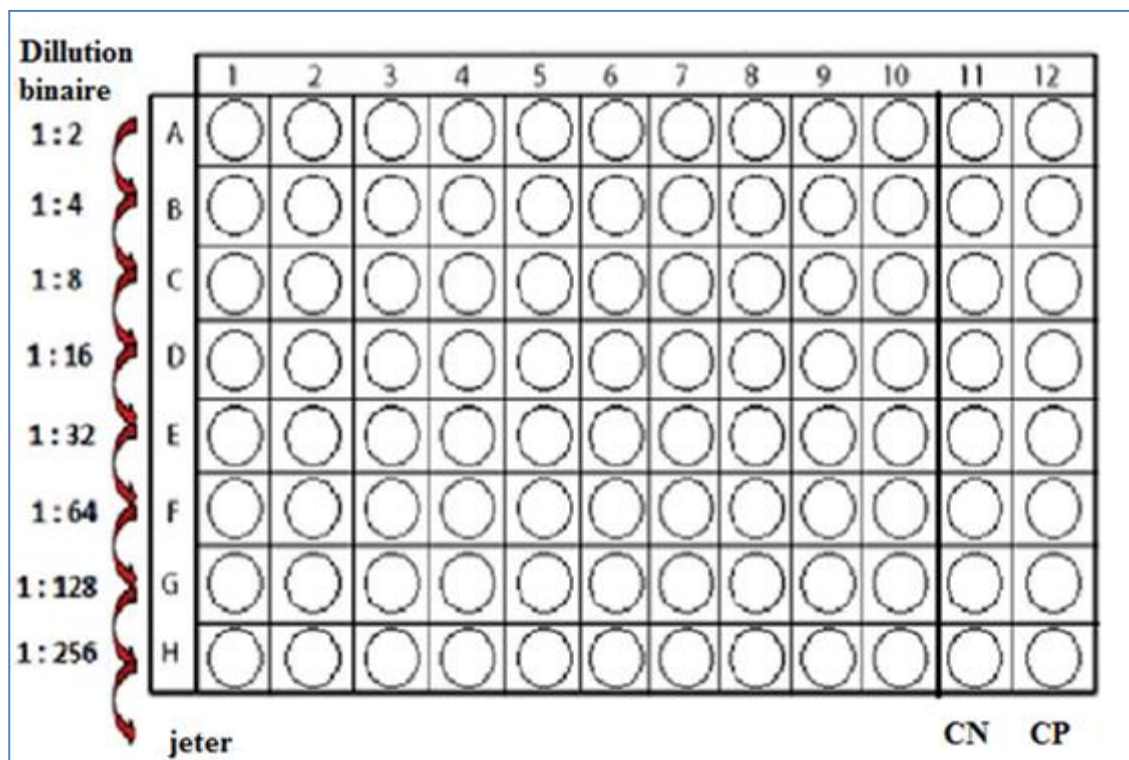


Figure 27 : Méthode de microdilution pour la détermination de la CMI.

- Détermination des concentrations minimales bactéricides/ fongicide (CMB/CMF)

La même gamme de concentration, réalisée par la technique de microdilution en milieu liquide, est utilisée pour déterminer la CMB/CMF des extraits et des huiles essentielles à tester.

Des prélèvements sont réalisés dans le puits témoin ainsi que dans tous les puits sans croissance, puis ils sont étalés en strie sur une gélose nutritive pour les bactéries ou sur une gélose Sabouraud pour la levure. Les boîtes ensemencées sont incubées pendant 24 heures à 37 °C. La plus faible concentration qui n'a pas donné une culture représente la CMB ou CMF.

Ensuite, les rapports CMB/CMI ou CMF/CMI pour les extraits et les huiles essentielles actives sont calculés afin d'évaluer leur efficacité relative et leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens.

I.4. Analyse statistique des données

Les tests sont effectués en *triplicata*. Les résultats obtenus sont exprimés en moyenne \pm Ecartype ($X \pm SEM$).

Les corrélations entre la réduction du radical DPPH, la réduction du fer, le contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés sont établies par régression linéaire.

L'analyse de variance (ANOVA) est appliquée aux données des différents tests afin d'évaluer leur significativité statistique. Les valeurs de p inférieures à 0,05 sont considérées comme significatives.

CHAPITRE II
Résultats et discussion

II.1. Partie chimique

II.1.1. Résultats de l'analyse physicochimique des plantes étudiées

Les deux plantes étudiées ont été soumises à une évaluation de leur teneur en eau, en matière sèche, minérale organique, les résultats de l'ensemble de ces analyses sont présentés dans la figure N° 28 suivante :

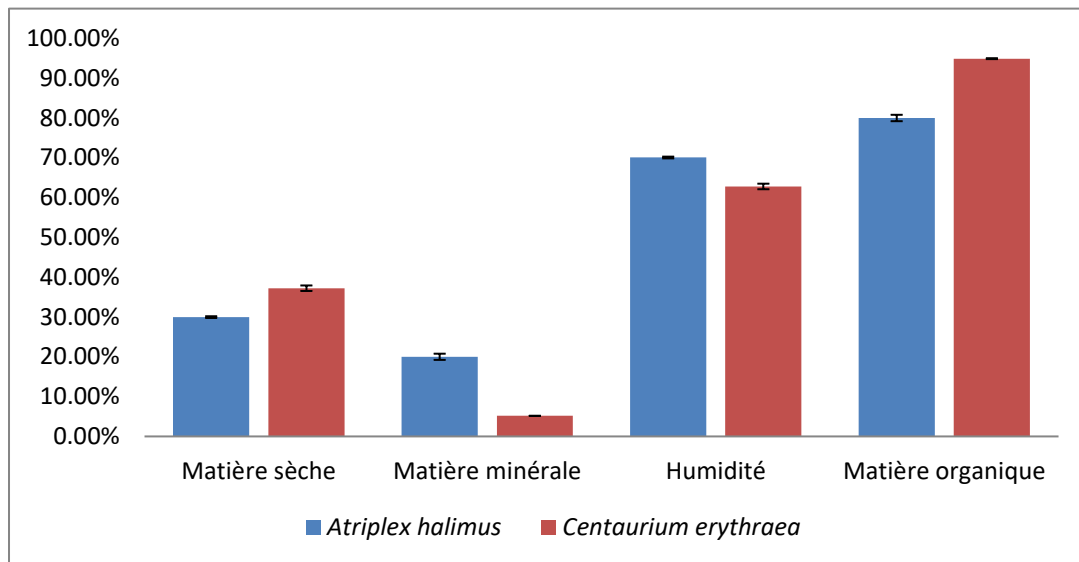


Figure 28 : Paramètres physicochimiques d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* : Humidité, matière sèche, minéraux et matière organique.

La teneur en humidité, correspondant à la quantité d'eau contenue dans les échantillons frais d'*Atriplex halimus* et de *Centaurium erythraea*, varie de 62% à 70,10% respectivement. Cette proportion représente plus de la moitié de la masse totale des plantes fraîches.

La plante *Atriplex halimus* se distingue par sa teneur élevée en eau, atteignant $70,04 \pm 0,02$ %, avec une proportion de matière sèche de $29,96 \pm 0,02$ %. Des études antérieures ont également confirmé cette caractéristique remarquable d'*Atriplex halimus*, mettant en évidence sa richesse en eau (Kam et Degen ; 1988). En revanche, *Centaurium erythraea* présente une teneur plus élevée en matière sèche, atteignant $37,22 \pm 0,06$ %, tandis que son contenu en eau s'élève à $62,77 \pm 0,06$ %. Il convient de noter que Zam *et al.* (2021) avaient quant à eux mesuré une teneur en eau de 6,91% dans la même plante mais à l'état sec.

Pour ces deux paramètres, il n'y a pas de différence significative entre *A. halimus* et *C. erythraea* ($p > 0,05$).

Les résultats révèlent une variation significative ($p < 0,05$) de la teneur en matière minérale entre les deux plantes. En effet, *Atriplex halimus* présente la teneur la plus élevée estimée à $20 \pm 0,07$ % de cendres, et $80 \pm 0,07$ % de matière organique. La teneur plus élevée en cendres d'*A. halimus* par rapport à *C. erythraea* est statistiquement validée par l'ANOVA ($p < 0,05$). Selon Benhammou *et al.* (2009), cette plante se caractérise par une concentration élevée en cendres. Cependant, ces résultats divergent de ceux rapportés par Walker *et al.* (2014), qui ont indiqué une teneur en cendres totales de 13,7 % pour *Atriplex halimus*.

D'autre part, des études menées par Abu-Zanat *et al.* (2012) ont révélé une teneur élevée en minéraux dans les feuilles d'*Atriplex halimus*, une plante originaire de Jordanie. De même, Andueza *et ses collaborateurs* (2005) ont enregistré une teneur totale en cendres de 29 % pour les feuilles d'*Atriplex halimus* et de 6 à 11 % pour les jeunes tiges. Ces divergences peuvent être attribuées aux différences entre les espèces végétales étudiées et aux conditions environnementales spécifiques.

En revanche, la petite centaurée présente une proportion moindre de cendres par rapport à l'*Atriplex*, atteignant environ $5,16 \pm 0,01$ %, avec une teneur élevée en matière organique, atteignant en moyenne $94,83 \pm 0,01$ %. Ces résultats concordent avec ceux mentionnés par Neacsu *et Gheorghe* (2021) et les tests statistiques indiquent que la proportion plus importante de matière organique chez *Centaureum erythraea* est statistiquement significative ($p < 0,05$).

II.1.2. Résultats des Rendements d'extraction

L'extrait aqueux déodorisé représente la fraction résiduelle résultant de l'hydrodistillation. Parallèlement, les extraits organiques, tels que les extraits hexaniques, acétoniques et hydrométhanoliques, sont obtenus à partir de macération successive dans des solvants de polarité croissante. Chacune de ces fractions se distingue par son rendement d'extraction qui sont illustrés dans la figure N° 29 :

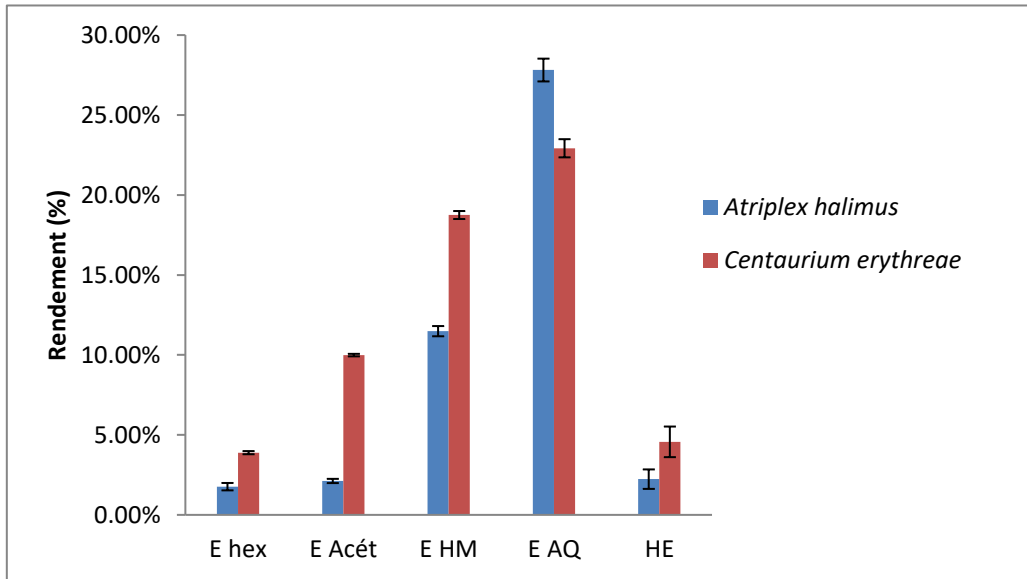


Figure 29 : Les rendements (%) d'extraction des différents extraits et huiles essentielles

Les résultats ci-dessus (Fig. 29) ont révélé des variations considérables en matière de rendement des différentes fractions, allant de 0,02 % à 28 %. L'analyse de variance montre un effet très significatif de l'espèce végétale sur les rendements d'extraction ($p < 0,001$), avec des valeurs plus élevées pour *Centaurium erythraea* par rapport à *Atriplex halimus*. L'extrait utilisé a également un effet très significatif sur les rendements selon l'ANOVA ($p < 0,001$).

Les rendements d'extraction les plus importants pour les deux espèces végétales étudiées à savoir *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* ont été obtenus en appliquant l'eau comme matrice d'extraction c'est à dire avec le solvant le plus polaire qui est l'extrait aqueux déodorisé, et ont été respectivement de l'ordre de $27,82\% \pm 0,007$ et $22,92\% \pm 0,005$, démontrant ainsi son efficacité pour récupérer les principes actifs polaires contenus dans ces plantes.

Le rendement de **l'extrait aqueux déodorisé** d'*Atriplex halimus* enregistré est similaire à celui rapporté par Slama *et al.* (2021) et Naboulsi *et al.* (2022), qui ont respectivement trouvé des rendements de 27,23 % et 26,94 %. Des valeurs légèrement inférieures, de l'ordre de 19.87, 20.33, 25.1% ont été enregistrées par Khadidja *et al.* (2020); Bouaziz *et al.* (2021) ; Zennaf *et al.* (2022).

Pour *Centaurium erythraea*, l'étude d'El Ouadni *et al.* (2023) a rapporté un rendement de 21.3 %, cohérent avec notre résultat. De plus, Sefi et ses collaborateurs (2011) ont

déterminé un rendement plus faible estimé à 12 % pour l'extrait aqueux obtenu par ébullition sous reflux.

Par la suite, **l'extrait hydrométhanolique** a généré des rendements de $11,49 \pm 0,003$ % pour *Atriplex halimus* et $18,75 \pm 0,002$ % pour *Centaurium erythraea*. Ce dernier est proche de ceux rapportés par El Ouadni *et al.* (2023) et est également inférieur à celui mentionné par Loizzo *et al.* (2008) pour l'extrait méthanolique. D'autre part, Feriha *et al.* (2019) ; Naboulsi *et al.* (2022) ont enregistré des rendements de l'ordre de 24,58% et 1,14% respectivement pour l'extrait hydrométhanolique d'*Atriplex halimus*, ce qui ne concorde pas avec nos résultats.

L'extraction à l'acétone a produit des rendements respectifs de $9,99 \pm 0,0007$ % pour *Centaurium erythraea* et de $2,12 \pm 0,001$ % pour *Atriplex halimus*. Ce dernier résultat se révèle supérieur à celui enregistré par Khadidja et ses collaborateurs en 2020 (1,56 %) et par Feriha et ses associés en 2019 (0,1 %).

Les rendements de **l'extrait hexanique** se sont révélés être les plus faibles avec $1,76 \pm 0,002$ % pour *Atriplex halimus*, valeur différente de celle mentionnée par Khadidja *et al.* (2020). Pour *Centaurium erythraea*, le rendement de $3,89 \pm 0,0009$ % s'est montré très bas quand comparé aux résultats rapportés par Loizzo *et al.* en 2008. Cela montre donc que l'hexane s'est avéré la matrice la moins performante pour l'extraction des principes actifs des deux plantes.

Concernant l'extraction **des huiles essentielles**, les deux espèces ont présenté des rendements faibles nécessitant plusieurs distillations afin d'obtenir des quantités suffisantes aux analyses. Selon les données de la figure 29, *Centaurium erythraea* a démontré le rendement en huile essentielle le plus élevé, atteignant $0,045 \pm 0,009$ %, avec une coloration jaune foncé. Cette valeur excède celle rapportée par Jerković *et al.* (2012) pour cette plante en Croatie, qui était de 0,02 %.

À l'inverse, *Atriplex halimus* n'a révélé que des traces d'huile de couleur jaune clair. En raison du matériel utilisé, seule une quantité infime de $0,02 \pm 0,0064$ % a pu être récupérée. Cette plante est connue comme une plante halophyte qui pousse dans les sols salins (Kumari *et al.*, 2019) , alors que la salinité des sols est l'un des facteurs environnementaux qui

influencent la qualité et la quantité des huiles essentielles produites par les plantes médicinales aromatiques (Duarte et al., 2017).

Le résultat présenté dans cette étude est en accord avec celui obtenu par Benhadria *et al.* (2017). Cependant, il reste inférieur à celui obtenu par Khaldi *et al.* (2015) dans une étude portant sur la même plante récoltée dans la région de Mascara. Cette disparité peut être attribuée à divers facteurs. Il est possible que des variations environnementales entre les périodes de récolte aient influencé la composition chimique de la plante, ce qui aurait pu avoir un impact sur le rendement en huile essentielle. Selon Bakkali *et al.* (2008), la qualité, la quantité et la composition du produit d'extraction peuvent varier en fonction du climat, de la composition du sol, de l'organe de la plante, de son âge et de son stade de cycle végétatif.

D'autres études antérieures portant sur des espèces appartenant au genre *Atriplex*, ont obtenu des rendements différents que le nôtre. Par exemple, Zine *et al.* (2021) ont observé un rendement de $0,09 \pm 0,001\%$ pour *Atriplex semibaccata*, valeur supérieure à celle obtenue dans notre étude. De même, les travaux d'Ammar *et al.* (2012) sur *Atriplex inflata* ont permis d'établir un rendement de 0,011%, inférieur à ce que nous avons obtenu.

II.1.3. Résultats de la phytochimie qualitative des extraits préparés

II.1.3.1. Caractérisation en tube

L'analyse phytochimique a été établie dans le but de déterminer les principes actifs responsables des activités biologiques connues des plantes. Grâce à des réactions rapides et simples, nous avons identifié différents composés chimiques recherchés dans les extraits préparés des deux plantes étudiées. Ces composés comprennent les stérols, les saponosides, les tanins, les composés phénoliques, les composés réducteurs, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les coumarines et les protéines.

Les résultats des différentes analyses sont consignés dans le tableau N° 5 :

Tableau 5: Screening phytochimique des extraits des deux plantes étudiées.

Plante	Extrait	Groupes chimiques								
		<i>Alc</i>	<i>St</i>	<i>Sp</i>	<i>Car</i>	<i>Pr</i>	<i>Tn</i>	<i>Flv</i>	<i>PP</i>	<i>Cm</i>
<i>Atriplex halimus</i>	E Hex	+	+	-	+	-	-	-	-	+
	E Acét	+	+	-	+	-	-	+	+	-
	E HM	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	E AQ	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Centaurium erythraea</i>	E Hex	-	+	-	+	-	-	-	-	+
	E Acét	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	E HM	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	E AQ	-	-	+	+	+	+	+	+	-

E Hex: extrait hexanique; *E Acét*: extrait acétonique; *E HM*: extrait hydrométhanolique; *E AQ*: extrait aqueux; *St*: stérols ; *Sp*: saponosides; *Tn*: tanins ; *Car*: carbohydrates; *Alc*: alcaloïdes; *Flv*: flavonoïdes; *Cm*: coumarines ; *Pr*: protéines ; *PP*: polyphénols.

Les résultats des tests ont permis d'identifier une variété de métabolites présents dans les différents extraits des deux plantes étudiées dont :

- **Carbohydrates** : La présence d'un précipité rouge dans tous les extraits des deux plantes confirme la présence de carbohydrates.
- **Polyphénols** : Les polyphénols ont été détectés dans tous les extraits des deux plantes, à l'exception des extraits hexaniques.
- **Saponosides** : Les saponosides sont détectés dans les extraits hydrométhanoliques et aqueux des deux plantes, ce qui est confirmé par la formation d'une mousse d'une hauteur d'environ deux centimètres. En revanche, ils ne sont pas présents dans les fractions hexaniques et acétoniques. Cette absence de saponosides dans les solvants hexaniques et acétoniques indique que ces deux solvants n'ont pas été capables d'extraire les saponosides présents dans les plantes.

- **Stérols** : Les stérols sont présents dans les fractions hexaniques et acétoniques des deux plantes sélectionnées, tandis qu'ils sont absents des extraits hydrométhanoliques et aqueux, qui sont les extraits les plus polaires.
- **Tanins** : Les tanins totaux sont présents dans tous les extraits, à l'exception des extraits d'hexane et de l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus*.
- **Flavonoïdes** : Une coloration rouge violacée est observée dans les extraits aqueux, acétoniques et hydrométhanoliques des deux plantes, indiquant la présence de flavonoïdes.
- **Alcaloïdes** : Un précipité blanc est observé dans les extraits hexaniques et acétoniques d'*Atriplex halimus*, ainsi que dans l'extrait acétonique de *Centaurium erythraea*, confirmant la présence d'alcaloïdes.
- **Coumarines** : Les coumarines sont présentes dans les extraits hexaniques des deux plantes, ainsi que dans l'extrait acétonique de *Centaurium erythraea*.
- **Protéines** : Une coloration rose dans la couche éthanolique est observée uniquement dans les extraits aqueux et hydrométhanoliques des deux plantes, ainsi que dans l'extrait acétonique de *Centaurium erythraea*, indiquant la présence de protéines.

Les composés phytochimiques bioactifs présents dans les plantes médicinales constituent la base du potentiel thérapeutique de ces dernières et sont précieux dans le traitement de diverses maladies. Ce qui confère aux plantes leur importance médicinale qui réside dans leur capacité à produire des composés phytochimiques bioactifs capables d'induire des actions physiologiques spécifiques chez l'être humain (Sonam *et al.*, 2017).

En comparant les résultats de notre étude phytochimique sur *Atriplex halimus* avec ceux de l'étude de Feriha *et al.* (2019), certaines similarités sont ainsi observées. Premièrement, les deux études ont révélé la présence d'alcaloïdes et de composés réducteurs, ainsi que l'absence de tanins, de saponines et de coumarines dans l'extrait acétonique. De plus, la confirmation de la présence de tanins, de flavonoïdes, de saponines et de composés réducteurs, contre l'absence de coumarines, a été rapportée dans l'extrait hydrométhanolique des deux analyses. Néanmoins, une différence notable réside dans le fait que notre étude a mis en évidence la présence de flavonoïdes et de stérols dans l'extrait acétonique, alors que Feriha *et al.* ne l'ont pas constaté. À l'inverse, ces derniers ont détecté la présence d'alcaloïdes et de stérols dans l'extrait hydrométhanolique, contrairement à nos résultats.

Par ailleurs, l'analyse de Rahman *et al.* (2011) a corroboré nos observations concernant l'absence de flavonoïdes dans l'extrait hexanique d'*Atriplex halimus*. Cette étude a également démontré la présence d'alkaloïdes, de stérols, de flavonoïdes et de saponines dans l'extrait méthanolique.

Bien que les résultats de Khadidja *et al.* (2020) confirment les nôtres quant à la présence de flavonoïdes et de tanins dans l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus*, ainsi que de flavonoïdes et de tanins dans l'extrait acétonique contre l'absence de saponines, des divergences subsistent sur la présence de flavonoïdes et de tanins dans l'extrait hexanique.

Par ailleurs, l'étude de Zennaf *et al.* (2022) sur l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* préparé par infusion a fait état de la présence de polyphénols, tanins, flavonoïdes et saponines, en accord avec nos observations sur l'extrait aqueux déodorisé.

Plusieurs autres études se sont intéressées à la composition chimique d'*Atriplex halimus*. Yahia *et al.* (2023) ont ainsi révélé, dans un extrait méthanolique, la présence de polyphénols, tanins galliques, terpénoïdes, flavonoïdes et alcaloïdes, ainsi que l'absence de tanins catéchiques et de saponines. Par ailleurs, Chaouche *et al.* (2012) ont analysé des extraits de feuilles provenant de deux régions, préparés par reflux dans un mélange acétone-méthanol, mettant en évidence la présence d'alkaloïdes, tanins et flavonoïdes dans les deux échantillons, mais non de coumarines, terpénoïdes ou saponines. De même, l'analyse des extraits de feuilles menée par Bounouar *et al.* (2022) a révélé la présence de flavonoïdes, tanins, saponines, mucilages, glycosides et protéines, alors que les alcaloïdes, quinones, coumarines, terpénoïdes et anthraquinones étaient absents.

Ces différentes études démontrent la richesse et la diversité de la composition phytochimique d'*Atriplex halimus*, même si certaines divergences dans les résultats peuvent s'expliquer par les conditions et méthodes d'extraction employées.

S'agissant de la petite centaurée, de nombreuses études se sont intéressées à sa composition. Ces travaux ont mis en exergue la présence d'acides phénoliques, d'isocoumarines, de tritèrènes, de xanthones et d'acides aminés essentiels d'après Tahraoui *et al.* (2010). Par ailleurs, Aquino *et al.* (1985) ont isolé plusieurs stérols dans la fraction étherée. Plus récemment, l'analyse par Dordevic *et al.* (2017) de l'extrait méthanolique a révélé des composés phénoliques, flavonoïdes, xanthones et terpénoïdes. De même, la caractérisation

phytochimique établie par Bozunovic *et al.* (2018) dans les extraits méthanolique et hydrométhanolique a permis de détecter des acides phénoliques, flavonoïdes, xanthones et sécoiridoides.

II.1.3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

En vue d'appréhender la composition chimique des extraits et huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*, une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée. Cette méthode est communément employée pour séparer les métabolites secondaires, les acides aminés, les protéines, les peptides, les hormones et les pesticides (Valle et al., 2016).

L'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits et huiles essentielles a été réalisée sur support de silice, avec quatre systèmes de solvants distincts. Les composés ont ainsi pu être séparés et visualisés sous lampes UV à 254 nm et 366 nm, comme illustré dans les figures N° 30-31-32 et 33. Leurs valeurs de rapport frontal (Rf) respectives sont consignées dans les tableaux ci-dessous.

- **Extraits apolaires**

Les extraits apolaires ont été analysés dans la phase mobile composée de ligroïne et d'acétate d'éthyle selon un ratio de 2:1. Le chromatogramme montré dans la figure N° 30 a révélé deux taches aux valeurs de Rf de 0,65 et 0,73 observées sous UV à 366 nm dans l'extrait hexanique d'*Atriplex halimus*. De même, une seule tache à Rf de 0,80 a été observée sous UV à 254 nm ainsi que deux taches aux Rf de 0,71 et 0,90 visualisées sous UV à 366 nm dans l'extrait hexanique de *Centaurium erythraea* (tableau N° 6).

Tableau 6: CCM des extraits apolaires ; développant ligroïne/acétate d'éthyle (2/1).

Plante	Extrait	Révélation à 254 nm		Révélation à 366 nm	
		Couleur	Rf	Couleur	Rf
<i>Atriplex halimus</i>	E. hexanique	/	/	Bleue	0.65
				Orange	0.73
<i>Centaurium erythraea</i>	E. hexanique	Gris clair	0.80	Orange	0.71
				Bleue	0.90

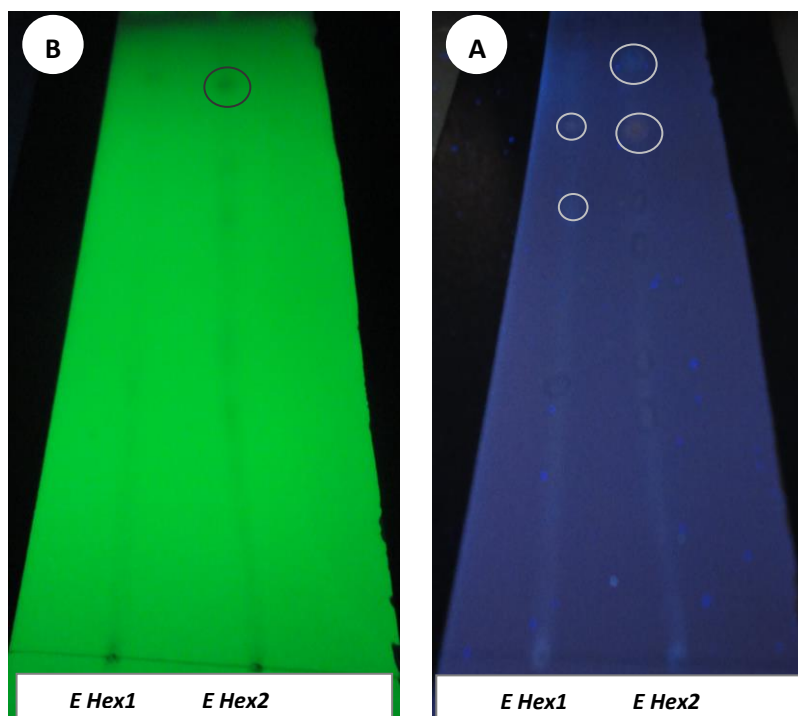


Figure 30 : Chromatogrammes des extraits apolaires d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* obtenus par le système de solvants: ligroïne/acétate d'éthyle (2/1).

A: Révélation à 254nm; B: Révélation à 366nm.

- **Extraits polaires**

Les extraits polaires ont été examinés dans deux phases mobiles. En utilisant le système de solvants (v) : n-butanol/acide acétique/eau (60/15/25), l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus* présente une seule tache à Rf de 0,93 visualisée sous UV à 254 nm. Par ailleurs, l'extrait hydrométhanolique indique une tache à Rf de 0,89 observée sous UV à 254 nm et une tache à Rf de 0,06 visualisée sous UV à 366 nm. De plus, l'extrait aqueux montre une tache à Rf de 0,70 observée sous UV à 366 nm.

Pour ce qui est de *Centaurium erythraea*, l'extrait acétonique révèle trois taches observées sous UV à 254 nm aux Rf de 0,58, 0,68 et 0,93 et une tache à Rf de 0,58 visualisée sous UV à 366 nm. En outre, l'extrait hydrométhanolique présente quatre taches aux Rf de 0,40, 0,58, 0,68 et 0,89 observées sous UV à 254 nm et deux taches à Rf de 0,58 et 0,68 observées sous

UV à 366 nm. De surcroît, l'extrait aqueux indique trois taches à 254 nm aux Rf de 0,44, 0,58 et 0,68, et deux taches aux Rf de 0,44 et 0,68 observées sous à 366 nm (Figure N° 31).

Il est intéressant de noter que le composé au Rf de 0,58 se retrouvait dans l'extrait acétonique, l'extrait hydrométhanolique et l'extrait aqueux de *Centaurium erythraea*, démontrant que ces extraits contiennent le même composé. De même, ces extraits contiennent également le même composé à un Rf de 0,68. La catéchine utilisée comme référence (Rf de 0,89) a été détectée dans les extraits hydrométhanoliques des deux plantes examinés (tableau N° 7).

Tableau 7: CCM des extraits polaires ; développant n-butanol/acide acétique/eau (60/15/25).

<i>Plante</i>	<i>Extrait</i>	<i>Révélation à 254 nm</i>		<i>Révélation à 366 nm</i>	
		<i>Couleur</i>	<i>R_f</i>	<i>Couleur</i>	<i>R_f</i>
<i>Atriplex halimus</i>	E. acétonique	Gris sombre	0.93	/	/
	E. hydro- méthanolique	Gris pale	0.89	Bleue claire	0.06
	E. Aqueux	/	/	Bleue foncé	0.70
<i>Centaurium erythraea</i>	E. acétonique	Gris pale	0.58	Bleue claire	0.59
		Gris sombre	0.68		
		Gris sombre	0.93		
	E. hydrométhanolique	Gris pale	0.40	Verte jaunâtre	0.58
		Gris pale	0.58	Verte jaunâtre	0.68
		Gris sombre	0.68		
		Gris pale	0.89		
	E. Aqueux	Gris pale	0.44	Bleue	0.44
		Gris pale	0.58	Verte jaunâtre	0.68
		Gris sombre	0.68		
<i>Etalons</i>	Catéchine	Gris pale	0.89	/	/
	Acide gallique	Gris sombre	0.87	/	/

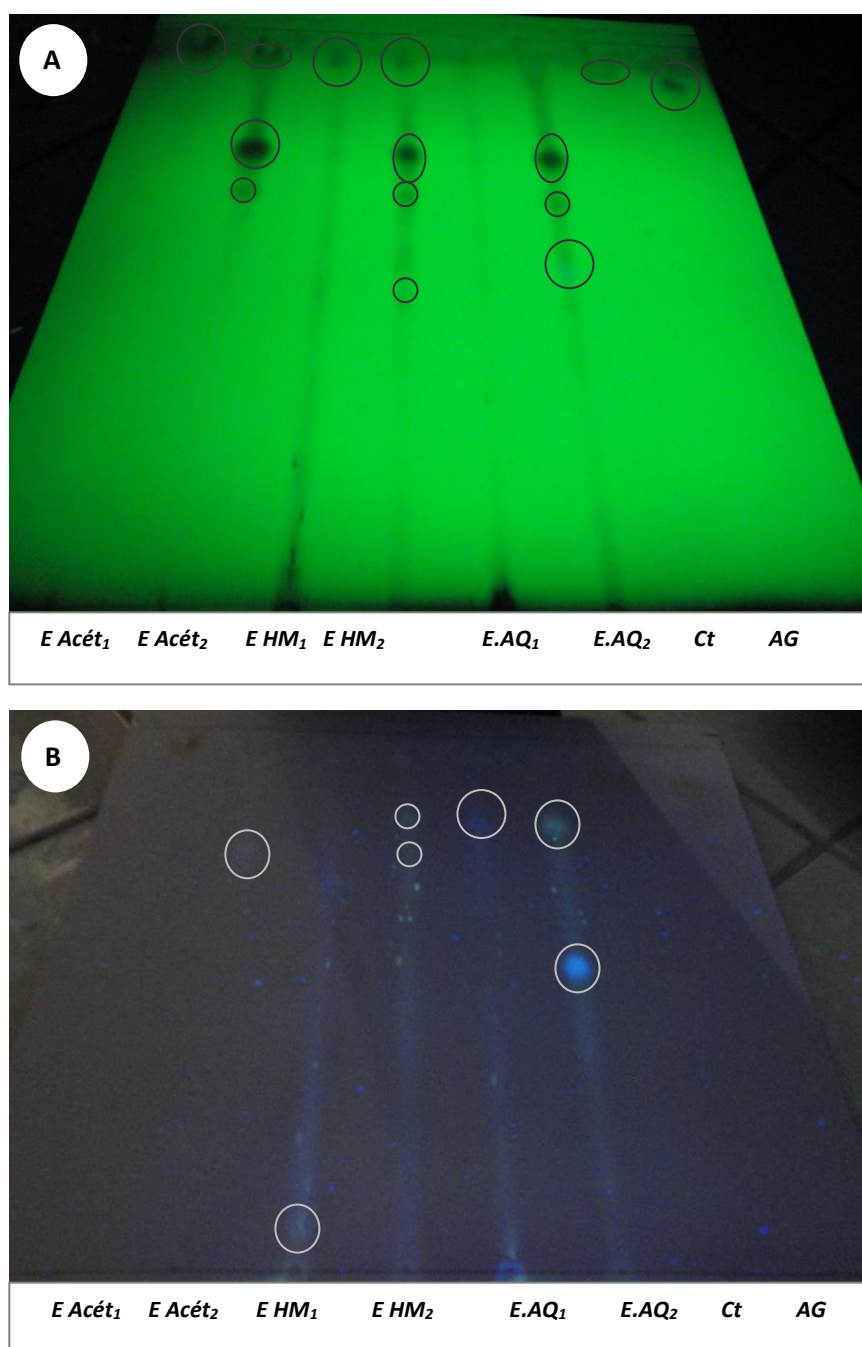


Figure 31 : Chromatogrammes des extraits polaires d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* obtenus par le système de solvants: n-butanol/acide acétique/eau (60/15/25).

A: Révélation à 254nm; B: Révélation à 366nm.

En employant le système de solvants : chloroforme/méthanol/eau (65/35/5), aucune tache n'a été constatée pour l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus*, alors que l'extrait hydrométhanolique présente cinq taches aux Rf de 0,36, 0,54, 0,75, 0,79 et 0,83 observées sous UV à 254 nm et trois taches aux Rf de 0,54, 0,79 et 0,83 visualisées sous UV à 366 nm. Par ailleurs, l'extrait aqueux contient un composé à Rf de 0,83 observé sous à 254 nm.

Pour l'autre plante, *Centaurium erythraea*, deux taches sont remarquées dans l'extrait acétonique aux Rf de 0,79 et 0,83 visualisées sous UV à 254 nm et une seule tache à Rf de 0,83 sous UV à 366 nm. De surcroît, l'extrait hydrométhanolique et l'extrait aqueux présentent une tache observée sous UV à 254 nm à Rf de 0,83 et 0,79 respectivement (tableau N°8).

D'après ces résultats, on constate que le composé au Rf de 0,79 se retrouve dans l'extrait hydrométhanolique d'*Atriplex halimus* ainsi que dans les extraits acétonique et aqueux de *Centaurium erythraea*. De même, le composé au Rf de 0,82 était présent dans l'extrait hydrométhanolique d'*Atriplex halimus* et les extraits acétonique et hydrométhanolique de *Centaurium erythraea*. Ce Rf correspond à la catéchine utilisée comme étalon (figure N°32).

Tableau 8: CCM des extraits polaires ; développant chloroforme/méthanol/eau (65/35/5).

<i>Plante</i>	<i>Extrait</i>	<i>Révélation à 254 nm</i>		<i>Révélation à 366 nm</i>	
		<i>Couleur</i>	<i>R_f</i>	<i>Couleur</i>	<i>R_f</i>
<i>Atriplex halimus</i>	E. acétonique	/	/	/	/
	E. hydro-méthanolique	Grise pale	0.36	Bleue	0.54
		Grise pale	0.54		
		Grise pale	0.75		
		Grise pale	0.79		
		Grise sombre	0.83		
	E. Aqueux	Grise pale	0.83	/	/
<i>Centaurium erythraea</i>	E. acétonique	Grise pale	0.79	Bleue	0.83
		Grise sombre	0.83		
	E. hydro-méthanolique	Grise pale	0.83	/	/
	E. aqueux	Grise pale	0.78		
<i>Etalons</i>	Catéchine	Grise sombre	0.83	Noire	0.83
	Acide gallique	Grise pale	0.62	Noire	0.62

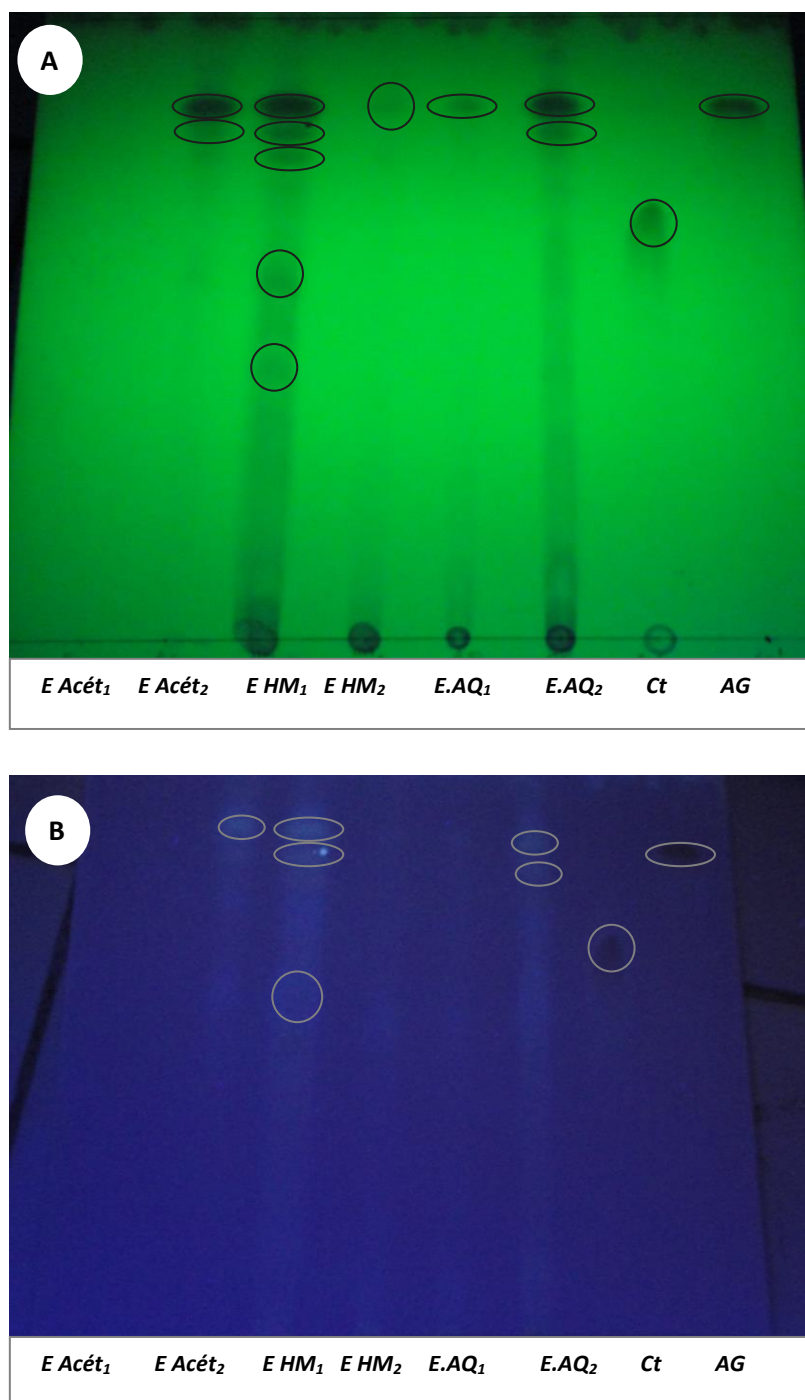


Fig. 32 : Chromatogrammes des extraits polaires d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* obtenus par le système de solvants: chloroforme/méthanol/eau (65/35/5).

A: Révélation à 254nm; B: Révélation à 366nm.

- Les huiles essentielles

Les chromatogrammes montrés sur la figure N° 33 illustrent la présence de deux taches aux Rf de 0,35 et 0,56 observées sous UV à 254 nm ainsi que trois taches observées sous UV à 366 nm aux Rf de 0,20, 0,35 et 0,56 dans l'huile essentielle d'*Atriplex halimus*.

De plus, l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* indique trois taches observées sous UV à 254 nm avec des valeurs de Rf de 0,57, 0,67 et 0,89 et six taches observées sous UV à 366 nm aux Rf de 0,12, 0,18, 0,26, 0,57, 0,67 et 0,79 (tableau 9).

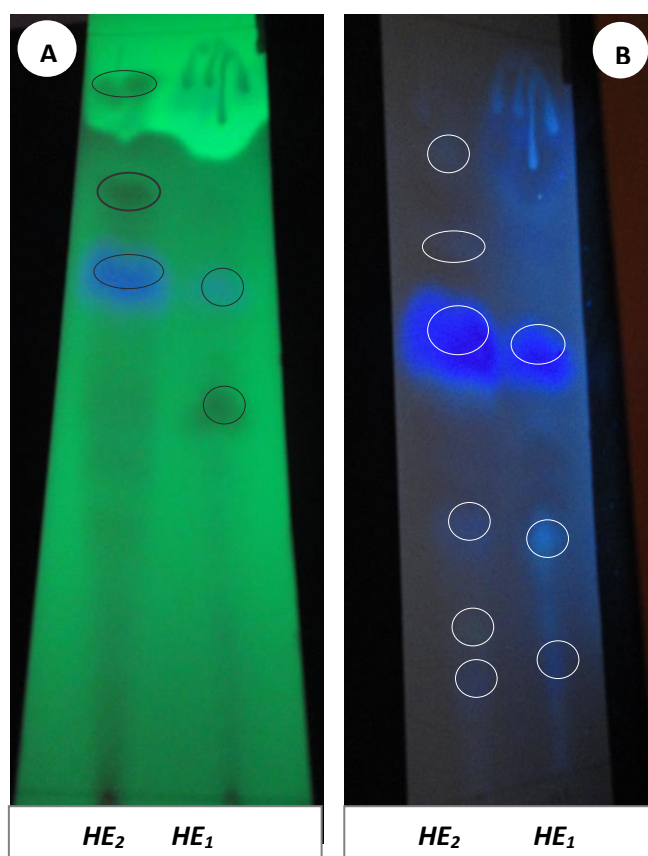


Figure 33 : Chromatogrammes des huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* obtenus par le système de solvants: ligroïne/acétate d'éthyle/hexane (2/1/1).

A: Révélation à 254nm; B: Révélation à 366nm.

Tableau 9:CCM des huiles essentielles; développant ligroïne/acétate d'éthyle/hexane (2/1/1).

<i>Plante</i>	<i>Révélation à 254 nm</i>		<i>Révélation à 366 nm</i>	
	<i>Couleur</i>	<i>R_f</i>	<i>Couleur</i>	<i>R_f</i>
<i>Atriplex halimus</i>	Grise	0.35	Bleue	0.20
	Bleue claire	0.56	Bleue claire	0.35
			Bleue foncée	0.56
<i>Centaurium erythraea</i>	Bleue foncée	0.57	Bleue	0.12
	Grise	0.67	Verte	0.18
	Grise	0.89	Bleue	0.26
			Bleue foncée	0.57
			Bleue claire	0.67
			Bleue claire	0.79

Les différentes valeurs de R_f sont révélatrices de la présence de phytoconstituants dans nos extraits et huiles essentielles. Ainsi, selon Hasibuan *et al.* (2020), une valeur de R_f élevée traduit une plus grande affinité pour la phase mobile ainsi qu'une polarité moindre, tandis qu'une valeur de R_f faible caractérise une forte affinité pour la phase stationnaire et une polarité relativement plus importante. Cela permet de sélectionner le système de solvants adapté à la séparation ultérieure des composés à partir de ces extraits et huiles essentielles végétales.

Par ailleurs, les taches observées sur les divers chromatogrammes présentent différentes couleurs bleue, jaune, brune, orange et grise pouvant correspondre à plusieurs classes de métabolites secondaires. Généralement, les fluorescences bleue, jaune et verte sous UV/366nm caractérisent les stérols et les terpènes. La majorité des coumarines se révèlent sous des fluorescences bleue, violette, rose, verte, jaune et pourpre. Les flavonoïdes présentent également diverses colorations fluorescentes (Roger *et al.*, 2011). La teinte orange spécifie les xanthones, jaunâtre pour les flavonols et/ou auronnes, bleue et pourpre pour les flavones méthylées (N'guessan *et al.*, 2009).

Il importe de souligner que lors de la chromatographie sur couche mince, la séparation des composés naturels ne mène pas à l'obtention de composés purs du fait de la persistance de composés polluants ou indésirables (Warsinah *et al.*, 2020).

II.1.4. Résultats de la phytochimie quantitative des extraits

Afin de déterminer la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés, les extraits ont subi à une analyse quantitative.

II.1.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux (obtenu par la méthode de Folin-Ciocalteu) sont montrés ci-après. Ils sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait pur.

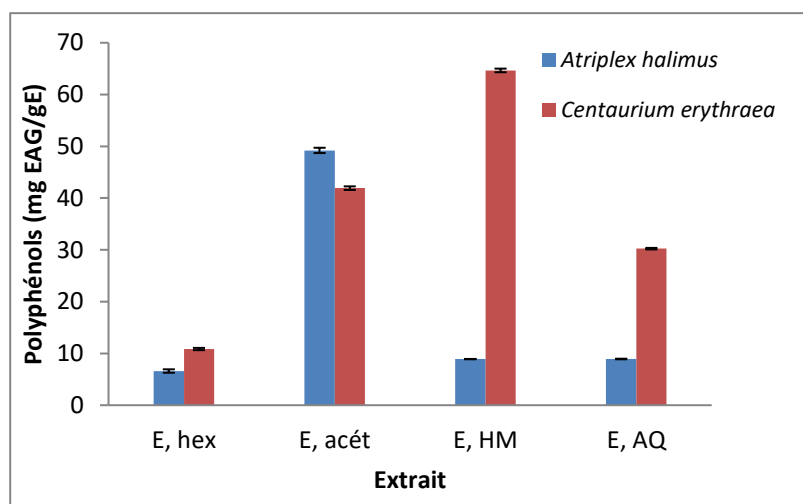


Figure 34: Teneur moyenne en polyphénols totaux des extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

Les résultats ont révélé des variations significatives ($p < 0.05$) dans les teneurs en polyphénols totaux entre les extraits des deux plantes étudiées.

Pour *Atriplex halimus*, les extraits acétonique et aqueux ont présenté les teneurs les plus élevées, avec des valeurs respectives de $49,21 \pm 0,51$ mg EAG/g E et $8,92 \pm 0,05$ mg EAG/g E. En revanche, les extraits hydrométhanolique ($8,90 \pm 0,03$ mg EAG/g E) et hexanique ($6,6 \pm 0,3$ mg EAG/g E) ont montré des quantités plus faibles. Ces résultats

statistiques significatifs confirment donc que l'espèce *Atriplex halimus* se caractérise par sa richesse en composés phénoliques, en particulier dans les extraits acétonique et aqueux.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Khadidja *et al.* (2020), qui rapportaient que l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus* était le plus riche en polyphénols totaux ($28,75 \pm 10,78$ EAG/g E, cette valeur reste inférieure à celle enregistrée dans notre étude), tandis que l'extrait hexanique était le plus pauvre ($13,36 \pm 0,41$ mg EAG/g E). Cela pourrait indiquer que l'acétone est le plus approprié pour l'extraction des polyphénols de cette plante. D'autres recherches ont également démontré l'efficacité de l'acétone à une concentration de 70% pour l'extraction des phénols à partir des échantillons de plantes séchées et broyées (Sulaiman *et al.*, 2011).

Cependant, les résultats diffèrent de ceux de Naboulsi *et al.* (2022), qui ont trouvé des taux plus élevés de polyphénols dans l'extrait aqueux ($36,29 \pm 2,18$ mg EAG/g E) et l'extrait hydrométhanolique ($33,28 \pm 2,06$ mg EAG/g E) d'*Atriplex halimus*. De même, l'étude de Bouaziz *et al.* (2021) a révélé une teneur plus élevée en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* de M'Sila ($37,93 \pm 0,002$ μ g EAG/g E, une valeur supérieure à nos résultats).

D'autres études réalisées par Zennaf *et al.* (2022), Slama *et al.* (2021) et Rached *et al.* (2010) ont obtenu des teneurs en polyphénols totaux plus élevées dans l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* que celles que nous avons obtenues ($11,75$ mg EAG/g E, $12,89 \pm 1,06$ mg EAG/g E et $16,50 \pm 0,89$ mg EAG/g E respectivement). En revanche, Bounouar *et al.* (2022) ont trouvé une teneur plus faible que la nôtre ($1,09 \pm 0,08$ mg EAG/g E). Ces études ont également signalé que l'extrait méthanolique contenait $5,24 \pm 0,07$ mg EAG/g E, ce qui est inférieur à ce qui a été obtenu pour l'extrait hydrométhanolique d'*Atriplex halimus*.

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait hydrométhanolique d'*Atriplex halimus* se rapproche de celle trouvée par Benhammou *et al.* (2009), qui ont déterminé une teneur de $10,12 \pm 2,24$ mg EAG/g E dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*Atriplex halimus*.

Pour *Centaureum erythraea*, les résultats ont révélé que le taux de polyphénols totaux présents dans les extraits variait selon le solvant utilisé. L'extrait hydrométhanolique a présenté la plus grande quantité de polyphénols totaux ($64,66 \pm 0,35$ mg EAG/gE), suivi de

l'extrait acétonique ($41,92 \pm 0,34$ mg EAG/gE), de l'extrait aqueux ($30,23 \pm 0,14$ mg EAG/gE) et de l'extrait hexanique ($10,8 \pm 0,21$ mg EAG/gE).

Cependant, il convient de noter que l'extrait hydrométhanolique a présenté une teneur en polyphénols totaux inférieure à celle de l'extrait acétonique, ce qui suggère que les composés phénoliques de *Centaurium erythraea* ont été extraits de manière plus efficace par des solvants présentant une polarité plus élevée. D'autre part, il est remarquable que malgré sa polarité plus élevée, l'extrait aqueux présente une teneur en polyphénols totaux plus faible que les extraits hydrométhanolique et acétonique. Cette disparité pourrait être attribuée à l'utilisation de températures élevées lors de l'extraction. Selon Antony et Farid (2022), les températures élevées peuvent favoriser des rendements plus importants en polyphénols, mais peuvent également entraîner leur dégradation. Des études antérieures sur l'extrait aqueux préparé par décoction soutiennent nos résultats (El Ouadni *et al.*, 2023 ; Mihaylova *et al.*, 2019).

Contrairement à nos résultats, Merghem et Dahamna (2020) ont observé des teneurs élevées en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux de *Centaurium erythraea* ($54,27 \pm 0,02$ mg EAG/gE, supérieur au nôtre) par rapport à l'extrait hydrométhanolique ($35,45 \pm 0,023$ mg EAG/gE, inférieur à notre résultat).

Une étude réalisée par Sefi et ses collègues (2011) a révélé une teneur en polyphénols totaux équivalente à $32,99$ mg EAG/gE dans l'extrait aqueux de *Centaurium erythraea* préparé par décoction, ce qui se rapproche de nos résultats. En revanche, Bentahar *et al.* (2016) ont enregistré une teneur de $49,62 \pm 0,27$ mg EAG/gE en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux. De plus, le taux de polyphénols totaux ($4,08 \pm 0,03$ mg EAG/gE) déterminé par Gadjalova et Mihaylova (2019) dans cet extrait était inférieur à celui enregistré dans la présente étude.

Une autre étude menée par Aazza *et al.* (2023) a déterminé une teneur en polyphénols totaux de $21,4 \pm 0,83$ mg EAG/gE dans un extrait hydroalcoolique, ce qui est nettement inférieure à celle de la présente étude.

Ces variations peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Les conditions environnementales telles que la température, la salinité, le stress hydrique et l'intensité lumineuse, ainsi que les facteurs biologiques tels que le génotype, l'organe et l'ontogénèse, ce

qui peut contribuer aux différences de teneur en composés phénoliques des plantes (Ydjedd *et al.*, 2017). De plus, la nature chimique des polyphénols, la taille des particules de l'échantillon, la méthode d'extraction utilisée et la présence de substances interférentes sont également des facteurs qui influencent l'extraction de ces composés. La solubilité des polyphénols dépend étroitement de la polarité du solvant utilisé ainsi que de leur degré de polymérisation (Naczki et Shahidi, 2004). Généralement, les solvants plus polaires permettent d'extraire des quantités plus (Iloki-Assanga *et al.*, 2015).

II.1.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Notre étude a permis de quantifier, au moyen d'une méthode spectrométrique utilisant le chlorure d'aluminium, les concentrations totales en flavonoïdes dans les extraits de deux plantes soumises à notre investigation, à savoir *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*. La concentration en flavonoïdes a été calculée à partir d'une régression linéaire appliquée à une courbe d'étalonnage, et exprimée en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme d'extrait sec. Le récapitulatif des teneurs en flavonoïdes totaux détectées dans les extraits testés figure dans le graphique N° 35.

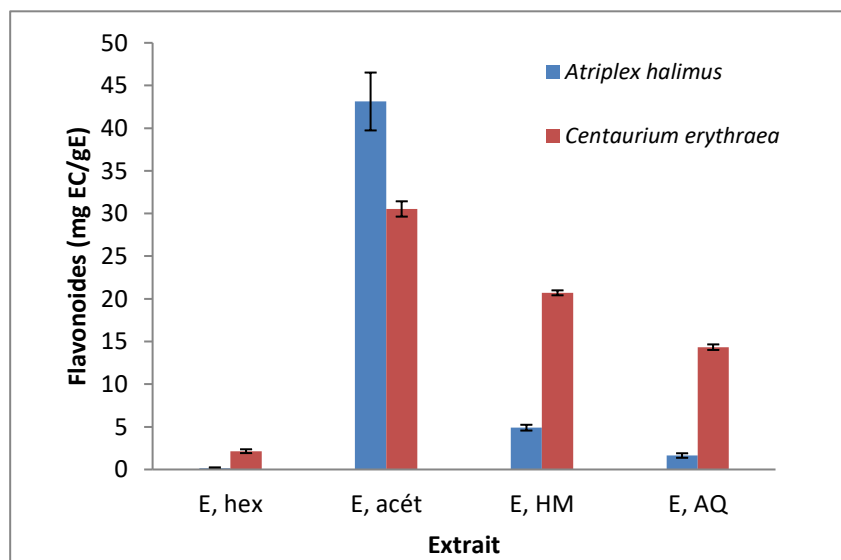


Figure 35: Teneur moyenne en flavonoïdes des extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

L'analyse de variance a révélé des différences très hautement significatives dans les teneurs en flavonoïdes totaux entre les espèces ($p < 0,0001$) et entre les différents types d'extraits ($p < 0,0001$).

Concernant *A. halimus*, nous avons constaté que l'extrait acétonique présentait la plus importante quantité de flavonoïdes totaux (43.12 ± 3.39 mg EC/g E), suivi de l'extrait hydrométhanolique (4.9 ± 0.34 mg EC/g E). À l'inverse, les extraits aqueux et hexanique affichaient les concentrations les plus faibles (respectivement 1.63 ± 0.26 mg EC/g E et 0.14 ± 0.09 mg EC/g E). Cette observation diverge des résultats communiqués par Khadidja *et al.* (2020) qui ont déterminé le plus haut taux dans l'extrait hexanique (43.96 ± 0.25 µg EQ/mg E). Néanmoins, la teneur totale en flavonoïdes dans l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* se rapproche de celle déterminée par Slama *et al.* (2021), qui était de 1,98 mg EQ/g E. D'autre part, l'extrait hydrométhanolique présentait une teneur légèrement supérieure à enregistré par Naboulsi *et al.* (2022), qui était également de 33.28 ± 2.06 mg EC/g E. Par ailleurs, ces travaux avaient également évalué à $8,11 \pm 0,3$ mg EQ/g E la concentration en flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux, résultat supérieur au nôtre. S'agissant de ce même extrait aqueux, la quantification des flavonoïdes totaux réalisée dans notre étude était inférieure à celle rapportée par Bouaziz *et al.* (2021), à savoir $18,86 \pm 0,01$ µg EQ/mg E. À l'inverse, Bounouar *et al.* (2022) indiquaient pour cet extrait une teneur inférieure ($0,84 \pm 0,01$ mg EC/g E) par rapport à notre mesure.

Concernant *C. erythraea*, l'extrait acétonique affichait aussi une forte concentration en flavonoïdes totaux (30.53 ± 0.89 mg EC/g E). Suivaient les extraits hydrométhanolique (20.70 ± 0.29 mg EC/g E), aqueux (14.33 ± 0.32 mg EC/g E) et hexanique (2.14 ± 0.22 mg EC/g E). Ces résultats surpassent avantageusement plusieurs travaux antérieurs, notamment ceux de Mihaylova *et al.* (2019) et de Merghem et Dahamna (2020). Seule l'étude de Sefi *et al.* (2011) présentait une valeur supérieure (93.53 mg EC/g E) à la nôtre concernant l'extrait aqueux. De même, l'extrait hydrométhanolique dépassait les quantifications rapportées par Merghem et Dahamna (2020) et Aazza *et al.* (2023) qui étaient respectivement $6.65 \pm 0,06$ µg EQ/mg E et $8.24 \pm 0,01$ µg EQ/mg E.

Les composés phénoliques et les flavonoïdes étant polaires, il est nécessaire d'utiliser des solvants polaires tels que l'acétone, le méthanol, l'éthanol et l'isopropanol pour les extraire efficacement (Anggraeny *et al.*, 2024). Nos résultats d'analyses montrent que les extraits acétoniques présentaient systématiquement les taux les plus élevés de flavonoïdes totaux pour

les deux plantes étudiées, corroborant ces observations. En effet, des études antérieures ont déjà mis en évidence l'efficacité de l'acétone pour l'extraction des flavonoïdes (Dirar *et al.*, 2019 ; Mazandarani *et al.*, 2012). Cette meilleure performance s'explique par la polarité modérée de l'acétone. Des études ont démontré que ce paramètre joue un rôle primordial sur le rendement des extraits (Stankovic, 2011). Or, avec sa polarité intermédiaire, l'acétone permet de solubiliser à la fois des composés polaires tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, et des composés apolaires (Elfirta *et al.*, 2018). Ainsi, au vu de nos résultats et des données de la littérature, l'acétone s'est imposée comme le solvant le plus performant pour l'extraction des flavonoïdes de par sa polarité modérée correspondant à la nature de ces métabolites secondaires.

II.1.4.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été quantifiés de façon colorimétrique par la méthode à l'hydrochlorure de vanilline. Leurs concentrations ont été estimées à partir de la courbe d'étalonnage réalisée à l'aide de la catéchine comme substance de référence. L'histogramme ci-dessous (Fig. N° 36) illustre les résultats obtenus.

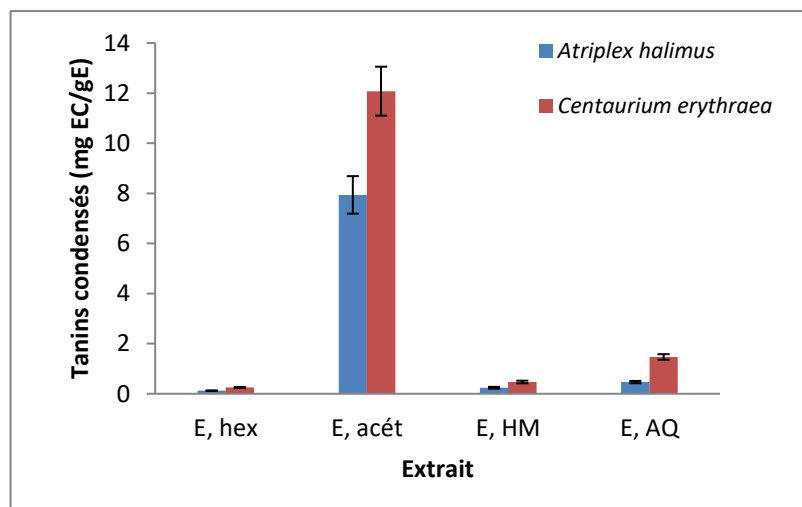


Figure 36: Teneur moyenne en tanins condensés des extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

L'analyse statistique présentée montre des différences hautement significatives ($p < 0,001$) dans les teneurs en tanins condensés entre les espèces végétales (*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*) et les différents types d'extraits (aqueux, acétonique, hydro méthanol, hexanique).

Selon les analyses, la teneur en tanins condensés était inférieure à celle des autres composés bioactifs. Elle varie de manière proportionnelle en fonction de la polarité du solvant d'extraction. Pour *Atriplex halimus*, la concentration maximale en tanins condensés a été relevée dans l'extrait acétonique ($7,93 \pm 0,74$ mg EC/g E), suivie de l'extrait aqueux ($0,46 \pm 0,04$ mg EC /g E) et de l'extrait hydrométhanolique ($0,24 \pm 0,03$ mg EC/gE). Néanmoins, l'extrait hexanique présentait la plus faible teneur en tanins condensés, soit $0,12 \pm 0,05$ mg EC/gE. Cet ordonnancement des fractions concorde avec les données rapportées par Khadidja *et al.* (2020). Cependant, les résultats enregistrés divergent de ceux publiés par Slama *et al.* (2021) concernant l'extrait aqueux préparé par décoction d'*Atriplex halimus* ; ces auteurs ont enregistré une teneur en tanins de $7,56 \pm 0,21$ mg EC/g E, quantité nettement supérieure au notre résultat.

Par ailleurs, l'évaluation quantitative de ces composés dans les extraits de *Centaureum erythraea* a également révélé que l'extrait acétonique était le plus riche en tanins condensés ($12,07 \pm 0,97$ mg EC/gE) comparé aux extraits aqueux, hydrométhanolique et hexanique (respectivement $1,47 \pm 0,21$ mg EC/gE, $0,47 \pm 0,05$ mg EC/gE et $0,25 \pm 0,02$ mg EC/gE). El Ouadni *et al.* (2023) ont fait état d'une teneur en tanins d'environ $0,31$ mg EC/gE dans la décoction de *Centaureum erythraea*, légèrement inférieure à notre observation. Cependant, les valeurs communiquées par Bentahar *et al.* (2016) ainsi que Sefi *et al.* (2011), à savoir respectivement $82,93$ mg EC/gE et $143,6$ mg EC/gE, étaient plus élevées.

Il est important de noter que l'extraction des tanins dépend de nombreux paramètres tels que la nature du solvant, la température, la durée du processus, la granulométrie des particules, le rapport solvant/solide ou encore les techniques d'extraction mises en œuvre (Das *et al.*, 2020).

II.1.5. Résultats de la composition chimique des huiles essentielles

Les composés identifiés par analyse CG-SM et leur pourcentage dans les huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et *Centaureum erythraea* sont listés dans les tableaux N° 10 et 11 présentés ci-dessous.

Tableau 10 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus*.

N°	KI ^a	Composés	% A Surface
01	1104	α -thujone	0.085
02	1141	Camphor	0.246
03	1163	Borneol	0.113
04	1189	α -Terpineol	0.199
05	1129	Citronellol	0.089
06	1293	Thymol	0.257
07	1301	Carvacrol	0.145
08	1331	<i>p</i> -Acetanisole	1.604
09	1416	(β)-Caryophyllene	0.413
10	1451	α -Humulene	0.636
11	1475	γ -Muurolene	0.081
12	1480	Germacrene D	6.942
13	1493	Bicyclogermacrene	2.468
14	1518	Viridiflorene	3.239
15	1522	δ -Cadinene	0.328
16	1525	Myristicin	3.016
17	1528	Cardina-1(10), 4-one	1.253
18	1580	Caryophyllene oxide	1.528
19	1590	Viridiflorol	40.235
20	1600	Ledol	0.624
21	1602	Humulene epoxide II	0.495
22	1616	1,10-di-epi-Cubenol	0.935
23	1626	10-épi- γ -Eudesmol	0.200

24	1630	1-épi-Cubenol	0.734
25	1634	(Z)-Nerolidol	0.506
26	1639	épi- α - Cadinol	0.313
27	1640	épi- α -Muurolol	0.239
28	1645	α -Muurolol	0.047
29	1648	β -Eudesmol	0.334
30	1653	α -Cadinol	0.958
31	1656	α -Bisabolol oxide B	1.461
32	1702	Geranyl tiglate	0.306
33	1792	1-Octadecene	0.843
34	1905	Rimuene	0.096
35	2052	Phytol	18.242
		Total	89.17

Indices de Kováts (KI^a) calculés sur une colonne DB5, en référence aux n-alcane injectés après l'huile dans les mêmes conditions chromatographiques.

Tableau 11: Composition chimique de l'huile essentielle de *Centaurium erythraea*.

N°	KI ^a	Composés	% A Surface
01	889	2,5-Dimethylfuran	0.069
02	938	α -Pinene	0.092
03	974	1,2,4-Trimethyl benzen	0.145
04	996	2-Pentyl furan	0.434
05	1030	1,8-Cineole	0.065
06	1100	Linalool	0.134
07	1104	α -thujone	0.359
08	1115	β -thujone	0.063

09	1141	Camphor	0.715
10	1163	Borneol	0.064
11	1166	Isomenthol	0.017
12	1173	Menthol	1.345
13	1175	Terpinen-4-ol	4.146
14	1181	<i>p</i> -Cymen-8-ol	0.132
15	1184	Naphtalene	0.107
16	1189	α -Terpineol	0.195
17	1200	Decanal	0.098
18	1229	Citronellol	0.258
19	1233	Methyl thymol	0.645
20	1237	Cumin aldehyde	0.065
21	1242	Carvone	0.415
22	1255	Geraniol	0.100
23	1287	<i>p</i> -Cymen-7-ol	3.132
24	1293	Thymol	2.125
25	1296	Methyl acetate	0.462
26	1301	Carvacrol	6.435
27	1327	Para-Mentha-1,4-dien-7-ol	0.062
28	1365	Decanoic acid	0.808
29	1374	α -Copaene	0.985
30	1388	β -Bourbonene	0.707
31	1405	Methyl eugenol	0.365
32	1416	(E)-Caryophyllene	1.242
33	1451	α -Humulene	1.443
34	1458	(E)- β -Farnesene	0.070

35	1475	γ -Muurolene	0.213
36	1480	Germacrene D	0.129
37	1486	(E)- β -Ionone	0.745
38	1493	Ledene	0.901
39	1499	α -Mnurolene	0.062
40	1506	β -Bisabobolene	0.723
41	1512	γ -Cadinene	0.093
42	1522	δ -Cadinene	0.822
43	1541	Calacorene	0.065
44	1548	Selina-3,7(11)-diene	0.061
45	1560	Dodecanoic acid	0.094
46	1580	Caryophyllene oxide	1.752
47	1590	β-Copaen-4α-ol	38.413
48	1598	Guaiol	0.028
50	1600	Ledol	0.707
51	1606	Humulene epoxide II	0.382
52	1616	1,10-di-epi-Cubenol	0.084
53	1626	10-épi- γ -Eudesmol	0.283
54	1630	1-épi-Cubenol	0.605
55	1634	(Z)-Nerolidol	0.504
56	1639	Epi- α -Cadinol	0.204
57	1640	Epi- α -Muurolol	0.123
58	1645	α -Muurolol	0.033
59	1648	β -Eudesmol	0.355
60	1650	α - Eudesmol	0.083
61	1653	α -Cadinol	0.671

62	1656	α -Bisabolol oxide B	0.754
63	1676	Hexyl salicylate	0.396
64	1696	(E,Z)-Farnesol	0.625
65	1702	Geranyl tiglate	0.310
66	1710	(Z,E)-Farnesol	0.462
67	1715	Erythro centaaurin	0.716
68	1740	(E,E)-Farnesol	0.442
69	1802	Phytan	0.269
70	1835	Neophytadienne (III)	4.245
71	1905	Rimuene	0.254
72	2052	Manool	8.200
		Total	91.89

Indices de Kováts (KI^a) calculés sur une colonne DB5, en référence aux n-alcanes injectés après l'huile dans les mêmes conditions chromatographiques.

D'après les résultats de la CPG-SM, 35 et 72 composants ont été identifiés respectivement dans l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* et *Centaureum erythraea*, correspondant à 89,17% et 91,89% de l'huile totale.

Le profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* montre que le composé prédominant est le viridiflorol (40,23%), qui est un alcool sesquiterpénique (Ntana *et al.*, 2021), suivi par le phytol (18,24%), qui est un alcool diterpénique acyclique et insaturé à chaîne ramifiée que l'on retrouve dans les huiles essentielles de certaines plantes aromatiques (Costa *et al.*, 2014), et suivi par le germacrène D (6,94%), qui est l'un des composés volatils végétaux les plus courants considéré comme un précurseur biogénétique de nombreux sesquiterpènes (Casiglia *et al.*, 2017). Les autres constituants caractéristiques déterminés dans cette huile essentielle sont le viridiflorene (3,23%), la myristicine (3,01%), le bicyclogermacrène (2,46%), le *p*-acétanisole (1,60%), l'oxyde de caryophyllène (1,52%), l' α -bisabolol oxide B (1,46%) et la cardine-1(10),4-one (1,25%). La présence de composants mineurs dont l' α -muurolol (0,047%) a également été notée. Quant à l'huile essentielle de *Centaureum erythraea*, elle est caractérisée principalement par la présence de β -copaen-4 α -ol

(38,41%), du manool (8,2%) et du carvacrol (6,43%). Parallèlement, d'autres composés en proportions inférieures ont été identifiés tels que le néophytadiène (III) (4,24%), le terpinène-4-ol (4,14%), le p-cyménol (3,13%) et le thymol (2,12%). L'isomenthol (0,017%) a été noté comme composant mineur.

Selon la recherche effectuée, il nous semble que cette étude est la première à identifier la composition chimique de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* d'origine algérienne par GC-MS. Nous avons donc comparé nos résultats aux recherches antérieures réalisées sur d'autres espèces du genre *Atriplex*. Ces études ont montré des différences quant au nombre de constituants identifiés dans l'huile essentielle, à leurs pourcentages respectifs et aux composants majeurs. Le composé principal dans l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* était le viridiflorol qui n'a pas été retrouvé dans les huiles essentielles d'autres plantes de ce genre telles que : *Atriplex semibaccata* R.Br. analysée par Zine *et al.* (2021), celle d'*Atriplex inflata* F. Muell analysée par Ammar *et al.* (2012) ou encore celle d'*Atriplex cana* Ledeb. analysée par Wei *et al.* (2019). À l'inverse, l'huile essentielle d'*Atriplex undulata* analysée par Rodriguez et Murray (2010) contient bien ce composé mais en quantité mineure. Cette huile contient également quatre autres composés communs avec la nôtre: l' α -terpinéol, le viridiflorene, le *p*-acétanisole et l' α -cadinol, mais avec des pourcentages différents.

Le phytol était un autre composant majeur dans notre huile. Il est présent aussi dans l'huile essentielle d'*Atriplex cana* Ledeb mais en quantité inférieure (Wei *et al.*, 2019). Par ailleurs, l'étude menée par Ammar *et al.* (2012) sur *Atriplex inflata* F. Muell a montré la présence d'oxyde de caryophyllène, présent également dans notre huile.

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* révèle une présence notable de β -copaen-4 α -ol, un alcool sesquiterpénique (38,41%), ainsi que de manool, un alcool diterpénique (8,2%), qui sont les composants dominants. Dans une étude ultérieure, seul le β -copaen-4 α -ol était présent à l'état de traces dans l'huile essentielle serbe (Jovanović *et al.*, 2009). Cependant, ils étaient absents des huiles essentielles croate (Jerković *et al.*, 2012) et marocaine (Bouyahya *et al.*, 2019). De plus, similairement à notre étude, le carvacrol a également été identifié parmi les principaux constituants dans l'huile essentielle serbe, croate et marocaine avec un pourcentage respectif de 7,9%, 6,17% et 8,73% (6,43% de carvacrol pour la plante étudiée).

L'analyse GC-MS a également révélé un autre élément chimique, le neophytadienne (III) (4,24%). Ce composé a été identifié comme un constituant majeur de l'huile essentielle de Serbie (10,1%) et à l'état de traces dans les huiles essentielles de Croatie (1,4%) et du Maroc (0,8%). De plus, le thymol qui caractérisait notre huile essentielle était aussi mentionné dans les huiles essentielles de Serbie, du Maroc et de Croatie mais avec des quantités différentes. La teneur en thymol (2,12%) était plus faible que dans l'huile essentielle de Serbie (4,2%) et de Croatie (2,6%), mais plus élevée que celle du Maroc (0,83%). D'autre part, le menthol était le composé principal de l'huile essentielle marocaine (20,82%) et croate (7%), alors que dans cette étude il représentait 1,34%.

Ces variations de composition chimique des huiles essentielles peuvent être dues à divers facteurs susceptibles d'élever ou d'abaisser le rendement ainsi que la composition chimique des huiles essentielles. Il s'agit notamment de la nutrition minérale, de l'eau, de la lumière, de la température, du sol, des attaques de pathogènes, ravageurs et herbivores, ainsi que des facteurs génétiques (Boaro *et al.*, 2019). La zone géographique (pays d'origine), le climat, l'altitude (Shutes et Galper, 2020), la période de récolte, le matériel et la technique de distillation influencent également cette composition (Price L., 2021).

II.1.6. Résultats de l'activité antioxydante *in vitro*

Il existe diverses approches permettant d'évaluer les propriétés antioxydantes des substances naturelles. Ainsi, le potentiel antioxydant de l'*Atriplex halimus* et du *Centaurium erythraea* a été évalué au moyen de deux tests *in vitro* distincts : la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

II.1.6.1. Piégeage du radical DPPH

En raison de sa simplicité, sa rapidité, sa précision et son faible coût, le test de piégeage du radical DPPH est couramment utilisé pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes (Marinova et Batchvarov, 2011). Cette méthode repose sur la réduction du DPPH à une longueur d'onde de 517 nm par un antioxydant (AH), selon la réaction suivante:



Les résultats de l'activité antiradicalaire des différents extraits, des huiles essentielles et des standards (tels que la catéchine et l'acide ascorbique) contre le DPPH sont présentés

dans les figures 37-38 et 39, lesquelles présentent les pourcentages d'inhibition, ainsi que dans le tableau 12 qui consigne les valeurs d'IC₅₀ déterminées en µg/ml.

- **Pourcentage d'inhibition**

L'analyse de variance montre un effet très significatif de la concentration, de l'espèce végétale et du type d'extrait sur l'activité antiradicalaire mesurée par la méthode DPPH, avec des p-values extrêmement faibles (<0,0001). Il a permis de confirmer statistiquement les différences observées entre les espèces et extraits testés.

Les pourcentages d'inhibition des extraits et des huiles essentielles des deux plantes étudiées se sont révélés inférieurs à ceux des composés de référence. Les résultats ont démontré qu'à une faible concentration de 31.25 µg/ml, les extraits et les huiles essentielles ont affiché des pourcentages d'inhibition compris entre 3.12% et 6.81% pour *Atriplex halimus* et entre 2.29% et 9.79% pour *Centaurium erythraea*. Cependant, à des concentrations plus élevées de 1000 µg/ml, les pourcentages d'inhibition ont augmenté, se situant entre 60.25% et 84.63% pour *Atriplex halimus* et entre 59.77% et 92.54% pour *Centaurium erythraea*. Il est notable que ces pourcentages d'inhibition soient dépendants de la dose, augmentant en fonction de l'élévation de la concentration dans les extraits, les huiles essentielles et les étalons.

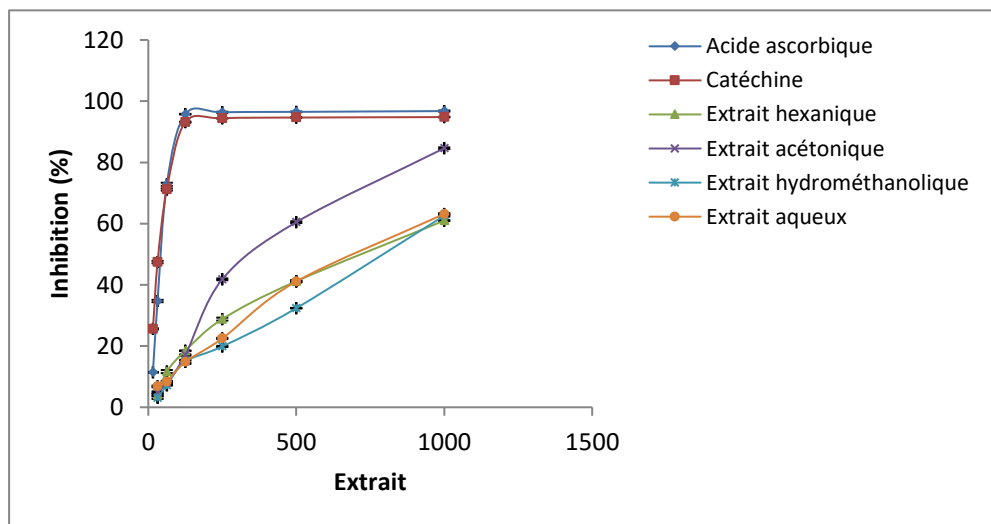


Figure 37 : L'activité de piégeage des radicaux DPPH, représentée par le pourcentage d'inhibition, des extraits d'*Atriplex halimus*.

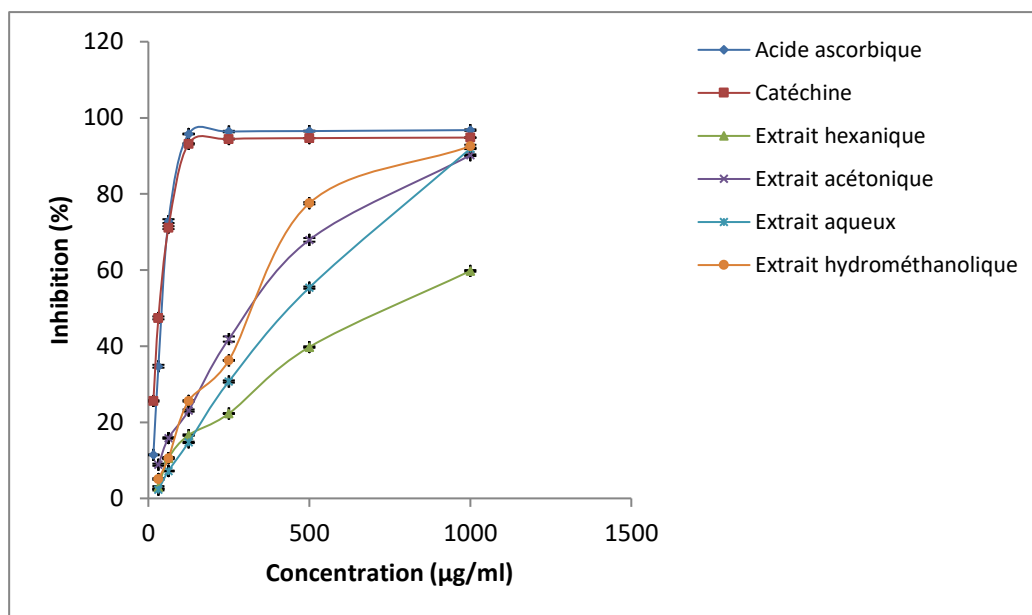


Figure 38 : L'activité de piégeage des radicaux DPPH, représentée par le pourcentage d'inhibition, des extraits de *Centaurium erythraea*.

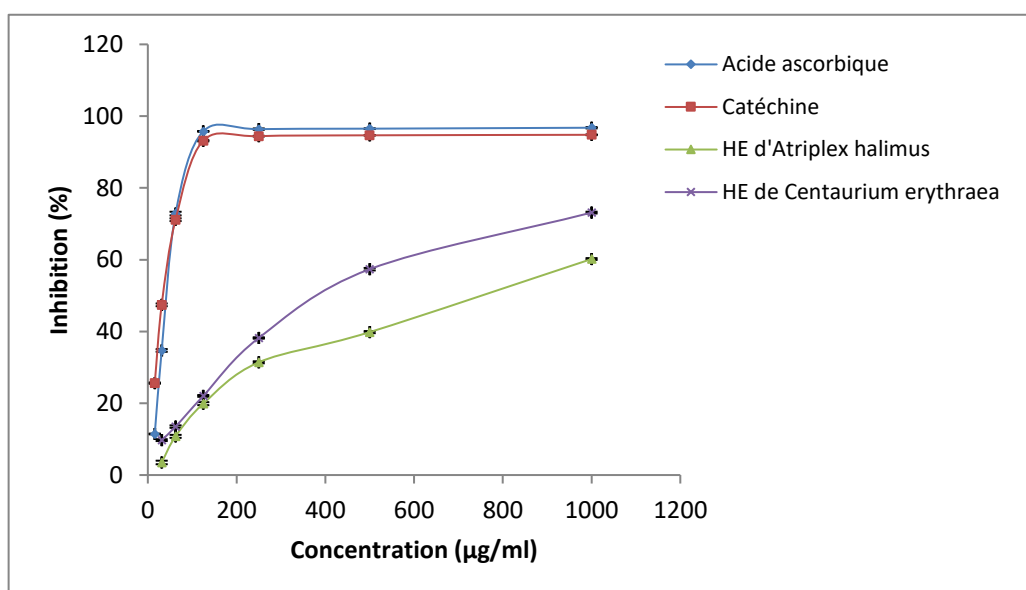


Figure 39: L'activité de piégeage des radicaux DPPH, représentée par le pourcentage d'inhibition, des huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

- **Evaluation de la concentration inhibitrice à 50%**

L'activité antioxydante des extraits et des huiles essentielles a été évaluée par la détermination de la concentration efficace (EC₅₀), également appelée concentration inhibitrice (IC₅₀). C'est un nouveau paramètre largement appliqué pour l'interprétation de l'activité antioxydante (Brighente *et al.*, 2007). Ce paramètre est inversement corrélé à la capacité antioxydante d'un composé du fait qu'il signale la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de DPPH. Une valeur d'IC₅₀ plus faible correspond à un antioxydant plus puissant (Alara *et al.*, 2018 ; Chebouat *et al.*, 2023). Les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées via régression linéaire appliquée aux pourcentages d'inhibition du DPPH. Les résultats de ces valeurs sont affichés dans le tableau 12 ci-dessous.

Tableau 12 : valeurs d'IC₅₀ (µg/ml) des huiles essentielles et des extraits des plantes étudiées.

	Antioxydants	IC₅₀	Coefficient de corrélation, R²
<i>Atriplex halimus</i>	E. hexanique	734.05±3.09	0,93
	E. acétonique	502.24±0.7	0,92
	E hydrométhanolique	781.10±2.5	0,98
	E. aqueux	731.13±3.36	0,97
	Huile essentielle	754,97 ±5.14	0,91
<i>Centaurium erythraea</i>	E. hexanique	767.56±2.57	0,95
	E. acétonique	446.02±2.94	0,92
	E hydrométhanolique	433.64±1.07	0,9
	E. aqueux	507.38±1.33	0,98
	Huile essentielle	546,61 ± 5.03	0,91
Standards	Acide ascorbique	14.17±0.07	0,93
	Catéchine	13.02± 0.036	0,9

➤ **Les extraits**

L'analyse des valeurs d'IC₅₀ pour les extraits d'*Atriplex halimus* a révélé que la fraction acétone (502.24±0.7 µg/ml) présentait une activité de piégeage du radical DPPH plus élevée que l'extrait aqueux (731.13±3.36 µg/ml), l'extrait hexanique (734.05±3.09 µg/ml) et l'extrait hydrométhanolique (781.10 ±3.36 µg/ml). Par ailleurs, la catéchine et l'acide ascorbique utilisés comme étalons montrent une capacité antioxydante supérieure aux extraits testés, avec des valeurs d'IC₅₀ respectives de 13,02±0,036 µg/ml et 14,17±0,07 µg/ml. Il apparaît que la polarité des extraits n'a pas directement influencé leur activité antioxydante telle que mesurée par le test du DPPH, ce qui suggère que cette activité dépend de plusieurs facteurs. En effet, la méthode du DPPH est indépendante de la polarité du substrat, et d'autres études ont également signalé que l'hydro-lipophilicité d'un échantillon n'affecte pas sa capacité à piéger le DPPH, celle-ci étant principalement déterminée par la structure de l'antioxydant (Koleva *et al.*, 2002).

De précédentes études se sont intéressées à l'activité antioxydante d'*Atriplex halimus* évaluée par le test au DPPH. Elbouzidi *et al.* (2022) ont observé un puissant effet antioxydant de l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus*, avec une valeur d'IC₅₀ de 0.36±0.05 mg/ml. En revanche, Chaouche *et al.* (2021) ont signalé une faible capacité antioxydante de cette plante récoltée à Oued et Tlemcen, avec des IC₅₀ respectives de 520,64 ±2,1 mg/ml et 193,47 ± 1,79 mg/ml, valeurs supérieures aux nôtres. Les résultats de Tahar *et al.* (2015) montrent que la fraction dichlorométhane présente l'IC₅₀ la plus basse (0,094 mg/ml), suivie de la fraction acétate d'éthyle (0,230 mg/ml) et du butanol (0,405 mg/ml), IC₅₀ inférieures aux nôtres. Cependant, nos données surpassent celles de Khadidja *et al.* (2020) qui ont observé une faible capacité de l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* à éliminer le radical DPPH, avec une valeur d'IC₅₀ de 22.11 mg/ml, tandis que l'extrait hexanique a montré la plus grande activité antioxydante (IC₅₀ de 7.24 mg/ml). D'autres études rapportent des IC₅₀ supérieures aux nôtres, telles que 0,860 mg/ml (Slama *et al.*, 2021) et 0,95 mg/ml (Bouaziz *et al.*, 2021) pour l'extrait aqueux, ou 31,83±0,79 mg/ml pour l'extrait méthanolique (Benhammou *et al.*, 2009).

L'évaluation de la concentration inhibitrice à 50% des différents extraits de *Centaureum erythraea* a révélé que l'extrait hydrométhanolique présentait la plus grande capacité à piéger le radical DPPH, avec une valeur d'IC₅₀ de 433.64±1.07 µg/ml. En revanche, l'extrait hexanique a montré la plus faible activité antiradicalaire, avec une valeur d'IC₅₀ de 767.56±2.57 µg/ml. Les extraits peuvent être classés dans l'ordre décroissant de leurs

pouvoirs antiradicalaires comme suit: catéchine > acide ascorbique > extrait hydrométhanolique > extrait acétonique > extrait aqueux > extrait hexanique.

Cependant, les valeurs enregistrées sont inférieures à celles rapportées par Merghem et Dahamna (2020), qui ont observé que l'extrait aqueux de *Centaurium erythraea* présentait le meilleur pouvoir de piégeage du radical DPPH, avec une valeur d'IC₅₀ de 0.280±0.002 mg/ml, suivi de l'extrait méthanolique avec une IC₅₀ de 0.232±0.002 mg/ml. De même, Bouyahya *et al.* (2017) ont constaté que l'extrait hexanique de *Centaurium erythraea* présentait une capacité significative à réduire le radical DPPH, avec une IC₅₀ de 49.54±2.43 µg/ml, suivi de l'extrait méthanolique (IC₅₀ de 58.34±2.86 µg/ml), de l'extrait d'acétate d'éthyle (IC₅₀ de 376.08±3.18µg/ml) et de l'extrait d'éthanol (IC₅₀ de 382.25±5.59 µg/ml). Ces valeurs sont inférieures aux nôtres. D'autres études ont également confirmé l'activité anti-DPPH de *Centaurium erythraea* (Mihaylova *et al.*, 2019; Šiler *et al.*, 2014; Božunović *et al.*, 2018; Guedes *et al.*, 2019; Gonçalves *et al.*, 2013).

Il convient de souligner que ces résultats d'activité antiradicalaire corroborent les analyses phytochimiques quantitatives menées sur les extraits testés. En effet, nous avons observé que les extraits d'*Atriplex halimus* et de *Centaurium erythraea* présentant la meilleure capacité antioxydante correspondaient à ceux concentrés en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés. Ceci suggère que la présence de ces composés dans les extraits peut contribuer à leurs propriétés antioxydantes. Selon l'étude menée par Usman et ses collaborateurs en 2023, il a été démontré que les composés chimiques actifs tels que les phénols, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins et autres composés phénoliques sont étroitement associés à l'activité antioxydante.

De plus, les tests phytochimiques qualitatifs de nos extraits ont également révélé la présence d'autres phytoconstituants tels que les alcaloïdes, les saponines et les coumarines, qui peuvent posséder des propriétés antioxydantes et contribuer à l'activité antiradicalaire. Ces composés ont été signalés comme ayant une activité antioxydante dans des études antérieures (Martiningsih *et al.*, 2021 ; Ravi et Manasvi, 2016 ; Šeršen et Lácová, 2015).

➤ Les huiles essentielles

Nos résultats ont également révélé une activité antiradicalaire dose-dépendante des huiles essentielles soumises à l'analyse. L'huile essentielle de *Centaurium erythraea* a démontré une

puissance supérieure, avec une valeur d'IC₅₀ de 546,61 ± 5,14 µg/mL, surpassant ainsi celle des composés standards.

Des travaux antérieurs ont déjà examiné l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* provenant d'autres sources. Bouyahya *et al.* (2019) ont rapporté que l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* d'origine marocaine, récoltée au stade de floraison et contenant le menthol comme composé principal, présentait un effet antioxydant significatif (IC₅₀ de 61,53 ± 2,08 µg/mL, inférieur à nos résultats). La littérature rapporte que les variations de l'activité antioxydante des huiles essentielles peuvent être attribuées aux différences observées dans leur composition chimique, aux zones de récolte, aux parties spécifiques de la plante utilisées et aux méthodes d'extraction (Messaoudi *et al.*, 2021).

Concernant l'huile essentielle d'*Atriplex halimus*, nous avons observé une IC₅₀ de 754,97 ± 5,14 µg/ml. À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a spécifiquement évalué l'activité antioxydante de cette huile essentielle pour cette espèce. Néanmoins, des travaux portant sur d'autres espèces du genre *Atriplex* ont rapporté une CI₅₀ de 260 µg/ml pour *Atriplex inflata* (Ammar *et al.*, 2012) et de 450 µg/ml pour *Atriplex semibaccata* (Zine *et al.*, 2021). Nos résultats indiquent des valeurs considérablement plus élevées, suggérant une activité antiradicalaire plus faible pour notre huile essentielle. De surcroît, l'huile essentielle d'*Atriplex undulata* qui est riche en *p*-acétanisole, a démontré une activité significative et puissante dans la capture des radicaux DPPH, avec une IC₅₀ de 34,8 µg/ml, comparable à celle de l'antioxydant synthétique Torolox (Rodriguez et Murray, 2010).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est influencée par leur composition. Plusieurs chercheurs soulignent la difficulté d'attribuer cet effet de piégeage des radicaux libres à un composant unique du fait de la présence simultanée de nombreux constituants (El-Ghorab, 2006 ; Wang *et al.*, 2008). L'huile essentielle d'*Atriplex halimus* contient notamment du viridiflorol et du germacrène D, reconnus pour leur activité antioxydante (Hemmati Hassan Gavyar et Amiri, 2018 ; da Costa *et al.*, 2022). Le phytol, un autre composé majeur de cette huile, pourrait également contribuer à ce pouvoir par son hydrogène en position alcool, stabilisant le radical formé (Islam *et al.*, 2018). Cette huile présente donc une activité antioxydante, mais plus faible que celle de *Centaurium erythraea*. Cela peut s'expliquer par la présence de quantités plus élevées de thymol et de carvacrol dans l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* (2,12 % et 6,43 % respectivement), par rapport à l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* (0,25 % et 0,14 % respectivement). Ces composés, qui possèdent une

fraction phénolique, sont connus pour conférer une activité antioxydante à l'huile essentielle (Amorati et Foti, 2017 ; Gedikoğlu *et al.*, 2019), du fait de leur capacité à inhiber ou à ralentir les réactions d'oxydation (Moosavi-Nasab *et al.*, 2020). De plus, l'effet de synergie entre constituants mineurs (Bhatnagar, 2020), ou antagonisme entre certains (Mssillou *et al.*, 2020) pourraient aussi moduler cette activité. Des recherches ont révélé qu'il existait une synergie entre le thymol et le linalool, deux composés présents dans notre échantillon d'huile essentielle de *Centaurium erythraea*, qui permet d'augmenter son activité antioxydante (Chikhi *et al.*, 2019).

II.1.6.2. Réduction du fer (la méthode FRAP, *Ferric Reducing Antioxidant Power*)

La méthode de réduction du fer (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Power) repose sur la capacité des antioxydants à réduire l'ion ferrique (Fe^{+3}) en ferreux (Fe^{+2}). Ce processus implique le transfert d'un électron de l'antioxydant vers le fer. Une augmentation de l'absorbance à 700 nm témoigne d'une augmentation de la capacité réductrice (Khiya *et al.*, 2021).

Les extraits et huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et de *Centaurium erythraea* ont révélé des efficacités réductrices variables en fonction de la concentration, comme en attestent les figures N° 40, 41 et 42. Le tableau 13 résume les valeurs d'IC50 calculées, exprimées en µg/ml. Cet indice correspond à la concentration nécessaire pour réduire 50% du fer ferrique.

Les résultats de l'ANOVA démontrent clairement qu'il existe des différences très significative ($p < 0.05$) de pouvoir réducteur entre les extraits et des deux espèces végétales *A. halimus* et *C. erythraea*.

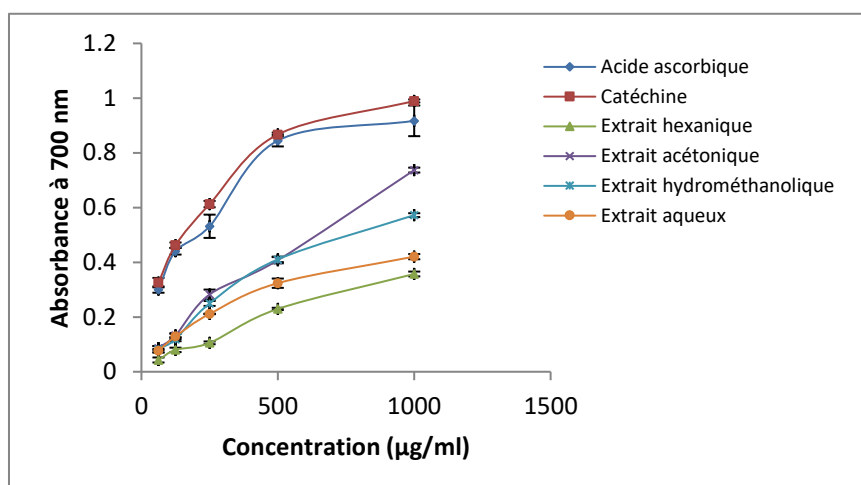


Figure 40 : Potentiel antioxydant des extraits d'*Atriplex halimus* déterminé par la méthode FRAP.

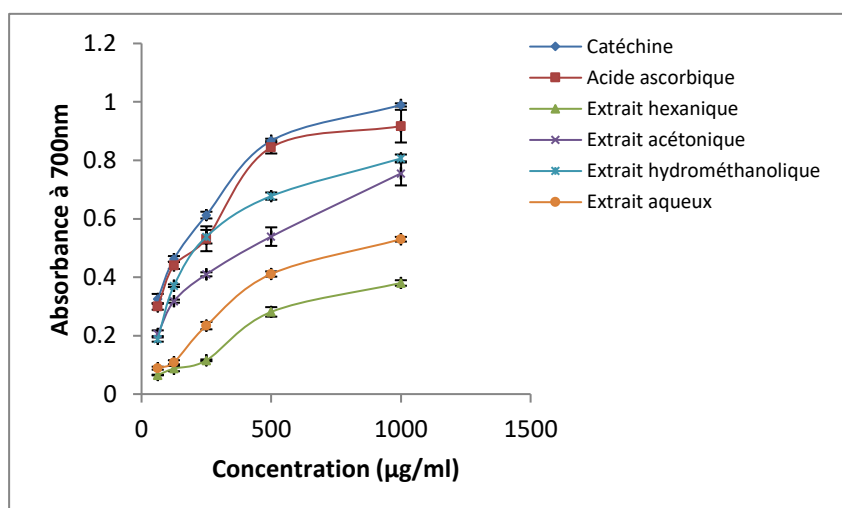


Figure 41 : Potentiel antioxydant des extraits de *Centaurium erythraea* déterminé par la méthode FRAP.

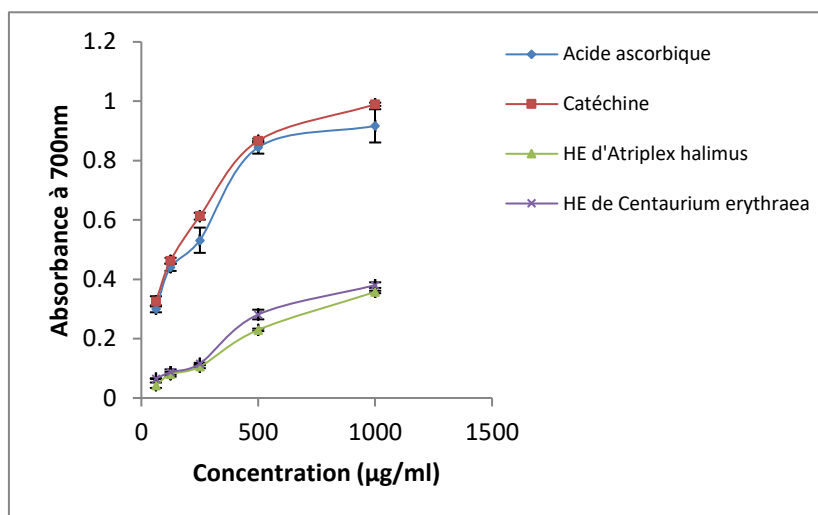


Figure 42: Potentiel antioxydant des huiles essentielles des plantes étudiées déterminé par la méthode FRAP.

Tableau 13 : valeurs d'IC₅₀ (µg/ml) des huiles essentielles et des extraits des plantes étudiées.

	Antioxydants	IC ₅₀	Coefficient de corrélation, R ²
<i>Atriplex halimus</i>	E. hexanique	485	0,98
	E. acétonique	287.75	0,98
	E hydrométhanolique	402.4	0,94
	E. aqueux	432.42	0,92
	Huile essentielle	636	0,98
<i>Centaurium erythraea</i>	E. hexanique	355.8	0,94
	E. acétonique	280.6	0,95
	E hydrométhanolique	180.5	0,81
	E. aqueux	351	0,92
	Huile essentielle	473.33	0,94
Standards	Acide ascorbique	52.21	0,84
	Catéchine	45.26	0,87

- **Les extraits**

Parmi les extraits préparés à partir d'*Atriplex halimus*, l'extrait acétonique, qui est riche en polyphénols et en flavonoïdes, a démontré une activité réductrice importante avec une absorbance de 0.73 ± 0.008 à la dose de $1000 \mu\text{g/ml}$ et une IC_{50} de $287.75 \mu\text{g/ml}$. En revanche, l'extrait hexanique présente le pouvoir réducteur le plus faible avec une absorbance de 0.35 ± 0.008 à la même concentration et une IC_{50} de $485 \mu\text{g/ml}$. L'ordre de puissance observé pour les extraits de cette plante était le suivant : $\text{EAc} > \text{EHm} > \text{EAq} > \text{EHex}$. De plus, la catéchine a montré une excellente capacité réductrice avec une IC_{50} de $45.26 \mu\text{g/ml}$ tout comme l'acide ascorbique avec une IC_{50} de $52.21 \mu\text{g/ml}$, dépassant ainsi les capacités réductrices de toutes les concentrations des extraits de cette plante.

En accord avec les études antérieures, une étude menée par Chaouche *et al.* (2021), il a été observé que les extraits aqueux d'*Atriplex halimus* provenant de deux régions différentes de l'Algérie (L'Oued et Tlemcen) présentaient un pouvoir antioxydant réducteur plus faible, avec une valeur d' IC_{50} supérieure à 5 mg/ml . De plus, dans une autre étude réalisée par Benhamou *et al.* (2009), une activité réductrice a été mise en évidence pour l'extrait méthanolique, avec une IC_{50} de $4.55 \pm 0.79 \text{ mg/ml}$.

Lors de notre étude sur les extraits de *Centaurium erythraea*, à une concentration de $1000 \mu\text{g/ml}$, les valeurs d'absorbance ont été mesurées comme suit : 0.8 ± 0.01 pour l'extrait hydrométhanolique, 0.75 ± 0.04 pour l'extrait acétonique, 0.53 ± 0.008 pour l'extrait aqueux et 0.38 ± 0.009 pour l'extrait hexanique. L'extrait hydrométhanolique, qui est caractérisé par une teneur élevée en polyphénols totaux, a montré une IC_{50} relativement faible (IC_{50} de $180.5 \mu\text{g/ml}$), indiquant une présence de composés antioxydants réducteurs plus efficaces. En revanche, l'extrait hexanique a présenté une IC_{50} plus élevée ($355.8 \mu\text{g/ml}$), ce qui suggère une activité réductrice relativement faible. Les capacités réductrices de tous les extraits de cette plante étaient inférieures à celles de la catéchine et de l'acide ascorbique. Dans une étude antérieure réalisée par Merghem et Dahamna (2020), une IC_{50} de $0.35 \pm 0.06 \text{ mg/ml}$ a été enregistrée pour l'extrait méthanolique de cette plante, tandis que l'extrait aqueux a montré une IC_{50} de $1.31 \pm 0.04 \text{ mg/ml}$, révélant une activité réductrice plus puissante que celle observée dans notre étude.

- Les huiles essentielles

Le pouvoir antioxydant par réduction du fer des huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* a été évalué. Les résultats démontrent que ces huiles présentent une faible capacité réductrice comparativement aux extraits et standards utilisés (fig. N° 41). À 1000µg/ml, l'huile de *Centaurium erythraea* a révélé une absorbance de $0,38 \pm 0,009$ et une IC_{50} de 473.33 µg/ml. Cette observation diverge des conclusions de Bouyahya *et al.* (2019) qui ont démontré, pour l'huile de *Centaurium erythraea* marocaine, une activité réductrice plus importante avec une IC_{50} de $53 \pm 2,19$ µg/ml.

Concernant l'huile d'*Atriplex halimus*, une absorbance très basse de $0,35 \pm 0,004$ a été mesurée à 1000 µg/ml et son IC_{50} est de 636µg/ml. Ces résultats suggèrent donc que ces deux huiles essentielles sont de faibles antioxydants par réduction du fer, ce qui pourrait s'expliquer par leur composition chimique. Une activité réductrice notable a par ailleurs été constatée pour l'huile d'*Atriplex semibaccata* (Zine *et al.*, 2021).

II.1.6.3. Corrélations

Le tableau 14 présente les coefficients de corrélation entre l'activité antioxydante, mesurée par les méthodes DPPH et FRAP, et la teneur en composés phénoliques des extraits des plantes testées *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

Tableau 14 : Corrélations entre la capacité antioxydante et la teneur totale en composés phénoliques (Polyphénols totaux, Flavonoïdes totaux et Tanins condensés) dans les extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*.

Composés phénoliques	Plante	Coefficients de corrélation R ²	
		DPPH	FRAP
Polyphénols totaux	<i>A. halimus</i>	$y = -0,006x + 0,7968,$ $R^2 = 0,9555$	$y = -3,777x + 471,42$ $R^2 = 0,8673$
	<i>C. erythraea</i>	$y = -0,006x + 0,7603$ $R^2 = 0,7538$	$y = -3,4288x + 418,55$ $R^2 = 0,8878$

Flavonoïdes totaux	<i>A. halimus</i>	$y = -0,0059x + 0,7601$ $R^2 = 0,9256$	$y = -3,4288x + 418,55$ $R^2 = 0,8878$
	<i>C. erythraea</i>	$y = -0,0117x + 0,7357$ $R^2 = 0,7926$	$y = -3,938x + 358,63$ $R^2 = 0,3274$
Tanins condensés	<i>A. halimus</i>	$y = 0,5624x + 0,5176$ $R^2 = 0,425$	$y = -20,01x + 445,67$ $R^2 = 0,8448$
	<i>C. erythraea</i>	$y = -0,0114x + 0,4703$ $R^2 = 0,0351$	$y = -0,8939x + 295,16$ $R^2 = 0,0039$

Les résultats indiquent une forte corrélation négative entre la teneur en polyphénols totaux et les valeurs d'IC50 de la méthode DPPH pour les extraits d'*Atriplex halimus* ($R^2 = 0,9555$) et *Centaurium erythraea* ($R^2 = 0,7538$). En outre, il convient de noter que les résultats montrent également une excellente corrélation négative entre le taux de polyphénols totaux et les valeurs d'IC50 de la méthode FRAP pour les extraits d'*Atriplex halimus* ($R^2 = 0,8673$) et *Centaurium erythraea* ($R^2 = 0,8878$). Plusieurs études sur l'activité antioxydantes des extraits de plantes ont confirmé une corrélation entre la teneur phénolique totale et l'activité antioxydante (Khiya *et al.*, 2021 ; Martínez *et al.*, 2022). Nos résultats sont en accord avec ceux de Šiler *et al.* (2014) qui ont montré des corrélations positives entre l'activité antioxydante (déterminée par les tests ABTS, DPPH et FRAP) et le contenu en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux de *Centaurium erythraea*.

Ces résultats cohérents suggèrent que les polyphénols sont des composés contribuent à l'activité antioxydante, cela peut due à leurs propriétés structurelles.

Comme mentionné précédemment, les composés phénoliques sont des constituants majeurs des végétaux de par leur capacité à piéger les radicaux libres grâce aux groupements hydroxyles qu'ils portent (Ahmed *et al.*, 2019). Leur potentiel antioxydant dépend de la substitution du noyau aromatique par des groupes donneurs/accepteurs d'électrons ainsi que du nombre et de l'agencement des fonctions hydroxyles (Bajalan *et al.*, 2016). L'activité antioxydante de ces molécules découle de leurs propriétés rédox se traduisant notamment par l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres, l'extinction de l'oxygène singulet et triplet

ou la décomposition des peroxydes (Yashin *et al.*, 2017). Elle est due à leur capacité à capturer les radicaux libres, à donner des atomes d'hydrogènes ou des électrons, ou à chélater les cations métalliques (Negi *et al.*, 2018). De plus, leur capacité à chélater les cations métalliques comme Fe^{3+} - liée à la présence de cycles aromatiques hydroxylés nucléophiles (Mouhoubi-Tafinine *et al.*, 2016) et leur aptitude en tant que bons donneurs d'électrons à réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} par simple donation leur confèrent un pouvoir antioxydant majeur (Negi *et al.*, 2018).

De plus, une corrélation négative a été observée entre les taux de flavonoïdes et la méthode DPPH ($R^2 = 0,9256$ pour *Atriplex halimus* et $0,7926$ pour *Centaurium erythraea*), ainsi qu'avec la méthode FRAP ($R^2 = 0,8878$ pour *Atriplex halimus* et $0,3274$ pour *Centaurium erythraea*), ce qui est en accord avec les résultats précédemment rapportés par Ricci *et al.* en 2016. Cela suggère que des concentrations plus élevées de flavonoïdes sont associées à une plus grande capacité antioxydante mesurée par ces deux méthodes. Ces résultats indiquent l'importance des flavonoïdes dans l'activité antioxydante des extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*, en complément des polyphénols totaux.

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et leurs effets biologiques et pharmacologiques. Leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène, comme les radicaux libres, ainsi qu'à interagir avec certains métaux, tels que le fer, pour réduire les réactions radicalaires, a été documentée (Cao *et al.*, 1997). Les flavonols, qui sont une classe de flavonoïdes possédant plusieurs groupes hydroxyles, ont été identifiés comme ayant une forte capacité à éliminer les radicaux libres, tels qu'ABTS et DPPH. Des exemples de flavonols connus pour être de puissants antioxydants comprennent la quercétine, la myricétine et la rutine (Cai *et al.*, 2006). En outre, des études antérieures ont rapporté la présence de divers composés flavonoïdes, tels que la quercétine, la myricétine et la rutine, dans l'extrait d'*Atriplex halimus* (Elbouzidi *et al.*, 2022). Ces composés flavonoïdes identifiés dans l'extrait d'*Atriplex halimus* pourraient contribuer à son activité antioxydante mesurée par les méthodes FRAP et DPPH. Ces informations soutiennent et renforcent les conclusions de l'étude concernant la corrélation entre les flavonoïdes et l'activité antioxydante.

Les corrélations modérées à élevées observées entre les teneurs en tanins condensés et l'activité antioxydante mesurée par les méthodes DPPH et FRAP pour *Atriplex halimus*, avec des valeurs de R^2 autour de $0,425$ et $0,8448$, respectivement, suggèrent que les tanins condensés contribuent de façon importante aux propriétés antioxydantes de cette plante.

En revanche, les très faibles valeurs de R^2 obtenues pour *Centaurium erythraea* (= 0,0351 et 0,0039, indiquent une corrélation négligeable entre les tanins condensés et l'activité antioxydante évaluée. Cela laisse supposer que des composés ou mécanismes autres que les tanins condensés sont principalement à l'origine du potentiel antioxydant mesuré pour cette plante.

Encore, la corrélation entre les méthodes DPPH et FRAP utilisées pour quantifier l'activité antioxydante des espèces étudiées a été analysée. Les résultats ont révélé une corrélation positive significative, avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,7688. Cette corrélation positive indique une concordance entre ces deux méthodes pour évaluer l'activité antioxydante de nos plantes. Ces résultats sont cohérents avec plusieurs études antérieures (Clarke *et al.*, 2013 ; Chaves *et al.*, 2020 ; Khiya *et al.*, 2021) qui ont également rapporté une corrélation significative entre les méthodes DPPH et FRAP .

II.2. Partie microbiologique

Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien, quatre souches bactériennes ont été sélectionnées : deux souches à Gram positif, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, ainsi que deux souches à Gram négatif, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, connues pour leur implication dans diverses infections chez l'homme. De plus, l'activité antifongique a été évaluée sur une espèce de levure, *Candida albicans*.

II.2.1. Résultats de l'antibiogramme des souches étudiées (contrôle positif)

L'antibiogramme est une méthode couramment utilisée pour évaluer la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne à différents antibiotiques commerciaux. Les résultats de l'antibiogramme (Tab. 15) ont révélé que la souche *E. coli* présentait la plus grande sensibilité aux antibiotiques testés.

En revanche, la plus grande résistance a été observée chez *P. aeruginosa*, *E. faecalis* et *C. albicans* aux antibiotiques testés. Ces différences de sensibilité sont statistiquement non significatives ($p > 0.05$).

Tableau 15 : Résultats de l'antibiogramme.

ATB Souche	Amp	Tc	Gn	Amx	Er	Sp	Cl
<i>Staphylococcus aureus</i>	12±1.4 (SI)	10± 2.8 (SI)	00 (R)	00 (R)	10±0.9 (SI)	20±1.4 (S)	Nd
<i>Escherichia coli</i>	10±1.4 (SI)	11±1.4 (SI)	9±1.4 (SI)	4±0.3 (R)	10±0.7 (SI)	18±0.5 (S)	Nd
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7. ±0.7 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	Nd
<i>Enterococcus faecalis</i>	00 (R)	00 (R)	00 (R)	5.5±0.2 (R)	00 (R)	00 (R)	Nd
<i>Candida albicans</i>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	00 (R)

Amp : Ampicilline, Tc : Tétracycline, Gn : Gentamycine, Amx : Amoxicilline, Er : Erythromycine, Sp : Spiromycine, Cl : Clotrimazole. R : résistance ; S : sensibilité ; SI : sensibilité intermédiaire.

II.2.2. Résultats de la toxicité du DMSO (contrôle négatif)

Les huiles essentielles et les résidus secs des extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea* sont solubilisés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Sa structure moléculaire unique, combinant des parties hydrophiles et hydrophobes, lui permet de dissoudre à la fois des composés polaires et non polaires. De plus, sa grande miscibilité avec divers solvants organiques et avec l'eau en fait un solvant largement utilisé dans la recherche biomédicale (Sanmartín-Suárez et al., 2011).

Une évaluation préliminaire de la toxicité du DMSO a été menée sur cinq souches microbiennes d'intérêt. Aux concentrations testées, aucune zone d'inhibition n'a été observée, ce qui indique que le DMSO ne possède pas d'activité antimicrobienne significative, en accord avec des études antérieures sur des souches similaires démontrant l'absence d'inhibition par le DMSO de la croissance bactérienne et fongique (Eve et al., 2020 ; Bendjedid et al., 2021 ; Arsène et al., 2021 ; Prisinda et al., 2021 ; Nabila et Putra, 2020).

Ce résultat corrobore les données de la littérature établissant la non-toxicité du DMSO lorsqu'utilisé comme solvant aux doses usuelles, validant son emploi pour la solubilisation des

échantillons dans notre évaluation de leur activité antibactérienne. Ainsi, les substances actives présentes dans les extraits et les huiles essentielles étudiés sont responsables de toute activité inhibitrice observée.

II.2.3. Résultats de l'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des extraits et huiles essentielles des deux plantes étudiées

II.2.3.1. Résultats de la méthode de diffusion en disque

Les résultats de la méthode de diffusion en disque, utilisée pour évaluer les activités antimicrobiennes des huiles essentielles et des extraits d'*A. halimus* et de *C. erythraea*, sont affichés dans les figures 43-44 :

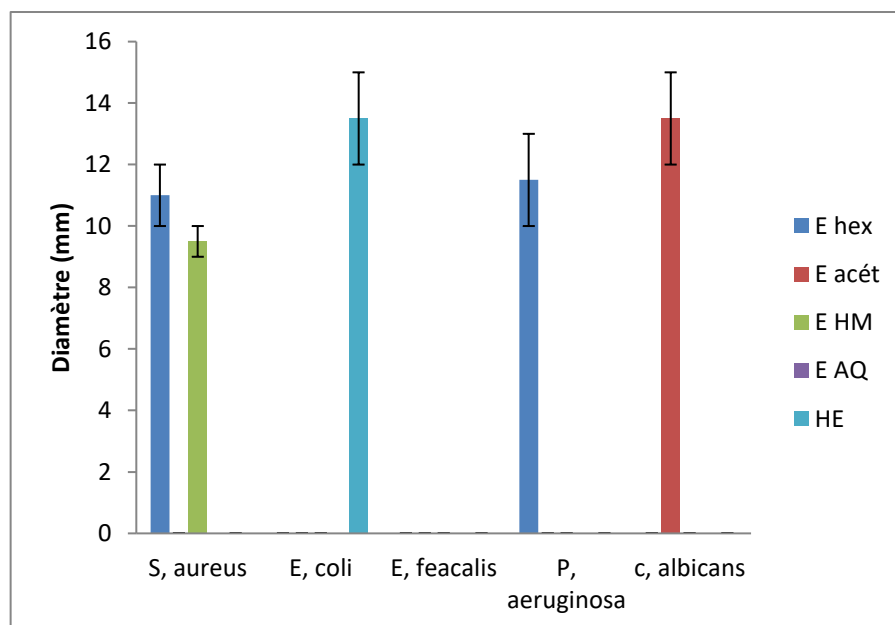


Figure 43: Activité antimicrobienne des extraits et l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm)

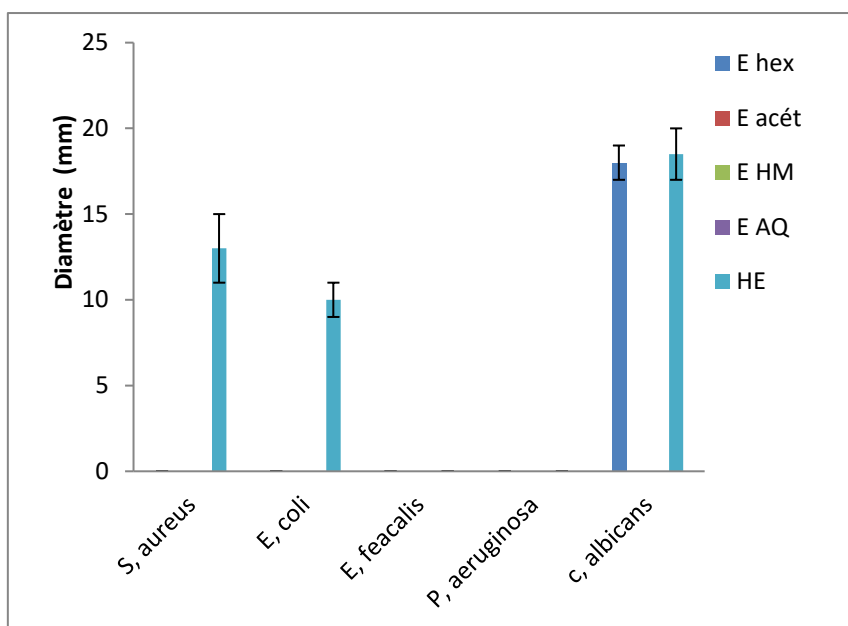


Figure 44 : Activité antimicrobienne des extraits et l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm)

L'analyse statistique montre des différences non significatives d'efficacité entre les différents extraits ($p > 0.05$ pour les deux plantes).

Les extraits d'*Atriplex halimus* ont démontré une activité antimicrobienne modérée contre certains micro-organismes testés. L'extrait acétonique s'est révélé le plus efficace, avec une zone d'inhibition de $13,5 \pm 2,12$ mm contre *Candida albicans*. Cette levure s'est avérée résistante au clotrimazole, un antifongique azolé de référence. De manière intéressante, l'activité de l'extrait acétonique était supérieure à celle du clotrimazole, suggérant que des molécules présentes dans cette plante pourraient avoir un mécanisme d'action antifongique différent des azolés. Par ailleurs, l'extrait hydrométhanolique a présenté une zone d'inhibition de $9,5 \pm 0,7$ mm contre *Staphylococcus aureus*, un diamètre inférieur à celui observé pour la tétracycline ($10 \pm 2,82$ mm) et la gentamicine ($12 \pm 1,41$ mm), deux antibiotiques de référence testés dans les mêmes conditions.

Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude menée par EL-Aasr et *al.* en 2016, où des flavonols glycosides ont été isolés à partir d'*Atriplex halimus* et ont également montré une activité antimicrobienne à large spectre. En particulier, l'artiplexoside A, identifié dans leur extraits, a été déterminé comme étant le composé le plus efficace contre *Candida albicans* et

Staphylococcus aureus. Dans notre étude, les extraits acétoniques et hydrométhanoliques, riches en flavonoïdes, présentaient une activité contre les mêmes souches. Ces similitudes tendent à conforter l'hypothèse selon laquelle les flavonoïdes, et potentiellement l'artiplexoside A, pourraient être à l'origine des effets inhibiteurs observés de par leurs propriétés antimicrobiennes.

D'autre parts et dans cette même étude, l'analyse phytochimique a également révélé la richesse des extraits acétoniques et hydrométhanoliques en polyphénols et tanins condensés, composés connus pour leur activité antimicrobienne. Cette observation suggère une possible corrélation entre ces composés et l'activité antimicrobienne observée. En effet, les polyphénols, groupe chimique d'intérêt, présentent une activité antimicrobienne notamment par l'inhibition de la formation de biofilms bactériens, la perturbation de la communication intercellulaire et la liaison à des enzymes bactériennes clés (Zapletal et *al.*, 2022). Ils peuvent également provoquer des fuites de composants cellulaires, la coagulation du cytoplasme, l'épuisement de la force proton motrice, des modifications de la composition en acides gras et phospholipides, ainsi que l'altération de l'absorption de nutriments et du transport d'électrons (Shetty et *al.*, 2011). Les tanins démontrent aussi une activité antimicrobienne via la coagulation des protéines de la paroi cellulaire (Lohidas et *al.*, 2015) et la liaison irréversible aux protéines riches en proline, entraînant une inhibition de la synthèse protéique cellulaire (Ibelegbu et *al.*, 2023).

Nos résultats montrent également l'efficacité de l'extrait hexanique d'*Atriplex halimus* contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec une zone d'inhibition de $11,5 \pm 2,12$ mm supérieure à celle de l'antibiotique gentamicine. Cet extrait contient des alcaloïdes, stérols et coumarines, selon Thirumurugan et *al.* (2010), ces composés sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Leur présence dans l'extrait hexanique d'*Atriplex halimus* pourrait donc expliquer son activité inhibitrice observée.

Une étude menée par Chaouche et *al.* (2021) présente des résultats qui peuvent sembler divergents par rapport à nos propres observations concernant l'activité antimicrobienne d'*Atriplex halimus*. En effet, les auteurs ont observé une absence d'effet inhibiteur de l'extrait aqueux préparé à partir d'un échantillon récolté à Tlemcen vis-à-vis des souches testées. Cependant, dans cette même étude, l'extrait aqueux provenant d'un échantillon de l'Oued a démontré une capacité à inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*, formant une zone d'inhibition de 15 mm. De plus, une résistance a été observée vis-à-

vis d'*Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*. Malgré certaines divergences, des similitudes apparaissent avec nos propres observations, notamment en ce qui concerne l'efficacité contre *Staphylococcus aureus*.

Concernant les extraits de *Centaurium erythraea*, nos données montrent que l'extrait hexanique présente une zone d'inhibition de $18 \pm 1,41$ mm contre *Candida albicans*. Ce résultat corrobore les observations de Pereira et al. (2011) qui avaient également mis en évidence, chez cette même espèce fongique, une activité antifongique de l'extrait hexanique de *Centaurium erythraea*, avec une zone d'inhibition de $12,3 \pm 1,03$ mm. À l'inverse, l'absence d'effet rapportée par Kirbağ et al. (2009) sur cette souche semble diverger de nos constatations. Cette discordance pourrait s'expliquer par des variations méthodologiques telles que les procédés d'extraction, l'origine botanique de la plante, la concentration des extraits ou encore les souches microbiennes utilisées, ces paramètres pouvant influencer de manière significative les résultats obtenus.

Les résultats de notre étude sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites montrent que celle de *Centaurium erythraea* présente une activité inhibitrice sur la souche bactérienne *E. coli*, avec un diamètre d'inhibition de $10 \pm 1,41$ mm. Ce résultat corrobore les travaux de Jerković et al. (2012), qui avaient mis en évidence un effet similaire sur cette même souche. À l'inverse, Bouyahya et al. (2019) n'avaient rapporté aucune activité de cette huile essentielle contre cette souche, ce qui diverge de nos observations. Par ailleurs, nos données indiquent que l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* démontre la plus forte action antibactérienne contre la même souche, avec une zone d'inhibition de $13,5 \pm 2,12$ mm supérieure à celles des antibiotiques testés.

Nos travaux ont également permis de mettre en évidence une résistance de *Pseudomonas aeruginosa* en présence des deux huiles essentielles testées. Ce résultat corrobore les données publiées soulignant la moindre sensibilité globale de cette bactérie à Gram négatif à l'encontre des huiles essentielles (Barry-Ryan et Bourke, 2012). Cette absence d'activité inhibitrice pourrait s'expliquer par la composition particulière de la membrane externe de *Pseudomonas aeruginosa*, à la fois hydrophile et riche en lipopolysaccharides, qui constituerait une barrière limitant fortement la pénétration des huiles essentielles au sein de la cellule bactérienne (Khunkitti, 2010).

Les résultats présentés indiquent également que l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* présente une activité marquée contre *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition de $13 \pm 2,82$ mm. Ce diamètre d'inhibition est supérieur à celui observé en présence de la tétracycline ($10 \pm 2,82$ mm) et la gentamicine ($12 \pm 1,41$ mm) utilisées comme antibiotiques de référence. Ces résultats confirment l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* contre cette souche bactérienne, ce qui est en accord avec les études antérieures menées par Jerković et al. (2012) et Bouyahya et al. (2019), qui ont rapporté des diamètres d'inhibition de $8 \pm 0,28$ mm et $28 \pm 1,5$ mm respectivement. Les bactéries Gram positif, ayant une paroi cellulaire relativement plus perméable, permettent une interaction directe des composés hydrophobes présents dans les huiles essentielles avec les cellules bactériennes. Ces composés peuvent altérer les membranes cytoplasmiques, perturber à la fois, le système de production d'énergie de la cellule (ATP) et le gradient de force protonique, modifier la perméabilité des cellules microbiennes, entraînant ainsi leur mort (Villalobos-Delgado et al., 2019).

En revanche, *Staphylococcus aureus* s'est avérée insensible à l'huile essentielle d'*Atriplex halimus*, et *Enterococcus faecalis* s'est révélée résistante aux deux huiles essentielles testées. Cette résistance peut être attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, la composition chimique des huiles essentielles utilisées peut jouer un rôle important. Il est possible que ces huiles essentielles contiennent des composés qui ne sont pas connus pour leur puissance antibactérienne contre ces spécificités bactériennes. De plus, la concentration des composés actifs dans les huiles essentielles utilisées pourrait être insuffisante pour exercer une activité antimicrobienne significative contre *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*.

Nos données montrent par ailleurs que l'espèce levurienne testée *Candida albicans* s'est révélée résistante à l'action de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus*. À l'inverse, elle s'est montrée sensible aux effets inhibiteurs de l'huile essentielle de *Centaurium erythraea*, qui a induit une zone d'inhibition de $18,5 \pm 3,53$ mm. Ces observations témoignent de profils d'activité antifongique distincts selon l'huile essentielle testée. La composition chimique différente de ces deux extraits pourrait expliquer leur sélectivité d'action vis-à-vis de *Candida albicans*.

L'activité antibactérienne et antifongique démontrée par les huiles essentielles des deux plantes étudiées pourrait trouver son origine dans la présence de monoterpènes

lipophiles (Cristani et *al.*, 2007). En effet, ces composés auraient la capacité de partitionner au niveau des membranes cellulaires microbiennes et mitochondriales, induisant des perturbations structurales et une augmentation de la perméabilité conduisant à la mort cellulaire (Prabuseenivasan et *al.*, 2006). Cependant, l'activité complexe d'un mélange ne saurait être attribuée à un principe unique. Les composés majeurs et mineurs présents dans l'huile essentielle peuvent contribuer à son activité antimicrobienne via des interactions synergiques et antagonistes possibles entre les différents composés présents dans l'huile (Lopes-Lutz et *al.*, 2008).

Ainsi, le viridiflorol et le phytol, principaux constituants de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus*, possèdent des propriétés inhibitrices décrites (Pejin et *al.*, 2014 ; Trevizan et *al.*, 2016). Le manool de l'huile essentielle de *Centaurium erythraea* présente également des activités biologiques dont l'antibactérienne (Hamiche et *al.*, 2019). De même, le carvacrol, présent en quantité significative (6,43%) dans cette seconde huile essentielle, démontre de puissants effets inhibiteurs (Chung et *al.*, 2018; Gaio et *al.*, 2017). D'autres composants mineurs présents dans nos huiles, tels que le 1,8-cinéole, le camphre, le terpinène-4-ol, le linalool, l' α -terpinéol et le borneol, sont des monoterpènes oxygénés qui ont été signalés dans d'autres études pour leur activité antimicrobienne (Lopes-Lutz et *al.*, 2008).

II.2.3.2. Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB/CMF)

Il est indispensable de compléter les tests en milieu solide par ceux effectués en milieu liquide. La détermination des paramètres d'inhibition (CMI, CMB et CMF) nous a permis non seulement de quantifier et confirmer les activités, mais aussi de préciser le caractère bactériostatique/fongistatique ou bactéricide/fongicide des extraits et des huiles essentielles testées sur les souches microbiennes étudiées. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau N° 16.

Tableau 16 : Valeurs des CMI et CMB/CMF des différents extraits (mg/ml) et huiles essentielles ($\mu\text{l/ml}$) contre les souches microbiennes étudiées

Plante		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>C. albicans</i>	
		CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMF
<i>Atriplex</i> <i>Halimus</i>	E Hex	6.25	12.5	-	-	6.25	12.5	-	-	-	-
	E Acét	-	-	-	-	-	-	-	-	1.56	3.12
	E HM	25	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	E AQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H E	-	-	25	50	-	-	-	-	-	-
<i>Centaurium erythraea</i>	E Hex	-	-	-	-	-	-	-	-	0.39	0.78
	E Acét	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E HM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E AQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H E	25	100	50	100	-	-	-	-	12.5	50

E Hex: extrait hexanique; E Acét: extrait acétonique; E HM: extrait hydrométhanolique; E AQ: extrait aqueux, HE : huile essentielle

Les valeurs de CMI concordent d'une manière générale avec celles des diamètres d'inhibition; les extraits ayant induit une importante zone d'inhibition présentent les plus faibles valeurs de CMI sur les souches correspondantes soit 12.5 $\mu\text{l/ml}$ et 0.39 mg/ml de l'huile essentielle et de l'extrait hexanique de *Centaurium erythraea* contre *Candida albicans*, respectivement.

Selon le Comité européen de la sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST) de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (ESCMID) (2003), les substances antimicrobiennes sont généralement classées comme bactéricides ou fongicides si le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI est inférieur ou égal à 4. En revanche, si le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI est supérieur à 4, les substances antimicrobiennes sont généralement considérées comme bactériostatiques ou fongistatiques.

Afin de caractériser plus précisément l'effet antimicrobien de chaque extrait ou huile essentielle active, nous avons procédé au calcul des rapports CMB/CMI ou CMF/ CMI. Les valeurs obtenues sont présentées de manière détaillée dans le tableau 17.

Tableau 17 : Les rapports CMB/CMI ou CMF/CMI pour les extraits et les huiles essentielles actives.

Plante	Extrait	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Atriplex halimus</i>	E Hex	2	-	2	-
	E Acét	-	-	-	2
	E HM	4	-	-	-
	H E	-	2	-	-
<i>Centaurium erythraea</i>	E Hex	-	-	-	2
	HE	4	2	-	4

E Hex: extrait hexanique; E Acét: extrait acétonique; E HM: extrait hydrométhanolique; HE : huile essentielle

En ce qui concerne l'effet d'*Atriplex halimus*, les analyses révèlent une propriété bactéricide notable contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec un ratio CMB/CMI compris entre 2 et 4. De plus, un effet fongicide a été noté vis-à-vis de *Candida albicans*, avec un ratio CMF/CMI de 2.

S'agissant de *Centaurium erythraea*, les résultats indiquent une activité fongicide de l'extrait hexanique contre *Candida albicans* avec le rapport CMF/CMI de 2. Par ailleurs, l'huile essentielle de cette plante était efficace contre *Candida albicans* (effet fongicide) avec un CMF/CMI de 4, et aussi vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (effet bactéricide).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

La recherche de nouveaux antioxydants et antimicrobiens d'origine naturelle a suscité un intérêt croissant ces dernières années. Les scientifiques et chercheurs se sont penchés sur l'exploration des ressources végétales et des plantes médicinales en raison de leur richesse en composés bioactifs. Ces composés naturels présentent de nombreux avantages, tels que leur innocuité, leur disponibilité étendue et leur potentiel pour lutter contre les défis de santé publique tels que le stress oxydatif et la résistance aux antimicrobiens. Cette étude a mis en évidence le potentiel prometteur d'*Atriplex halimus* et de *Centaurium erythraea* comme sources naturelles d'antioxydants et d'agents antimicrobiens. Cette opportunité a permis d'approfondir notre compréhension des propriétés bénéfiques de ces plantes et a ouvert la voie à de nouvelles perspectives pour le développement de traitements naturels et sûrs contre le stress oxydatif et la résistance aux antimicrobiens.

L'analyse phytochimique qualitative et la chromatographie sur couche mince ont permis d'identifier une variété de composés bioactifs présents dans les extraits de ces plantes. Parmi ces composés, on retrouve des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des stérols, des coumarines et des saponines, ayant un rôle important dans les propriétés biologiques de ces extraits.

Les analyses quantitatives réalisées ont permis d'obtenir des données précises concernant la concentration des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits d'*Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*. Les extraits acétoniques et hydrométhanoliques se sont révélés être les plus riches en ces composés. Ces données fournissent des informations précieuses sur la quantité relative de ces composés bioactifs, ce qui peut aider à évaluer leur potentiel en tant qu'antioxydants et agents antimicrobiens,

Cette étude fournit aussi une meilleure compréhension de la composition chimique des huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et de *Centaurium erythraea*, mettant en évidence les composants volatils clés responsables de leurs propriétés aromatiques et potentiellement de leurs activités biologiques. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier plusieurs composés bioactifs dans l'huile des deux plantes étudiées.

Les tests de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et le FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), ont démontré que l'extrait acétonique d'*Atriplex halimus* et l'extrait hydrométhanolique de *Centaurium erythraea* présentaient une activité antioxydante élevée, bien qu'inférieure à celle de l'acide ascorbique et de la catéchine. Les huiles essentielles ont

Conclusion générale

quant à elles ont révélé une activité antioxydante modérée. Ces résultats suggèrent que les extraits de ces plantes pourraient être utilisés comme sources naturelles d'antioxydants potentiellement bénéfiques pour la santé humaine.

D'autre part, les extraits et les huiles essentielles ont également démontré une activité antibactérienne prometteuse contre les micro-organismes pathogènes étudiés. Toutes les souches étaient sensibles aux extraits et huiles essentielles à l'exception d'*Enterococcus faecalis* qui était la plus résistante.

En conclusion, cette étude a mis en évidence le potentiel prometteur des plantes étudiées en tant que sources d'antioxydants et d'agents antimicrobiens naturels. Les résultats obtenus offrent une base solide pour de futures recherches visant à isoler et à caractériser les composés bioactifs spécifiques présents dans ces plantes, ainsi qu'à évaluer leur efficacité et leur sécurité dans des modèles précliniques et cliniques.

Les résultats de cette étude offrent de vastes perspectives de recherche et d'applications pratiques. Ils suggèrent que ces plantes pourraient :

- ✓ Être des sources précieuses d'antioxydants et de substances antimicrobiennes naturelles.
- ✓ Ouvrir la voie au développement de nouveaux produits dans des domaines tels que la cosmétique, l'industrie pharmaceutique, et les compléments alimentaires.
- ✓ Être sélectionnées pour approfondir les recherches sur leurs propriétés pharmacologiques et leurs mécanismes d'action.
- ✓ Jouer un rôle clé dans la prévention et le traitement de diverses affections, tout en contribuant à la valorisation des ressources naturelles de la région de Mascara.
- ✓ Offrir de nouvelles perspectives pour la recherche et créer des opportunités de développement durable dans le domaine de la santé.

Il est également important de noter que, malgré le potentiel prometteur des plantes médicinales comme *Atriplex halimus* et *Centaurium erythraea*, seule une petite partie de la richesse botanique de l'Algérie a été explorée et décrite. Cela met en évidence l'importance de poursuivre les efforts de recherche et d'exploration pour découvrir et documenter davantage les plantes médicinales du pays, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles découvertes et applications dans le domaine de la médecine naturelle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aazza, S., El-Guendouz, S., & da Graça Miguel, M. (2023). Antioxidant and α -amylase Inhibition Activities of Six Plants Used in the Management of Diabetes in Morocco. *Lira International Analytic and Nanotechnology*, 13(1), 17.
- Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., Ishtiaq, A., Hussain, S. & Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20 (8), 1689-1699.
- Abdallah, E. M. (2011). Plants: An alternative source for antimicrobials. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(6), 16-20.
- Abdallah, I. I., & Quax, W. J. (2017). A Glimpse into the Biosynthesis of Terpenoids. [in :] International Conference on Natural Resources and Life Sciences (NRLS-2016). Ed. KnE Life Sciences : 81-98.
- Abd-Ellatif, S., Abdel Rahman, S. M., & Deraz, S. F. (2011). Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from El-Hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *ARP Journal of Agricultural and Biological Science*, 6 (9), 26-32.
- Abdul Aziz, Z. A., Ahmad, A., Mohd Setapar, S. H., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M. A. & Ashraf, G. M. (2018). Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. *Current drug metabolism*, 19 (13), 1100-1110.
- Aberham, A., Pieri, V., Croom Jr, E. M., Ellmerer, E., & Stuppner, H. (2011). Analysis of iridoids, secoiridoids and xanthenes in *Centaurium erythraea*, *Frasera caroliniensis* and *Gentiana lutea* using LC–MS and RP-HPLC. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 54 (3), 517-525.
- Abushaheen, M. A., Muzahed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971.
- Abu-Zanat, M. M., Al-Hassanat, F. M., Alawi, M., & Ruyle, G. B. (2003). Mineral assessment in *Atriplex halimus* L. and *Atriplex nummularia* L. in the arid region of Jordan. *African Journal of Range and Forage Science*, 20(3), 247-251.
- Adejoke, H. T., Louis, H., Amusan, O. O., & Apebende, G. (2019). A review on classes, extraction, purification and pharmaceutical importance of plants alkaloid. *Journal of Medicinal and Chemical Sciences*, 2 (4), 130-139.
- Adibah, K. Z. M., & Azzreena, M. A. (2019). Plant toxins: alkaloids and their toxicities. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 21– 29.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), 324-329.

- Agelet, A., & Valles, J. (2003). Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). Part II. New or very rare uses of previously known medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 84 (2-3), 211-227.
- Aguilar, T. A. F., Navarro, B. C. H., & Pérez, J. A. M. (2016). Endogenous antioxidants: a review of their role in oxidative stress. *A master regulator of oxidative stress-the transcription factor nrf*, 2, 3-20.
- Ahad, B., Shahri, W., Rasool, H., Reshi, Z. A., Rasool, S., & Hussain, T. (2021). Medicinal plants and herbal drugs: An overview. [in:] *Medicinal and aromatic plants: healthcare and industrial applications*. Ed. Springer International Publishing : 1-40.
- Ahmad, M., & Khan, A. U. (2019). Global economic impact of antibiotic resistance: A review. *Journal of global antimicrobial resistance*, 19, 313-316.
- Ahmadi, S. M., Farhoosh, R., Sharif, A., & Rezaie, M. (2020). Structure-antioxidant activity relationships of luteolin and catechin. *Journal of food science*, 85(2), 298-305.
- Ahmed, A. F., Attia, F. A., Liu, Z., Li, C., Wei, J., & Kang, W. (2019). Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 299-305.
- Ahmed, O. M., & Mohammed, M. T. (2020). Oxidative stress: The role of reactive oxygen species (ROS) and antioxidants in human diseases. *Plant Arch*, 20(2), 4089-4095.
- Alam, M. M., Islam, M., Wahab, A., & Billah, M. (2019). Antimicrobial resistance crisis and combating approaches. *Journal of Medicine*, 20 (1), 38.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 12-17.
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & function*, 12 (1), 14-29.
- Al-Dalaen, S. M., & Al-Qtaitat, A. I. (2014). Oxidative stress versus antioxidants. *American journal of Bioscience and Bioengineering*, 7(1), 60-71.
- Alhamadani, A. H., & Al-Waheeb, A. N. (2022). New phytochemical investigation of *Atriplex halimus* L. and evaluation of its cytotoxic and anticancer effect on human pancreas cancer cells. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 2155-2168.
- Alver, E. N., Kaltalioglu, K., & Coskun-Cevher, S. (2021). Reactive oxygen species and wound healing. [in:] *Research & Reviews in Science and Mathematics*. Ed. Gece Kitaplığı : 67-126.

- Alves-Silva, J. M., Romane, A., Efferth, T., & Salgueiro, L. (2017). North African medicinal plants traditionally used in cancer therapy. *Frontiers in pharmacology*, 8, 270486.
- Ambrosio C. M., de Alencar S. M., de Sousa R. L., Moreno A. M., Da Gloria E. M. (2017). Antimicrobial Activity of Several Essential Oils on Pathogenic and Beneficial Bacteria. *Ind Crops Prod* , 97, 128-136.
- Ammar, S., Hafsa, M. B., Mahjoub, M. A., Edziri, H., Mastouri, M., Neffati, M., & Mighri, Z. (2012). Essential oils from the halophytic plant *Atriplex inflata* F. Muell: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 34(3&4), 132-144.
- Amorati R., Foti M. C. (2017). Mode of Antioxidant Action of Essential Oils. [in:] Essential Oils in Food Processing (Hashemi S. M. B., Khaneghah A. M., de Souza Sant'Ana A., eds.).Ed. John Wiley & Sons : 267-291.
- Andueza, D., Muñoz, F., Delgado, I., & Correal, E. (2005). Intraspecific variation in *Atriplex halimus*: Chemical composition of edible biomass. *Options Mediterr*, 67, 377-381.
- Anggraeny, Y. N., Setiasih, S., Puspito, S, Widodo S., Wardi, W., Prihandini, P. W., Antonius, A., Istiqomah, N., Haryanto, B., Kurniawati, A., Muhlisin, M., Prihartini, I., Ramsiati, D. T., Wulansari, W. I., Indriatie, R.. (2024). Profile of secondary metabolites of *Citrus hystrix* DC from several solvents and its potential as an antibacterial substance. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1292(1), 012018.
- Annapandian V. M., Rajagopal S. S. (2017). Phytochemical Evaluation and *in vitro* Antioxidant Activity of Various Solvent Extracts of *Leucas aspera* (Willd.) Link Leaves. *Free Radic Antioxid* , 7 (2): 166-171.
- Antolak, H., & Kregiel, D., 2017. Food preservatives from plants. London : IntechOpen UK. Pp. 45-85.
- Antony, A., & Farid, M. (2022). Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences*, 12(4), 2107.
- Aouissat, M., D.J. Walker, K. Hcini, M. Belkhodja and E. Correal, 2011. Osmolyte concentrations in *Atriplex halimus* L. and *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. adapted to salinity and low temperature (Chenopodiaceae). *Anales Biologia*, 33, 117-126.
- Aquino R., Behar I., Garzarella P., Dini A., Pizza C. (1985). Chemical composition and biological properties of *Erythraea centaurium* Rafn. *Bollettino Della Societa Italiana Di Biologia Sperimentale*. 61 (2), 165-169.
- Arsène, M. M., Podoprigora, I. V., Davares, A. K., Razan, M., Das, M. S., & Senyagin, A. N. (2021). Antibacterial activity of grapefruit peel extracts and green-synthesized silver nanoparticles. *Veterinary World*, 14(5), 1330.

- Aryaeian, N., Sedehi, S. K., & Arablou, T. (2017). Polyphenols and their effects on diabetes management: A review. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 31, 134.
- Ashraf, M.V., Pant, S., Khan, M.A.H., Shah, A.A., Siddiqui, S., Jeridi, M., Alhamdi, H.W.S. & Ahmad, S. (2023). Phytochemicals as antimicrobials: prospecting Himalayan medicinal plants as source of alternate medicine to combat antimicrobial resistance. *Pharmaceuticals*, 16 (6), 881.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N. & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Baba-Aïssa, F., 2000. Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *EDAS*.Pp. 59,227.
- Bajalan, I., Mohammadi, M., Alaei, M., & Pirbalouti, A. G. (2016). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of extracts from different populations of lavandin. *Industrial Crops and Products*, 87, 255-260.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Barbosa, M. L., de Meneses, A. A. P. M., de Aguiar, R. P. S., e Sousa, J. M. D. C., Cavalcante, A. A. D. C. M., & Maluf, S. W. (2020). Oxidative stress, antioxidant defense and depressive disorders: a systematic review of biochemical and molecular markers. *Neurology, Psychiatry and Brain Research*, 36, 65-72.
- Barešová, H. (1988). *Centaurium erythraea* Rafn: micropropagation and the production of secoiridoid glucosides. [in :] Medicinal and Aromatic Plants I . Ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg : 350-366.
- Barry-Ryan C., Bourke P. (2012). Essential Oils for the Treatment of Fruit and Vegetables. [in:] Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce. Ed. John Wiley & Sons : 225-246.
- Bartlett, J. G., Gilbert, D. N., & Spellberg, B. (2013). Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clinical infectious diseases*, 56 (10), 1445-1450.
- Bele, A. A., & Khale, A. (2011). An overview on thin layer chromatography. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 2 (2), 256.
- Bellakhdar J., Claisse R., Fleurentin J., Younos C. (1991). Repertory of Standard Herbal Drugs in the Moroccan Pharmacopoea. *J Ethnopharmacol*, 35 (2), 123-143.

- Benarba, B. (2015). Use of medicinal plants by breast cancer patients in Algeria. *EXCLI journal*, 14, 1164.
- Bendjedid, S., Lekmine, S., Tadjine, A., Djelloul, R., & Bensouici, C. (2021). Analysis of phytochemical constituents, antibacterial, antioxidant, photoprotective activities and cytotoxic effect of leaves extracts and fractions of *Aloe vera*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101991.
- Benhadria, M. K., Touil, M. A. T., & Meddah, B. (2017). Optimization of production of microbial exopolysaccharides (EPS) with essential oils from two medicinal plants. *Journal of Applied Biosciences*, 111, 10925-10933.
- Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, 12(12), 1259-1266.
- Benítez, G., González-Tejero, M. R., & Molero-Mesa, J. (2010). Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, 129 (1), 87-105.
- Bennett, R. N., & Wallsgrove, R. M. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New phytologist*, 127 (4), 617-633.
- Bentahar, A., Khenouf, S., Bouaziz, A., Baghiani, A., Dahamna, S., Amira, S., & Arrar, L. (2016). Polyphenols content and antioxidant activities of selected Algerian plants used for gastro-duodenal ulcers. *Der Pharma Chemica*, 8(12), 88-99.
- Berkan, T., Üstünes, L., Lermioglu, F., & Özer, A. (1991). Antiinflammatory, analgesic, and antipyretic effects of an aqueous extract of *Erythraea centaurium*. *Planta medica*, 57 (01), 34-37.
- Bernhoft, A., Siem, H., Bjertness, E., Meltzer, M., Flaten, T., & Holmsen, E. (2010). Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals. *The Norwegian Academy of Science and Letters*, 13-14.
- Bhargava, V. V., Patel, S. C., & Desai, K. S. (2013). Importance of terpenoids and essential oils in chemotaxonomic approach. *International Journal of Herbal Medicine*, 1 (2), 14-21.
- Bhatnagar A. (2020). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Cymbopogon flexuosus*. *J Appl Nat Sci* ,12 (1), 25-29.
- Bi, X., Han, L., Qu, T., Mu, Y., Guan, P., Qu, X., Wang, Z. & Huang, X. (2017). Anti-inflammatory effects, SAR, and action mechanism of monoterpenoids from Radix Paeoniae Alba on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Molecules*, 22 (5), 715.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19.

- Bishay, D. W., Shelver, W. H., & Khalil, S. W. (1978). Alkaloids of *Erythraea Centaurium* Pers. Growing in Egypt. *Planta Medica*, 33 (04), 422-423.
- Boaro C. S. F., Vieira M. A. R., Campos F. G., Ferreira G., De-la-Cruz- Chacón I., Marques M. O. M. (2019). Factors Influencing the Production and Chemical Composition of Essential Oils in Aromatic Plants from Brazil. [in:] *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production* (Malik S., ed.).Ed. Springer : 19-47.
- Bokov, A., Chaudhuri, A., & Richardson, A. (2004). The role of oxidative damage and stress in aging. *Mechanisms of ageing and development*, 125(10-11), 811-826.
- Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc. Pp. 954.
- Bouaziz, S., Amri, M., Taibi, N., Zeghir-Bouteldja, R., Benkhaled, A., Mezioug, D., & Touil-Boukoffa, C. (2021). Protoscolicidal activity of *Atriplex halimus* leaves extract against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. *Experimental parasitology*, 229, 108155.
- Boumediene, M., touil Aicha, T., André, L., Noredine, N., Canarelli, J. P., & Krim, G. (2011). Alternative treatment of infection by compounds isolated from *Globularia erioccephala* leaves. *Advances in Environmental Biology*, 5(2), 227-230.
- Bounouar, E., Missoun, F., Amari, N. O., Belabaci, F. Z., Belabaci, S., Sekkal, F. Z., & Djebli, N. (2022). Antidiabetic effect of *Atriplex halimus* L (Sp. Pl. 2: 1052 (1753)) long and short term treatment against Streptozotocin induced diabetes in rat. *Anales de Biología*, 43, 21-30.
- Bouyahya A., Belmehdi O., El Jemli M., Marmouzi I., Bourais I., Abrini J., Faouzi M., Bakri Y., Dakka N. (2019). Chemical Variability of *Centaurium erythraea* Essential Oils at Three Developmental Stages and Investigation of Their *in vitro* Antioxidant, Antidiabetic, Dermatoprotective and Antibacterial Activities. *Ind Crops Prod*, 132, 111-117.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touys, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities. *European Journal of Integrative Medicine*, 13, 9-25.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Belmehdi, O., Et-Touys, A., Abrini, J. & Dakka, N. (2017). Phenolic extracts of *Centaurium erythraea* with novel antiradical, antibacterial and antileishmanial activities. *Asian Pac J Trop Dis*, 7(7), 433-439.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Assemian, I. C. C., Abrini, J., & Dakka, N. (2018). *In vitro* antiproliferative activity of selected medicinal plants from the North-West of Morocco on several cancer cell lines. *European Journal of Integrative Medicine*, 18, 23-29.

- Bouyahya, A., Bakri, Y., Khay, E. O., Edaoudi, F., Talbaoui, A., Et-Touys, A., Abrini, J. & Dakka, N. (2017). Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants: a review. *Asian Pac J Trop Dis*, 7(1), 57-64.
- Božunović, J., Živković, S., Gašić, U., Glamočlija, J., Ćirić, A., Matekalo, D., Šiler, B., Soković, M., Tešić, Ž. & Mišić, D. (2018). *In vitro* and *in vivo* transformations of *Centaurium erythraea* secoiridoid glucosides alter their antioxidant and antimicrobial capacity. *Industrial Crops & Products*, 111, 705-721.
- Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids: a review. *Asian journal of botany*, 1 (1), 1-6.
- Brighente, I. M. C., Dias, M., Verdi, L. G., & Pizzolatti, M. G. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian species. *Pharmaceutical biology*, 45(2), 156-161.
- Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M., Romagnoli, C. & Sacchetti, G. (2004). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.(Lauraceae) flower calices. *Food chemistry*, 85 (3), 415-421.
- Cai, Y. Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q., & Corke, H. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life sciences*, 78(25), 2872-2888.
- Calvo M. I., Cavero R. Y. (2014). Medicinal Plants Used for Cardiovascular Diseases in Navarra and Their Validation from Official Sources. *J Ethnopharmacol*, 157, 268-273.
- Campos-Vega, R., & Oomah, B. D. (2013). Chemistry and classification of phytochemicals. *Handbook of plant food phytochemicals*, 5-48.
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 749-760.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Casiglia, S., Bruno, M., Bramucci, M., Quassinti, L., Lupidi, G., Fiorini, D., & Maggi, F. (2017). *Kundmannia sicula* (L.) DC: a rich source of germacrene D. *Journal of Essential oil rEsEarch*, 29(6), 437-442.
- Chang, Z., Zhang, Q., Liang, W., Zhou, K., Jian, P., She, G., & Zhang, L. (2019). A comprehensive review of the structure elucidation of tannins from terminalia Linn. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 8623909.

- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food chemistry*, 92(3), 491-497.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Abbou, F., Aissaoui, M., Boudjemal, O., Ghellai, I., & Senhadji, S. (2021). Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Atriplex halimus* from two regions Algeria (El Oued and Tlemcen). *Genetics & Biodiversity Journal*, 5(2), 59-67.
- Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1), 76.
- Chda, A., El Kabbaoui, M., Fresco, P., Silva, D., Gonçalves, J., Oliveira, A. P., Andrade, P. B., Valentão, P., Tazi, A., El Abida, K., & Bencheikh, R. (2020). *Centaurium erythraea* extracts exert vascular effects through endothelium-and fibroblast-dependent pathways. *Planta Medica*, 86 (02), 121-131.
- Chda, A., Kabbaoui, M., Chokri, A., Abida, K., Tazi, A., & Cheikh, R. (2016). Spasmolytic action of *Centaurium erythraea* on rabbit jejunum is through calcium channel blockade and NO release. *European Journal of Medicinal Plants*, 11 (2), 1-13.
- Che, C. T., & Zhang, H. (2019). Plant natural products for human health. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 830.
- Chebouat, E., Hadeif, D., Chebouat, I., & Belfar, M. L. (2023). Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid Contents of *Ephedra Alata* in Southeast Algeria. *Tobacco Regulatory Science (TRS)*, 9(1), 251-259.
- Chen, Q., Li, J., Ma, Y., Yuan, W., Zhang, P., & Wang, G. (2021). Occurrence and biosynthesis of plant sesterterpenes (C25), a new addition to terpene diversity. *Plant Communications*, 2 (5), 100184.
- Chen, X., Tang, S.-A., Lee, E., Qiu, Y., Wang, R., Duan, H.-Q., Dan, S., Jin, M. & Kong, D. (2015). IVSE, isolated from *Inula japonica*, suppresses LPS-induced NO production via NF- κ B and MAPK inactivation in RAW264. 7 cells. *Life sciences*, 124, 8-15.
- Chikhi I., Allali H., Dib M. E. A., Medjdoub H., Tabti, B. (2014). Antidiabetic Activity of Aqueous Leaf Extract of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Asian Pac J Trop Dis* , 4 (3), 181-184.
- Chikhi, I., Dergal, F., Gana, D. M., Dib, M. E. A., & Chaker, H. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of *Solenostemma oleifolium* essential oil from Southern Algeria. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(2), 50-54.
- Chung, D., Cho, T. J., & Rhee, M. S. (2018). Citrus fruit extracts with carvacrol and thymol eliminated 7-log acid-adapted *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*

typhimurium, and *Listeria monocytogenes*: A potential of effective natural antibacterial agents. *Food Research International*, 107, 578-588.

- Ciurea, C. N., Kosovski, I. B., Mare, A. D., Toma, F., Pinteá-Simon, I. A., & Man, A. (2020). *Candida* and candidiasis-opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits. *Microorganisms*, 8(6), 857.
- Clarke, G., Ting, K. N., Wiart, C., & Fry, J. (2013). High correlation of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the Malaysian rainforest. *Antioxidants*, 2(1), 1-10.
- Clauser, M., Dall'Acqua, S., Loi, M. C., & Innocenti, G. (2013). Phytochemical investigation on *Atriplex halimus* L. from Sardinia. *Natural product research*, 27(20), 1940-1944.
- Costa, J. P., de Oliveira, G. A. L., de Almeida, A. A. C., Islam, M. T., de Sousa, D. P., & de Freitas, R. M. (2014). Anxiolytic-like effects of phytol: possible involvement of GABAergic transmission. *Brain research*, 1547, 34-42.
- Cristani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G., Micieli D., Venuti V., Bisignano G., Saija A., Trombetta D. (2007). Interaction of Four Monoterpenes Contained in Essential Oils with Model Membranes: Implications for Their Antibacterial Activity. *J Agric Food Chem*, 55 (15), 6300-6308.
- Cushnie, T. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International journal of antimicrobial agents*, 44 (5), 377-386.
- Cutrim, C. S., & Cortez, M. A. S. (2018). A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 71 (3), 564-578.
- da Costa, L.S.; de Moraes, Â.A.B.; Cruz, J.N.; Mali, S.N.; Varela, E.L.P.; Percário, S.; de Oliveira, M.S.; Almeida, L.Q.; do Nascimento, L.D.; Ferreira, O.O. & Andrade, E. H. D. A. (2022). First report on the chemical composition, antioxidant capacity, and preliminary toxicity to *Artemia salina* L. of *Croton campinarenis* secco, A. Rosário & PE Berry (Euphorbiaceae) essential oil, and in silico study. *Antioxidants*, 11(12), 2410.
- Daciana Ciocan, I., & Băra, I. I. (2007). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Analele Științifice ale Universității "Alexandru Ioan Cuza", Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, 8, 151-156.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23 (2), 174-181.

- Dar, R. A., Shahnawaz, M., Ahanger, M. A., & Majid, I. (2023). Exploring the diverse bioactive compounds from medicinal plants: a review. *J. Phytopharm*, 12, 189-195.
- Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., & Dungani, R. (2020). Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 58-70.
- Das, A., & Satyaprakash, K. (2018). Antimicrobial properties of natural products: A review. *Pharma. Innovat. J*, 7(6), 532-537.
- Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., Singh, M. K., Maiti, D., & Manna, K. (2018). Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials today chemistry*, 9, 56-72.
- Dev, U. K., Hossain, M. T., & Islam, M. Z. (2015). Phytochemical investigation, antioxidant activity and anthelmintic activity of *Mikania micrantha* leaves. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(5), 121-133.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52, 794-804.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3 (4), 25.
- Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 9829176.
- Diallo, Sanogo, Yasambou, Traoré, Coulibaly, Maïga, 2004. Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (*Rhamnaceae*), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R. Chimie*, 7, 1073-1080.
- Dias, M. C., Pinto, D. C., & Silva, A. M. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26 (17), 5377.
- Dilbato, T., Begna, F., & Joshi, R. K. (2019). Reviews on challenges, opportunities and future prospects of antimicrobial activities of medicinal plants: Alternative solutions to combat antimicrobial resistance. *Int. J. Herb. Med*, 7, 10-18.
- Dima, C., & Dima, S. (2015). Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, 5, 29-35.
- Dirar, A. I., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., & Devkota, H. P. (2019). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120, 261-267.

- do Carmo, M. A. V., Pressete, C. G., Marques, M. J., Granato, D., & Azevedo, L. (2018). Polyphenols as potential antiproliferative agents: Scientific trends. *Current Opinion in Food Science*, 24, 26-35.
- Domanskyi, A., & Parlato, R. (2022). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Antioxidants*, 11(3), 504.
- Đorđević, M., Mihailović, M., Jovanović, J. A., Grdović, N., Uskoković, A., Tolić, A., Sinadinović, M., Rajić, J., Mišić D., Šiler B., Poznanović G., Vidaković M. & Dinić, S. (2017). *Centaurium erythraea* methanol extract protects red blood cells from oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 202, 172-183.
- Duarte, M. C. T., Duarte, R. M. T., Rodrigues, R. A. F., & Rodrigues, M. V. N. (2017). Essential oils and their characteristics. [in :] Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications. Ed. John Wiley & Sons : 1-19.
- Dugassa, J., & Shukuri, N. (2017). Review on antibiotic resistance and its mechanism of development. *Journal of Health, Medicine and Nursing*, 1(3), 1-17.
- Durazzo, A., Lucarini, M., & Heinrich, M. (2022). Dietary Supplements, Botanicals and Herbs at the Interface of Food and Medicine. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 899499.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E., & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2221-2243.
- Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21 (4), 308-323.
- El Menyiy, N., Guaouguaou, F.-E., El Baaboua, A., El Omari, N., Taha, D., Salhi, N., Shariati, M.A., Aanniz, T., Benali, T., Zengin, G., El-Shazly, M., Chamkhi, I. & Bouyahya, A. (2021). Phytochemical properties, biological activities and medicinal use of *Centaurium erythraea* Rafn. *Journal of Ethnopharmacology*, 276, 114171.
- El Ouadni, H., Ouaamr, A., Zair, T., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2023). Phytochemical, Antioxidant, and Antidiabetic Activity of *Centaurium erythraea* Rafn. Decoction and Soxhlet extraction. *ISSN: 1673-0860*, 54 (9), 1169-1182.
- El-Aasr, M., Kabbash, A., El-Seoud, K. A. A., Al-Madboly, L. A., & Ikeda, T. (2016). Antimicrobial and Immunomodulatory Activities of Flavonol Glycosides Isolated From *Atriplex halimus* L. Herb. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(10), 1159.
- El-Amier, Y. A., & Ejgholi, A. A. (2014). Fodder potentialities of three halophytes naturally growing in Egypt. *J. Environ. Sci*, 43, 647-662.

- El-Araby, G. M., & Shalaby, H. S. (2015). Study on obese rats fed on local Egyptian bakery product (Rokaq) supplemented with Saltbush (*Atriplex halimus*, L.). *Journal of Home Economics*, 25(4), 95-112.
- Elbouzidi, A., Ouassou, H., Aherkou, M., Kharchoufa, L., Meskali, N., Baraich, A., Mechchate, H., Bouhrim, M., Idir, A., Hano, C., & Zrouri, H. (2022). LC–MS/MS Phytochemical Profiling, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity of the Ethanolic Extract of *Atriplex halimus* L. against Breast Cancer Cell Lines: Computational Studies and Experimental Validation. *Pharmaceuticals*, 15(9), 1156.
- Elfirta, R. R., Falah, S., Andrianto, D., & Lastini, T. (2018). Identification of active compounds and antifungal activity of *Toona sinensis* leaves fractions against wood rot fungi. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19(4), 1313-1318.
- El-Ghorab, A. H. (2006). The chemical composition of the *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 9(2), 183-195.
- Emam, S. S. (2011). Bioactive constituents of *Atriplex halimus* plant. *Journal of Natural Products*, 4, 25-41.
- Engwa, G. A. (2018). Free radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. [in:] *Phytochemicals: source of antioxidants and role in disease prevention*. Ed. BoD–Books on Demand : 49-74.
- Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4(2016), 90-101.
- European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by brothdilution. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2003, 9, ix–xv.
- Eve, A., Aliero, A. A., Nalubiri, D., Adeyemo, R. O., Akinola, S. A., & Pius, T. (2020). *In vitro* antibacterial activity of crude extracts of *Artocarpus heterophyllus* seeds against selected diarrhoea-causing superbug bacteria. *Sci World J.*, 2020, p 11.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus. Biologies*, 331(5), 372-379.
- Faure, Herlin, Fontaine, 2007. *Pharmacologie*. 3^e ed. Elsevier Masson. Pp. 55-56.
- Feriha, B., Brahim, A., Reguia, M., Amar, D., & Mohamed, Y. (2019). High antioxidant capacities and anti-inflammatory effects of *Hammada elegans* Botsch. Extracts: an in vitro assessment. *Current Enzyme Inhibition*, 15(1), 55-68.

- Ferrazzano, G. F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., & Pollio, A. (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16 (2), 1486-1507.
- Ferreira I., Baptista p., vilas-Boas M., Barros L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. *Food chemistry*, 100, 1511-1516.
- Founou, R. C., Founou, L. L., & Essack, S. Y. (2017). Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 12(12), e0189621.
- Gadjalova, A. V., & Mihaylova, D. (2019). Ultrasound-assisted extraction of medicinal plants and evaluation of their biological activity. *Food Res*, 3(5), 530-536.
- Gaio, V., Lima, C. A., Oliveira, F., Franca, A., & Cerca, N. (2017). Carvacrol is highly disruptive against coagulase-negative staphylococci *in vitro* biofilms. *Future microbiology*, 12(16), 1487-1496.
- Gao, S., Liu, Z., Li, H., Little, P. J., Liu, P., & Xu, S. (2012). Cardiovascular actions and therapeutic potential of tanshinone IIA. *Atherosclerosis*, 220 (1), 3-10.
- García-Salinas, S., Elizondo-Castillo, H., Arruebo, M., Mendoza, G., & Irusta, S. (2018). Evaluation of the antimicrobial activity and cytotoxicity of different components of natural origin present in essential oils. *Molecules*, 23(6), 1399.
- Gassier, J., & Morel-Haziza, C. (2003). *Biologie Microbiologie Nutrition Alimentation* (Vol. 1). Elsevier Masson.
- Gasu, E. N., Ahor, H. S., & Borquaye, L. S. (2018). Peptide extract from *Olivancillaria hiatula* exhibits broad-spectrum antibacterial activity. *BioMed Research International*, 2018.
- Gebicka, L., & Krych-Madej, J. (2019). The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of inorganic biochemistry*, 197, 110699.
- Gedikoğlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food science & nutrition*, 7(5), 1704-1714.
- Ghazanfar, A. S. ,1994. Arabian medicinal plants. In USA: Library of Congress cataloging in the USA.
- Gokhale S. B., Kokate C. K., 2008. Practical Pharmacognosy. 12thed.Nirali Prakashan. Pp. 14.
- Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P., & Romano, A. (2013). The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 43, 465-471.

- Guedes, L., Reis, P. B., Machuqueiro, M., Ressaissi, A., Pacheco, R., & Serralheiro, M. L. (2019). Bioactivities of *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) decoctions: Antioxidant activity, enzyme inhibition and docking studies. *Molecules*, 24(20), 3795.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., Choudhary, A.K., Jha, U.K., Yadav, U.C., Gupta, P.K. & Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 15(11), 4405-4409.
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L. A., Elizalde-Romero, C. A., & Heredia, J. B. (2020). Plant alkaloids: Structures and bioactive properties. *Plant-derived bioactives: chemistry and mode of action*, 85-117.
- Hackman, R. M., Polagruto, J. A., Zhu, Q. Y., Sun, B., Fujii, H., & Keen, C. L. (2008). Flavanols: Digestion, absorption and bioactivity. *Phytochemistry Reviews*, 7, 195-208.
- Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhrouf A. (2010). Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (8-9), 2186-2192.
-
- Haloui, M., Louedec, L., Michel, J. B., & Lyoussi, B. (2000). Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *Journal of ethnopharmacology*, 71(3), 465-472.
- Hamiche S., Badis A., Jouadi B., Bouzidi N., Daghbouche Y., Utczás M., Mondello L., El Hattab M. (2019). Identification of Antimicrobial Volatile Compounds Produced by the Marine Bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* Strain S13 Newly Isolated from Brown Alga *Zonaria tournefortii*. *J Essent Oil Res*, 31 (3), 203-210.
- Hamilton, R. J. ,2016. Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2017 deluxe lab-coat edition. Jones & Bartlett Learning.Pp. 21.
- Haminiuk, C. W., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits—an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47 (10), 2023-2044.
- Hanif, M. A., Nisar, S., Khan, G. S., Mushtaq, Z., & Zubair, M. (2019). Essential oils. [in :] Essential oil research: trends in biosynthesis, analytics, industrial applications and biotechnological production. Springer : 3-17.
- Harley, Klein, Prescott, Sherwood, Willey, Woolverton, 2010. Microbiologie. *De Boeck Université*, Pp. 854.
- Hasibuan, F. E., Syahfitri, W., Ilyas, S., & Hutahaean, S. (2020). Phytochemical screening, antioxidant activity and thin-layer chromatography test of methanol extract

and simplicia leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 725(1), 012069.

- Hassan, S. T., Masarčíková, R., & Berchová, K. (2015). Bioactive natural products with anti-herpes simplex virus properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67 (10), 1325-1336.
- Hassine, A. B., Ghanem, M. E., Bouzid, S., & Lutts, S. (2008). An inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress. *Journal of experimental botany*, 59 (6), 1315-1326.
- Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T., & Tew, K. D. (2020). Oxidative stress in cancer. *Cancer cell*, 38(2), 167-197.
- Heinrich, M., Mah, J., & Amirkia, V. (2021). Alkaloids used as medicines: Structural phytochemistry meets biodiversity-An update and forward look. *Molecules*, 26 (7), 1836.
- Hemmati Hassan Gavyar, P., & Amiri, H. (2018). Chemical composition of essential oil and antioxidant activity of *Salvia sclareopsis* an endemic species from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4), 1138-1145.
- Hostetler, G. L., Ralston, R. A., & Schwartz, S. J. (2017). Flavones: Food sources, bioavailability, metabolism, and bioactivity. *Advances in Nutrition*, 8 (3), 423-435.
- Hu, X., & Xu, Z. (2011). Isolation Characterization of Bioactive Compounds in Fruits and Cereals. [In:] *Fruit and Cereal Bioactives: Sources, Chemistry, and Applications*. Ed. CRC press : 319.
- Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2019). Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*, 1 (3), 11-30.
- Ibelegbu, G. E., Ezeagwula, C. G., & Oji, N. C. (2023). Phytochemical Analysis and Antibacterial Effect of *Medicago sativa* and *Moringa oleifera* on Selected Bacteria Isolates. *Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, 6(2), 115-122.
- Idm'hand E., Msanda F., Cherifi K. (2020). Ethnobotanical Study and Biodiversity of Medicinal Plants Used in the Tarfaya Province, Morocco. *Acta Ecol Sin*, 40 (2), 134-144.
- Iloki-Assanga, S. B., Lewis-Luján, L. M., Lara-Espinoza, C. L., Gil-Salido, A. A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J. L., & Haines, D. D. (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC research notes*, 8(1), 1-14.

- Imene, F., Chouhaira, B., Wided, T., & Imane, G. (2023). Ethnobotanical study of a Medicinal Plant-Ephedra alata-In the North-East of Algeria. *Journal of Complementary Medicine Research*, 14(1), 21-21.
- Islam, M. T., Ali, E. S., Uddin, S. J., Shaw, S., Islam, M. A., Ahmed, M. I., ... & Atanasov, A. G. (2018). Phytol: A review of biomedical activities. *Food and chemical toxicology*, 121, 82-94.
- Ivanišová, E., Krajčovič, T., Tokár, M., Dráb, Š., Kántor, A., & Kačániová, M. (2017). Potential of wild plants as a source of bioactive compounds. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 50 (1), 109-109.
- Jahangeer, M., Fatima, R., Ashiq, M., Basharat, A., Qamar, S. A., Bilal, M., & Iqbal, H. (2021). Therapeutic and Biomedical Potentialities of Terpenoids-A Review. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 15 (2), 471-483.
- Jamshidi-Kia, F., Wibowo, J. P., Elachouri, M., Masumi, R., Salehifard-Jouneghani, A., Abolhassanzadeh, Z., & Lorigooini, Z. (2020). Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 9(3), 191-199.
- Jeppesen, P. B., Rolfsen, S. E., Agger, A., Gregersen, S., Colombo, M., Xiao, J., & Hermansen, K. (2006). Can stevioside in combination with a soy-based dietary supplement be a new useful treatment of type 2 diabetes? An *in vivo* study in the diabetic goto-kakizaki rat. *The Review of Diabetic Studies: RDS*, 3 (4), 189.
- Jerković I., Gašo-Sokač D., Pavlović H., Marijanović Z., Gugić M., Petrović I., Kovač S. (2012). Volatile Organic Compounds from *Centaurium erythraea* Rafn (Croatia) and the Antimicrobial Potential of Its Essential Oil. *Molecules*, 17 (2), 2058-2072.
- Joanny, 2005. La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, 3, 118-121.
- Jovanović O., Radulović N., Stojanović G., Palić R., Zlatković B., Gudžić B. (2009). Chemical Composition of the Essential Oil of *Centaurium erythraea* Rafn (Gentianaceae) from Serbia. *J Essent Oil Res*, 21 (4), 317-322.
- Kabbash, A. and Shoeib, N.(2012). Chemical and biological investigation of some secondary metabolites in *Atriplex halimus* growing in Egypt. *Nat. Prod. Commun*, 7, 1465-1468.
- Kachmar, M. R., Oliveira, A. P., Valentão, P., Gil-Izquierdo, A., Domínguez-Perles, R., Ouhbia, A., El Badaoui, K., Andrade, P. B., & Ferreres, F. & Ferreres, F. (2019). HPLC-DAD-ESI/MSn phenolic profile and *in vitro* biological potential of *Centaurium erythraea* Rafn aqueous extract. *Food chemistry*, 278, 424-433.
- Kale, M. A., Bindu, S. M., & Khadkikar, P. (2015). Role of antioxidants and nutrition in oxidative stress: a review. *Int J Appl Pharm*, 7(1), 1-4.

- Kam, M., & Degen, A. A. (1988). Water, electrolyte and nitrogen balances of fat sand rats (*Psammomys obesus*) when consuming the saltbush *Atriplex halimus*. *Journal of Zoology*, 215(3), 453-462.
- Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food chemistry*, 100(2), 584-589.
- Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of M. balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.
- Kelley, D. B., Goodin, J. R., & Miller, D. R. (1982). Biology of *Atriplex*. [in :]Contributions to the Ecology of Halophytes. Ed. DR W.Junk Publishers:79-107.
- Khadidja, D., Zouina, D., Saliha, D., Anis, B., Abd Raouf, M. A. A. D. A. D. I., & Seddik, K. (2020). A contribution to the valorization of two medicinal plants: *Atriplex halimus* Sub. Sp. *Schweinfurthii* and *Bunium incrassatum*, growing in the region of M'sila (North-East Algeria). *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 12(4), 208-216.
- Khaldi, A., Amamra, D., Maghdouri, N., & Tir Touil, A. (2015). Assessment of *Atriplex halimus* extracts activity against multidrug resistant bacteria isolated from different environments. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(6), 543-549.
- Khameneh, B., Diab, R., Ghazvini, K., & Bazzaz, B. S. F. (2016). Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. *Microbial pathogenesis*, 95, 32-42.
- Khanbabae, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18 (6), 641-649.
- Khiya, Z., Oualcadi, Y., Gamar, A., Berrekhis, F., Zair, T., & Hilali, F. E. (2021). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant activity of hydromethanolic extract and their fractions of the *Salvia officinalis* leaves from different regions of Morocco. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-11.
- Khunkitti W. (2010). *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Cymbopogon Species. [in:] Essential Oil-Bearing Grasses .Ed. CRC press. Boca Raton : 167-184.
- Kıran, T. R., Otlı, O., & Karabulut, A. B. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1), 1-11.
- Kirbağ, S. E. V. D. A., Zengin, F., & Kursat, M. (2009). Antimicrobial activities of extracts of some plants. *Pak. J. Bot*, 41(4), 2067-2070.
- Kırmusaoğlu, S., Gareayaghi, N., & Kocazeybek, B. S. (2019). Introductory chapter: the action mechanisms of antibiotics and antibiotic resistance. [in:] Antimicrobials,

antibiotic resistance, antibiofilm strategies and activity methods. Ed. IntechOpen : 3-12.

- Koh, K. J., Pearce, A. L., Marshman, G., Finlay-Jones, J. J., & Hart, P. H. (2002). Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *British Journal of Dermatology*, 147 (6), 1212-1217.
- Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., & Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(1), 8-17.
- Ksouri, R., Ksouri, W. M., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I., & Abdelly, C. (2012). Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Critical reviews in biotechnology*, 32(4), 289-326.
- Kültür Ş. (2007). Medicinal Plants Used in Kırklareli Province (Turkey). *J. Ethnopharmacol*, 111 (2), 341-364.
- Kumar, S., & Pandey, A. (2015). Free radicals: health implications and their mitigation by herbals. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 7(6), 438-457.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013, 162750.
- Kumar, V., Khan, A. A., Tripathi, A., Dixit, P. K., & Bajaj, U. K. (2015). Role of oxidative stress in various diseases: Relevance of dietary antioxidants. *J Phytopharm*, 4(2), 126-32.
- Kumari, A., Goyal, V., & Sheokand, S. (2019). Oxidative stress and antioxidant defence under metal toxicity in halophytes [in :] *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*. Ed. Springer Nature Singapore : 115-155.
- Kumari, M., & Jain, S. (2012). Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences ISSN*, 2277, 2502.
- Larkins, N., & Wynn, S. (2004). Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 34(1), 291-327.
- Las Heras, B., Rodriguez, B., Bosca, L., & Villar, A. M. (2003). Terpenoids: sources, structure elucidation and therapeutic potential in inflammation. *Current topics in medicinal chemistry*, 3 (2), 171-185.
- Levonen, A. L., Vähäkangas, E., Koponen, J. K., & Ylä-Herttuala, S. (2008). Antioxidant gene therapy for cardiovascular disease: current status and future perspectives. *Circulation*, 117(16), 2142-2150.

- Levy, S. B., & Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature medicine*, 10 (12), S122-S129.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6 (12), 6020-6047.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757-772.
- Lin, J. K., & Lin-Shiau, S. Y. (2006). Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. *Molecular nutrition & food research*, 50 (2), 211-217.
- Linden G., 1981. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Collection Sciences et Techniques. Pp. 434.
- Lohidas, J., Manjusha, S., & Jothi, G. G. G. (2015). Antimicrobial activities of *Carica papaya* L. *Plant Archives*, 15(2), 1179-1186.
- Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Piccolo, V., Statti, A. G., de Cindio, B., Houghton, P. G. & Menichini, F. (2008). *In vitro* inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 119(1), 109-116.
- Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk P. P. (2008). Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Artemisia* Essential Oils. *Phytochemistry*, 69, 1732-1738.
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175.
- Mabou, F. D., & Yossa, I. B. N. (2021). TERPENES: Structural classification and biological activities. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci.* 16, 2319-7676.
- Madkour, L. H. (2019). Function of reactive oxygen species (ROS) inside the living organisms and sources of oxidants. *Pharm. Sci. Anal. Res. J*, 2, 180023.
- Marinova, G., & Batchvarov, V. (2011). Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(1), 11-24.
- Maritim, A. C., Sanders, A., & Watkins Iii, J. B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 17(1), 24-38.

- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
- Martínez, S., Fuentes, C., & Carballo, J. (2022). Antioxidant activity, total phenolic content and total flavonoid content in sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars grown in Northwest Spain under different environmental conditions. *Foods*, 11(21), 3519.
- Martiningsih, N. W., Mudianta, I. W., & Suryanti, I. A. P. (2021, March). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Hippobroma longiflora* extracts. *Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1115(1), 012078.
- Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. (2015). Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. *Industrial Crops and Products*, 74, 648-670.
- Maruyama, N., Sekimoto, Y., Ishibashi, H., Inouye, S., Oshima, H., Yamaguchi, H., & Abe, S. (2005). Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of Inflammation*, 2, 1-11.
- Mathieu, M. J., & Fonteneau, J. M., 2008. Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie. Porphyre, Pp. 873.
- Mazandarani, M., Moghaddam, Z., Zolfaghari, M. R., Ghaemi, E. A., & Bayat, H. (2012). Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in *Onosma dichroanthum* Boiss. *J Med Plants Res*, 6(28), 4481-8.
- Mechaala, S., Bouatrous, Y., & Adouane, S. (2022). Traditional knowledge and diversity of wild medicinal plants in El Kantara's area (Algerian Sahara gate): An ethnobotany survey. *Acta Ecologica Sinica*, 42(1), 33-45.
- Melo, A., Monteiro, L., Lima, R. M., de Oliveira, D. M., de Cerqueira, M. D., & El-Bachá, R. S. (2011). Oxidative stress in neurodegenerative diseases: mechanisms and therapeutic perspectives. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2011, 14 p.
- Merghem, M., & Dahamna, S. (2020). Antioxidant activity of *Centaurium erythraea* extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(2), 171-174.
- Merzouki A., Ed-Derfoufi F., Mesa J. M. (2000). Contribution to the Knowledge of Rifian Traditional Medicine. II: Folk Medicine in Ksar Lakbir District (NW Morocco). *Fitoterapia*, 71 (3): 278-307.
- Messaoudi, M., Ouakouak, H., Boubekour, S., Ferhat, M.A., Begaa, S., Larkem, I., Egbuna, C., Rebiai, A., Sawicka, B., Atanassova, M., Awuchi, C.G. & Benchikha, N. (2021). Effect of Extraction Methods on Polyphenols, Flavonoids, Mineral Elements, and Biological Activities of Essential Oil and Extracts of *Mentha pulegium* L. *Molecules*, 27(1), 11.

- Meyer, A., Deiana, J., & Bernard, A. (2004). Cours de Microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés. 2^e ed. Doin. Pp.255-262.
- Miara M. D., Bendif H., Rebbas K., Rabah B., Hammou M. A., Maggi F. (2019). Medicinal Plants and Their Traditional Uses in the Highland Region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *J Herb Med.* 16, 100262.
- Mighri H., hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H., Neffati M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *C.R. Chimie*, 13(3), 380-386.
- Mihaylova, D., Vrancheva, R., & Popova, A. (2019). Phytochemical profile and in vitro antioxidant activity of *Centaurium erythraea* Rafn. *Bulgarian Chemical Communications*, 51, 95-100.
- Mizgier, P., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., Kolniak-Ostek, J., Kidoń, M., & Fecka, I. (2016). Characterization of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory properties of red cabbage and purple carrot extracts. *Journal of Functional Foods*, 21, 133-146.
- Mohammed, M. T., Kadhim, S. M., Jassimand, A. N., & Abbas, S. I. (2015). Free radicals and human health. *International journal of innovation sciences and research*, 4(6), 218-223.
- Mohammedi Z. (2016). Resistance, Pharmacology Properties and Nutritional Value of a Shrub from Arid Environments *Atriplex halimus*. *Res J Med Plant*, 10(1), 10-18.
- Molinier, Massol, 2008. Molinier: Pathologie médicale et pratique infirmière: volume 3. Lamarre, Pp. 486.
- Moosavi-Nasab M., Mirzapour-Kouhdasht A., Oliyaei N. (2019). Application of Essential Oils for Shelf Life Extension of Seafood Products. [in:] *Essential Oils: Oils of Nature* (El-Shemy H. A., ed.). Ed. IntechOpen :194-202.
- Morad, M. Y., El-Sayed, H., El-Khadragy, M. F., Abdelsalam, A., Ahmed, E. Z., & Ibrahim, A. M. (2023). Metabolomic profiling, antibacterial, and molluscicidal properties of the medicinal plants *Calotropis procera* and *Atriplex halimus*: in silico molecular docking study. *Plants*, 12 (3), 477.
- Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., & Tamendjari, A. (2016). Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, 88, 85-90.
- Mroueh, M., Saab, Y., & Rizkallah, R. (2004). Hepatoprotective activity of *Centaurium erythraea* on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18 (5), 431-433.

- Mssillou, I., Agour, A., El Ghouizi, A., Hamamouch, N., Lyoussi, B., & Derwich, E. (2020). Chemical composition, antioxidant activity, and antifungal effects of essential oil from *Laurus nobilis* L. flowers growing in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020, 1-8.
- Mutha, R. E., Tatiya, A. U., & Surana, S. J. (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. *Future journal of pharmaceutical sciences*, 7, 1-13.
- N'guessan, H. A., Dago, D. C. E., Mamyrbékova-Békro, J. A., & Békro, Y. A. (2011). CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 66(4), 575-585.
- Nabila, V. K., & Putra, I. B. (2020). The effect of Aloe vera ethanol extract on the growth inhibition of *Candida albicans*. *Med Glas*, 17(2), 485-9.
- Naboulsi, I., El Fakhouri, K., Lamzira, R., Ramdani, C., Bitchagno, G. T. M., Boulamtat, R., Ben Bakrim, W., Mahdi, I., Aboulmouhajir, A., Yasri, A., El Bouhssini, M., Ward, J. & Sobeh, M. (2022). Insecticidal Activities of *Atriplex halimus* L., *Salvia rosmarinus* Spenn. and *Cuminum cyminum* L. against *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) under Laboratory and Greenhouse Conditions. *Insects*, 13(10), 930.
- Naczka, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
- Nadjafi, F., & Kanani, M. R. (2023). Botany, Collection, and Cultivation of Some Medicinal Plants used in Traditional Medicine of Iran. . [in :] Medicinal Plants used in Traditional Persian Medicine.Ed. CABI Digital Library : 27-135.
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 9613090.
- Naumann, H. D., Tedeschi, L. O., Zeller, W. E., & Huntley, N. F. (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 929-949.
- Neacsu, A., & Gheorghe, D. (2021). Characterization of biomass renewable energy resources from some perennial species. *Rev. Roum. Chim*, 66(4), 321-329.
- Negi, A., Dobhal, K., & Ghildiyal, P. (2018). Antioxidant potential and effect of extraction solvent on total phenol content, flavonoids content and tannin content of *Ficus palmata* Forssk. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 49(2), 19-24.
- Negi, K., Singh, S., Gahlot, M. S., Tyagi, S., & Gupta, A. (2020). Terpenoids from medicinal plants beneficial for human health care. *Int J Botany Stud*, 5, 135-138.

- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
- Noriega, P. (2020). Terpenes in essential oils: Bioactivity and applications. *Terpenes and Terpenoids- Recent Advances*. Pp. 14
- Ntana, F., Bhat, W. W., Johnson, S. R., Jørgensen, H. J., Collinge, D. B., Jensen, B., & Hamberger, B. (2021). A sesquiterpene synthase from the endophytic fungus *Serendipita indica* catalyzes formation of viridiflorol. *Biomolecules*, 11(6), 898.
- Offret, H., Labetoulle, M., & Frau, E. (2003). *Thérapeutiques médicamenteuses en ophtalmologie*. Elsevier Masson, Pp. 45.
- Okigbo, R. N., Anuagasi, C. L., Amadi, J. E., & Ukpabi, U. J. (2009). Potential inhibitory effects of some African tuberous plant extracts on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *International journal of integrative biology*, 6(2), 91-98.
- Omara, T., Kiprof, A. K., & Kosgei, V. J. (2021). Intraspecific variation of phytochemicals, antioxidant, and antibacterial activities of different solvent extracts of *Albizia coriaria* leaves from some agroecological zones of Uganda. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 202.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current trends in biotechnology and pharmacy*, 9 (3), 293-304.
- Parvez, M. k., Arbab, A. h., Al-Dosari, M. s., Al-Rehaily, A. j., Alam, P., Ibrahim, K. e., Alsaid, M. s., & Rafatullah, S. (2018). Protective effect of *Atriplex suberecta* extract against oxidative and apoptotic hepatotoxicity. *Experimental and therapeutic medicine*, 15(4), 3883-3891.
- Pejcin B., Kojic V., Bogdanovic G. (2014). An Insight into the Cytotoxic Activity of Phytol at *in vitro* Conditions. *Nat Prod Res*, 28 (22), 2053- 2056.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14 (6), 2202-2211.
- Pereira, E. M. R., Gomes, R. T., Freire, N. R., Aguiar, E. G., Brandão, M. D. G. L., & Santos, V. R. (2011). *In vitro* antimicrobial activity of Brazilian medicinal plant extracts against pathogenic microorganisms of interest to dentistry. *Planta medica*, 77(04), 401-404.
- Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 53, 75-100.

- Pervaiz, T., Songtao, J., Faghihi, F., Haider, M. S., & Fang, J. (2017). Naturally occurring anthocyanin, structure, functions and biosynthetic pathway in fruit plants. *J. Plant Biochem. Physiol*, 5 (2), 1-9.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30, 11-26.
- Pilau, M. R., Alves, S. H., Weiblen, R., Arenhart, S., Cueto, A. P., & Lovato, L. T. (2011). Antiviral activity of the *Lippia graveolens* (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1616-1624.
- Prabuseenivasan S., Jayakumar M., Ignacimuthu S. (2006). *In vitro* Antibacterial Activity of Some Plant Essential Oils. *BMC Complement Altern Med*, 6 (1): 1-8.
- Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2018). Microbiologie. De Boeck Supérieur. Pp.194-200.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and global health*, 109(7), 309-318.
- Price L. (2021). Traditional Use, Research and Properties. [in:] Aromatherapy for Health Professionals Revised Reprint E-Book.Ed. Elsevier Health Sciences : 77-137.
- Prisinda, D., Setiawan, A. S., Fatriadi, F., & Lestari, D. (2021). Antibacterial Potential Test of Basil Leaf (*Ocimum Basilicum*) Against *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. *International Journal of Medical Science and Clinical Research Studies*, 1(04), 65-70.
- Raaman, N., 2006.. Phytochemical techniques. New India Publishing. Pp. 19.
- Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., & Marouf, A. (2010). Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *Journal of Biological Sciences*, 10(4), 316-324.
- Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., & Abdollahi, M. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59 (7), 365-373.
- Rahman, M.M., Mithi, F.M., Alruwaili, A.S., Hossain, M.S., Ahmed, M., Das, R., Uddin, M.S., Rahaman, M.S., Islam, M.R., Rahman, F., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M.A., Alghamdi, S.Q., Emran, T.B. & Uddin, M. S. (2021). Role of phenolic compounds in human disease: current knowledge and future prospects. *Molecules*, 27 (1), 233.
- Rahman, S. A., Abd-Ellatif, S. A., Deraz, S. F., & Khalil, A. A. (2011). Antibacterial activity of some wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment. *African Journal of Biotechnology*, 10(52), 10733-10743.

- Rajput, A., Sharma, R., & Bharti, R. (2022). Pharmacological activities and toxicities of alkaloids on human health. *Materials Today: Proceedings*, 48, 1407-1415.
- Ravi, L., & Manasvi, V. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of saponin from *Abutilon indicum* leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(3), 344-347.
- Read, A. F., & Woods, R. J. (2014). Antibiotic resistance management. *Evolution, medicine, and public health*, 2014(1), 147.
- Revie, N. M., Iyer, K. R., Robbins, N., & Cowen, L. E. (2018). Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. *Current opinion in microbiology*, 45, 70-76.
- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*, 7, 275-297.
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology*, 4(3), 482.
- Ricci, A., Olejar, K. J., Parpinello, G. P., Mattioli, A. U., Teslić, N., Kilmartin, P. A., & Versari, A. (2016). Antioxidant activity of commercial food grade tannins exemplified in a wine model. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(12), 1761-1774.
- Rodrigues, T., Reker, D., Schneider, P., & Schneider, G. (2016). Counting on natural products for drug design. *Nature chemistry*, 8(6), 531-541.
- Rodriguez, S. A., & Murray, A. P. (2010). Antioxidant activity and chemical composition of essential oil from *Atriplex undulata*. *Natural Product Communications*, 5(11), 1934578X1000501132.
- Roger, K. G., Christelle, A. N. T., Akhanovna, M. B. J., & Yves-Alain, B. (2011). CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *Eur J Sci Res*, 63(4), 592-603.
- Roy, A. (2017). A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants. *IJPB*, 3 (2), 1-9.
- Saad, B., & Said, O., 2011. Greco-Arab and Islamic herbal medicine: traditional system, ethics, safety, efficacy, and regulatory issues. John Wiley & Sons. Pp.213, 214.
- Saha, P., Talukdar, A. D., Nath, R., Sarker, S. D., Nahar, L., Sahu, J., & Choudhury, M. D. (2019). Role of natural phenolics in hepatoprotection: a mechanistic review and analysis of regulatory network of associated genes. *Frontiers in pharmacology*, 10, 509.

- Sahnouni, F., Debib, A., Saim, S., Bouhadi, D., & Menadi, S. (2021). Phytochemical content, antioxidant and antibacterial activities of three red macroalgae from Algerian west coast. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5(2), 336-341.
- Sandru, D., Niculescu, V., Lengyel, E., & Tita, O. (2016). Identification and quantification of total polyphenols in plants with bioactive potentially. *cancer*, 4, 47-51.
- Sanmartín-Suárez, C., Soto-Otero, R., Sánchez-Sellero, I., & Méndez-Álvarez, E. (2011). Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective antioxidants. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 63(2), 209-215.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10, 1-29.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. (2013). Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 1 (6), 168-182.
- Sefi, M., Fetoui, H., Lachkar, N., Tahraoui, A., Lyoussi, B., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2011). *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) leaf extract alleviates streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2), 243-250.
- Segneanu, A. E. (Ed.). (2024). Natural Products and Medicinal Properties of Carpathian (Romanian) Plants. CRC Press. Pp. 231.
- Selvakumar P. (2012). Studies on the Antidandruff Activity of the Essential Oil of *Coleus amboinicus* and *Eucalyptus globulus*. *Asian Pac J Tropical Dis* 2 S715-S719
- Seow, L. J., Beh, H. K., Sadikun, A., & Asmawi, M. Z. (2013). Preliminary phytochemical and physicochemical characterization of *Gynura segetum* (Lour) Merr (Compositae) leaf. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5), 777-782.
- Šeršeň, F., & Lácová, M. (2015). Antioxidant activity of some coumarins/Antioxidačná aktivita niektorých kumarínov. *Eur Pharm J*, 62(9), 41-5.
- Shanmugam S., Sathish Kumar T., Panneer Selvan K., 2010. Laboratory Handbook on Biochemistry. Eastern Economy. Pp. 98-99.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., Setzer, W. N., Calina, D., Cho, W. C., & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

- Shetty, S. G., Hidayathulla, S., & Chandrashekar, K. R. (2011). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Pterospermum reticulatum* Wight and ARN. *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(5), 35-37.
- Shi, Q. I. U., Hui, S. U. N., Zhang, A. H., Hong-Ying, X. U., Guang-Li, Y. A. N., Ying, H. A. N., & Xi-Jun, W. A. N. G. (2014). Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12 (6), 401-406.
- Shields, H. J., Traa, A., & Van Raamsdonk, J. M. (2021). Beneficial and detrimental effects of reactive oxygen species on lifespan: a comprehensive review of comparative and experimental studies. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 628157.
- Shuaib, A., Rohit, A., & Piyush, M. (2016). A review article on essential oils. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4 (3), 237-240.
- Shutes J., Galper A. (2020). *The Ultimate Guide to Aromatherapy: An Illustrated Guide to Blending Essential Oils and Crafting Remedies for Body*. Ed. Fair Winds Press. Pp. 47.
- Shweta K., Shobha A. U., Padmini G. (2010). Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. *Food Research International*, 43 (2), 526-530.
- Šiler, B., Živković, S., Banjanac, T., Cvetković, J., Nestorović Živković, J., Ćirić, A., Soković, M., & Mišić, D. (2014). Centauries as underestimated food additives: Antioxidant and antimicrobial potential. *Food chemistry*, 147, 367-376.
- Skidmore-Roth, L. (2009). *Mosby's Handbook of Herbs & Natural Supplements-E-Book*, Fourth Edition. Elsevier Health Sciences. Pp. 156.
- Slama, K., Boumendjel, M., Taibi, F., Boumendjel, A., & Messarah, M. (2020). *Atriplex halimus* aqueous extract abrogates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 126 (1), 49-60.
- Slama, K., Rouag, M., Tichati, L., Taibi, F., Boumendjel, M., Boumendjel, A., & Messarah, M. (2021). Nephroprotective role and antioxidant capacity of *Atriplex halimus* on carbon tetrachloride-induced kidney damage in rats. *Comparative Clinical Pathology*, 30 (1), 75-87.
- Sonam, M., Singh, R. P., & Pooja, S. (2017). Phytochemical screening and TLC profiling of various extracts of *Reinwardtia indica*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(4), 523-527.
- Sonboli, A., Babakhani, B., & Mehrabian, A. R. (2006). Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61 (3-4), 160-164.

- Southorn, P. A., & Powis, G. (1988). Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, 63(4), 381-389.
- Srinivasan, A., Lopez-Ribot, J. L., & Ramasubramanian, A. K. (2014). Overcoming antifungal resistance. *Drug Discovery Today: Technologies*, 11, 65-71.
- Srivastava, Y. (2013). Advances in food science and nutrition. *Queen's College of Food Technology & Research Foundation: Maharashtra, India*.
- Stankovic, M. S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 33(2011), 63-72.
- Stefkov, G., Miova, B., Dinevska-Kjovkarovska, S., Stanoeva, J. P., Stefova, M., Petrussevska, G., & Kulevanova, S. (2014). Chemical characterization of *Centaurium erythrea* L. and its effects on carbohydrate and lipid metabolism in experimental diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 152 (1), 71-77.
- Stevanovic, Z., Stankovic, M. S., Stankovic, J., Janackovic, P., & Stankovic, M. (2019). Use of halophytes as medicinal plants: Phytochemical diversity and biological activity. [in :] Halophytes and climate change: Adaptive mechanisms and potential uses. Ed. CABI Amazon France : 343- 352.
- Subotic, A., Jankovic, T., Jevremovic, S., & Grubišić, D. (2006). Plant tissue culture and secondary metabolites productions of *Centaurium erythraea* Rafn., a medicinal plant. *Floriculture ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues*, 2, 564-570.
- Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., & Seow, E. M. (2011). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and analysis*, 24(4-5), 506-515.
- Swamy, M. K. , 2020. Plant-derived bioactives: production, properties and therapeutic applications. Springer Nature.
- Tahar, S. B., Hadj-Mahammed, M., & Yousfi, M. (2015). Etude de l'Activité Antioxydante des Extraits Phénoliques de l'*Atriplex Halimus* L et de l'Haloxylon Scoparium Pomel du Sahara Septentrional. *Hawliyyāt al-'Ulūm wa-al-Tiknūlūjiyā*, 281(5389), 1-10.
- Tahraoui A., Israili Z. H., Lyoussi B. (2010). Acute and sub-chronic toxicity of lyophilised aqueous extracts of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132,48-55.
- Tamokou, J. D. D., Tala, M. F., Wabo, H. K., Kuate, J. R., & Tane, P. (2009). Antimicrobial activities of methanol extract and compounds from stem bark of *Vismia rubescens*. *Journal of ethnopharmacology*, 124(3), 571-575.

- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, 119(6), S3-S10.
- Thirumurugan, K., Shihabudeen, M. S., & Hansi, P. D. (2010). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medicinal plants. *steroids*, 1(7), 430-34.
- Tiwari, R., & Shukla, A. K. (2020). Plant metabolites and their role in health benefits: A brief review. *Advance Pharmaceutical Journal*, 5 (2), 47-53.
- Toma, A., & Deyno, S. (2015). Overview on mechanisms of antibacterial resistance. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 2(1), 27-36.
- Tomlinson, T. R., & Akerele, O., 2015. Medicinal plants: their role in health and biodiversity. University of Pennsylvania press.
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79 (7), R1231-R1249.
- Tran, N., Pham, B., & Le, L. (2020). Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery. *Biology*, 9(9), 252.
- Trevizan L. N. F., Nascimento K. F. D., Santos J. A., Kassuya C. A. L., Cardoso C. A. L., Vieira M. D. C., Moreira F. M. F., Croda J., Formagio A. S. N. (2016). Anti-inflammatory, antioxidant and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of viridiflorol: The major constituent of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk. *J Ethnopharmacol*, 192, 510-515.
- Tuluce, Y., Ozkol, H., Koyuncu, I., & Ine, H. (2011). Gastroprotective effect of small centaury (*Centaureum erythraea* L) on aspirin-induced gastric damage in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 27 (8), 760-768.
- Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12 (1), 40-53.
- Usman, U., Masruhim, M. A., Kusumaningtyas, P., Erwin, E., & Bulan, D. E. (2023). Antioxidant and Antidiabetic from *Rhizophora mucronata* Derived from Sambera Beach, East Kalimantan, Indonesia. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(10), 4921-4926.
- Valentao, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., & Bastos, M. L. (2001). Antioxidant activity of *Centaureum erythraea* infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), 3476-3479.
- Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., & Bastos, M. L. (2003). Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small centaury (*Centaureum erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Phytomedicine*, 10 (6-7), 517-522.

- Valle, D. L., Puzon, J. J. M., Cabrera, E. C., & Rivera, W. L. (2016). Thin layer chromatography-bioautography and gas chromatography-mass spectrometry of antimicrobial leaf extracts from Philippine Piper betle L. against multidrug-resistant bacteria. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 4976791.
- Van der Vliet, A., Janssen-Heininger, Y. M., & Anathy, V. (2018). Oxidative stress in chronic lung disease: From mitochondrial dysfunction to dysregulated redox signaling. *Molecular aspects of medicine*, 63, 59-69.
- Van Wyk, B. E., & Wink, M. (2018). Medicinal plants of the world. International Cabi.Pp. 98.
- Varela, M.F., Stephen, J., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N., Sanford, L.M., Hernandez, A.J., Parvathi, A. & Kumar, S.H. (2021). Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Antibiotics*, 10(5), 593.
- Varela, M.F., Stephen, J., Sanford, L.M., Hernandez, A.J., Parvathi, A., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N. & Kumar, S. H. (2021). Bacterial resistance to antimicrobial agents. *Antibiotics*, 10(5), 593.
- Vaubourdolle, 2007. Infectiologie. 3^eed. le Moniteur Internat. Pp. 346.
- Vermerris, W., Nicholson, R., Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic compound biochemistry*, 1-34.
- Villalobos-Delgado L. H., Nevárez-Moorillon G. V., Caro I., Quinto E. J., Mateo J. (2019). Natural Antimicrobial Agents to Improve Foods Shelf Life. [in:] Food Quality and Shelf Life. Ed. Academic Press : 125-157.
- Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., & Matarrese, P. (2021). The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants*, 10(2), 201.
- Vyas, A. R., Nakum, K. H., Vaja, V. B., & Ishnava, K. B. (2023). In Vitro Callus Induction from *Gymnema sylvestre* (Madhunashini) to Enhance the Production of Gymnemic Acid Using PGRs.[in:] Biosynthesis of Bioactive Compounds in Medicinal and Aromatic Plants: Manipulation by Conventional and Biotechnological Approaches. Ed. Cham: Springer Nature Switzerland : 399-428.
- Walker, D. J., Lutts, S., Sánchez-García, M., & Correal, E. (2014). *Atriplex halimus* L.: Its biology and uses. *Journal of Arid Environments*, 100, 111-121.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., & Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, 108(3), 1019-1022.
- Wang, X. Q., Wang, W., Peng, M., & Zhang, X. Z. (2021). Free radicals for cancer theranostics. *Biomaterials*, 266, 120474.

- Warsinah, W., Baroroh, H. N., & Harwoko, H. (2020). Phytochemical analysis and antioxidant activity of brotowali (*Tinospora crispa* L. Mier) stem. *Molekul*, 15(2), 73-78.
- Wei, C., Zhou, S., Li, W., Jiang, C., Yang, W., Han, C., Zhang, C. & Shao, H. (2019). Chemical composition and allelopathic, phytotoxic and pesticidal activities of *Atriplex cana* Ledeb.(Amaranthaceae) essential oil. *Chemistry & Biodiversity*, 16(4), e1800595.
- Yadav, D. K., Kumar, S., Choi, E. H., Chaudhary, S., & Kim, M. H. (2019). Molecular dynamic simulations of oxidized skin lipid bilayer and permeability of reactive oxygen species. *Scientific reports*, 9(1), 4496.
- Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3(12), 10-14.
- Yahia, M., Benhouda, A., & Takellalet, K. (2023). Anti-inflammatory and hemostatic Activities of Methanolic Extract from *Atriplex halimus* Leaves collected in east of Algeria. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 9(1), 148-164.
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review. *Antibiotics*, 10 (3), 318.
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). Advances in pharmacological activities of terpenoids. *Natural Product Communications*, 15 (3), 1–13.
- Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., & Nemzer, B. (2017). Antioxidant activity of spices and their impact on human health: A review. *Antioxidants*, 6(3), 70.
- Ydjedd, S., Chaala, M., Richard, G., Kati, D. E., López-Nicolás, R., Fauconnier, M. L., & Louaileche, H. (2017). Assessment of antioxidant potential of phenolic compounds fractions of Algerian *Ceratonia siliqua* L. pods during ripening stages. *International Food Research Journal*, 24(5), 2041-2049.
- Zam, W., Ali, A., Saleem, D., & Alali, S. (2021). Optimization of phenolics and antioxidants extraction from *Centaurium erythraea* using response surface methodology. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14 (12), 6455-6462.
- Zapletal, K., Machnik, G., & Okopień, B. (2022). Polyphenols of Antibacterial Potential—May They Help in Resolving Some Present Hurdles in Medicine?. *Folia Biologica*, 68(3), 87-96.
- Zennaf, I., Meddah, B., & Mokhtar, M. (2022). Ethnobotanical and Phytochemical Study of the Medicinal Plant *Atriplex halimus* and Its Importance in the Traditional Algerian Pharmacopoeia. *French-Ukrainian Journal of Chemistry*, 10(1), 60-69.

- Zigang T., Le C., Lin D., Liuhong D., Mingfeng W., Yabin Y., Qiue C., Zhongtao D. (2011). Antioxidant activity and chemical constituents of edible flowers of *Sophora viciifolia*. *Food Chemistry*, 126 (4), 1648 – 1654.
- Zine, H., Ibrahimi, M., Loqman, S., Papazoglou, E. G., Ouhaddou, S., Elgadi, S., Ouhdouch, Y., Hakkou, R., El Adnani, M. & Ouhammou, A. (2021). Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activities of essential oil of *Atriplex semibaccata* R. Br. aerial parts: First assessment against multidrug-resistant bacteria. *Agronomy*, 11(2), 362.
- Zohra, S. F., Meriem, B., Samira, S., & Muneer, M. A. (2012). Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *J Nat Prod Plant Resour*, 2(4), 512-6.

ANNEXES

1. Réactif de Mayer

- Le chlorure de mercure (1.358g) est dissous dans 60 ml d'eau distillée.
- L'iodure de potassium (5,0 g) est dissous dans 10 ml d'eau distillée.
- Les deux solutions sont mélangées et on complète le volume à 100 ml avec de l'eau distillée.

2. Réactif de Wagner

- L'iode (1.27g) et l'iodure de potassium (2 g) sont dissous dans 5 ml d'eau distillée,
- Le volume est complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

3. Réactif de Stiasny

- On mélange deux volumes de formol à 30% avec un volume d'acide chlorhydrique concentré.

4. Réactif de Fehling

- a. Solution de Fehling A: 34.66g du sulfate de cuivre sont dissous dans 500ml d'eau distillée.
- b. Solution de Fehling B: 173g de tartrate de potassium et de sodium et 50g d'hydroxyde de sodium sont dissous dans 500ml d'eau distillée.

1. Gélose Mueller-Hinton

- Hydrolysât acide de caséine: 17.5 g/L.
- Extrait de viande: 2.0 g/L.
- Amidon soluble: 1.5 g/L.
- Agar: 15 g/L.
- Eau distillée: 1L.
- pH: 7.3 ± 0.2 .

Autoclaver 15min à 121°C

2. Bouillon Sabouraud

- Tryptone: 5.0 g/L.
- Peptone pepsique de viande: 5.0 g/L
- Glucose: 20.0 g/L.
- Eau distillée: 1L.
- pH: 6.3 ± 0.2 .

Autoclaver 15min à 121°C

3. Gélose Sabouraud

- Peptone de viande: 5 g/L
- Glucose anhydre: 20 g/L
- Peptone de caséine: 5g/L.
- Agar: 15 g/L.
- Eau distillée: 1L.
- pH: 5.7 ± 0.2 .

Autoclaver 15min à 121°C

•

4. Gélose nutritive

- Extrait de viande de boeuf: 1 g/L.
- Extrait de levure: 2 g/L.
- Peptone: 5 g/L.
- Chlorure de sodium: 5 g/L.
- Agar: 15 g/L.
- Eau distillée: 1L.
- pH: 7.4 ± 0.2 .

Autoclaver 15min à 121°C

5. Bouillon nutritif

- Extrait de viande de boeuf: 1 g/L.
- Extrait de levure: 2 g/L.
- Peptone: 5 g/L.
- Chlorure de sodium: 5 g/L.
- Eau distillée: 1L.
- pH: 7.4 ± 0.2 .

Autoclaver 15min à 121°C

6. Sabouraud Dextrose Agar

- Dextrose : 40 g/L
- Peptones : 10 g/L
- Agar : 15 g/L
- Chloramphénicol (facultatif) : 0,5 g/L
- Eau distillée : Compléter à 1 L
- pH : Ajusté à environ 5,6
- Autoclaver 15 à 20 min à 121°C

7. Milieu Bile Esculine Agar

- Peptone : 10 g/L
- Bile (sels biliaires) : 40 g/L
- Esculine : 1 g/L
- Agar : 15 g/L
- Eau distillée : Compléter à 1 L
- pH : $7,0 \pm 0,2$

Autoclaver 15 à 20 min à 121°C

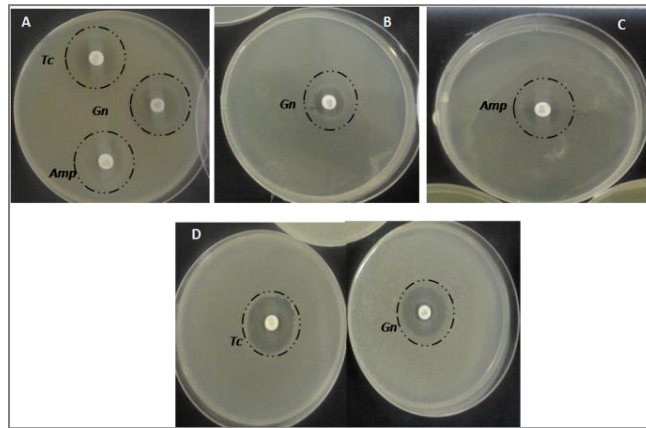


Photo 01 : de résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes testées.
 A : *E. coli*, B : *P. aeruginosa*, C : *E. faecalis* , D : *S. aureus*

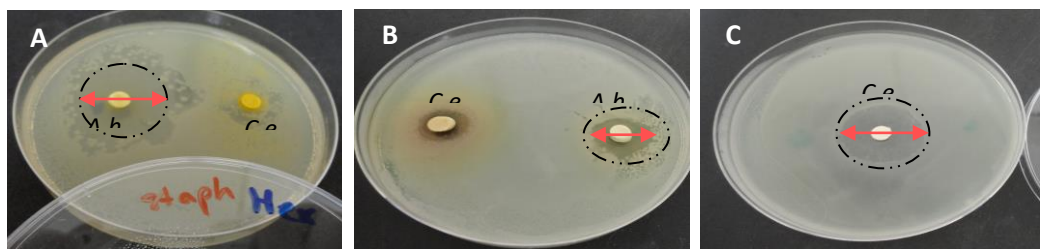


Photo 02: Activité antibactérienne contre *S. aureus*

A: Extrait hexanique; B: Extrait hydrométhanolique; C: Huile essentielle.

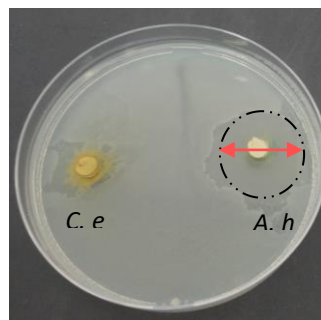


Photo 03: Activité antibactérienne de l'extrait hexanique contre *P. aeruginosa*.

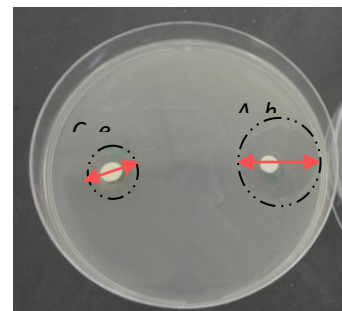


Photo 04: Activité antibactérienne des huiles essentielles contre *E. coli*.

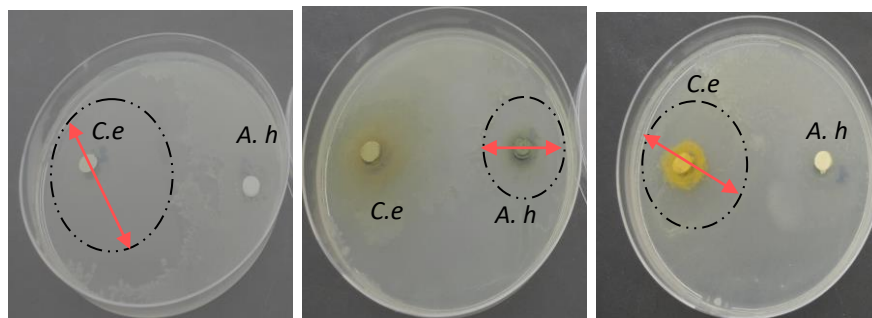


Photo 05: Activité fongique contre *C. albicans*.

A: huile essentielle; B: Extrait acétonique; C: Extrait hexanique

1. Analyse physicochimique

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes A l'intérieur des groupes	2,00252267	3	0,66750756	161,94223	3,3927E-14	3,09839122
Total	2,08496041	23				

2. Rendement d'extraction

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes A l'intérieur des groupes	0,22288764	4	0,05572191	61,0242934	1,5547E-12	2,75871047
Total	0,24571539	29				

3. Phytochimie quantitative

• Polyphénols totaux

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes A l'intérieur des groupes	4966,04457	3	1655,34819	6,07213581	0,00412507	3,09839122
Total	10418,3211	23				

• Flavonoïdes totaux

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes A l'intérieur des groupes	4417,94443	3	1472,64814	34,932338	3,8218E-08	3,09839122
Total	5261,08762	23				

- **Tanins condensés**

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	406,764083	3	135,588028	85,7968353	1,3579E-11	3,09839122
A l'intérieur des groupes	31,6067667	20	1,58033833			
Total	438,37085	23				

4. Activité antioxydante

- **Piégeage des radicaux DPPH**

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	65768,4289	5	13153,6858	178,61625	3,2797E-43	2,3231265
A l'intérieur des groupes	6185,94113	84	73,6421563			
Total	71954,3701	89				

- **Pouvoir réducteur**

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	1,26690432	4	0,31672608	18,1318438	6,193E-09	2,57873918
A l'intérieur des groupes	0,7860576	45	0,01746795			
Total	2,05296192	49				

5. Activité antimicrobienne

- **Antibiogramme**

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	101,4375	3	33,8125	1,67078443	0,21317636	3,23887152
A l'intérieur des groupes	323,8	16	20,2375			
Total	425,2375	19				

- **Méthode de diffusion en disque**

- a. *Centaurium erythraea*

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes A l'intérieur des groupes	186,903711	4	46,7259278	2,59483646	0,06754635	2,8660814
	360,145454	20	18,0072727			
Total	547,049166	24				

- b. *Atriplex halimus*

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes A l'intérieur des groupes	52,96	4	13,24	0,51337728	0,72667227	2,8660814
	515,8	20	25,79			
Total	568,76	24				

- Boukada, F., Meddah, B., **Soltani, F. Z.**, & Sitayeb, S. (2023). Efficacy of the Crude Extract and Solvent Fractions of *Lavandula stoechas* L. for Potential Antibacterial and Antioxidant Capacity: An Endemic Medicinal Plant from Algeria. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 88(1), 29-36.

ORIGINAL SCIENTIFIC PAPER

| 29

Efficacy of the Crude Extract and Solvent Fractions of *Lavandula stoechas* L. for Potential Antibacterial and Antioxidant Capacity: An Endemic Medicinal Plant from Algeria

Fadhela BOUKADA (✉)
Boumediene MEDDAH
Fatima Zohra SOLTANI
Sara SITAYEB

Summary

This study aims to assess the antioxidant, antibacterial activity, the total phenolics (TPC) and flavonoid content (TFC), as well as the phenolic composition of the aerial parts of *Lavandula stoechas* L. Extraction of flavonoids was carried out by 85% of methanol, then the crude extract was successively separated with ethyl acetate, butanol, and water. The TPC was established to be ranged from 188.29 ± 1.98 to 37.01 ± 0.68 mg GAE g⁻¹ DW. Likewise, tested fractions exposed a wide range of flavonoid contents altering between 91.04 ± 1.91 to 13.94 ± 0.31 mg CE g⁻¹ DW. The antioxidant properties of *Lavandula stoechas* extract were assessed using the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate (DPPH) and ferrous reducing antioxidant activity procedures. Ethyl acetate extract demonstrated a high ability for scavenging DPPH free radicals (14.70 ± 1.59 µg mL⁻¹) and the butanolic fraction displayed strong potential for iron chelation (71.61 ± 2.39 µg mL⁻¹). Antibacterial potential of the *Lavandula stoechas* was tested against six pathogenic bacteria using the disc-diffusion technique and broth dilution test. In addition, minimum bactericidal concentrations (MBC) were employed to ascertain the antibacterial activity. The analyzed extracts further exposed a wide spectrum range of antibacterial behavior against bacterial strains analyzed in the study. The ethyl acetate extract had the strongest activity and was effective fraction with sector of inhibition zone and the little MIC of 35 mm and 0.31 mg/ml respectively against *Staphylococcus aureus*. Prepared extracts were also analyzed for the content of individual phenolic compounds by HPLC method. P-coumaric acid, caffeic acid, myricetin and catechin were identified in extracts. The *Lavandula stoechas* extracts can be related as one of outstanding promising sorts for natural plant source of antioxidant and antimicrobial agents.

Key words

antibacterial capacity, antioxidant capacity, flavonoids, polyphenols, HPLC

- Boukada, F., Sitayeb, S., Khadem, H., Meddah, B., & **Zohra, S. F.** (2022). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of *Adiantum capillus-veneris* L. extract from Algeria. *Kragujevac journal of Science*, (44), 91-101.

Kragujevac J. Sci. 44 (2022) 91–101.
doi: 10.5937/KgJSci2244091B

UDC 581.19:582.393.3:577.1:579.26(65)
Original scientific paper

CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Adiantum capillus-veneris* L. EXTRACT FROM ALGERIA

Fadhela Boukada^{1*}, Sara Sitayeb¹, Hafida Khadem²,
Boumediene Meddah¹, Fatima Zohra Soltani¹

¹University Mustapha Stambouli, Faculty of Science of Nature and Life,
Laboratory of Bioconversion, Engineering Microbiology and Health Safety,
BP. 763, Sidi Said, 29000 Mascara, Algeria

²University Ibn Khaldoun, Faculty of Science of Nature and Life, 14000 Tiaret, Algeria

*Corresponding author; E-mail: fadelaboukada6@gmail.com

(Received February 16, 2022; Accepted April 09, 2022)

ABSTRACT. The present study evaluates the antioxidant and antibacterial activities as well as the chemical composition of the aerial part of *Adiantum capillus-veneris* L., which are endemic to the flora of Algeria. The total phenolic amount of the hydromethanolic extract, as measured by the Folin-Ciocalteu reagent procedure, was found to be about 23.44 ± 0.14 mg GAE/g DW, while the flavonoid content value was 4.66 ± 0.01 mg CE/g DW, as measured by aluminum chloride colorimetric method. The antioxidant power of the extract was analyzed using the DPPH method. DPPH radicals were scavenged with an IC_{50} value of $65.85 \mu\text{g/mL}$. The antibacterial activity of hydromethanolic extract against five bacterial strains of *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* and *Bacillus cereus* (ATCC 10876) were carried out using the disc diffusion test and the microdilution method. *Streptococcus pneumoniae* is the most sensitive bacterium with inhibition zone of 9.0 ± 1.1 cm and MIC=10 mg/mL. Based on HPLC analysis, we find that quercetin 3-O-glucoside was the most abundant compound in the plant extract. This study demonstrates that *Adiantum capillus-veneris* could be a potential natural source of antibacterial and antioxidant compounds.

Keywords: antibacterial activity, antioxidant activity, flavonoids, polyphenols, HPLC.

- **Soltani, F. Z.,** Meddah, B., Chelli, N., Tir Touil, A., & Sonnet, P. (2023). *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn. Essential Oils: The Phytochemical Profile, Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 88(3), 215-223.

ORIGINAL SCIENTIFIC PAPER

| 215

Atriplex halimus L. and *Centaurium erythraea* Rafn. Essential Oils: The Phytochemical Profile, Antimicrobial and Antioxidant Properties

Fatima Zohra SOLTANI¹ (✉)
Boumedtène MEDDAH¹
Nadia CHELLI¹
Aïcha TIR TOUIL¹
Pascal SONNET²

Summary

This study was conducted to determine *in vitro* the antioxidant and antimicrobial potency of essential oils from two medicinal plants known in the Algerian northwest (Mascara city): *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn. The analysis of essential oils (EOs) chemical compounds was performed by GC/MS. In total, 72 and 35 chemical components were identified for *C. erythraea* and *A. halimus*, which represents respectively 91.89% and 89.17% of the essential oil content. In fact, EO of *A. halimus* abundantly contained viridiflorol (40.23%), phytol (18.24%), germacrene D (6.94%), whereas β -copaen-4 α -ol (38.41%), manool (8.2%) and carvacrol (6.43%) were found in OE of *C. erythraea*. Both essential oils were tested for antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* (Gram-positive bacteria), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negative bacteria) and one yeast strain *Candida albicans* using the agar-disc diffusion assay and the microdilution method (Minimum Inhibitory Concentration, MIC). *A. halimus* EO is active against *Escherichia coli*, whereas the essential oil of *C. erythraea* is active against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The antioxidant properties were evaluated using free radical scavenging and ferric reducing power (FRAP) assay. The results obtained showed the existence of an antioxidant activity of the studied essential oils but less effective compared to the standards used (ascorbic acid and catechin).

Key words

antioxidant activity, antimicrobial activity, essential oil, *Atriplex halimus* L., *Centaurium erythraea* Rafn

Atriplex halimus L. and *Centaurium erythraea* Rafn. Essential Oils: The Phytochemical Profile, Antimicrobial and Antioxidant Properties

Fatima Zohra SOLTANI¹ (✉)

Boumedienne MEDDAH¹

Nadia CHELLI¹

Aicha TIR TOUIL¹

Pascal SONNET²

Summary

This study was conducted to determine *in vitro* the antioxidant and antimicrobial potency of essential oils from two medicinal plants known in the Algerian northwest (Mascara city): *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn. The analysis of essential oils (EOs) chemical compounds was performed by GC/MS. In total, 72 and 35 chemical components were identified for *C. erythraea* and *A. halimus*, which represents respectively 91.89% and 89.17% of the essential oil content. In fact, EO of *A. halimus* abundantly contained viridiflorol (40.23%), phytol (18.24%), germacrene D (6.94%), whereas β -copaen-4 α -ol (38.41%), manool (8.2%) and carvacrol (6.43%) were found in OE of *C. erythraea*. Both essential oils were tested for antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* (Gram-positive bacteria), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negative bacteria) and one yeast strain *Candida albicans* using the agar-disc diffusion assay and the microdilution method (Minimum Inhibitory Concentration, MIC). *A. halimus* EO is active against *Escherichia coli*, whereas the essential oil of *C. erythraea* is active against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The antioxidant properties were evaluated using free radical scavenging and ferric reducing power (FRAP) assay. The results obtained showed the existence of an antioxidant activity of the studied essential oils but less effective compared to the standards used (ascorbic acid and catechin).

Key words

antioxidant activity, antimicrobial activity, essential oil, *Atriplex halimus* L., *Centaurium erythraea* Rafn

¹ Research Laboratory of Bioconversion, Engineering Microbiology and Health Safety, Faculty of Natural sciences and life (SNV), University of Mascara, Algeria

² AGIR Laboratory, Agents Infectieux, Résistance et Chimiothérapie. EA4294 UFR de Pharmacie, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

✉ Corresponding author: soltanifatimazohra88@gmail.com

Received: July 6, 2022 | Accepted: February 28, 2023 | Online first version published: July 20, 2023

Introduction

Infectious diseases were considered as the major cause of worldwide morbidity and mortality at the beginning of the 20th century (Gasu et al., 2018). All the more so as antibiotic use and misuse led to the emerging of antibiotic resistance in human and animal pathogens (García-Salinas et al., 2018), without forgetting to mention that these antibiotics have proven side-effects (Bouyahya et al., 2017). Furthermore, free radicals are the major causes of many chronic diseases such as cancer, atherosclerosis, cardiovascular and inflammatory diseases (Annapandian et Rajagopal, 2017). Moreover, there are potential toxicological and carcinogenic risks related to the use of synthetic antioxidant molecules (Srivastava, 2013). Facing these public health problems, medicinal plants could provide a more appropriate therapeutic response.

A large number of compounds known as "secondary metabolites", such as alkaloids, saponins, tannins, flavonoids, glycosides, betalains, and terpenoids, are produced by different parts of plants during the primary metabolism of plants. These compounds have a defensive role in nature (Khan, 2017). Essential oils, ethereal or volatile oils, are ones of the secondary metabolites of volatile plants and are produced from different parts of plants such as flowers, grains, buds, leaves, fruits, wood, roots, bark and twigs (Kuttan et Liju, 2017). Volatile compounds such as terpenes, phenols, ketones, alcohols, esters, amines and amides are the principal constituents of essential oils. These compounds possess powerful antimicrobial and functional properties (Kumar et al., 2020). Therefore, essential oils have been used in phytotherapy and other medical applications (Zari, 2012; Hanif et al., 2019). They are used effectively in the treatment of pathogenic (viral, fungal and bacterial diseases) or nonpathogenic diseases (For example, hypertension, tumors, leukemia, etc.) (Hanif et al., 2019). As a result of this generalized use, their biological activity has been more explored by scientists.

Our flora is very rich and diversified because of the geographical situation and the climatic diversity of Algeria. It has been used for a long time to treat several diseases (Bouasla et Bouasla, 2017). *Atriplex halimus* L. and *Centaureum erythraea* Rafn, medicinal plants known in North West Algeria, have been widely used in traditional folk medicine for their biological properties. *A. halimus* (Amaranthaceae), known in Algeria as "Guettaf" was used in traditional folk medicine to treat heart diseases and thoracic disorders, as a laxative, to cure muscle and stomach pain and to regulate the excretions of the gallbladder (Chikhi et al., 2014). It is also used to cure diabetes, rheumatism, hypertension, urinary infections (Idm'hand et al., 2020), eczema and scarring and bites (Miara et al., 2019). *C. erythraea* (Gentianaceae), known in Algeria as "Mararet el-hnech" was used as a hypoglycemic, antipyretic, depurative, cardio-regulator (Bellakhdar, 1991) and antihypertensive (Calvo et Cavero, 2014). It was used as a stomach and digestive tract, for diabetes, helminthiasis, for biliary stimulation (Merzouki et al., 2000), to treat asthma (Kultur, 2007), dyspepsia, and kidney calculus (Skidmore-Roth, 2009). In traditional herbal medicine, centaury can treat many diseases in infants and children such as anxiety, insomnia, tension, colic irritable bowel syndrome, topical inflammation and symptoms of attention deficit hyperactivity disorder (Skidmore-Roth, 2009).

The aim of the present study is to evaluate *in vitro* the free antiradical activities, antibacterial and anti-*Candida* of essential oils of *A. halimus* and that of *C. erythraea*.

Materials and Methods

Plant Material

A. halimus (grains stage) and *C. erythraea* (flowering stage) were collected respectively in October and March of 2015 from Mascara in the north-west region of Algeria. These plants were identified by a local expert and a Voucher specimen was deposited at the herbarium center of the laboratory of Bioconversion, Microbiological Engineering and Safety Security of the Faculty of Science of the Nature and the Life of Mascara Mustapha Stambouli University for future reference.

Essential Oils Extraction

Dried sample (100 g), from the aerial parts, was submitted for 3 h to water distillation using a Clevenger type apparatus (Kartal et al., 2007). After their extraction, the essential oils were dehydrated with anhydrous sodium sulfate and stored in obscure bottles at 4 °C until use.

The extraction yield was calculated using the following formula (Selvakumar et al., 2012):

$$\% \text{ yield of EO} = (\text{EO mass/dried sample mass}) \times 100$$

GC and GC-MS Spectrometry Analyses

The EOs were analyzed using GC-MS spectrometry To determine the percentage of oil components, a Hewlett-Packard HP 6890 gas chromatograph equipped with a DB-5 fused silica capillary column (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, Agilent, USA), a FID detector regulated at 270 °C, supplied with a H₂/air gas mixture and a Split-splitless injector regulated at 240 °C were used. The mode of injection was Split (split ratio: 1/50, flow: 66 mL min⁻¹). Helium was used as the gas with a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. The column temperature was programmed from 60 to 250 °C at a rate of 2 °C min⁻¹. The retention indices were calculated using the retention time of the n-alkanes that were injected after the oil under the same chromatographic conditions. The identification of the oil components was based on their Kováts index (KI) and on the comparison of their mass spectral fragmentation patterns with those reported in the literature, and the mass spectra obtained from GC-MS analysis on a Hewlett-Packard HP6890/HP5973 (Hewlett-Packard, USA) instrument equipped with a DB-5 fused silica capillary column (30 m x 0.25 mm i. d. x 0.25 µm film thickness); Helium was used as carrier gas at a flow rate of 2 mL min⁻¹. The GC analytical parameters were the same as those listed above, and mass spectrometry was performed in electron impact (EI) at 70 eV.

Antioxidant Activity

DPPH Assay

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity was measured according to the procedure described by Mighri et al. (2010).

Briefly, 1 ml of methanol solution of DPPH was added to the tested essential oil (1ml). After agitation, the mix was incubated in obscurity for 30 min at room temperature and the absorbance was read against a blank at 517 nm. Inhibition of free radical DPPH in percent (PI %) was calculated as followed:

$$PI\% = [A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}].$$

Synthetic antioxidants (ascorbic acid and catechin) were used as positive control and all tests were carried out in triplicate.

Using linear regression, the EC₅₀ values (effective concentration) or IC₅₀, inhibitory concentration) of essential oils were calculated.

Ferric Reducing Power (FRAP)

The ferric reducing ability was assessed following the method described by Ferreira et al. (2007).

A quantity (2.5 mL) of each dilution of our oils and our reference antioxidants (catechin, ascorbic acid), solubilized in the methanol, was mixed with 2.5 mL of phosphate buffer (0.2 M, PH: 6.6) and 2.5 mL of potassium ferricyanide [K₃Fe (CN)₆] (1%). After 20 minutes of incubation at 50 °C, 2.5 mL of trichloroacetic acid (10%) was added and the mixture was after that centrifuged at 3000 rpm for 10 min. Finally, 5 mL of the supernatant was mixed with 5 ml of water distilled and 1 mL FeCl₃ (0.1%), then the absorbance was measured at 700 nm. Increased absorbance of the reaction mixture indicated stronger reducing power.

Antimicrobial Activity

Microorganisms

Bacterial strains: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis*, obtained from the medical laboratory of Oran Hospital.

Fungi strains: *Candida albicans*, obtained from L.R.S.B.G. Laboratory, Mascara Mustapha Stambouli University

Antimicrobial Assays

a) Disc Diffusion Method

1 mL of inoculum adjusted beforehand (10⁶ UFC mL⁻¹) was seeded in the Mueller Hinton Agar medium/Sabouraud agar. Then, the sterile discs (6 mm diameter prepared in filter paper) charged by the sterile essential oils, were deposited on the surface of the medium agar. The DMSO was used as negative control and the antibiotics (Tetracycline 30 µg, Gentamicin 10 µg and Ampicillin 10 µg, for the bacteria and Clotrimazole 10 µg for yeast) as positive control. The treated Petri dishes were stored at +4 °C for 30 min, and then incubated at appropriate temperature and incubation time (37 °C for 24h for bacterial strains and 37 °C for 48h for yeast). The diameters (mm) of zones inhibition were than measured (Hajlaoui, 2010).

According to the diameters of inhibition, the essential oil effect can be considered. The diameter of the inhibition classified the sensitivity to essential oils as follows:

- < 8mm: insensitive.
- 8-14 mm: moderately sensitive.

- 14-20: sensitive.
- > 20 mm: extremely sensitive (Ambrosio et al., 2017).

b) Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

The test was carried out as described by Boumediene et al. (2011), 100 µL of sterile nutritive broth (for bacteria) and Sabouraud broth (for yeast) were transferred in the 96-well microplate, then 100 µL of each sterile essential oil were added in the first plate well and binary dilutions in set were affected. Next, sed as negative control. The plates were then incubated at 37 °C for 24h for bacteria, and at 30 °C for 48h for yeast. The MIC was taken as the lowest concentration that prevented the growth of the test microorganism.

Statistical Analysis

The tests were performed in triplicate. The results obtained were expressed as mean ± standard deviation (SD).

Results and Discussion

Yields of Extraction

The results concerning the yield in EOs of the two plants *C. erythraea* and *A. halimus* were low, ranging between 0.04% and 0.022% respectively. In addition, the EO of *C. erythraea* was characterized by a liquid aspect, dark yellow color, while the EO of *A. halimus* was characterized by a light yellow color and liquid appearance. A low yield can be due to different factors. For example, *A. halimus* is known as a halophytic plant that grows in saline soils (Kumari et al., 2019), whereas soil salinity is one of the environmental factors that influence the quality and quantity of essential oils produced by medicinal and aromatic plants (Duarte et al., 2017).

Chemical Composition of Essential Oils

The constituents identified by GC-MS analysis and their percentage in essential oils are listed in Table 1 and 2. Based on the GC-MS results, 35 and 72 components were identified in *A. halimus* and *C. erythraea* essential oil, corresponding to 89.17% and 91.89% of the total oil, respectively.

The chromatographic profile identifying the EO shows that the predominant compound in EO of *A. halimus* is viridiflorol (40.23%), which is a sesquiterpene, followed by phytol (18.24%), which is an acyclic diterpene. The other characteristic constituents determined in this essential oil are viridiflorene (3.23%), myristicin (3.01%), bicyclogermacrene (2.46%), p-acetanisole (1.60%), caryophyllene oxide (1.52%), α-bisabolol B-oxide (1.46%) and cardine-1(10), 4-one (1.25%). The presence of other minor components, including α-muurolol (0.047%), was also noted. There, the *C. erythraea* essential oil is characterized mainly by the presence of β-Copaen-4α-ol (38.41%), manool (8.2%) and carvacrol (6.43%). In parallel other compounds in inferior degrees were identified such as neophytadienne (III) (4.24%), terpinene-4-ol (4.14%), p-cymen-ol (3.13%) and thymol (2.12%). Isomenthol (0.017%) was noted as a minor compound.

However, the present study is the first to identify the chemical composition of *A. halimus* essential oil by GC-MS analysis. Chemical analysis of *C. erythraea* essential oil reveals the presence

of β -Copaen-4 α -ol and manool as dominant components. In a later study conducted only β -Copaen-4 α -ol was present in traces in Serbian essential oil (Jovanović et al., 2009). However, they were missing in Croatian (Jerković et al., 2012) and Moroccan essential oil (Bouyahya et al., 2019). Also more and similar to our study, carvacrol was also identified among the main constituents in Serbian, Croatian and Moroccan essential oils with a percentage of 7.9%, 6.17% and 8.73%, respectively (6.43% of carvacrol for the studied plant).

GC-MS analysis also revealed another chemical element, neophytadienne (III) (4.24%). This compound was identified as a major component in the essential oil from Serbia (10.1%) and in small amounts in the essential oils from Croatia (1.4%) and Morocco (0.8%).

In addition, thymol that characterized our essential oil, was also mentioned in the essential oils of Serbia, Morocco and Croatia but with different quantities. The amount of thymol (2.12%) was lower than that of essential oil in Serbia (4.2%) and Croatia (2.6%), but higher than that of Morocco (0.83%). On the other hand, menthol was the principal compound in the Moroccan essential oil (20.82%) and the Croatian essential oil (7%), whereas in this study it accounted for 1.34%.

These variations in the chemical composition of *C. erythraea* essential oil may be due to several factors that can raise or lower the yield as well as the chemical composition of the essential oils. These factors are: mineral nutrition, water, light, temperature, soil, attack of pathogens, pests and herbivores and genetic factors (Boaro et al., 2019). The geographical zone (country of origin), climate, altitude (Shutes et Galper, 2020), harvesting period, equipment and distillation technique also influence this composition (Price L., 2011).

Antioxidant Activity

DPPH Scavenging Method

It can be seen in Fig. 1 that the free radical scavenging actions of *A. halimus* and *C. erythraea* essential oils were concentration dependent. EC_{50} (called, IC_{50}) is the concentration of essential oil required to inhibit 50% of DPPH free radicals, it indicates a high antioxidant capacity if it is low. The EC_{50} values of essential oils obtained using linear regressions were summarized in Table 3. As indicated, the essential oil that had important antioxidant activity was that of *C. erythraea* with an EC_{50} value of 546.61 $\mu\text{g mL}^{-1}$, lower than that of the standard compounds, ascorbic acid (11.88 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and catechin (14.28 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

FRAP Assay

In the FRAP assay, a high absorption value reflects an increase in the reducing power of the tested essential oil. As shown in Fig. 2, reducing power of essential oils and standard compounds increases with the increase in concentration. In all concentrations (62.5-1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$), ascorbic acid and catechin are more active than essential oils with absorbance value of 0.91 ± 0.056 and 0.98 ± 0.005 at 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. The essential oil of *C. erythraea* shows the highest reducing power when compared to the essential oil of *A. halimus*.

Table 1. The chemical composition *Atriplex halimus* L. essential oil

N°	KI ^a	Compounds	% Area
01	1104	α -Thujone	0.085
02	1141	Camphor	0.246
03	1163	Borneol	0.113
04	1189	α -Terpineol	0.199
05	1129	Citronellol	0.089
06	1293	Thymol	0.257
07	1301	Carvacrol	0.145
08	1331	<i>p</i> -Acetanisole	1.604
09	1416	(β)-Caryophyllene	0.413
10	1451	α -Humulene	0.636
11	1475	γ -Muurolene	0.081
12	1480	Germacrene D	6.942
13	1493	Bicyclogermacrene	2.468
14	1518	Viridiflorene	3.239
15	1522	δ -Cadinene	0.328
16	1525	Myristicin	3.016
17	1528	Cardina-1(10),4-one	1.253
18	1580	Caryophyllene oxide	1.528
19	1590	Viridiflorol	40.235
20	1600	Ledol	0.624
21	1602	Humulene epoxide II	0.495
22	1616	1,10-di-epi-Cubenol	0.935
23	1626	10- ϵ pi- γ -Eudesmol	0.200
24	1630	1- ϵ pi-Cubenol	0.734
25	1634	(<i>Z</i>)-Nerolidol	0.506
26	1639	ϵ pi- α -Cadinol	0.313
27	1640	ϵ pi- α -Muurolol	0.239
28	1645	α -Muurolol	0.047
29	1648	β -Eudesmol	0.334
30	1653	α -Cadinol	0.958
31	1656	α -Bisabolol oxide B	1.461
32	1702	Geranyl tiglate	0.306
33	1792	1-Octadecene	0.843
34	1905	Rimuene	0.096
35	2052	Phytol	18.242
		Total	89.17

Note: ^a Kováts indices calculated on DB5 column with reference to n-alkanes injected after the oil at the same chromatographic conditions

Table 2. Chemical composition of *Centaurium erythraea* Rafn. essential oil

N°	KI ^a	Compounds	% Area
01	889	2,5-Dimethylfuran	0.069
02	938	α-Pinene	0.092
03	974	1,2,4-Trimethyl benzen	0.145
04	996	2-Pentyl furan	0.434
05	1030	1,8-Cineole	0.065
06	1100	Linalool	0.134
07	1104	α -Thujone	0.359
08	1115	β-Thujone	0.063
09	1141	Camphor	0.715
10	1163	Borneol	0.064
11	1166	Isomenthol	0.017
12	1173	Menthol	1.345
13	1175	Terpinen-4-ol	4.146
14	1181	p-Cymen-8-ol	0.132
15	1184	Naphtalene	0.107
16	1189	α -Terpineol	0.195
17	1200	Decanal	0.098
18	1229	Citronellol	0.258
19	1233	Methyl thymol	0.645
20	1237	Cumin aldehyde	0.065
21	1242	Carvone	0.415
22	1255	Geraniol	0.100
23	1287	p-Cymen-7-ol	3.132
24	1293	Thymol	2.125
25	1296	Methyl acetate	0.462
26	1301	Carvacrol	6.435
27	1327	Para-Mentha-1,4-dien-7-ol	0.062
28	1365	Decanoic acid	0.808
29	1374	α-Copaene	0.985
30	1388	β-Bourbonene	0.707
31	1405	Methyl eugenol	0.365
32	1416	(E)-Caryophyllene	1.242
33	1451	α-Humulene	1.443
34	1458	(E)-β-Farnesene	0.070
35	1475	γ-Muurolene	0.213
36	1480	Germacrene D	0.129
37	1486	(E)- β-Ionone	0.745

Continued. Table 2.

N°	KI ^a	Compounds	% Area
38	1493	Ledene	0.901
39	1499	α-Muurolene	0.062
40	1506	β-Bisabololene	0.723
41	1512	γ-Cadinene	0.093
42	1522	δ-Cadinene	0.822
43	1541	Calacorene	0.065
44	1548	Selina-3,7(11)-diene	0.061
45	1560	Dodecanoic acid	0.094
46	1580	Caryophyllene oxide	1.752
47	1590	β-Copaen-4α-ol	38.413
48	1598	Guaiol	0.028
50	1600	Ledol	0.707
51	1606	Humulene epoxide II	0.382
52	1616	1,10-di-epi-Cubenol	0.084
53	1626	10-épi-γ-Eudesmol	0.283
54	1630	1-épi-Cubenol	0.605
55	1634	(Z)-Nerolidol	0.504
56	1639	Epi-α-Cadinol	0.204
57	1640	Epi- α-Muurolol	0.123
58	1645	α-Muurolol	0.033
59	1648	β-Eudesmol	0.355
60	1650	α- Eudesmol	0.083
61	1653	α-Cadinol	0.671
62	1656	α-Bisabolol oxide B	0.754
63	1676	Hexyl salicylate	0.396
64	1696	(E,Z)-Farnesol	0.625
65	1702	Geranyl tiglate	0.310
66	1710	(Z,E)-Farnesol	0.462
67	1715	Erythro centaurin	0.716
68	1740	(E,E)-Farnesol	0.442
69	1802	Phytan	0.269
70	1835	Neophytadienne (III)	4.245
71	1905	Rimuene	0.254
72	2052	Manool	8.200
Total			91.89

Note: ^a Kováts indices calculated on DB5 column with reference to n-alkanes injected after the oil at the same chromatographic conditions

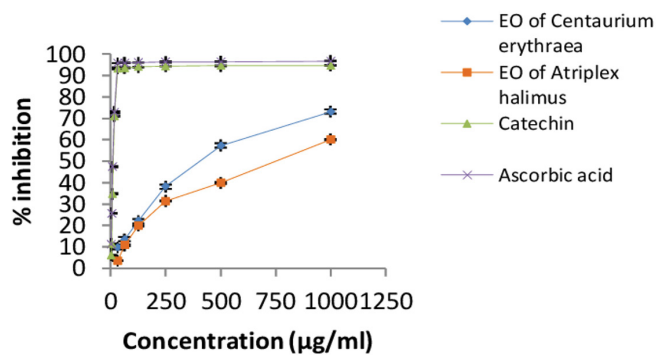


Figure 1. Free radical scavenging activity of *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn essential oils and standard compounds

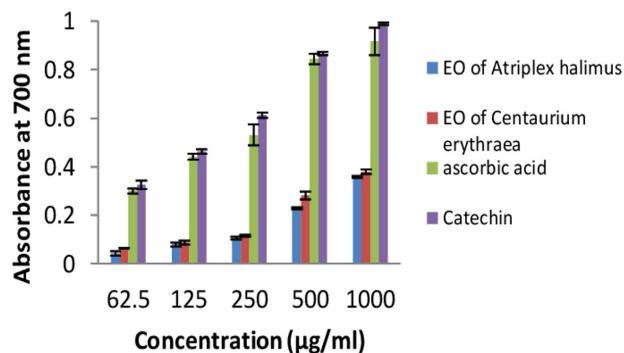


Figure 2. Ferric reducing power of *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn essential oils and standard compounds

The antioxidant activity was related to the chemical composition of the essential oils. As it is known in the literature, the components that have a phenolic fraction (such as carvacrol and thymol) are those that give antioxidant activity to an essential oil (Amorati et Foti, 2017), due to their ability to stop or suspend the oxidation reaction through the presence of oxygen (Moosavi-Nasab et al., 2020). As shown in Table 1 and 2, the amount of thymol and carvacrol (0.25%, 0.14%, respectively) was low in the essential oil of *A. halimus* which had low antioxidant activity compared to the essential oil of *C. erythraea* (2.12%, 6.43%, respectively). The antioxidant activity may also be the result of other minor components or a synergistic effect among them (Bhatnagar, 2020).

Table 3. EC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) of essential oils from *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn in DPPH scavenging assay

Antioxidants	EC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Coefficient of correlation (R^2)
EO of <i>A. halimus</i>	754.97	0.92
EO of <i>C. erythraea</i>	546.61	0.91
Ascorbic acid	11.88	0.91
Catechin	14.28	0.91

Antimicrobial Activity

Disc Diffusion Method

The antimicrobial activity of *A. halimus* and *C. erythraea* essential oils was evaluated against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and a fungal strain (*Candida albicans*), the results obtained are grouped in Table 4. The results show that *C. erythraea* essential oil has inhibitory activity on *E. coli* with an inhibition diameter of 10 ± 1.41 mm, which is in accordance with the results of Jerković et al. (2012). Contrary to our results Bouyahya et al. (2019) indicated that there was no activity. The essential oil of *A. halimus* showed the highest antibacterial effect with an inhibition diameter of 13.5 ± 2.12 mm, higher than the ATB tested.

Our results showed also that *Pseudomonas aeruginosa* was resistant to both essential oils. This result confirms that of the bibliography, which reports that this gram-negative bacteria is all the less sensitive to the action of essential oils (Barry-Ryan et Bourke, 2012). This negative response could be due to the hydrophilic outer membrane, rich in lipopolysaccharides, which prevents the penetration of essential oils (Khunkitti, 2010).

The results presented indicate that *C. erythraea* essential oil is active against *Staphylococcus aureus* with an inhibition diameter of 13 ± 2.82 mm which is higher than that of tetracycline (10 ± 2.82 mm) and gentamicin (12 ± 1.41 mm).

The antibacterial activity of this essential oil against this strain was confirmed in previous studies with inhibition diameters of 8 ± 0.28 mm (Jerković et al., 2012) and 28 ± 1.5 mm as reported by Bouyahya et al. (2019).

According to the literature, it is indicated that due to the direct interaction of cells with the hydrophobic compounds of essential oils, gram-positive bacteria are more sensitive to essential oils than gram-negative bacteria. These compounds have the potential to alter cytoplasmic membranes, to interfere with the cell energy production system (ATP), to perturb the proton motive force and to change the permeability of microbial cells which can cause cell death (Villalobos-Delgado et al., 2019).

On the contrary, *Staphylococcus aureus* was insensitive to *A. halimus* essential oil and *Enterococcus faecalis* was resistant to both essential oils. This resistance can be attributed either to the chemical composition of the essential oils tested poor in compounds known for their antibacterial power, or to the insufficient concentration of the active component.

The results indicated also that *Candida albicans* was resistant to the essential oil of *A. halimus* and sensitive to the essential oil of *C. erythraea* with the inhibition diameter of 18.5 ± 3.53 mm.

The antibacterial and antifungal activity of our essential oils against certain germs can be explained by the lipophilic characteristic of the monoterpenes present in them, which could be responsible for this action (Cristani et al., 2007), by partitioning the lipids from the bacterial cell membrane and mitochondria, causing a disruption of the cell structures, and making them more permeable, which leads to cell death (Prabuseenivasan et al., 2006).

Table 4. Diameter of inhibition zones of essential oils of *Atriplex halimus* L. and *Centaurium erythraea* Rafn. (expressed in mm, $\bar{X} \pm \bar{\sigma}$)

Microorganism	Diameter of inhibition zone (mm)					
	EO of <i>A. halimus</i>	EO of <i>C. erythraea</i>	Antibiotics			
			Amp	TC	Gn	Cl
<i>S. aureus</i>		13 ± 2.82		10 ± 2.82	12 ± 1.41	nd
<i>E. coli</i>	13.5 ± 2.12	10 ± 1.41	9 ± 1.41	11 ± 1.41	10 ± 1.41	nd
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	7.5 ± 0.7	nd
<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	nd
<i>C. albicans</i>	-	18.5 ± 3.53	nd	nd	nd	0

Note: EO - essential oil; AMP – Ampicillin; TC – Tetracycline; Gn – Gentamicin; Cl – Clotrimazole; nd - not tested

Table 5. Results of CMI of tested essential oils ($\mu\text{L mL}^{-1}$) against the studied microbial strains

Strains	MIC				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
EO of <i>A. halimus</i>	-	25	-	-	-
EO of <i>C. erythraea</i>	25	50	-	-	12.5
Negative Control (DMSO)	-	-	-	-	-
Positive Control (ATB)	nd	Nd	nd	nd	nd

Note: ATB - antibiotics, nd: not tested, (-): the resistance

However, the activity of a complex mixture is not easily attributed to a unique or specific constituent. Major or minor compounds present in the essential oil may cause antimicrobial activity. Possible synergistic and antagonistic interactions between compounds in the oil should be considered (Lopes-Lutz et al., 2008).

Viridiflorol and phytol are the main components of *A. halimus* essential oil; their antimicrobial activity has been reported in previous studies (Pejin et al., 2014; Trevizan et al., 2016). According to Hamiche et al. (2019), manool, a labdane-type diterpene, which characterizes *C. erythraea* essential oil, has different biological activities, such as antibacterial activity. Other minor components present in our oils, such as 1,8-cineol, camphor, terpinen-4 ol, linalool, α -terpineol and borneol are oxygenated monoterpenes that have been signaled in other studies as having antimicrobial activity (Lopes-Lutz et al., 2008).

Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

The MIC values of the essential oils tested are given in Table 5. These results reveal that *A. halimus* essential oil was effective against *E. coli* with a MIC value of 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Thus, the essential oil of *C. erythraea* was also active against *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* with MIC values ranging from 2.5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ to 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$. *C. albicans* was the most susceptible germ tested with a lowest MIC.

Conclusion

This preliminary work confirmed the presence of antioxidant molecules in both essential oils. These results obtained *in vitro* are only a starting step in the search for active natural antioxidant and/or antimicrobial products. It would be important to isolate, identify and determine the chemical structure of the active compounds responsible for these effects as well as their mechanisms of action.

References

Ambrosio C. M., de Alencar S. M., de Sousa R. L., Moreno A. M., Da Gloria E. M. (2017). Antimicrobial Activity of Several Essential Oils on Pathogenic and Beneficial Bacteria. *Ind Crops Prod* 97: 128-136. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.11.045

Amorati R., Foti M. C. (2017). Mode of Antioxidant Action of Essential Oils. In: *Essential Oils in Food Processing* (Hashemi S. M. B., Khaneghah A. M., de Souza Sant'Ana A., eds.), John Wiley & Sons, pp. 267-291

Annapandian V. M., Rajagopal S. S. (2017). Phytochemical Evaluation and *in vitro* Antioxidant Activity of Various Solvent Extracts of *Leucas aspera* (Willd.) Link Leaves. *Free Radic Antioxid* 7 (2): 166-171. doi: 10.5530/fra.2017.2.25

Barry-Ryan C., Bourke P. (2012). Essential Oils for the Treatment of Fruit and Vegetables. In: *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce* (Gómez-López V. M., ed.), John Wiley & Sons, pp. 225-246

- Bellakhdar J., Claisse R., Fleurentin J., Younos C. (1991). Repertory of Standard Herbal Drugs in the Moroccan Pharmacopoea. *J Ethnopharmacol* 35 (2): 123-143. doi: 10.1016/0378-8741(91)90064-K
- Bhatnagar A. (2020). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Cymbopogon flexuosus*. *J Appl Nat Sci* 12 (1): 25-29. doi: 10.31018/jans.v12i1.2207
- Boaro C. S. F., Vieira M. A. R., Campos F. G., Ferreira G., De-la-Cruz-Chacón I., Marques M. O. M. (2019). Factors Influencing the Production and Chemical Composition of Essential Oils in Aromatic Plants from Brazil. In: *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production* (Malik S., ed.), Springer, pp. 19-47
- Bouasla A., Bouasla I. (2017). Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants in Northeastern Algeria. *Phytomedicine* 36: 68-81. doi: 10.1016/j.phymed.2017.09.007
- Boumediene M., touil Aicha T., André L., Noredine N., Canarelli J. P., Krim G. (2011). Alternative Treatment of Infection by Compounds Isolated from *Globularia eriocephala* Leaves. *Adv Environ Biol* 5 (2): 227-230
- Bouyahya A., Bakri Y., Khay E. O., Edaoudi F., Talbaoui A., Et-Touys A., Abrini J., Dakka N. (2017). Antibacterial, Antioxidant and Antitumor Properties of Moroccan Medicinal Plants: A Review. *Asian Pac J Trop Dis* 7 (1): 57-64. doi:10.12980/apjtd.7.2017D6-294
- Bouyahya A., Belmehdi O., El Jemli M., Marmouzi I., Bourais I., Abrini J., Faouzi M., Bakri Y., Dakka N. (2019). Chemical Variability of *Centaurium erythraea* Essential Oils at Three Developmental Stages and Investigation of Their *in vitro* Antioxidant, Antidiabetic, Dermatoprotective and Antibacterial Activities. *Ind Crops Prod* 132: 111-117. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.01.042
- Calvo M. I., Caverro R. Y. (2014). Medicinal Plants Used for Cardiovascular Diseases in Navarra and Their Validation from Official Sources. *J Ethnopharmacol* 157: 268-273. doi: 10.1016/j.jep.2014.09.047
- Chikhi I., Allali H., Dib M. E. A., Medjdoub H., Tabti, B. (2014). Antidiabetic Activity of Aqueous Leaf Extract of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Asian Pac J Trop Dis* 4 (3): 181-184. doi:10.1016/S2222-1808(14)60501-6
- Cristani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G., Miceli D., Venuti V., Bisignano G., Saija A., Trombetta D. (2007). Interaction of Four Monoterpenes Contained in Essential Oils with Model Membranes: Implications for Their Antibacterial Activity. *J Agric Food Chem* 55 (15): 6300-6308. doi: 10.1021/jf070094x
- Duarte M. C. T., Duarte R. M. T., Rodrigues R. A. F., Rodrigues M. V. N. (2018). Essential Oils and Their Characteristics. In: *Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications* (Hashemi S. M. B., Khaneghah A. M., de Souza Sant'Ana A., eds.), John Wiley & Sons, pp. 1-19
- Moosavi-Nasab M., Mirzapour-Kouhdasht A., Oliyaei N. (2019). Application of Essential Oils for Shelf Life Extension of Seafood Products. In: *Essential Oils: Oils of Nature* (El-Shemy H. A., ed.), IntechOpen, pp.194
- Ferreira I. C., Baptista P., Vilas-Boas M., Barros L. (2007). Free-Radical Scavenging Capacity and Reducing Power of Wild Edible Mushrooms from Northeast Portugal: Individual Cap and Stipe Activity. *Food Chem* 100 (4): 1511-1516. doi:10.1016/j.foodchem.2005.11.043
- García-Salinas S., Elizondo-Castillo H., Arruebo M., Mendoza G., Irueta S. (2018). Evaluation of the Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Different Components of Natural Origin Present in Essential Oils. *Molecules* 23 (6): 1399. doi: 10.3390/molecules23061399
- Gasu E. N., Ahor H. S., Borquaye L. S. (2018). Peptide Extract from *Olivancillaria hiatula* Exhibits Broad-Spectrum Antibacterial Activity. *BioMed Research International* 2018: 1-11. doi: 10.1155/2018/6010572
- Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhruf A. (2010). Chemical Composition and Biological Activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. Essential Oil: A High Effectiveness against *Vibrio* spp. Strains. *Food Chem Toxicol* 48 (8-9): 2186-2192. doi: 10.1016/j.fct.2010.05.044
- Hamiche S., Badis A., Jouadi B., Bouzidi N., Daghbouche Y., Utczás M., Mondello L., El Hattab M. (2019). Identification of Antimicrobial Volatile Compounds Produced by the Marine Bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* Strain S13 Newly Isolated from Brown Alga *Zonaria tournefortii*. *J Essent Oil Res* 31 (3): 203-210. doi: 10.1080/10412905.2018.1564380
- Hanif M. A., Nisar S., Khan G. S., Mushtaq Z., Zubair M. (2019). Essential Oils. In: *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production* (Malik S., ed.), Springer, pp. 3-17
- Idm'hand E., Msanda F., Cherifi K. (2020). Ethnobotanical Study and Biodiversity of Medicinal Plants Used in the Tarfaya Province, Morocco. *Acta Ecol Sin* 40 (2): 134-144. doi: 10.1016/j.chnaes.2020.01.002
- Jerković I., Gašo-Sokač D., Pavlović H., Marijanović Z., Gugić M., Petrović I., Kovač S. (2012). Volatile Organic Compounds from *Centaurium erythraea* Rafn (Croatia) and the Antimicrobial Potential of Its Essential Oil. *Molecules* 17 (2): 2058-2072. doi: 10.3390/molecules17022058
- Jovanović O., Radulović N., Stojanović G., Palić R., Zlatković B., Gudžić B. (2009). Chemical Composition of the Essential Oil of *Centaurium erythraea* Rafn (Gentianaceae) from Serbia. *J Essent Oil Res* 21 (4): 317-322. doi: 10.1080/10412905.2009.9700181
- Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A. (2007). Investigation of the Antioxidant Properties of *Ferula orientalis* L. Using a Suitable Extraction Procedure. *Food Chem* 100 (2): 584-589. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.084
- Khan A. S. (2017). *Flowering Plants: Structure and Industrial Products*, First Edition. John Wiley & Sons Ltd, pp. 1
- Khunkitti W. (2010). *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some *Cymbopogon* Species. In: *Essential Oil-Bearing Grasses* (Akhila, A., ed.), CRC press, Boca Raton, pp.167-184
- Kültür Ş. (2007). Medicinal Plants Used in Kırklareli Province (Turkey). *J Ethnopharmacol* 111 (2): 341-364. doi: 10.1016/j.jep.2006.11.035
- Kumar A., Singh P., Gupta V., Prakash B. (2020). Application of Nanotechnology to Boost the Functional and Preservative Properties of Essential Oils. In: *Functional and Preservative Properties of Phytochemicals* (Prakash B. ed.), Academic Press, pp. 241-267. doi:10.1016/B978-0-12-818593-3.00008-7
- Kumari A., Goyal V., Sheokand S. (2019). Oxidative Stress and Antioxidant Defence Under Metal Toxicity in Halophytes. In: *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes* (Hasanuzzaman M., Nahar K., Öztürk, M. eds.), Springer, Singapore, pp. 115-155. doi: 10.1007/978-981-13-3762-8_6
- Kuttan R., Liju V. B. (2017). Safety Evaluation of Essential Oils. In: *Essential Oils in Food Processing* (Hashemi S. M. B., Khaneghah A. M., de Souza Sant'Ana A., eds), John Wiley & Sons, pp. 339-358
- Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk P. P. (2008). Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Artemisia Essential Oils. *Phytochemistry* 69: 1732-1738. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.02.014
- Merzouki A., Ed-Derfoufi E., Mesa J. M. (2000). Contribution to the Knowledge of Rifian Traditional Medicine. II: Folk Medicine in Ksar Lakbir District (NW Morocco). *Fitoterapia* 71 (3): 278-307. doi: 10.1016/S0367-326X(00)00139-8
- Miara M. D., Bendif H., Rebbas K., Rabah B., Hammou M. A., Maggi F. (2019). Medicinal Plants and Their Traditional Uses in the Highland Region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *J Herb Med* 16: 100262. doi: 10.1016/j.hermed.2019.100262
- Mighri H., Hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H., Neffati, M. (2010). Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Artemisia herba-alba* Essential Oil Cultivated in Tunisian Arid Zone. *Comptes Rendus Chimie* 13 (3): 380-386. doi: 10.1016/j.crci.2009.09.008
- Pejin B., Kojic V., Bogdanovic G. (2014). An Insight into the Cytotoxic Activity of Phytol at *in vitro* Conditions. *Nat Prod Res* 28 (22): 2053-2056. doi:10.1080/14786419.2014.921686
- Prabuseenivasan S., Jayakumar M., Ignacimuthu S. (2006). *In vitro* Antibacterial Activity of Some Plant Essential Oils. *BMC Complement*

- Altern Med 6 (1): 1-8. doi:10.1186/1472-6882-6-39
- Price L. (2021). Traditional Use, Research and Properties. In: Aromatherapy for Health Professionals Revised Reprint E-Book (Price S., Price L., Price P. eds.), Elsevier Health Sciences, pp. 77-137
- Selvakumar P. (2012). Studies on the Antidandruff Activity of the Essential Oil of *Coleus amboinicus* and *Eucalyptus globulus*. Asian Pac J Tropical Dis 2 S715-S719. doi: 10.1016/S2222-1808(12)60250-3
- Shutes J., Galper A. (2020). The Ultimate Guide to Aromatherapy: An Illustrated Guide to Blending Essential Oils and Crafting Remedies for Body, Mind and Spirit, First Edition. Fair Winds Press, pp. 47
- Skidmore-Roth, L. (2009). Mosby's Handbook of Herbs & Natural Supplements-E-Book, Fourth Edition, Elsevier Health Sciences, pp. 156
- Srivastava Y. A. S. H. I. (2013). Advances in Food Science and Nutrition, First Edition. Science and Education Development Institute, Nigeria, pp. 29-30
- Trevizan L. N. F., Nascimento K. F. D., Santos J. A., Kassuya C. A. L., Cardoso C. A. L., Vieira M. D. C., Moreira F. M. F., Croda J., Formagio A. S. N. (2016). Anti-inflammatory, antioxidant and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of viridiflorol: The major constituent of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk. J Ethnopharmacol 192: 510-515. doi: 10.1016/j.jep.2016.08.053
- Villalobos-Delgado L. H., Nevárez-Moorillon G. V., Caro I., Quinto E. J., Mateo J. (2019). Natural Antimicrobial Agents to Improve Foods Shelf Life. In: Food Quality and Shelf Life (Galanakis, C. M., ed.), Academic Press, pp. 125-157. doi: 10.1016/B978-0-12-817190-5.00004-5

ACS88_26