

N° d'ordre : 4074

THÈSE

en vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Géophysique, Patrimoine Naturel et Chimie Verte

Structure de Recherche : Equipe de chimie des Plantes et Synthèse Organique et Bio-organique

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie des Plantes et Synthèse Organique et Bio-Organique

Présentée et Soutenue le : 26 / 04 / 2025

Par :

Amal NAAMA

Conservation de l'Arganeraie : Etude des propriétés bioactives des plantes et lichens associés à l'Argania spinosa (L), pour une approche durable de valorisation phytothérapeutiques

Devant le JURY :

Khalid BOUGRIN	PES	Faculté des sciences Rabat, Université Mohammed V	Président/ Rapporteur
Saïd LAZAR	PES	Faculté des sciences et techniques Mohammedia, Université Hassan II	Rapporteur/Examinateur
Saïd GHARBY	MCH	Faculté polydisciplinaire Taroudant, Université Ibn Zohr	Rapporteur/Examinateur
Abdelhakim BOUYAHYA	MCH	Faculté des sciences Rabat, Université Mohammed V	Examinateur
Hanae ELMONFALOUTI	MCH	Faculté des Sciences Rabat, Université Mohammed V	Examinatrice
Badr Eddine KARTAH	MCH	Faculté des sciences Rabat, Université Mohammed V	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2024 - 2025

Résumé

Le but de la thèse porte sur la contribution à la valorisation des ressources végétales associée à l'arganier qui présente une source prometteuse des composés bioactifs. Dans ce contexte trois espèces ont été choisies à savoir *Kleinia anteuophorbium* et deux espèces de lichens : *Evernia prunastri*, et *Ramalina lacera*. Pour chaque espèce une étude phytochimique a été réalisée pour déterminer leurs teneurs en polyphénols, flavonoïdes, et tannins condensés. Après, des activités biologiques *in-vitro* ont été réalisées pour évaluer les effets antioxydants, antidiabétique et antibactérienne des différents extraits. Pour *Kleinia anteuophorbium*, les résultats montrent que le solvant est le facteur principal dans la variance des paramètres étudiés. Les résultats ont montré que chaque solvant a un rendement différent pour la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en activité antioxydante ainsi que l'activité antidiabétique. Dans le cas, de l'activité antibactérienne *P. aeruginosa* a été la souche la plus sensible et *S. aureus* est la plus résistante. L'analyse par GC-MS a révélé la présence de plusieurs composés dans l'extrait méthanolique et aqueux. Les résultats de lichens ont montré que chaque solvant a un rendement différent pour la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en activité antioxydante ainsi que l'activité antidiabétique.

Mots-clefs (5) : Arganeraie, Polyphénols, Lichens, Antidiabétique, Antibactérienne

Abstract

The thesis aims to contribute to the valorisation of plant resources associated with the Argan tree, a promising source of bioactive compounds. Three species were studied: *Kleinia anteuophorbium*, *Evernia prunastri*, and *Ramalina lacera*. Phytochemical analyses determined the content of polyphenols, flavonoids, and condensed tannins. In vitro biological activities were evaluated to assess antioxidant, antidiabetic, and antibacterial effects. For *Kleinia anteuophorbium*, the type of solvent was a key factor influencing polyphenol and flavonoid content, as well as antioxidant and antidiabetic activities. Antibacterial tests revealed that *Pseudomonas aeruginosa* was the most sensitive strain and *Staphylococcus aureus* was the most resistant. GC-MS analysis of methanolic and aqueous extracts identified various bioactive compounds. Lichen studies revealed that the choice of solvent significantly affected the polyphenol and flavonoid content, as well as the antioxidant and antidiabetic activities. These findings highlight the potential of these species as sources of bioactive compounds for various applications.

Keywords (5): Arganeraie, Polyphenols, Lichens, Antidiabetic, Antibacterial

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents, aucune expression ne saurait exprimer la reconnaissance, le respect et l'amour que je vous porte. Sans votre prière et tes précieux conseils, je n'en serais pas là aujourd'hui. Que Dieu tout puissant te protège et te prête une longue vie.

A mes sœurs Nzaha, Soukaina et mes frères Aziz et Naji, merci pour vos encouragements, votre soutien. Vous avez été ma source d'équilibre et de sérénité tout au long de cette aventure.

A mon beau-frère, Pr. Lahsen, merci pour ton soutien, ton encouragement et tes mots motivants. Ils m'ont aidée à garder le cap, même dans les moments les plus exigeants.

A mes chères nièces : Hala, Houda, Mohamed et Hiba, vous êtes une source de joie permanente dans ma vie.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de Chimie des Plantes et Synthèse Organique et Bio-organique. Je saisis cette occasion pour exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **Khalid BOUGRIN**, Professeur PES à la faculté des sciences de Rabat et le directeur du laboratoire du Chimie des Plantes et Synthèse Organique et Bio-organique, pour m'avoir accueilli au sein d'équipe de LCPSOB.

Je tiens à adresser un remerciement tout particulier à mon directeur de thèse, Monsieur **KARTAH Badr Eddine**, Professeur habilité à la faculté des Sciences de Rabat, pour avoir accepté de diriger ce travail. Sa disponibilité, ses conseils éclairés et ses qualités humaines m'ont été d'une aide précieuse tout au long de ce parcours.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à l'ensemble des membres du jury qui malgré leurs nombreuses responsabilités ont accepté d'évaluer ce travail :

Monsieur **BOUGRIN Khalid** Professeur PES à la faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V, en tant que Président du jury et rapporteur. Je remerciement pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider cette soutenance et pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Monsieur **Saïd LAZAR** Professeur PES à la Faculté des sciences et techniques de Mohammedia, Université Hassan II, pour avoir accepté de rapporter et examiner ce travail et pour le temps consacré à l'évaluation de ce manuscrit. Leur expertise et leur rigueur ont enrichi cette thèse.

Monsieur **Saïd GHARBY** Professeur habilité à Faculté polydisciplinaire de Taroudant, Université Ibn Zohr, en tant que rapporteur et examinateur. Ses remarques constructives ont apporté une grande valeur à ce travail, et je lui exprimer toute ma reconnaissance pour son précieux soutien.

Monsieur **Abdelhakim BOUYAHYA**, Professeur habilité à la faculté des Sciences de Rabat Université Mohammed V et pour leur participation à ce jury. Leur observation pertinente et leur échanges constructifs ont grandement contribué à l'approfondissement de ce travail et à la qualité de cette soutenance.

Madame **ELMONFALOUTI Hanae**, Professeure habilitée à la faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V pour avoir acceptée d'examiner ce travail, ses remarques pertinentes, ses échanges fructueux ont grandement contribué à l'approfondissement de ce travail et à la qualité de cette soutenance.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Mlle **Basma AGHOUTANE**, dont le soutien constant, l'aide précieuse et l'accompagnement bienveillant ont été inestimables tout au long de cette thèse. Son encouragement et son optimisme m'ont permis de traverser les moments difficiles.

Cette thèse représente l'aboutissement d'un parcours semé d'embûches, d'apprentissages et de découvertes. Je remercie toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Résumé

Le but de la thèse porte sur la contribution à la valorisation des ressources végétales associée à l'arganier qui présente une source prometteuse des composés bioactifs. Dans ce contexte trois espèces ont été choisies à savoir *Kleinia anteuophorbium* et deux espèces de lichens : *Evernia prunastri*, et *Ramalina lacera*. Pour chaque espèce une étude phytochimique a été réalisée pour déterminer leurs teneurs en polyphénols, flavonoïdes, et tannins condensés. Après, des activités biologiques *in-vitro* ont été réalisées pour évaluer les effets antioxydants, antidiabétique et antibactérienne des différents extraits. Pour *Kleinia anteuophorbium*, les résultats montrent que le solvant est le facteur principal dans la variance des paramètres étudiés. Les résultats ont montré que chaque solvant a un rendement différent pour la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en activité antioxydante ainsi que l'activité antidiabétique. Dans le cas, de l'activité antibactérienne *P. aeruginosa* a été la souche la plus sensible et *S. aureus* est la plus résistante. L'analyse par GC-MS a révélé la présence de plusieurs composés dans l'extrait méthanolique et aqueux. Les résultats de lichens ont montré que chaque solvant a un rendement différent pour la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en activité antioxydante ainsi que l'activité antidiabétique.

. **Mots-clés** : Arganeraie, Polyphénols, Lichens, Antidiabétique, Antibactérienne

Abstract

The thesis aims to contribute to the valorisation of plant resources associated with the Argan tree, a promising source of bioactive compounds. Three species were studied: *Kleinia anteuophorbium*, *Evernia prunastri*, and *Ramalina lacera*. Phytochemical analyses determined the content of polyphenols, flavonoids, and condensed tannins. In vitro biological activities were evaluated to assess antioxidant, antidiabetic, and antibacterial effects. For *Kleinia anteuophorbium*, the type of solvent was a key factor influencing polyphenol and flavonoid content, as well as antioxidant and antidiabetic activities. Antibacterial tests revealed that *Pseudomonas aeruginosa* was the most sensitive strain and *Staphylococcus aureus* was the most resistant. GC-MS analysis of methanolic and aqueous extracts identified various bioactive compounds. Lichen studies revealed that the choice of solvent significantly affected the polyphenol and flavonoid content, as well as the antioxidant and antidiabetic activities. These findings highlight the potential of these species as sources of bioactive compounds for various applications.

Keywords: Arganeraie, Polyphenols, Lichens, Antidiabetic, Antibacterial.

Liste des publications

Amal Naama, Basma Aghoutane, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah. (2023).

Solvent Effect on Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, and the Antioxidant Activity of *Ramalina lacera* and *Evernia prunastri* Lichens Collected from the Trunks of *Argania spinosa* L. *Ecol. Eng. Environ. Techno.* 2023, 9:183-190. (Article publié).

Amal Naama, Basma Aghoutane, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah. Investigating Optimal Conditions for Obtaining Medicinal Extracts with the Best Functional Properties from *Kleinia anteuphorbium* L. *Ecol. Eng. Environ. Techno.*, 9:183-190.2024.

Basma Aghoutane, Hayat Talbi, **Amal Naama**, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah. (2023). Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Euphorbia resinifera* O.Berg, *Tropical J Nat Prod Res*, March 2023, 7(3): 2530-2535. (Article publié)

Basma Aghoutane, **Amal Naama**, Imane Elattar, Otman Elgourrami, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah. (2024). Phytochemical Composition, Antibacterial Activity and Acute Toxicity Studies of *Euphorbia resinifera* O.Berg, *Tropical J Nat Prod Res*, April 2024; 8(4): 6814-6819. (Article publié)

Basma Aghoutane, **Amal Naama**, Najlae Elotmani, Sara Haida, Houcine Ait Ouakrim, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah. (2024). GC-MS analysis, antidiabetic, antifungal, and anti-inflammatory activities of *Euphorbia resinifera* a O. Berg extracts. (Article soumis).

Liste des communications

Amal Naama, Basma Aghoutane, Hayat Talbi, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah (2022). Evaluation of total phenolic content, total flavonoid content, and the antioxidant activity of Ramalina lacera lichen collected from the trunks of Argania Spinosa (L) skeels. FSR Doctorial under the theme “Scientific research, pillar of Development, 19, 20, 21st July 2022-Rabat.

Amal Naama Basma Aghoutane, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah. (2023). Evaluation of the effect of the extraction solvent on the antioxidant activity of a medicinal plant growing in Morocco. FSR Doctorial under the theme:” Scientific Research: Lever of Sustainable Development.” May2023-Rabat.

Amal Naama, Basma Aghoutane, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah (2024). Phytochemical Composition, Antibacterial Activity and Acute Toxicity Studies of Euphorbia resinifera O. Berg. FSR Doctorial under the theme: “Development of Scientific Research and Innovation in the First of Artificial Intelligence: Assets, Challenges and Perspectives.”,1 to 7 July 2024, Rabat.

Amal Naama, Basma Aghoutane, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah (2023). ‘Evaluation of total phenolic content, total flavonoids content and the antioxidant activity of Ramalina lacera lichen.’” 3rd International Congress on Natural Products and Sustainable Development: Health, Food, and Cosmetics Applications 25, 26, 27th May 2023- Rabat.

Amal Naama, Basma Aghoutane, Hanae Elmonfalouti, Badr Eddine Kartah (2024). The Antioxidant Activity of Evernia prunastri Lichen at the International Congress Varena 2024 – Valorisation of Natural Resources, 11-13 July 2024, Rabat.

Liste des abréviations

AB : Activité Antibactérienne

AD : Activité Antidiabétique

ANOVA : Analysis de Variance

AG : Acide Gallique

DPPH : 2.2-diphényle-1-picrylhydrazyle

ER : Equivalent de Rutin

EC : Equivalent de Catéchine

FRAP : Pouvoir Antioxydant Réducteur du Fer

GC-MS : Chromatographie en Phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse

ME : Méthode d'Extraction

MS : Matière sec

MeOH : Méthanol

mgEAG/gMV : Milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de la matière végétale.

mgER/gMV : Milligramme d'équivalent de Rutin par gramme de la matière végétale.

PDA : Potato dextrose agar.

PR : Pouvoir réducteur.

R (%) : Rendement d'extraction

S×M : Interaction Solvant/ Méthode

SD : Standard Déviation

TPC : Contenu Phénolique Total

TFC : Contenu Total en Flavonoïdes

TC : Tannin Condenses

TR : Temps de rétention

Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique de l'arganeraie dans le sud-ouest marocain.....	5
Figure 2: Biosphère de l'arganier	6
Figure 3: Classification des métabolites secondaires.....	9
Figure 4 : Structures de base de flavonoïdes	11
Figure 5 : Structures chimiques de flavonols	12
Figure 6: Structure chimique des flavanones	13
Figure 7 : Structure chimique de (+)-catéchine.....	13
Figure 8 : Structure chimique de (-)-épicatéchine.....	13
Figure 9 : Structures chimiques des quelques flavones.....	14
Figure 10 : Structure des anthocyanidines courantes	15
Figure 11 : Structure chimique du trans-resvératrol	15
Figure 12 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques	16
Figure 13 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques.....	16
Figure 14: La flavine, responsable du son goût amer du thé vert	21
Figure 15: Structures de quelques terpénoïds	23
Figure 16: Structures de bases des alcaloïdes	27
Figure 17: Schémas du montage d'extraction Soxhlet	34
Figure 18: (a) Schéma de l'équipement d'extraction assistée par ultrasons ; (b) Effet des ondes ultrasonores sur les cellules	36
Figure 19: (a) Schéma du dispositif d'extraction assistée par micro-ondes ; (b) Effet des micro-ondes sur les cellules végétales.	37
Figure 20: Illustration schématique de l'association des lichens	39
Figure 21: Illustration des principaux types morphologiques de lichens. A – thalle crustacé de diploicia canescens ; b – thalle foliacé ; c – thalle fruticuleux ; d – thalle squamuleux ; e – thalle lépreux ; f – thalle gélatineux ; g – thalle complexe	40
Figure 22: Biosynthèse des métabolites secondaires des lichens par la voie acétyl-polymalonate. Les polykétides aromatiques produits par cette voie diffèrent selon le nombre de molécules de malonyl-CoA incorporées et selon leur type.	45
Figure 23: Structures chimique d'Acide usnique	47
Figure 24: Structure chimique d'Acide évernique.....	48
Figure 25: Structure chimique de Atranorine.....	48
Figure 26: Structure chimique de l'Acide physodique	49

Figure 27: Structure chimique de Limonène.....	50
Figure 28: <i>Kleinia anteuphorbium</i>	51
Figure 29: <i>Evernia prunastri</i>	52
Figure 30: Localisation de la région d'étude.....	57
Figure 31: Extraits de <i>Kleinia anteuphorbium</i> obtenus par macération.....	61
Figure 32: les extraits de <i>kleinia anteuphorbium</i> obtenus par sonication	61
Figure 33: Mécanisme réactionnel de flavonoïdes Al (III)	63
Figure 34: Réaction de l'antioxydant et le radical libre DPPH.....	64
Figure 35: Mécanisme d'hydrolyse de l'amidon par α -amylase	67
Figure 36: Teneurs en polyphénols de différents extraits de <i>Kleinia anteuphorbium</i>	76
Figure 37: Teneurs en flavonoïdes des différents extraits <i>Kleinia anteuphorbium</i>	77
Figure 38: Teneurs en TFC de <i>Kleinia anteuphorbium</i>	78
Figure 39: IC50 des extraits de <i>K. anteuphorbium</i>	87
Figure 40: Chromatogramme GC-MS de l'extrait méthanolique de <i>K. anteuphorbium</i>	91
Figure 41: Chromatogramme GC-MS d'extrait aqueux de <i>K. anteuphorbium</i>	95
Figure 42: Pourcentage d'inhibition des différents extraits de lichens <i>E. prunastri</i> et <i>R. lacera</i>	104
Figure 43: Absorbances des extraits de lichens <i>E. prunastri</i> (A) et <i>R. lacera</i> (B).....	104
Figure 44: IC50 des différents extraits de lichens.....	107
Figure 45: Activité antibactérienne des extraits de lichens.....	110

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des composés phénoliques	11
Tableau 2: Activités biologiques des polyphénols	22
Tableau 3: Mode de préparation des extraits.....	72
Tableau 4: Résultats de l'analyse quantitative.....	72
Tableau 5: Contribution relative des facteurs étudiés sur le rendement, TPC, TC, et TFC.....	73
Tableau 6: Rendements des extraits de <i>Kleinia anteupehorbium</i>	74
Tableau 7: Activité antioxydante de différents extraits de <i>Kleinia anteupehorbium</i>	82
Tableau 8: Diamètre d'inhibition des extraits de la plante <i>Kleinia anteupehorbium</i> L. sur les différentes souches bactériennes.	82
Tableau 9: Pourcentage d'inhibition de l' α amylase des différents extraits de <i>Kleinia anteupehorbium</i>	87
Tableau 10: Profil des composés majeurs (<1%) de l'extrait méthanolique de <i>Kleinia anteupehorbium</i> et leurs valeurs m/z.	90
Tableau 11: Résultats de l'analyse de GC-MS de l'extraits aqueux de <i>K. anteupehorbium</i>	93
Tableau 12: Matrix de corrélation	97
Tableau 13: Matrice de corrélation de l'activité antibactérienne et TPC, TFC, TC	99
Tableau 14: Rendements des extraits de lichens.	100
Tableau 15: Teneurs en polyphénols totaux de <i>Evernia prunastri</i> et <i>Ramalina lacera</i>	101
Tableau 16: Teneurs en flavonoïdes totaux de différents extraits de <i>E. prunastri</i> et <i>R. lacera</i>	102
Tableau 17: Pourcentages d'inhibitions des différents extraits de <i>Ramalina lacera</i> et <i>Evernia prunastri</i>	106
Tableau 18: Matrix de corrélations	111

SOMMAIRE

Dédicace	i
Remerciements	ii
Résumé	iv
Abstract	v
Liste des publications	vi
Liste des communications	vii
Liste des abréviations	viii
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xi
Introduction générale	1
CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Généralités sur biosphère de l'arganier et les métabolites secondaires	4
I.1. Biosphère de l'arganeraie	4
I.1.a. Les plantes associées à l'arganier.....	6
I.1.b. Importance des plantes aromatique et médicinales.....	7
I.2. Métabolites secondaires des plantes	8
I.2.a. Polyphénols.....	10
I.2.a.i. Flavonoïdes.....	11
I.2.a.ii. Non-flavonoïdes.....	15
I.2.a.iii. Activité biologique.....	16
I.2.a.iv. Réactions chimiques des polyphénols.....	17
I.2.a.v. Purification.....	17
I.2.a.vi. Dosage quantitative.....	17
I.2.a.vii. Méthode d'étude structurale des polyphénols.....	17
I.2.a.viii. Fonctions biologiques des polyphénols.....	18
I.2.a.ix. Aspect sensoriel et chimique des polyphénols.....	19
I.2.a.x. Intérêt biologique des polyphénols.....	21
I.2.a.xi. Intérêts agroalimentaires des polyphénols.....	22
I.2.a.xii. Intérêt cosmétiques.....	23
I.2.b. Terpènes.....	23
I.2.b.i. Intérêt pharmaceutique des terpénoïdes.....	24
I.2.b.ii. Intérêts agroalimentaires des terpénoïdes.....	24
I.2.b.iii. Intérêts cosmétiques.....	25
I.2.c. Saponines.....	25
I.2.c.i. Intérêts pharmaceutiques des saponines.....	25
I.2.c.ii. Intérêt agroalimentaire des saponines.....	26
I.2.c.iii. Intérêt cosmétique des saponines.....	26
I.2.d. Alcaloïdes.....	26
I.2.d.i. Intérêt pharmacologique des alcaloïdes.....	27
I.2.d.ii. Intérêt agroalimentaire des alcaloïdes.....	27
I.2.d.iii. Intérêt cosmétiques des alcaloïdes.....	28
I.2.e. Activités biologiques des métabolites secondaires.....	28
I.2.e.i. Activité antioxydante.....	28
I.2.e.ii. Activité antimicrobienne.....	29
I.2.e.iii. Activité antidiabétique.....	29
I.2.e.iv. Activité anti-inflammatoire.....	30
I.2.e.v. Activité anticancéreuse.....	30
I.2.f. Extraction et isolement des composés bioactives.....	30
I.2.f.i. Méthodes d'extractions des composés bioactives.....	31
II. Généralité sur les lichens	38
II.1. Introduction sur les lichens	38
II.2. Importance des lichens	41
II.2.a. Importance pour l'écosystème.....	41
II.2.b. Importance des lichens pour l'homme.....	42
II.2.b.i. Utilisations pharmacologiques.....	42
II.2.b.ii. Utilisation des lichens comme colorant.....	43

II.2.b.iii. Utilisation des lichens dans le domaine cosmétique.....	43
II.3. Métabolites secondaires de lichens	43
II.4. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires des lichens.....	45
II.4.a. Acide usnique.....	46
II.4.b. Acide évernique.....	47
II.4.c. Atranorine	48
II.4.d. Acide physodique.....	49
II.4.e. Limonène.....	49
III. Présentation des espèces étudiés	50
III.1. <i>Kleinia anteuophorbium</i> L	50
III.1.a. Description botanique	50
III.1.b. Taxonomie.....	50
III.1.c. Famille des Asteraceae.....	51
III.2. Espèce <i>Evernia prunastri</i>	51
III.2.a. Description botanique :	52
III.2.b. Taxonomie :	52
III.2.c. Utilisations d' <i>Evernia prunastri</i>	53
III.2.d. Métabolites secondaires de <i>Evernia prunastri</i>	53
III.3. <i>Ramalina lacera</i>	54
III.3.a. Description botanique	54
III.3.b. Taxonomie.....	54
III.3.c. Utilisations de <i>Ramalina lacera</i>	54
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	56
I. Présentation du milieu d'étude.....	57
I.1. Région d'étude	57
I.2. Climat et les précipitations.....	57
I.3. Caractéristiques pédologiques	58
II. Méthodologie	58
III. Etude ethnobotanique	59
IV. Matériel végétal	59
IV.1. Echantillonnage.....	59
IV.2. Préparation des échantillons de <i>Kleinia anteuophorbium</i>.....	60
IV.3. Préparation des échantillons de Lichens.....	60
IV.4. Extraction pour <i>Kleinia anteuophorbium</i>.....	60
IV.4.a. Extraction par macération	61
IV.4.b. Extraction par Sonication	61
IV.5. Extraction des extraits de lichens	62
IV.6. Rendement.....	62
V. Dosage des composés phénolique	62
V.1. Dosages des polyphénols totaux (TPC)	62
V.1.a. Principe	62
V.1.b. Mesure.....	62
V.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC).....	63
V.2.a. Principe	63
V.2.b. Mesure.....	63
V.3. Tanins condensés	64
V.3.a. Principe	64
V.3.b. Mesure.....	64
VI. Activité antioxydante	64
VI.1. Test de DPPH	64
VI.1.a. Principe	64
VI.1.b. Mesure.....	65
VI.2. Test Pouvoir réducteur antioxydant de fer (FRAP)	65
VI.2.a. Principe	65
VI.2.b. Mesures	65
VII. Activité antibactérienne.....	66
VIII. Activité antidiabétique <i>in vitro</i>	67
VIII.1. Principe :.....	67
VIII.2. Mesure	67

IX.	Réaction d'acylation.....	68
X.	Analyse par GC-MS	68
XI.	Analyse statistique.....	69
	CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	70
I.	Etude ethnopharmacologie	71
I.1.	Informations botaniques	71
I.1.a.	Utilisations ethno-pharmacologiques	71
I.1.b.	Mode de préparation.....	71
I.1.c.	Analyse qualitative.....	72
II.	Etude phytochimique de <i>Kleinia anteuphorbium</i>	72
II.1.	Analyse de la variance (ANOVA).....	72
II.2.	Rendements des extraits de <i>Kleinia anteuphorbium</i>.....	73
II.3.	Dosage des composés phénoliques	75
II.3.a.	Dosage des polyphénols totaux (TPC)	75
II.3.b.	Dosage des flavonoïdes	77
II.3.c.	Dosage des tannins de <i>Kleinia anteuphorbium</i>	77
II.4.	Evaluations biologiques des différents extraits	78
II.4.a.	Activité antioxydante	78
II.4.a.i.	Test de piégeage du radical DPPH	79
II.4.a.ii.	Pouvoir réducteur (Réduction de fer)	80
II.5.	Activité antibactérienne	82
	Activité antidiabétique <i>in vitro</i>	86
II.6.	L'analyse de GC-MS	89
II.7.	Corrélation	97
III.	Etude phytochimique de lichens	100
III.1.	Rendements des extraits des lichens.....	100
III.2.	Dosage des composés phénoliques des lichens	101
III.2.a.	Dosage des polyphénols	101
III.2.b.	Dosage des flavonoïdes	101
III.3.	Activité antioxydante des lichens.....	102
III.3.a.	Activité antiradicalaire des différents extraits de lichens	102
III.3.b.	Pouvoir réducteur (Réduction de fer)	104
III.4.	Activité antidiabétique des lichens	106
III.5.	Activité antibactérienne	109
III.6.	Corrélation lichens.....	111
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	113
	ANNEXES	117
	Références	119

Introduction générale

Les métabolites secondaires sont des composés organiques produits par les végétaux pour interagir avec leur environnement (Bell, 2001 ; Khare et al., 2020). Toutefois, ces molécules présentent également un grand intérêt pour l'être humain, car elles constituent une source précieuse de composés bioactifs, largement utilisés dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et nutritionnel, que ce soit comme compléments alimentaires ou pour d'autres applications (Kirubakari et al., 2019 ; Clemensen et al., 2020). Ainsi, depuis des siècles, les sociétés humaines, qu'elles soient anciennes ou modernes, ont eu recours aux plantes aromatiques et médicinales, principalement à des fins thérapeutiques. Aujourd'hui encore, selon l'Organisation mondiale de la santé, près de 80 % de la population mondiale dépend des ressources végétales comme principale source de soins (World Health Organization, 2022). Dans ce contexte, l'intérêt croissant pour les produits naturels s'explique en partie par les effets secondaires et la toxicité de certains traitements de synthèse. Cela a conduit la recherche scientifique à s'orienter vers des solutions naturelles, perçues comme plus sûres et mieux tolérées (Bernardini et al., 2018). Parmi ces solutions, les composés phénoliques issus des plantes occupent une place centrale grâce à leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques, qui en font des candidats prometteurs pour diverses applications thérapeutiques (Raja et Sreenivasulu, 2015).

Les polyphénols, en particulier, représentent une famille importante de métabolites secondaires naturellement présents dans les plantes, les fruits et divers végétaux. Ils se caractérisent par une grande diversité structurale, allant de composés simples à des molécules plus complexes (Mutha et al., 2021). Les principaux groupes de polyphénols incluent les acides phénoliques, les lignanes, les flavonoïdes et les stilbènes. Au sein des plantes, ces substances jouent un rôle dans la défense, l'attraction des pollinisateurs et la communication intercellulaire (Moazzen et al., 2022).

Pour étudier et valoriser ces composés, l'étape d'extraction est primordiale. Il n'existe cependant pas de méthode unique : les chercheurs explorent diverses techniques afin d'optimiser les rendements et préserver l'intégrité des molécules bioactives (Domínguez-Rodríguez et al., 2017 ; Jha et Sit, 2022).

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'étude de la biosphère de l'arganier, une région du sud-ouest marocain reconnue pour sa biodiversité exceptionnelle. Outre l'arganier (*Argania spinosa* L.), cette zone abrite une grande variété de plantes aromatiques et médicinales (Msanda et al., 2021).

Elle héberge également des organismes moins étudiés comme les lichens, des êtres vivants résultant d'une association symbiotique entre un champignon et une algue verte et/ou une cyanobactérie (Zhao et al., 2021).

Ces lichens produisent des substances spécifiques appelées composés lichéniques, qui se distinguent par leur richesse en composés phénoliques. Ces derniers sont dotés de multiples activités biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antitumorales, ce qui en fait des cibles intéressantes pour la recherche (Nayaka et Haridas, 2020 ; Adenubi et al., 2022 ; Mohammadi et al., 2020 ; Solárová et al., 2020).

C'est dans cette logique de valorisation des ressources naturelles de l'arganeraie que s'inscrit notre travail. Nous avons sélectionné trois espèces : une plante médicinale endémique, *Kleinia anteuophorbium* L., et deux espèces de lichens, *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri*, toutes trois récoltées dans la région de Souss-Massa.

Pour atteindre nos objectifs, notre démarche a été organisée en trois grandes étapes. La première partie est consacrée à une revue bibliographique détaillée abordant la richesse de la biosphère de l'arganier, les métabolites secondaires, les méthodes d'extraction, ainsi qu'un aperçu sur les lichens et leurs potentiels pharmacologiques.

La deuxième partie présente le matériel utilisé et les protocoles expérimentaux mis en place pour identifier les conditions d'extraction optimales des métabolites secondaires tels que les polyphénols, flavonoïdes et tannins. Elle détaille également les tests d'évaluation des activités biologiques : antioxydante (méthodes DPPH et FRAP), antibactérienne (par diffusion sur disque contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*) et antidiabétique (inhibition de l' α -amylase).

Enfin, la troisième partie expose les résultats obtenus, leur interprétation, et met en évidence les conditions optimales d'extraction permettant d'obtenir une composition phytochimique intéressante ainsi que de bonnes performances biologiques.

À la fin, le travail se conclut par une conclusion générale accompagnée de perspectives visant à approfondir les recherches et à valoriser davantage les plantes médicinales et les lichens associés à l'écosystème de l'arganeraie.

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur biosphère de l'arganier et les métabolites secondaires

I.1. Biosphère de l'arganeraie

L'arganeraie la première de biosphère du Maroc reconnue par l'UNESCO, en 8 décembre 1998, c'est un écosystème vaste et diversifié, il est bordé par le haut Atlas et Anti-Atlas et s'ouvre sur l'Atlantique à l'Ouest, en couvrant approximativement une superficie de 830 000 ha du sud-ouest Marocain des provinces d'Agadir, Taroudant, Tiznit, et Chtouka Ait Baha (Aziz et al. 2013), avec 21 millions d'arganier ou *Argania spinosa* (Kenny and De Zborowski 2007), l'arbre vital et caractéristique de la biosphère de l'arganeraie, c'est un arbre épineux peut attendre une hauteur de 8 à 10 mètres (Morton and Voss 1987) et peut vivre de 150 à 200 ans, caractérisé par s'adaptation à des températures extrême allant de 3 à 50°C et peut pousser jusqu'à 1500 mètres d'altitude lorsqu'elle est orientée vers le sud (Morton and Voss 1987). Arganier appartient à la famille des sapotacées, il est le seul représentant de cette famille qui se développe en dehors de la zone intertropicale (Charrouf and Guillaume 2002). Arganier est une espace endémique du Maroc et la troisième essence forestière après la chaîne verte (*Quercus ilex*) et le thuya (*Thuja occidentalis* L). Il joue un rôle particulièrement important dans la lutte contre la désertification, l'érosion des sols grâce à son système racinaire puissant qui plongent très profondément dans le sol, et la préservation de l'équilibre écologique et la biodiversité de la région, les forêts d'arganier aident à maintenir la fertilité des sols et en favorisant le cycle des nutriments (Tarrier and Benzyane 2003). A côté de leur rôle environnementale l'arganier joue un rôle socio-économique très important, à cause des forts liens traditionnels entre les habitants de la région et Arganier ou Argan comme la population appelé. Pour la population de sud-ouest marocain, l'arganier une source d'alimentation, en fait l'huile d'argan extraite à partir des amandes des fruits d'arganier qui aujourd'hui l'un des huiles les plus chères dans le monde, est utilisée pour l'alimentation humaine et pour la préparation des plusieurs plats traditionnels, et rentrent dans des préparations cosmétiques et pharmacologique (Broussaud-Le Strat 2004, Moukal 2004, Adlouni 2010). Aussi, feuilles, pulpe et les tourteaux sont utilisée comme un



Figure 2: Biosphère de l'arganier

I.1.a. Les plantes associées à l'arganier.

La forêt de l'arganeraie (**Figure 2**) contient des diverses espèces endémiques d'une grande importance comme les plantes aromatiques et médicinales sauvage bénéfique, de différentes origines biographiques tels que des plantes méditerranéennes, tropicales, succulentes et endémiques, qui jouent aussi un rôle économique et sociale majeur dans les activités des communautés locales (Msanda et al. 2005). Les habitants de cette région ont une connaissance approfondie de l'utilisation des plantes pour le traitement des maladies, ce qui reflète la longue tradition de la habitants dans le domaine de la phytothérapie (Khalid et al. 2023).

L'arganeraie située au long du littoral océanique du Maroc, qui s'étend de l'embouchure de l'oued Tensift au nord jusqu'à l'embouchure de l'oued Drâa au sud. Cette région est caractérisée par la présence d'une végétation crassulescente et souvent aphyllés. L'arganier forme des associations végétales avec des espèces d'Euphorbia (*Euphorbia officinarum*, *Euphorbia obtusifolia*, *Euphorbia beaumierana*), *Warionia saharae*, *Kleinia (senecio) anteuphorbium*, *caralluma burchardii var. maura*, *Caralluma commutata*, *Orbea decaisneana*

var, Apteranthes joannis, et Aeonium arboreum. Asparagus pastorianus, Heliantbemum canariense, Bupleurum canescens, Artemisia canariensis, Sonchus pinnatifidus, Thymus broussonetii var.hannoni (Msanda et al. 2021).

Au sein de la partie occidentale de l'Anti-Atlas, dans le massif de Lakhsass, l'arganier s'associe au thuya (*Tetraclinis articulata*), et à *Euphorbia officinarum subsp. echinus*, cette association spécifique à cette région de Maroc et représente l'extension la plus méridionale du thuya dans le pays. Une zone située dans les gorges de l'Assif Oumaghouz, où l'arganier coexiste avec Dragonnier marocain (*Dracaena draco.ssp.ajgal*) (Benabid and Cuzin 1997), est considérée unique en raison de la présence des espèces floristiques tropicaux rares ou endémique au Maroc, tels que : *Dracaena draco ssp.ajgal, Davallia canariensis, Laurus azorica, et Asplenium aethiopicum*. Cette dernière espèce est significative car elle n'a qu'une seule station en Afrique du Nord. Aussi, la biosphère de l'Arganier est caractérisée par la présence des espèces endémique des lignées méditerranéennes, comme : *Periploca laevigara ssp. Angustifolia, Genista ferox ssp.microphylla, Bupleurum dumosum, Hesperolabuurnum platycarpum, Lavandula maroccana, Satureja macrosiphon, Sideritis cossoniana, Thymus leptobotrys, Chamaecytisus albidus, Satureja arganietrorum*. En outre, des nombres espèces tropicaux sont aussi présentées comme : *Chloris gayana, Kalanchoe faustii, Commelina rupicola, Leptochloa ginae, Enteropogon rupestris, Heteropogon contortus, Dichantbium ischaemum*. Ces espèces sont souvent trouvées à des zones appelées « des stations refuges » dont lesquelles ils ont préservées des perturbations majeures ou de changements environnementaux.

I.1.b. Importance des plantes aromatique et médicinales

Les plantes aromatiques et médicinales occupent une place cruciale dans notre quotidien, depuis l'Antiquité, ces plantes ont offrant une multitude avantages pour notre bien-être et notre qualité de vie, elles sont utilisées à des fins préventives ou curatives, et elles ont utilisés pour ajouter de la saveur et des couleurs à notre aliments (Ghorbanpour et al. 2017, Ahad et al. 2021).

Aussi, les plantes aromatiques et médicinales occupent une place économique significative, surtout dans les pays en développement où l'accessibilité à la médecine moderne est difficile, elles contribuent directement au statut socio-économique et au bien-être des communautés rurales (Tabuti et al. 2003, Samet and Cikili 2015). Les herboristes et les guérisseurs traditionnels, tirent des revenus des plantes médicinales. D'après l'Organisation mondiale de la santé, 80% de la population mondiale ont eu recours à la médecine traditionnelle pour répondre à certains besoins de soins de santé primaires (Pandey et al. 2020).

Le Maroc l'un de ces pays, dont les plantes aromatiques et médicinales restent largement utilisées par les habitants locaux surtout dans les régions rurales (Ouhaddou et al. 2014).

La flore marocaine se distingue par sa richesse et diversité, cela est dû aux conditions climatiques et la diversité géographique (montagnes, vallées, plaines etc.) du Maroc (aromatiques et médicinales du Maroc 2016). Cette diversité a eu un impact positif sur le marché des plantes aromatiques et médicinales.

Le Maroc est un fournisseur traditionnel du marché mondial des plantes aromatiques et médicinales. Sur le plan socio-économique, le marché des plantes aromatiques et médicinales joue un rôle crucial, il constitue une source de revenu aux communautés rurales, par la création des opportunités de travail pour les populations locales (Taleb 2017). Alors la valorisation des PAM devient importante pour le développement du secteur (Hakkou et al. 2023).

I.2. Métabolites secondaires des plantes.

Les métabolites synthétisés par les végétaux se divisent en deux catégories : Métabolites primaires et Métabolites secondaires (Erb and Kliebenstein 2020). Les métabolites primaires incluent les lipides, les sucres, les protéines, et les nucléotides. Ces composés sont dits primaires parce qu'ils sont responsables de la croissance et du développement de la plante (Zaynab et al. 2019). Les produits dérivés des métabolites primaires, qui n'ont pas d'impact sur la croissance

ou le développement de la plante sont classés comme métabolites secondaires (Ashraf et al. 2018).

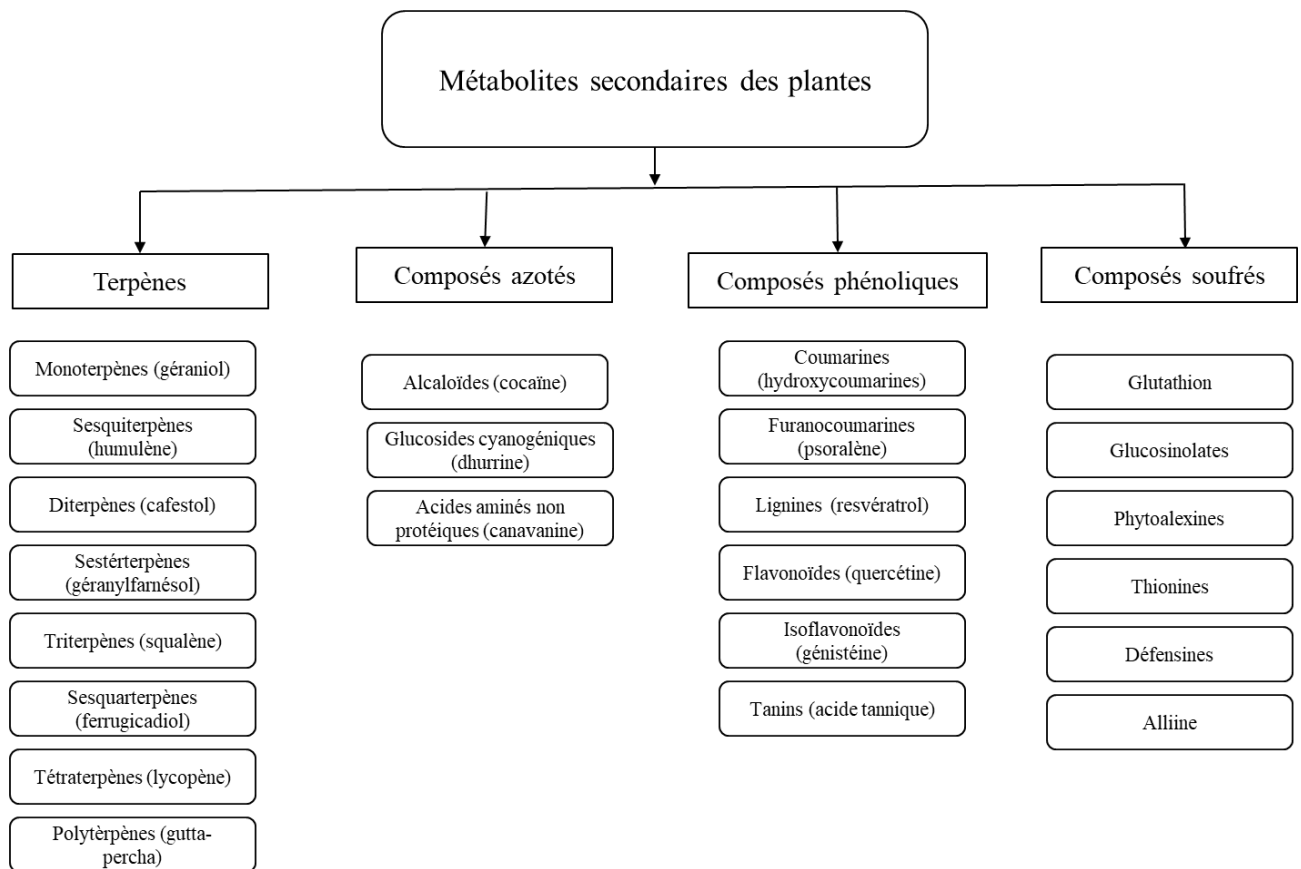


Figure 3: Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires contribuent à la vitalité des plantes en interagissant avec les écosystèmes. Ils sont impliqués dans la protection des végétaux contre les attaques des herbivores, UV et infections causés par les microbes (Erb and Kliebenstein 2020), aussi ils ont un rôle dont les attractions des pollinisateurs et les animaux dispersant les graines (Bennett and Wallsgrove 1994, Verma and Shukla 2015). Dans les dernières années les métabolites secondaires sont largement étudiés, ces études ont montré que ces métabolites peuvent être une source des nouveaux médicaments naturels, des colorants, parfums, des additives alimentaires, des huiles (Kandar 2021). Les métabolites synthésés par les végétaux sont généralement classés e fonction de leurs voies de biosynthèse. Les classes des métabolites secondaires sont :

les polyphénols, les alcaloïdes, et les terpénoïdes.(Oksman-Caldentey and Inzé 2004). Cette distribution plus étroite des composés secondaires constitue la base de la chémotaxonomie et de l'écologie chimique (**Figure 3**).

I.2.a. Polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols proviennent de la voie des phénylpropanoïdes des plantes (Cheynier 2012), et sont très répandus car ces composés sont communes à toutes les plantes supérieures (De la Rosa et al., 2019). L'homme en consomme environ 1 gramme par jour, soit près de 10 fois plus que de vitamine C et cent fois plus que de vitamine E ou caroténoïdes. Un très grand nombre de données expérimentales montrent leur implication dans la prévention des maladies telles que cancers, maladies cardiovasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires. La teneur en polyphénols varie largement d'une source alimentaire à l'autre. Elle peut atteindre, voire dépasser 100mg/ 100 g dans la pomme ou le raisin (signalons la forte proportion de polyphénols dans les pépins de raisin)(Bosso et al. 2020). Elle est de l'ordre de 100 mg/100 ml dans le café, le thé ou le vin rouge(Crozier et al. 2008). Les légumes frais, légumes secs, céréales, le chocolat contribuent également de manière significative à l'apport en polyphénols(Zujko and and Witkowska 2014).

Les composés phénoliques se distinguent par une grande diversité de structures. Ils varient des composés simples, de faible poids moléculaire, avec un seul cycle aromatique, aux tanins volumineux et aux dérivés de polyphénols complexes et de grande taille. Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'au moins un cycle aromatique auquel ils sont attachés un ou plusieurs groupes hydroxyle. Les composés phénoliques sont couramment trouvés conjugués à des sucres et des acides organiques. Ils peuvent être classés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbone (**Tableau 1**). Les composés phénoliques se divisent en deux groupes principaux : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (D'Archivio et al. 2007).

Tableau 1: Classification des composés phénoliques

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple
7	C ₆ -C ₁	Acides phénoliques	Acide gallique
8	C ₆ -C ₂	Acétophénones	Gallacétophénone
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculétine
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine

I.2.a.i. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont constitués d'une énorme classe des composés phénoliques. Les flavonoïdes ont une structure générale de 15 carbones (C₆-C₃-C₆) (Liu et al. 2021). Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme de monomères, dimères et d'oligomères supérieurs. Les flavonoïdes incluent chalcones, aurones, flavonones, isoflavonoïdes, flavones, flavonols, flavan-3,4-diols, et les anthocyanines (Winkel-Shirley 2001). Ils sont présents dans les différentes parties de la plante, fruits, fleurs, feuilles...etc (Kumar and Pandey 2013). Ils ont joué un rôle dans la protection de la plante contre les maladies et les rayons UV, la pigmentation, et dans les interactions plant-animaux (Kumar et al. 2020).

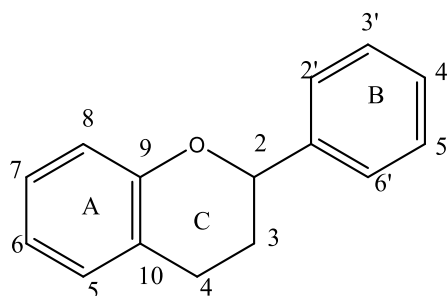


Figure 4 : Structures de base de flavonoïdes (Chira et al. 2008)

a) Flavonols

Les flavonols sont des composés phénoliques dérivés du 3-hydroxyflavone. Ils sont présents, généralement, dans la nature sous forme d'oglycosides. Les flavonols se trouvent presque dans tous les légumes et les fruits, mais les oignons, les pommes, le cidre, les raisins, et le thé sont les sources plus riches en flavonols. La quercétine est le flavonol le plus abondant dans les plantes et le plus étudié. Il existe d'autres flavonols fréquents tels que le Kaempférol, la myricétine, l'isorhamnétine et le tamarixétine. Les flavonols possèdent diverses activités biologiques bénéfiques pour la santé humaine. Ils sont connus pour leurs propriétés antioxydante, anticancéreuse, cardioprotectrice et antimicrobienne. (Chira et al. 2008).

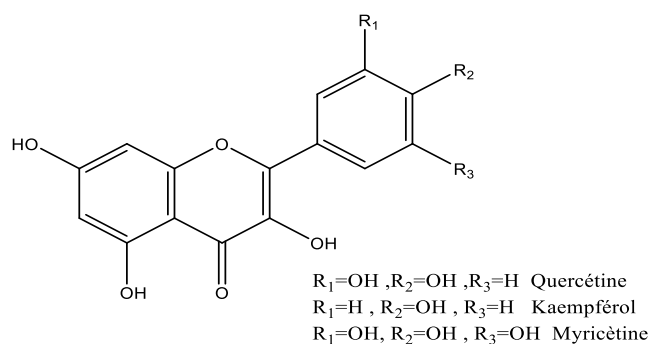


Figure 5 : Structures chimiques de flavonols (Škerget et al. 2005)

b) Flavanones

Les flavanones sont synthétisées par isomérisation des 2-hydroxychalcones par fermeture de cycle, ce qui génère un centre stéréogène au niveau de carbone CH-2. Les flavanones naturelles sont généralement liées à des sucres, sous forme de 7-O-glycosides, bien que certains exemples présentent des chaînes latérales phényle.

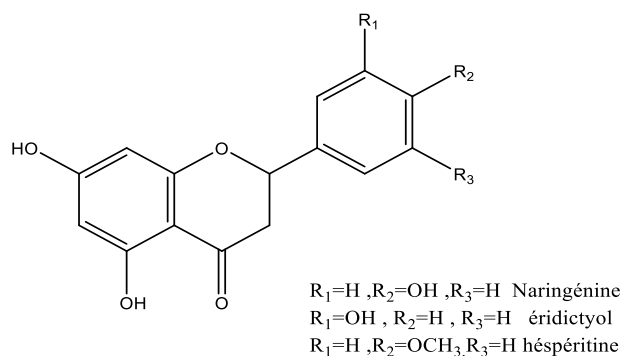


Figure 6: Structure chimique des flavanones (Hostetler et al. 2017)

c) Flavanols

Les flavan-3-ols constituent la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères (+) -catéchine et son isomère (-) -épicatéchine, jusqu'aux oligomères et polymères de proanthocyanidines. Les proanthocyanidines sont formées de la catéchine et de l'épicatéchine avec des couplages oxydatifs entre les positions C4 de l'hétérocycle et C6 ou C8 du monomère adjacent. Les oligomères de procyanidines sont formés de 2 à 5 unités de catéchines ou d'épicatéchine, les polymères étant formés de 6 unités ou plus.

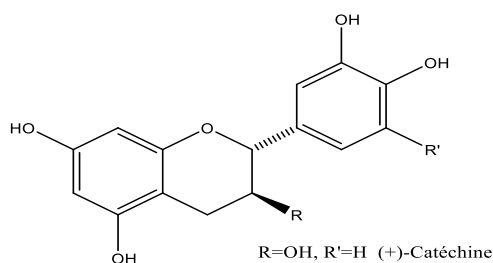


Figure 7 : Structure chimique de (+)-catéchine(Morand 2013)

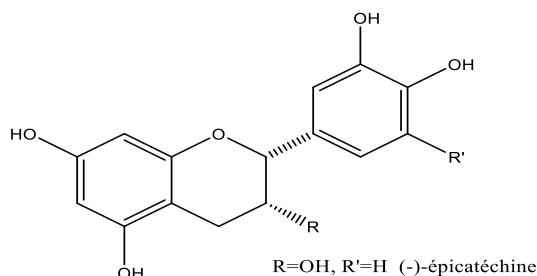


Figure 8 : Structure chimique de (-)-épicatéchine(Morand 2013)

d) Flavones et les flavonols

Les flavones, également appelées 2-aryl-4H-chromen-4-ones, et les flavonols, sont obtenus par déshydrogénation des flavanones et des dihydroflavonols, respectivement. Les flavones sont largement répandues dans la nature et se trouvent à la fois sous forme d'O-glycosides et de C-glycosides. L'apigénine et la lutéoline sont les flavones les plus répandues. Pour les flavonols, le composé le plus répandu c'est la quercétine.

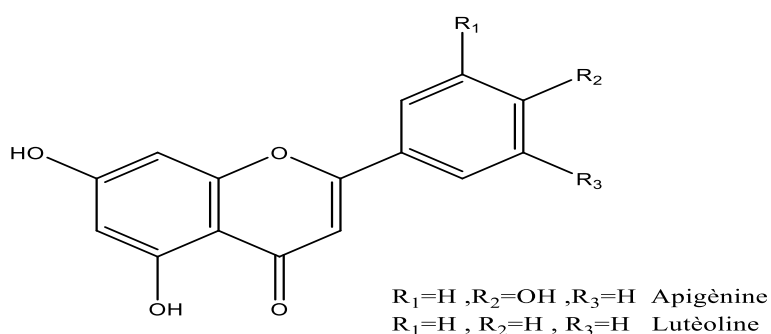


Figure 9 : Structures chimiques des quelques flavones(Justesen et al. 1998).

e) Anthocyanidine

Les anthocyanidines sont les flavonoïdes responsables des couleurs des fleurs, allant du rose au bleu, mais elles sont également présentes dans les feuilles, les fruits et les racines. Les anthocyanines sont des glycosides de dérivés polyhydroxy et polyméthoxy du 2-phénylbenzopyrylium ou des sels de flavylum. Il existe six anthocyanidines qui sont plus répandues chez les plantes supérieures : la pélagonidine, la péonidine, la cyanidine, la malvidine, la pétunidine et la delphinidine. (Chira et al. 2008).

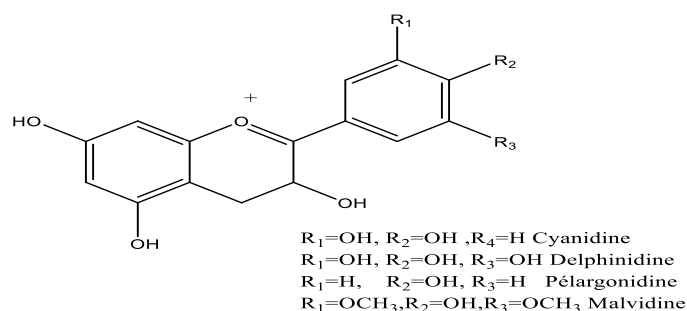


Figure 10 : Structure des anthocyanidines courantes (Chira et al. 2008)

I.2.a.ii. Non-flavonoïdes

Les non-flavonoïdes comprennent les stilbènes, les acides phénoliques, les amides polyphénoliques et d'autres composés.

a) Stilbènes

Les stilbènes sont des composés polyphénoliques caractérisés par une structure C6-C2-C6, avec deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène. Ils sont synthétisés par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales, comme cela a été démontré pour le trans-resvératrol. Le resvératrol existe sous forme cis et trans et se trouve principalement dans les tissus végétaux sous forme de trans-resvératrol-3-O-glucosides. (Derbel et al. 2005).

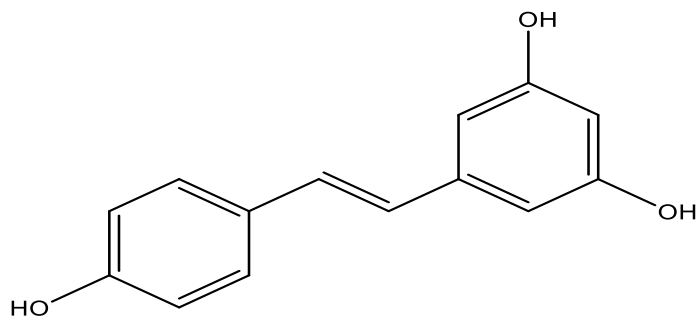


Figure 11 : Structure chimique du trans-resvératrol (Derbel and Ghedira 2005)

b) Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés polyphénoliques qui peuvent être divisés en deux types principaux : les dérivés de l'acide benzoïque (C1-C6) et de l'acide cinnamique (C3-C6). Les principaux acides phénoliques sont l'acide vanillique, l'acide p-coumarique, l'acide

protocatéchuïque, l'acide gallique, l'acide férulique et l'acide caféïque. Les acides phénoliques sont des antioxydants non vitaminiques importants et naturellement présents dans presque tous les légumes et fruits(Chira et al. 2008).

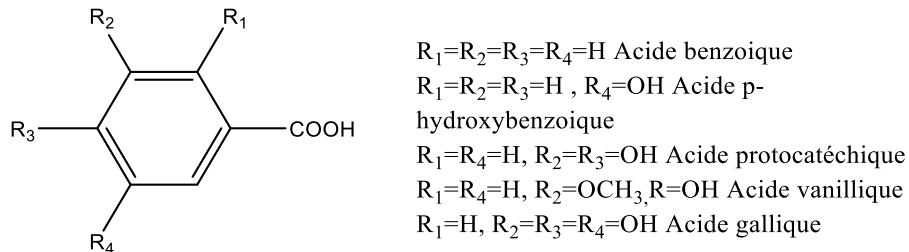


Figure 12 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Macheix et al. 2005)

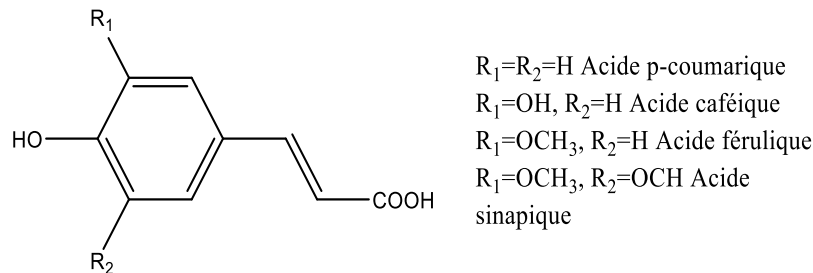


Figure 13 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques (Macheix et al. 2005)

I.2.a.iii. Activité biologique

Les polyphénols possèdent la capacité de former des complexes avec diverses molécules organiques, ainsi qu'avec certaines macromolécules. Leurs propriétés chimiques, cependant, varient considérablement selon les molécules concernées. Grâce à leur structure unique, ils peuvent établir des liaisons covalentes ou faibles, ou encore interagir avec une multitude de composés. Ces molécules présentent toutes des segments polaires et hydrophiles, tandis que certaines d'entre elles comportent également des régions hydrophobes. Par ailleurs, la présence de groupements alcool confère aux polyphénols la faculté de créer de nombreuses liaisons hydrogène(Kaulmann and Bohn 2016, Luca et al. 2020, Ed Nignpense et al. 2021).

I.2.a.iv. Réactions chimiques des polyphénols

La principale réactivité des polyphénols réside dans leurs propriétés antioxydantes, en particulier celles des flavonoïdes et de leurs polymères. Ces composés agissent en neutralisant les radicaux libres dans les cellules, notamment les groupes Hydroxyde (OH) et Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)(Hotta et al. 2002, Quideau et al. 2011). Les tanins condensés, caractérisés par leur poids moléculaire élevé et leur forte réticulation, possèdent la capacité de se lier en plusieurs points aux protéines et aux sucres, limitant ainsi leur assimilation par l'organisme. Les interactions entre les tanins et les protéines influencent divers aspects tels que le goût et la valeur nutritionnelle des aliments(Jones-Moore et al. 2022). Cependant, en inhibant certaines enzymes digestives, ces polyphénols peuvent entraîner des effets négatifs sur le plan nutritionnel. Par ailleurs, les polyphénols interagissent avec les métaux et les polysaccharides, ce qui réduit leur aptitude à former des complexes(Geng et al. 2022).

I.2.a.v. Purification

Les chromatographies (HPLC, CCM, sur résine échangeuses d'ions) et la centrifugation peuvent être utilisées comme méthodes pour la purification des composés phénoliques (Sridhar et al. 2021, Li et al. 2023).

I.2.a.vi. Dosage quantitative

Pour une analyse quantitative fine des composés phénoliques présents dans nos extraits, l'HPLC a été utilisée comme un moyen puissant et fiable connu pour une meilleure séparation et une bonne reproductibilité des analyses. La spectrophotométrie UV entre 250 et 370 nm permet de doser les extraits phénoliques, zone considérée comme utile pour l'analyse des polyphénols (Bertelli et al. 2021, Sun et al. 2022*b*).

I.2.a.vii. Méthode d'étude structurale des polyphénols

La chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse et la spectroscopie UV (LC/UV/MS), les méthodes spectroscopiques et les RMN ¹H et ¹³C ont

permis d'identifier les structures moléculaires des composés phénoliques (Chiriac et al. 2021, Meng et al. 2021, Guo et al. 2022).

I.2.a.viii. Fonctions biologiques des polyphénols

Les polyphénols naturels, considérés comme des métabolites secondaires, ne jouent pas un rôle direct dans les fonctions fondamentales des plantes, telles que la croissance ou la reproduction. Cependant, certains d'entre eux, comme les flavonoïdes, contribuent à la protection des végétaux contre diverses agressions externes, notamment les micro-organismes pathogènes et les insectes. La biodisponibilité des polyphénols, c'est-à-dire leur capacité à être absorbés par l'organisme, est étroitement liée à leur structure chimique. Les polyphénols très polymérisés rencontrent des difficultés à traverser la barrière intestinale, tandis que ceux de plus petite taille exercent une activité biologique plus significative (Di Lorenzo et al. 2021, Abd El-Hack et al. 2023).

Les polyphénols se distinguent par leurs puissantes propriétés antioxydantes, qui jouent un rôle essentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. La majorité des bienfaits attribués à ces composés découle de cette caractéristique. En effet, l'organisme produit constamment des radicaux libres, notamment lors du métabolisme cellulaire, comme dans la chaîne respiratoire des mitochondries. La superoxydedismutase (SOD) constitue la principale défense naturelle contre ces radicaux libres. Cette enzyme intracellulaire agit en les neutralisant, bien que son efficacité soit limitée. Une production excessive de radicaux libres peut entraîner des altérations des lipoprotéines, la perturbation des structures membranaires, ainsi que des cassures de l'ADN (Rosa et al. 2021, Islam et al. 2022).

Les effets du stress oxydatif s'avèrent multiples et préoccupants. Parmi eux, on retrouve des pathologies cardiovasculaires, résultant de la modification des protéines responsables du transport du cholestérol (LDL), ainsi que le développement de cancers, attribué aux mutations cellulaires induites par l'altération de l'ADN (Izzo et al. 2021). Ce processus est également à l'origine de conditions telles que l'amyloïdose et la fibrose, causées par l'inhibition de certaines

enzymes, ainsi que des dysfonctionnements immunitaires liés à la perturbation des protéines impliquées dans les signaux cellulaires, la prolifération ou les mécanismes de défense.

Le vieillissement, marqué par la cytotoxicité et la déformation des membranes cellulaires, conduit à la formation de cellules non viables. Chez les individus séropositifs, une augmentation de la charge virale est observée, en raison de l'inhibition du gène de la superoxydedismutase par le VIH. En outre, des maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer, et la mort neuronale sont associées à des modifications des protéines bêta-amyloïdes. L'athérosclérose, pour sa part, résulte de l'oxydation des lipoprotéines essentielles(El Gaamouch et al. 2022).

Le stress oxydatif exacerbe également des troubles tels que l'asthme, le diabète et les pathologies articulaires(Fernandes et al. 2022). Les polyphénols, cependant, semblent avoir un impact favorable sur diverses affections, notamment la dépression et la cicatrisation(Lin et al. 2021).

Ces composés sont également reconnus pour leurs propriétés conservatrices et antibactériennes. Certains bénéfices des polyphénols ne sont pas exclusivement liés à leurs capacités antioxydantes : ainsi, les isoflavones, en raison de leur structure chimique similaire à celle des œstradiols, peuvent se fixer sur les récepteurs des œstrogènes, favorisant une régénération rapide des tissus, qu'il s'agisse d'os, de muscles ou autres. Globalement, les polyphénols, comme d'autres antioxydants, apportent des avantages considérables pour la santé en contribuant à préserver les faibles réserves d'antioxydants naturels présents dans l'organisme, tels que les vitamines E et C.

I.2.a.ix. Aspect sensoriel et chimique des polyphénols

a) Propriété de pigment

Les polyphénols, en tant que composés pigmentaires, jouent un rôle essentiel dans la coloration naturelle de nombreux aliments(Manach et al. 2004). Ces pigments sont responsables

des teintes vibrantes, telles que le rouge, le violet ou le bleu, que l'on trouve dans des aliments comme les baies, le raisin ou les aubergines, en grande partie grâce aux anthocyanes. D'autres polyphénols, comme les flavonols, apportent des nuances jaunes ou orangées présentes dans des fruits et légumes tels que les oignons ou les pommes (Khoo et al. 2017). Cette propriété pigmentaire ne se limite pas à l'apparence visuelle des aliments : elle influence également leur attractivité sensorielle et leur perception par les consommateurs (Fabela-Morón 2024). En outre, ces pigments offrent des avantages biologiques, grâce à leurs propriétés antioxydantes, et contribuent à la protection des aliments contre l'oxydation. Leur rôle s'étend aussi à des fonctions écologiques, en protégeant les plantes contre les rayons UV et en attirant des pollinisateurs (Suriano et al. 2021, Ed Nignpense et al. 2022, Zhang et al. 2023).

b) Propriété d'arôme

Les polyphénols sont souvent responsables de deux propriétés gustatives : l'astringence et l'amertume. L'intensité augmente avec leur degré de polymérisation : cette propriété concerne donc les tanins. Les polysaccharides liés aux aglycones diminuent généralement l'intensité de ces arômes. On peut citer l'exemple de l'astringence créée par les tanins. Les tanins forment un complexe avec les protéines par des liaisons faibles. Dans la bouche, les tanins se lient aux protéines salivaires, ce qui induit une dénaturation puis une précipitation de celles-ci. De plus, ils entraînent une diminution de la sécrétion salivaire en contractant les canaux salivaires. D'où l'impression de sécheresse buccale (Pinto et al. 2021, Rana et al. 2022, Delgado et al. 2023).

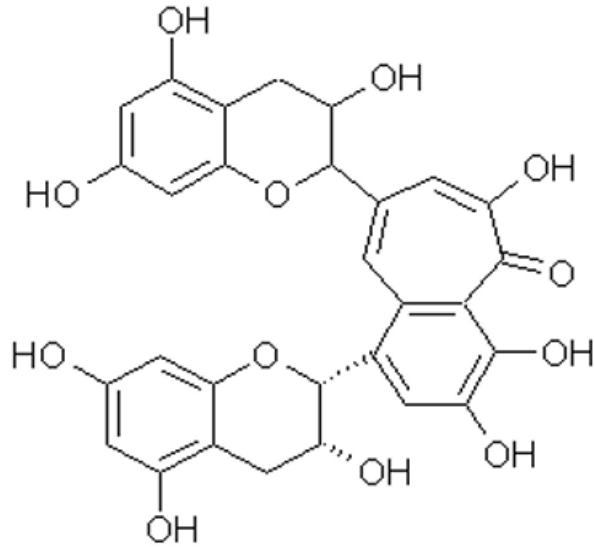


Figure 14: La flavine, responsable du son goût amer du thé vert

I.2.a.x. Intérêt biologique des polyphénols

Les polyphénols suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés biologiques remarquables. Ces composés phénoliques, largement étudiés ces dernières années, se distinguent par leur puissant effet antioxydant. Ils jouent un rôle clé dans la protection de l'organisme contre les dommages causés par les réactions oxydatives, souvent associées à diverses pathologies. L'être humain peut consommer jusqu'à 10 grammes de ces substances par jour, ce qui reflète leur importance dans une alimentation équilibrée. Par ailleurs, ces composés se caractérisent par des activités variées, dont les principales sont détaillées dans le tableau ci-après.

Tableau 2: Activités biologiques des polyphénols

Polyphénols	Activités biologiques	Références
Acides phénols (Cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants	(Otmani et al. 2021) (Hernández et al. 2021) (Horvat et al. 2020)
Coumarines	Protectrices vasculaires et anti œdémateuses	(Li et al. 2019)
Flavonoïdes	Antitumorales Anti-carcinogènes Anti-inflammatoire Antioxydants	(Alexandre et al. 2020) (Kopustinskiene et al. 2020) (Al-Khayri et al. 2022) (Shen et al. 2022)
Anthocyanes	Protectrices capillaroveineux	(Lichota et al. 2019)
Pro anthocyanidines	Antioxydant Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	(Rauf et al. 2019) (Qi et al. 2023) (de Moura Martins et al. 2020) (Rippin et al. 2022)
Tanins galliques et catéchétiques	Antioxydants	(Maisetta et al. 2019)

I.2.a.xi. Intérêts agroalimentaires des polyphénols

Les polyphénols présentent un intérêt majeur pour l'industrie alimentaire en raison de leurs diverses propriétés fonctionnelles. Ces composés naturels, souvent dérivés de sous-produits agricoles, sont utilisés comme agents antioxydants, prolongeant la durée de conservation des aliments en réduisant l'oxydation des lipides et en prévenant le rancissement. Ils agissent également en tant que colorants naturels, apportant des couleurs vives et attrayantes à divers produits alimentaires, tout en répondant à la demande croissante pour des alternatives

aux colorants synthétiques. Enfin, les polyphénols offrent un double avantage : ils améliorent la qualité des produits alimentaires tout en renforçant la santé des consommateurs. Toutefois, leur efficacité dépend des processus de production et de leur biodisponibilité (Milinčić et al. 2019, R. Albuquerque et al. 2021, Wu and Zhou 2021, Bondam et al. 2022).

I.2.a.xii. Intérêt cosmétiques

Dans l'industrie cosmétique, les polyphénols sont valorisés pour leurs effets protecteurs contre le vieillissement cutané et les agressions environnementales. Ils sont intégrés dans les crèmes, sérums et lotions pour leurs propriétés antioxydantes, anti-radicalaires et apaisantes. En outre, certains polyphénols, comme les flavonoïdes et les tanins, sont utilisés pour améliorer l'élasticité de la peau et atténuer les taches pigmentaires (de Lima Cherubim et al. 2020, Panzella 2020, Dias et al. 2021, Bharadvaja et al. 2023).

I.2.b. Terpènes

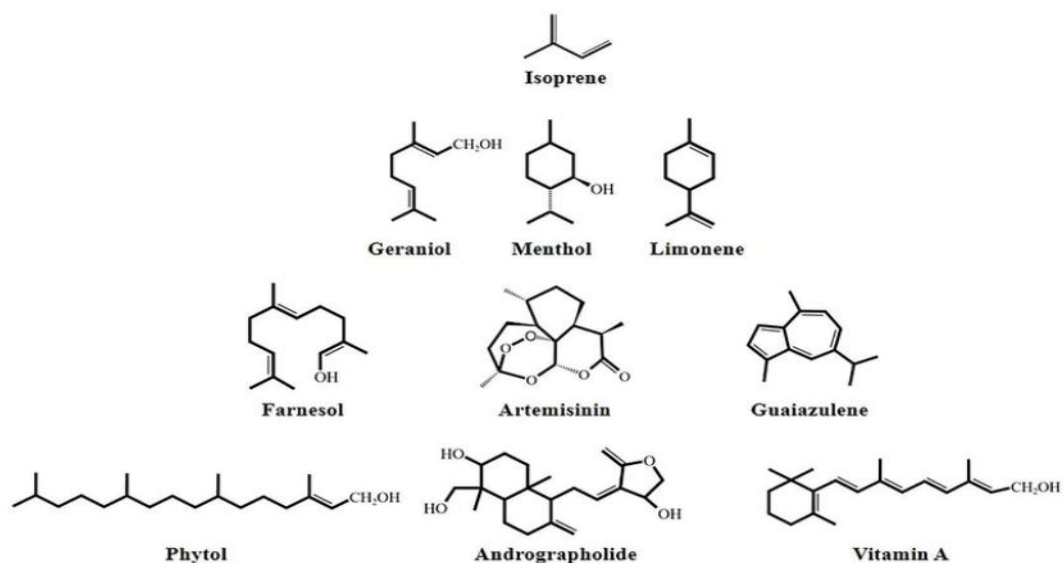


Figure 15: Structures de quelques terpénoïdes

Les terpènes constituent probablement de la classe des composés végétaux naturels la plus diversifiée sur le plan structurel, avec au moins 35 000 terpènes différents caractérisés à ce jour. (Ludwiczuk et al. 2017) Le nom Terpénoïdes, ou terpènes vient du fait que les premières molécules de cette classe ont été isolées à partir de la térébenthine (en allemand terpentin). Les terpénoïdes se distinguent facilement parce qu'ils sont composés d'unités isoprènes et sont

modifiées par des réactions de cyclisation. Les terpènes sont classés en différents groupes en fonction du nombre d'unités isoprènes dans le squelette carboné, comme le montre la **Figure 15**. Les terpénoïds regroupent des métabolites aux activités pharmacologiques variées, notamment antituberculeuses, anticancéreuses et anxiolytiques. Toutefois, certains d'entre eux peuvent également présenter des effets indésirables, tels qu'une activité mutagène (Nesterkina et al. 2023, Câmara et al. 2024).

I.2.b.i. Intérêt pharmaceutique des terpénoïds

Les terpénoïds jouent un rôle clé en pharmacie grâce à leurs nombreuses propriétés biologiques. Certains, comme l'artémisinine issue de *Artemisia annua*, sont utilisés comme antipaludéens puissants, tandis que d'autres, comme le paclitaxel extrait de *Taxus brevifolia*, sont employés en chimiothérapie pour inhiber la division cellulaire des cellules cancéreuses. De plus, plusieurs terpénoïds, notamment les limonoïdes et les triterpènes, présentent des activités anti-inflammatoires et antivirales, les rendant utiles dans le traitement des infections et des maladies inflammatoires chroniques (Bergman et al. 2019, Bellavia et al. 2021, Fan et al. 2023).

I.2.b.ii. Intérêts agroalimentaires des terpénoïds

Dans l'industrie agroalimentaire, les terpénoïds sont largement utilisés comme arômes et agents de conservation naturels. Par exemple, le limonène, un monoterpène présent dans les agrumes, est utilisé comme arôme dans les boissons et les confiseries. D'autres, comme le caroténoïde β -carotène, sont employés comme colorants naturels et sources de provitamine A. Certains terpénoïds possèdent également des propriétés antimicrobiennes, prolongeant ainsi la durée de conservation des aliments en inhibant le développement de micro-organismes pathogènes (Gutiérrez-del-Río et al. 2021, Masyita et al. 2022, Šojić et al. 2023, Siddiqui et al. 2024).

I.2.b.iii. Intérêts cosmétiques

Les terpénoïds sont très appréciés dans les produits cosmétiques pour leurs effets antioxydants, antiseptiques et parfumants. Les caroténoïdes, par exemple, sont utilisés dans les soins de la peau pour protéger contre les dommages des UV et le vieillissement cutané. Le menthol, issu de la menthe, est un terpénoïds couramment utilisé pour son effet rafraîchissant dans les produits d'hygiène et de soins corporels. Certains triterpénoïdes, comme les acides boswelliques, possèdent des propriétés apaisantes et sont utilisés dans des formulations destinées aux peaux sensibles ou sujettes aux irritations (Tetali 2019, Kawatra et al. 2022, Câmara et al. 2024, Tropa et al. 2024).

I.2.c. Saponines

Le nom «Saponine» provient du mot latin «sapo», signifiant «savon», en raison des propriétés moussantes des molécules de saponine (Oleszek 2002). Ce sont des molécules structurellement diverses qui sont chimiquement désignées comme des glycosides de triterpènes et de stéroïdes. Ils sont constitués d'aglycones non polaires associées à un ou plusieurs fragments de monosaccharides (Oleszek 2002). Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires dans leurs molécules explique leur comportement semblable à celui du savon dans des solutions aqueuses.

I.2.c.i. Intérêts pharmaceutiques des saponines

Les saponines sont largement utilisées en pharmacie pour leurs propriétés bioactives, notamment leurs effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et immunostimulants. Elles sont également étudiées pour leur potentiel anticancéreux, car certaines saponines peuvent induire l'apoptose des cellules tumorales. De plus, elles servent d'adjuvants dans les vaccins en stimulant la réponse immunitaire, comme le cas avec la saponine extraite de *Quillaja saponaria*, utilisée dans certains vaccins modernes (Biswas and Dwivedi 2019, Juang and Liang 2020, Chandra et al. 2021, Dong et al. 2023).

I.2.c.ii. Intérêt agroalimentaire des saponines

Dans l'industrie agroalimentaire, les saponines sont employées comme émulsifiants et agents moussants naturels, notamment dans la production de boissons comme la bière et certaines boissons gazeuses. Elles sont également présentes dans des extraits végétaux utilisés comme additifs pour améliorer la stabilité des aliments. En outre, leurs propriétés antifongiques et antimicrobiennes en font des agents de conservation naturels, réduisant ainsi le besoin en conservateurs chimiques (Oakenfull and Sidhu 1989, Oleszek 2002, Hsu et al. 2022, Timilsena et al. 2023).

I.2.c.iii. Intérêt cosmétique des saponines

Les saponines sont très prisées dans le domaine cosmétique en raison de leurs propriétés tensioactives, qui leur permettent de former des mousses naturelles dans les shampooings, les gels douche et les nettoyants pour le visage. Elles sont également utilisées pour leurs effets purifiants et apaisants sur la peau, contribuant à réduire les irritations et les inflammations. Grâce à leurs propriétés antioxydantes, elles aident à protéger la peau contre le vieillissement prématuré et à renforcer la barrière cutanée (Bezerra et al. 2021, Rai et al. 2021, Maghsoudloo et al. 2023).

I.2.d. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques cycliques incluant de l'azote, mais ils sont présents en quantité très limitée dans la nature et spécifiques à certains genres et espèces de plantes (Singh et al. 2019). Ils sont principalement solubles dans des solutions aqueuses et sont facilement extraits de l'eau par la protonation de l'azote.

I.2.d.i. Intérêt pharmacologique des alcaloïdes

Les alcaloïdes occupent une place essentielle dans l'industrie pharmaceutique en raison de leurs propriétés biologiques et thérapeutiques uniques. Ce groupe comprend les composés les plus célèbres et les plus tristement célèbres, tels que la caféine, la nicotine, la cocaïne et la morphine, qui sont connus pour leurs effets anxiolytiques, analgésiques et hallucinogènes. Ils ont souvent des effets physiologiques sur le système nerveux central. 50 % des médicaments d'origine végétale sont des alcaloïdes (Dewick 2002, Oksman-Caldentey and Inzé 2004, Singh et al. 2019). En outre, leur extraction et leur synthèse représentent un enjeu économique et scientifique majeur pour l'industrie pharmaceutique mondiale.

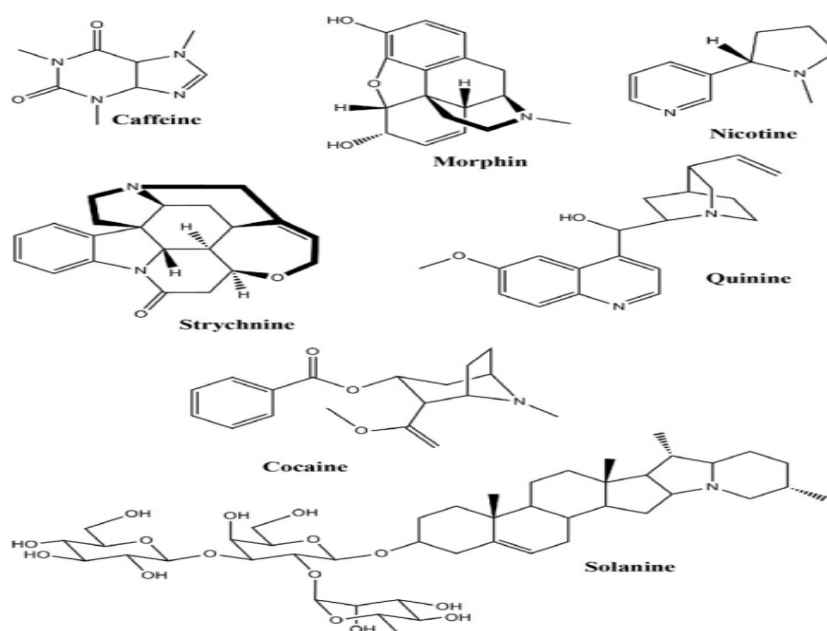


Figure 16: Structures de bases des alcaloïdes

I.2.d.ii. Intérêt agroalimentaire des alcaloïdes

Dans l'agroalimentaire, les alcaloïdes sont principalement utilisés pour leurs effets répulsifs contre les insectes et autres parasites. La nicotine, par exemple, a été exploitée comme insecticide naturel, bien que son utilisation soit désormais restreinte en raison de sa toxicité. D'autres alcaloïdes, comme la capsaïcine présente dans les piments, sont largement utilisés pour ajouter du piquant aux aliments et pour leurs propriétés bénéfiques, comme la stimulation

du métabolisme et l'amélioration de la digestion. Cependant, l'usage des alcaloïdes dans l'agroalimentaire reste mesuré en raison de leur potentiel toxique à certaines doses (Chen and Lin 2019, Schrenk et al. 2020, González-Gómez et al. 2022).

I.2.d.iii. Intérêt cosmétiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes trouvent aussi leur place dans les produits cosmétiques, notamment pour leurs effets apaisants et revitalisants. La caféine est un ingrédient clé dans les crèmes anti-cellulite, grâce à ses propriétés stimulantes qui favorisent la circulation sanguine et réduisent les gonflements. D'autres alcaloïdes, comme la théobromine contenue dans le cacao, sont utilisés pour leurs effets hydratants et antioxydants, contribuant à nourrir et protéger la peau. Les alcaloïdes sont donc utilisés dans diverses formules pour offrir des bienfaits sur la peau, tout en luttant contre les signes du vieillissement et en améliorant l'apparence générale (Bhambhani et al. 2021, Pasdaran et al. 2023, Alom et al. 2024).

I.2.e. Activités biologiques des métabolites secondaires

Les extraits de plantes et de lichens possèdent diverses activités biologiques qui les rendent intéressants pour des applications pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques. Parmi ces activités, l'activité antimicrobienne est particulièrement étudiée. Plusieurs extraits végétaux et lichéniques ont démontré une action inhibitrice contre des bactéries pathogènes, qu'elles soient Gram-positives ou Gram-négatives. Cette propriété est souvent attribuée à la présence de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides lichéniques (Skinnider et al. 2020, Twaij and Hasan 2022, Elshafie et al. 2023).

I.2.e.i. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de plantes et de lichens repose sur leur capacité à neutraliser les radicaux libres, responsables du stress oxydatif et du vieillissement cellulaire. Cette propriété est principalement attribuée aux composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui possèdent un fort pouvoir réducteur. En piégeant les espèces

réactives de l'oxygène, ces molécules contribuent à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs, réduisant ainsi le risque de maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives(Martinez-Gomez et al. 2020, Stagos 2020, Rahaman et al. 2023).

I.2.e.ii. Activité antimicrobienne

Les extraits de plantes et de lichens sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes, grâce à la présence de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides lichéniques. Ces composés agissent en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, en inhibant certaines enzymes essentielles à leur croissance ou en interférant avec leur métabolisme. De nombreuses études ont démontré leur efficacité contre des bactéries pathogènes, qu'elles soient Gram-positives ou Gram-négatives, ainsi que contre certaines souches résistantes aux antibiotiques. Cette activité est particulièrement prometteuse pour le développement de nouvelles alternatives aux antimicrobiens conventionnels(Aoussar et al. 2020, Kha and Le 2021, Ahmed et al. 2024).

I.2.e.iii. Activité antidiabétique

Les extraits de plantes et de lichens présentent un potentiel antidiabétique intéressant grâce à la présence de composés bioactifs capables de réguler la glycémie. Certains flavonoïdes, alcaloïdes et terpénoïdes agissent en améliorant la sensibilité à l'insuline, en inhibant les enzymes digestives impliquées dans l'absorption des glucides (comme l' α -amylase et l' α -glucosidase) ou en stimulant la sécrétion d'insuline par le pancréas. De plus, certains extraits ont montré une capacité à réduire le stress oxydatif et l'inflammation, deux facteurs clés dans le développement du diabète de type 2. Ces propriétés font des extraits naturels des candidats prometteurs pour la gestion et la prévention du diabète(Alam et al. 2019, Salehi et al. 2019, Ranković and Kosanić 2021).

I.2.e.iv. Activité anti-inflammatoire

Certains extraits naturels ont démontré une activité anti-inflammatoire significative en modulant la réponse immunitaire et en inhibant la production de médiateurs pro-inflammatoires. Les terpénoïdes, les alcaloïdes et certains polyphénols sont parmi les principaux composés impliqués dans cette action. Ils agissent en bloquant des enzymes clés de l'inflammation, telles que la cyclooxygénase (COX) et la lipoxigénase (LOX), réduisant ainsi la production de prostaglandines et de leucotriènes. Cette activité est particulièrement intéressante pour le développement de traitements naturels contre les maladies inflammatoires chroniques (Tasneem et al. 2019, Nunes et al. 2020, Liu et al. 2022).

I.2.e.v. Activité anticancéreuse

Plusieurs métabolites secondaires extraits des plantes et des lichens ont montré une activité anticancéreuse en inhibant la prolifération des cellules tumorales et en induisant l'apoptose. Certains flavonoïdes, alcaloïdes et quinones agissent en ciblant des voies de signalisation spécifiques impliquées dans la croissance et la survie des cellules cancéreuses. De plus, certains extraits peuvent interférer avec la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (angiogénèse), limitant ainsi l'apport en nutriments aux tumeurs. Ces propriétés en font des candidats prometteurs pour la recherche en oncologie et le développement de thérapies naturelles (Shaik et al. 2022, Siddiqui et al. 2022, Nugraha et al. 2024).

I.2.f. Extraction et isolement des composés bioactives

L'importance des produits naturels a connu une augmentation progressive et constante au cours des dernières décennies. Les extraits naturels viennent à partir des plantes supérieures, organismes marins, ou de microorganismes où ils ont plusieurs applications potentielles dans des différents domaines : pharmaceutique, cosmétique, et agroalimentaire (Atanasov et al. 2021). Pour bénéficier de ces composés, il faut tout d'abord les isoler des matières premières,

par une démarche qui nécessite des approches adaptées. Le choix de la méthode d'extraction dépend de plusieurs critères, le plus important il doit être efficace et rentables, parce qu'il n'existe pas une recette universelle mais il y a des efforts constants pour améliorer et découvrir de meilleures techniques pour extraire et purifier ces composés. Les propriétés chimiques des composés bioactifs ciblés tels que : la solubilité, la polarité, la volatilité, et la réactivité, et le solvant d'extraction utilisé, sont des critères très importants pour déterminer l'efficacité de la méthode d'extraction choisie. Les méthodes d'extractions décrits dans la littérature sont divisées en deux catégories des méthodes conventionnelles comprennent la macération, l'infusion, la décoction, la percolation, et l'extraction par Soxhlet, et les méthodes non-conventionnelles comprennent l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par solvant accéléré, sans oublier que chaque technique présente des avantages et des inconvénients.

Pour les végétaux le choix de la méthode d'extraction est parfois basé sur les études ethnobotaniques ou des recherches bibliographiques si le matériel végétal a déjà fait l'objet d'une étude phytochimique (Süntar 2020), cependant cela n'exclut pas la possibilité de tester des autres méthodes alternatives ou optimiser les conditions d'extraction des méthodes utilisées précédemment qui peut produire différents composés ou améliorer le rendement et la qualité des composés bioactifs.

I.2.f.i. Méthodes d'extractions des composés bioactives

La valorisation des ressources naturelles pour différentes applications industrielles, pharmaceutiques et alimentaires est essentielle à l'aide des approches d'extraction des composés bioactifs des plantes (Wang and Weller 2006, Ignat et al. 2011, Azmir et al. 2013). Grâce à ces méthodes, on peut isoler et concentrer les composés bioactifs présents dans les plantes, tels que : les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les alcaloïdes (Ignat et al. 2011).

Les méthodes classiques tels que : l'hydrodistillation, la macération, l'infusion, et la décoction sont les méthodes couramment employées. Néanmoins, ces techniques peuvent compter des désavantages en ce qui concerne le rendement et pureté des extraits. Pour surmonter ces limitations, des méthodes modernes ont été développées, comme l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par électrolyse et l'extraction par enzyme. Ces techniques présentent des avantages significatifs, notamment une extraction plus efficace, une meilleure pureté des extraits et leurs impacts sur l'environnement est réduit(Azwanida 2015). Aussi, la combinaison entre les méthodes classique ou conventionnelles et modernes permet d'améliorer les conditions afin d'extraire le maximum des composés bioactifs à partir des ressources naturelles(Jones and Kinghorn 2005, Schügerl 2013).

a) Macération

La macération est une méthode d'extraction largement utilisée pour extraire les métabolites secondaires des ressources naturelles. Elle consiste à placer la plante ou matériel végétal dans un récipient fermé avec un solvant. Souvent, la matière végétale est broyée ou découpée en petits morceaux pour augmenter la surface de contact avec le solvant, par conséquent faciliter l'extraction des métabolites secondaires. Ensuite, le mélange réactionnel est laissé à température ambiante, avec une agitation. Par la suite, le mélange est filtré et le liquide obtenu est concentré afin d'obtenir un extrait brut. La macération est une des techniques conventionnelles ce qui se caractérise par sa simplicité et son coût réduit. La macération ne nécessite pas d'équipements sophistiqués, ce qui la rend accessible et économique. Aussi, la macération est une méthode adaptative qui peut être utilisée avec une large variété de solvant, ce qui permet d'extraire différentes classes de métabolites secondaire. Néanmoins, malgré ces avantages, cette technique a des inconvénients. Par exemple, il y'a toujours un risque de contamination microbienne si les conditions ne sont pas contrôlées, parce que le processus se

déroule à température ambiante et peut prendre plusieurs heures, voire plusieurs jours. Aussi, le rendement d'extraction peut être moins élevé comparé à d'autres méthodes.

La macération est une méthode simple et économique, malgré ces limitations, elle reste toujours une option fiable pour l'extraction de composés bioactifs(Oreopoulou et al. 2019).

b) Extraction Soxhlet

L'extraction Soxhlet est une méthode classique inventée par Franz von Soxhlet en 1879. Cette méthode est largement utilisée pour isoler les composés bioactifs des plantes(Redfern et al. 2014). Elles se caractérisent par leur efficacité à extraire des substances faiblement solubles à partir de matrices solides. Le principe de cette méthode repose sur l'extraction continue et répétée des métabolites secondaires à partir de matrices végétales solides. Le système d'extraction Soxhlet consiste à placer la matière végétale dans un cartouche en cellulose, puis à la placer dans l'appareil Soxhlet. Dans un ballon de distillation, on chauffe un solvant, puis la vapeur de solvant monte d'un condenseur ou elle se liquéfie et retombe dans le soxhlet contenant l'échantillon(Luque de Castro and Priego-Capote 2010) (**Figure 17**). Les molécules bioactives sont dissoutes par le solvant et retournent dans le ballon de distillation par siphonage, ce qui permet une extraction continue et répétitive. Les solvants d'extraction choisis doivent avoir des propriétés adéquates telles que la sélectivité, la solvatisation, et la densité. Aussi, la taille du matériel végétal joue un rôle important dans l'extraction Soxhlet (Sporring et al. 2005).

L'extraction par soxhlet présente plusieurs avantages et inconvénients. Parmi les avantages de cette technique leur simplicité, car la méthode est peu coûteuse et donne des rendements plus élevés par rapport à une autre méthode d'extraction. Aussi, il n'est pas nécessaire de filtrer le mélange après ces l'extraction, ce qui simplifie le processus. Pour les inconvénients, cette méthode a des limitations en termes de temps et de consommation de solvant. Le temps d'extraction est trop long, il peut prendre des heures et aucune agitation ne peut être utilisée pour accélérer le processus, ce qui peut présenter un risque de décomposition thermique des composés cibles, parce qu'en général l'extraction se fait au point d'ébullition du solvant et pendant une longue période(López-Bascón and Luque de Castro 2020).

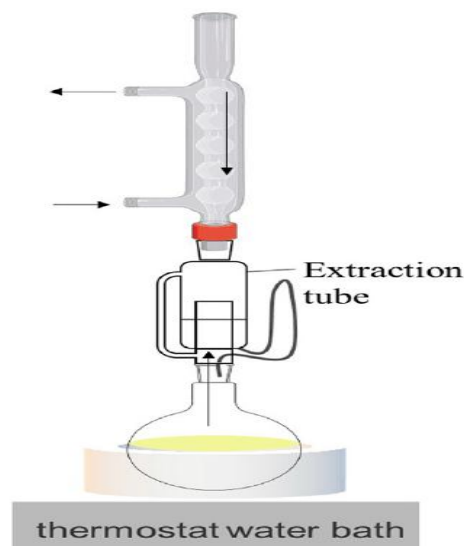


Figure 17: Schémas du montage d'extraction Soxhlet (Cao et al. 2025)

c) Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode traditionnelle la plus utilisée pour extraire les composés volatils et les huiles essentielles(Khan and Dwivedi 2018). Cette technique permet de préserver les propriétés bioactives. Le principe de l'hydrodistillation repose sur l'utilisation de la vapeur pour extraire les composés volatils des plantes aromatiques et médicinales. Tout d'abord, la plante et l'eau sont placées dans un ballon de distillation et portées à l'ébullition. L'eau chaude et la vapeur sont des facteurs principaux dans la libération des composés bioactifs des tissus végétaux. Ensuite, la vapeur contenant les composés volatils se condense dans un

condensateur, après refroidissement huile essentielles et l'eau peuvent être séparées facilement parce que l'huile essentielles est moins dense que l'eau, flottent à la surface.

L'Hydrodistillation est une technique simple, facile à réaliser, qui donne des huiles essentielles de haute pureté. En plus, l'utilisation de l'eau au lieu des solvants organiques est un avantage parce que l'impact environnemental va être réduit. Aussi, cette méthode a des limitations en termes de temps et consommation d'énergie(Katekar et al. 2023).

d) Extraction assistée par ultrason (EAU)

L'extraction assisté par ultrason est une méthode d'extraction innovante qui utilise des ondes ultrasonores pour améliorer l'efficacité de l'extraction des métabolites secondaires des plantes. Les ultrasons permettent de perturber les parois cellulaires des plantes, facilitant la libération des molécules bioactives (**Figure 18**). Les ultrasons utilisés varient de 20 à 2000Khz. L'extraction assistée par ultrasons est une méthode prometteuse efficace pour extraire les métabolites secondaires des plantes, offrant des avantages significatifs en termes de temps et de rendement par rapport aux techniques traditionnelles(Tiwari 2015). Mais malgré ses avantages, cette technique présente également certains inconvénients qui doivent être pris en compte. L'utilisation des ultrasons excessive peut dégrader certaines molécules. Aussi, nécessite-t-elle une énergie importante, des équipements spécifiques, ce qui peut représenter un coût initial élevé, surtout pour les extractions à grand échelle(Esclapez et al. 2011, Islam et al. 2023).

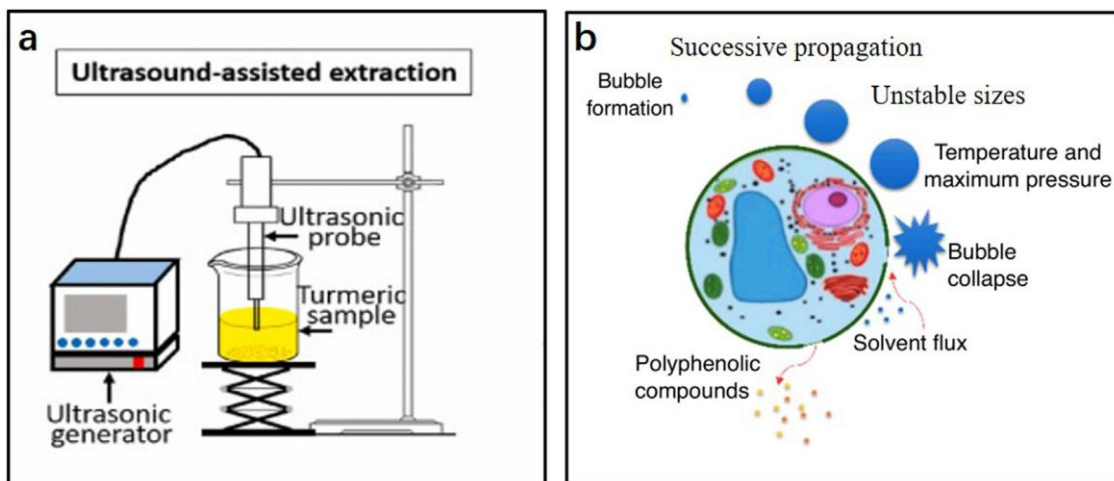


Figure 18: (a) Schéma de l'équipement d'extraction assistée par ultrasons ; (b) Effet des ondes ultrasonores sur les cellules (Lončarić et al. 2020, Jiang et al. 2021).

Extraction par micro-ondes (MAE)

L'extraction par micro-ondes (MEA) est une méthode innovante qui utilise l'énergie des micro-ondes pour chauffer les solvants et extraire les composés bioactifs des plantes (Delazar et al. 2012). La technique repose sur l'utilisation de champs électromagnétiques dans la gamme de fréquences de 300 MHz à 300 GHz pour chauffer rapidement les solvants et faciliter l'extraction des composés bioactifs. En pratique, la fréquence de 2,45 GHz est la plus couramment utilisée dans les systèmes d'extraction assistée par micro-ondes (Oreopoulou et al. 2019). Le processus d'extraction par micro-ondes comprend trois étapes : La première, c'est la séparation des solutés des sites actifs de l'échantillon sous l'effet de la température et de la pression élevées. La deuxième, c'est la diffusion du solvant à travers la matrice solide, et la dernière étape, c'est la libération des solutés de la matrice vers le solvant (Kaufmann and Christen 2002) (**Figure 19**). Parmi les avantages de cette technique, on peut citer son efficacité et sa sélectivité dans l'extraction des composés bioactifs avec une meilleure pureté. Aussi, cette méthode est rapide par rapport aux méthodes d'extraction conventionnelles, elle permet de réduire considérablement le temps de l'extraction. Pour les inconvénients, on note souvent le coût initial, car l'équipement peut être coûteux. Aussi, il y a un risque de dégradation de certains composés sensibles à cause des problèmes de surchauffe localisée. La compatibilité des

solvants aussi peut poser un problème, et limitant parfois les choix disponibles(Zhang et al. 2011).

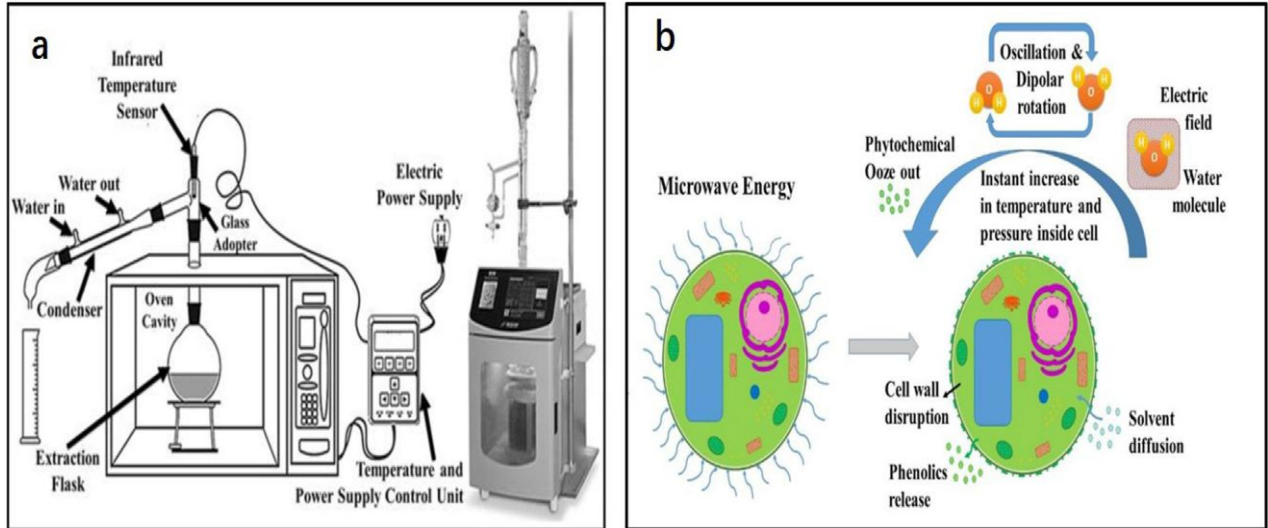


Figure 19: (a) Schéma du dispositif d'extraction assistée par micro-ondes ; (b) Effet des micro-ondes sur les cellules végétales (Cao et al. 2025).

II. Généralité sur les lichens

II.1. Introduction sur les lichens

Le terme lichen fait référence à une association symbiotique entre un mycobionte (champignon filamenteux, presque toujours un ascomycète), et au moins un organisme photosynthétique, appelé photobionte, qui peut être une microalgue, une cyanobactérie, ou les deux (Fernández-Moriano et al. 2016a). Chaque espèce de lichen résulte d'une association différente entre ces organismes (Morillas et al. 2022) (**Figure 20**). Dans cette relation les deux partenaires bénéficient de la relation entre eux. C'est une forme de mutualisme où le mycobionte fournit la protection pour le photobionte, qui à son tour produit de la nourriture par photosynthèse pour le champignon (Honegger 1998). Lichens sont généralement lents à croître, durables et résistants au stress, ils peuvent être trouvés dans des environnements variés, allant des habitats littoraux et d'eau douce à des environnements xériques (secs), aussi les lichens ont une capacité à coloniser divers substrats. Ils peuvent pousser sur ou à l'intérieur de l'écorce des plantes ligneuses en tant qu'épiphytes, sur ou à l'intérieur des roches, sur le bois, le sol, les feuilles des plantes vasculaires surtout dans les tropiques, sur d'autres lichens, ainsi sur des substrats fabriqués par l'homme tels que le verre, les métaux, et les plastiques. Cela démontre leur capacité à adapter à des diverses conditions environnementales (Lutzoni and Miadlikowska 2009, Goga et al. 2020). Lichens dominent environ 8% de la surface terrestre (Pizňak and Bačkor 2019).

Les formes et les couleurs des lichens sont diversifiées entre autres par le thalle, qui est le corps du lichen. Ce terme est utilisé pour désigner les organismes qui n'ont pas de racines, de tiges, de feuilles, ou de nervures. Les formes de croissance des lichens sont généralement classées en quatre types principaux (Shahid et al. 2020) (**Figure 21**) :

Crustose : Ces lichens crustacés sont des symbiotes constitués de champignons et d'algues qui adhèrent étroitement aux substrats dans lesquels ils poussent, comme les roches, l'écorces et les murs. Il est une forme plate qui n'a ni feuilles, ni branches (Armstrong and Bradwell 2010).

Foliose : Ces lichens sont des lichens qui s'accrochent faiblement à la surface sur laquelle ils poussent, ont un thalle en forme de feuilles et sont constitués de lobes aplatis qui ne sont pas fermement liés. Lichens foliacés poussent en différentes morphologies et tailles de thalles, les formes de croissance les plus courantes sont les laciniés et les ombiliés (Armstrong and Bradwell 2011).

Fruticose : Ces lichens sont des tubes ramifiés autoportants. Les thalles fruticuleux sont des structures de lichens qui ne sont jamais directement appliquées sur le substrat, mais qui y adhèrent par une petite surface qui sert de moyen de fixation. Ces structures peuvent être dressées, pendantes ou étalées(Notov 2014).

Squamuleux : Ces lichens sont généralement considérés comme un type spécial de lichen crustacé, ils sont constitués de compartiments (squamule) dont la surface supérieure est légèrement aplatie ou concave et qui sont dispersées ou proches ou adjacentes voir dispersées, avec bord n'adhère pas au substrat(Van Haluwyn et al. 2022).

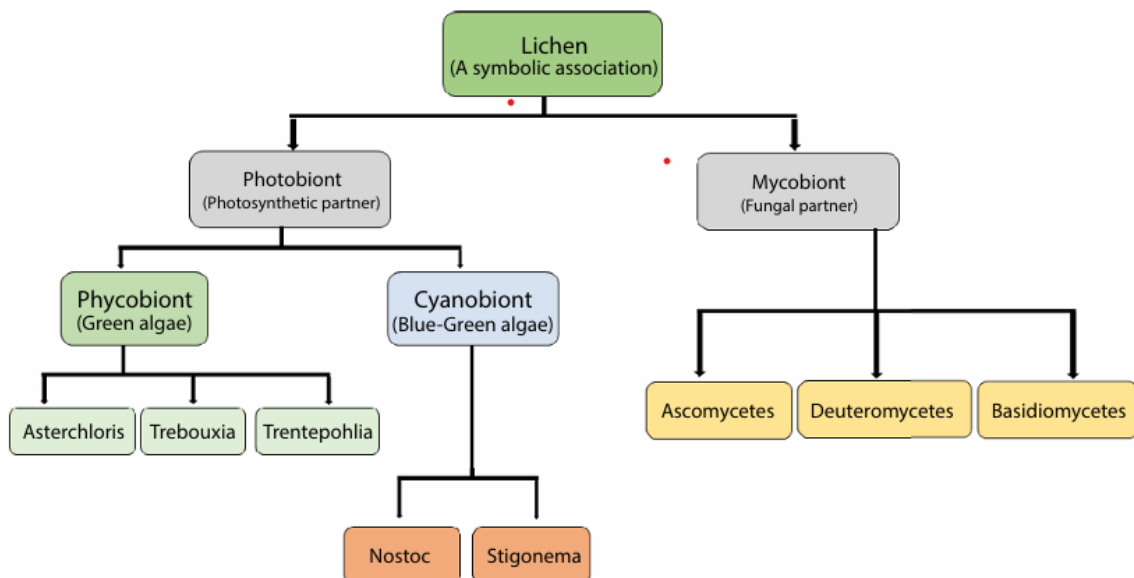


Figure 20: Illustration schématique de l'association des lichens

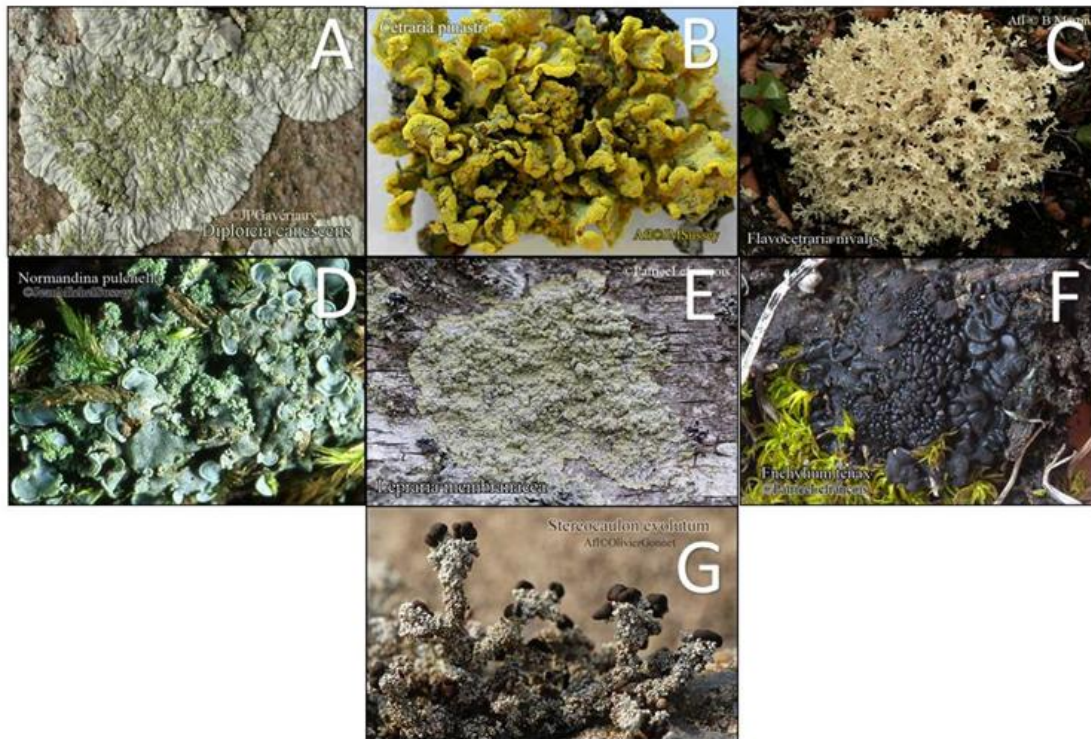


Figure 21: Illustration des principaux types morphologiques de lichens. A – thalle crustacé de *Diploicia canescens* ; b – thalle foliacé ; c – thalle fruticuleux ; d – thalle squamuleux ; e – thalle lépreux ; f – thalle gélatineux ; g – thalle complexe (Pogam-Alluard, 2016).

Lichens produisent des substances qui peuvent se classer en deux groupes : les métabolites primaires (intracellulaires) et les métabolites secondaires (extracellulaire). Certaines de ces substances sont produites par le mycobionte, d'autres par le photobionte. Ces substances jouent un rôle important dans la structure de lichen et leur interaction avec son environnement (Boustie et al. 2011). Les métabolites primaires comprennent : les protéines, les acides aminés, les caroténoïdes, polysaccharides, et les vitamines (Zhao et al. 2021). En général, la majorité de ces composés sont non spécifiques aux lichens et sont solubles à l'eau (Goga et al. 2020). Les métabolites secondaires sont d'origine fongique et constituent la majorité des substances organiques dans les lichens. Ils se trouvent généralement à la surface des hyphes (structure filamenteuse du champignon) et non dans l'intérieur des cellules, la plupart de ces métabolites secondaires sont unique aux lichens et elles ne sont pas communes chez les

champignons ou les plantes supérieures. Les métabolites secondaires de lichens sont caractérisés par leurs stabilités et leurs faibles solubilités dans l'eau (Zambare and Christopher 2012). Des exemples de métabolites secondaires sont : les dibenzofurans, les acides usniques, les despsides, les depsidones, les depsones, les quinones, les lactones, les xanthones et les dérivés de l'acide pulvinique (Boustie et al. 2011, Ranković and Kosanić 2015, Bhattacharyya et al. 2016).

II.2. Importance des lichens

II.2.a. Importance pour l'écosystème

Lichens se trouvent dans la plupart des écosystèmes terrestres, bien qu'ils soient souvent considérés comme des contributeurs mineurs, mais ils peuvent avoir un impact significatif sur la structure et la fonction de l'écosystème (Asplund and Wardle 2017, Gies 2017). Par exemple, il existe des lichens particuliers qui fixent l'azote et qui peuvent être utilisés pour créer des croûtes de sol biologiques essentielles à la restauration des terres. Ces lichens peuvent également augmenter la capacité de rétention d'eau du sol et la disponibilité en nutriments, ce qu'ils peuvent favoriser la croissance des plantes par l'augmentation des apports en nutriments et sa disponibilité pendant la succession primaire (Stark et al. 2000, Den Herder et al. 2003). Aussi les lichens jouent un rôle important dont la décomposition des roches et création du sol pour les autres plantes, lichens produisent des acides organiques carboxyliques de faible poids moléculaire (acide oxalique, citrique, gluconique, et lactique), qui jouent un rôle dans l'altération des roches, ces acides peuvent lier et neutraliser des ions métalliques (Adamo and Violante 2000). Cette capacité des lichens à altérer les roches est un aspect important de leur écologie et leur rôle dans l'écosystèmes. En outre, ils peuvent agir comme des agents corrosifs ce qui contribue à la dégradation des roches (Mendili et al. 2024). Les lichens sont une source de nourriture de certains animaux, tels que les rennes et des caribous en particulier en hiver, qui vivent dans les régions boréales et subarctiques, en outre les lichens peuvent être un abri pour de nombreux insectes (Pizňak and Bačkor 2019). Les lichens aident d'autres organismes vivants

à se déplacer en libérant des minéraux et en créant de la matière organique. De plus, grâce à leurs sensibilités aux changements environnementaux, surtout la pollution de l'air, les lichens sont utilisés depuis longtemps comme des bioindicateurs, pour surveiller la qualité de l'environnement des écosystèmes, car ils absorbent et accumulent les polluants présents dans l'atmosphère(Conti and Cecchetti 2001, Calvelo et al. 2009, Estrabou et al. 2011, Sujetovienė 2015).

II.2.b. Importance des lichens pour l'homme.

II.2.b.i. Utilisations pharmacologiques

Lichens sont utilisés dans la médecine traditionnelle par des diverses cultures à travers le monde, en Afrique, en Europe, en Asie, en Océanie, en Amérique du nord et en Amérique du sud, en particulier ils sont utilisés dans les régions tempérées et arctiques, et ils entrent dans diverses préparations médicinales en raison de leurs propriétés thérapeutiques intéressantes(Crawford 2019). Cependant, l'utilisation spécifique des lichens peut varier considérablement d'une culture à une autre, mais ils sont couramment utilisés pour traiter divers problèmes de santé tels que : soigner les blessures, traiter les troubles de la peau, résoudre les problèmes respiratoires, et digestifs, ainsi que pour gérer les préoccupations obstétrique et gynécologique. Le genre de lichens le plus couramment utilisé par la majorité des cultures est *Usnea*, ce genre est connu par leurs propriétés antimicrobiennes et sont utilisés pour préparer des diverses préparations médicinales traditionnelles(Sepahvand et al. 2021). D'après les documentations ethnobotanique, les lichens sont souvent consommés sous forme de décoction, lichens sont bouillis dans l'eau pour crée un mucilage. Ce mucilage est ensuite consommé pour traiter les infections pulmonaires ou digestives, il peut aussi utiliser comme topique sur la peau pour traiter les problèmes de la peau ou les blessures(Adenubi et al. 2022, Bhagarathi et al. 2023). Ces propriétés thérapeutiques des lichens sont probablement liées à leurs métabolites secondaires, aussi peuvent dépendent aux qualités des Glucides des lichens(Molnár and Farkas 2010).

II.2.b.ii. Utilisation des lichens comme colorant

L'utilisation des lichens comme colorant remonte à la Grèce antique ou même avant. Les anciens Grecs fermentaient les lichens avec des solutions d'ammoniaque dilué dans des récipients scellés. La couleur mauve se développe après une semaine et elle est utilisée pour teindre les fibres protéiques comme la laine et la soie. D'autres teintures de lichens sont aussi utilisées en Écosse pour fabriquer les Tweeds Harris. Plusieurs nuances différentes de couleur brune, beige, et orange sont produites par les métabolites secondaires de lichens. Ces teintures sont inaltérables, cependant, elles confèrent un certain parfum de moisi caractéristique au tissu. Les lichens les plus utilisées à cet égard sont les lichens Orchil tels que *Rocella* et *Lecanora*, qui contiennent des substances comme l'arceine, le litmus et l'acide lécanorique (Shukla et al. 2010, Rather et al. 2021, Mendili et al. 2024).

II.2.b.iii. Utilisation des lichens dans le domaine cosmétique

Les extraits de lichens sont de plus en plus utilisés, surtout aux États-Unis et en Europe, comme additifs dans les produits de soins personnels, tels que : les déodorants et lotions de corps. Les composés bioactifs produits par les lichens, qui ont des propriétés antimicrobiennes, antivirales, anti-inflammatoires, ce qui les rendent utiles dans la formulation des produits de soins personnels. De plus, quelques espèces de lichens comme : *Evernia*, *Ramalina*, *Pseudorina* sont utilisées dans la fabrication de parfums (Romagni and Dayan 2002). Aussi bien, les huiles essentielles des lichens sont caractérisées par leurs arômes uniques, qui sont utilisées dans la formulation des parfums et des produits parfumés (Joulain and Tabacchi 2009, Zhao et al. 2021, Alom et al. 2024).

II.3. Métabolites secondaires de lichens

Les lichens sont capables de produire une grande variété de métabolites secondaires. Ces métabolites jouent un rôle important dans la survie et la fonction des lichens, notamment en aidant à la défense contre les prédateurs et les maladies, en protégeant contre les dommages causés par les rayons UV, et en contribuant à la communication chimique avec d'autres

organismes. Ces substances s'accumulent dans le cortex du lichen, comme c'est le cas pour l'atranorine, la pariétine, l'acide usnique et les mélanines fongiques. Elles peuvent également s'accumuler dans la couche médullaire, comme c'est le cas pour l'acide physodique, l'acide physodalique et l'acide protocetrarique. Ces substances se présentent sous forme de minuscules cristaux extracellulaires sur les surfaces extérieurs des hyphes (les structures filamenteuses des champignons), elles sont uniques aux champignons qui forment des lichens, mais aussi le photobionte pourrait avoir un impact sur la production de métabolites secondaires par les champignons (mycobionte). Chimiquement les métabolites secondaires produites par les lichens sont diversifiés et peuvent être soit aliphatiques soit aromatiques, ces substances ont un poids moléculaire relativement faible. Pour aider à mieux comprendre et étudier les lichens, Culberson and Elix (1989) ont classées les substances lichéniques selon leurs origines biosynthétiques et les caractéristiques structurales chimiques. La plupart des métabolites secondaires des lichens sont dérivés de la voie polymalonate, qui comprend la voie des polykétides, les composés synthétisés par cette voie sont produits par le champignon de lichen lorsqu'il est en symbiose avec un algue. Les métabolites de lichen appartiennent aux dérivés de terphénylquinone, par exemple l'émodine, des composés uniques de la classe depside comme l'acide hyperhomosékikique, et les depsidones, comme l'acide sublobarique, sont synthétisés par la voie polymalonate (**Figure 22**). La voie de l'acide mévalonique principalement impliquée dans la biosynthèse de différents types de terpènes tels que : le 16b-acétoxyhopane-6a-22-diol et la Zéorine. Pour la voie shikimique, elle est impliquée dans la synthèse de l'acide pulvinique et ses dérivés (par exemple l'acide vulpinique) ainsi que d'autres dérivés phénoliques cycliques. Ces dernières classes de composés sont largement réparties dans les lichens de la famille des Stictaceae.

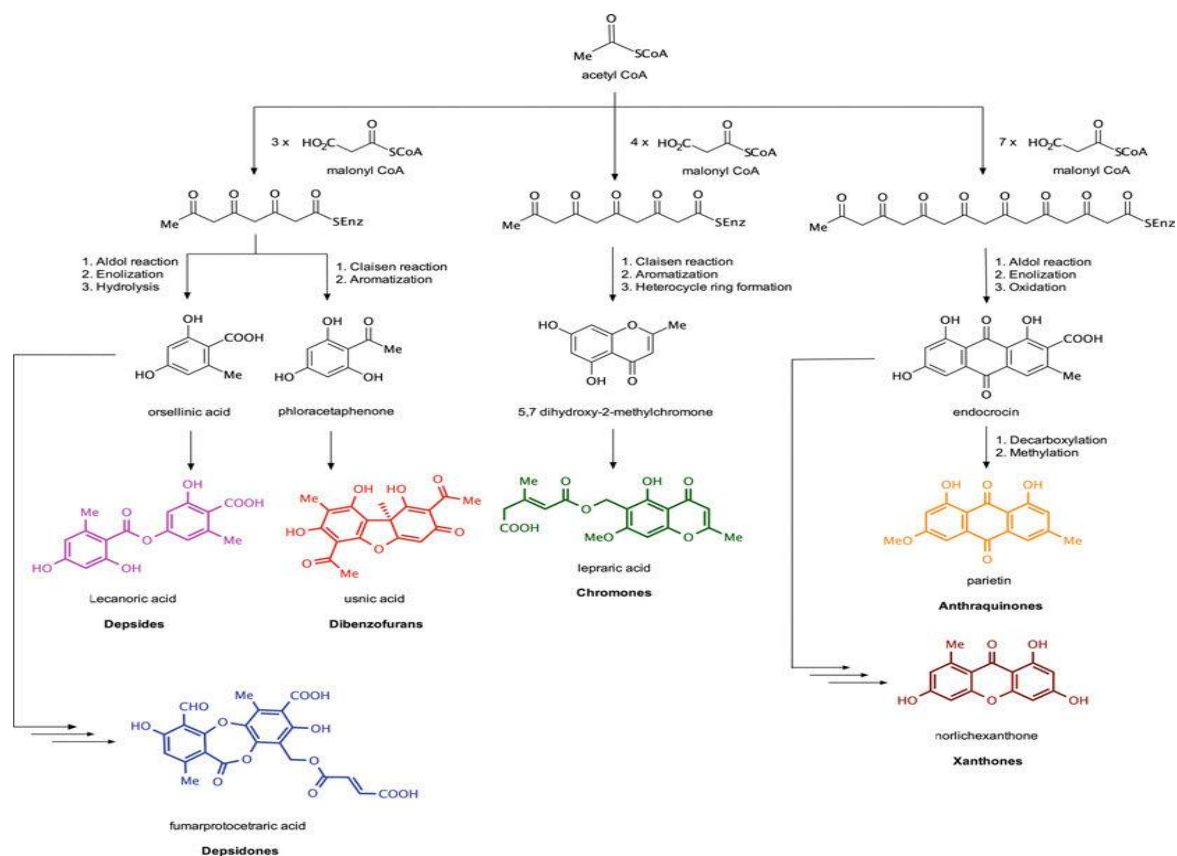


Figure 22: Biosynthèse des métabolites secondaires des lichens par la voie acétyl-polymalonate. Les polykétides aromatiques produits par cette voie diffèrent selon le nombre de molécules de malonyl-CoA incorporées et selon leur type (Gill et al. 2023).

II.4. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires des lichens

Ces dernières années, on constate un intérêt croissant pour la découverte des nouveaux produits d'origine naturel et bioactif pour la prévention et le traitement de diverses maladies humaines. Les composés naturels ont montré qu'ils ont peu d'effet indésirables en comparaison par les bénéfiques sur l'organisme humain (Heilmann 2010, Vaishnav and Demain 2011, Yeshi et al. 2022). Les lichens parmi les espèces naturels largement étudiés, dans les dernières années avec plus de 800 métabolites secondaires des lichens ont été découverts où la plupart d'entre eux étant exclusivement présent dans les lichens, cette diversité moléculaires des métabolites secondaires des lichens lui confère de posséder des activités biologiques potentiels tels que : activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactériens, antifongiques, et anticancéreuses (Honda et al. 2010, White et al. 2014, Ranković 2019, Katekar et al. 2023, Kello et al. 2023, Thakur et al. 2023).

II.4.a. Acide usnique

Acide usnique est l'un des composés les plus importants du lichens qui ont été isolé pour la première fois en 1844 par W.Knop. C'est un dérivé de dibenzofurans, une substance solide, amère et jaune, très abondante chez nombreux genres de lichens y compris : *Usnea*, *Ramalina*, *Evernia*, *Cladonia*, et d'autre genres. Nombreuses études qui ont été faite sur l'acide usnique depuis les années 80 jusqu'à aujourd'hui ont montré qu'acide usniques à plusieurs propriétés biologiques tels que : des propriétés gastro-protective, selon Odabasoglu et al.(2023), acide usnique isolé de *Usnea longissima* à des doses de 25, 50, 100, et 200 mg/kg a exercé des effets gastro-protecteurs sur les ulcères gastriques induits par l'indométacine chez les rats, cette action gastro-protectrice peut être attribuée à son effet réducteur contre les dommages oxydatifs et à son effet inhibiteur sur l'infiltration des neutrophiles dans l'estomac du rat. D'autres études ont montré qu'acide usnique a des propriétés antiparasitaires. Sussmann et al. (2011) ont rapporté dans leur étude que l'acide usnique a montré une action importante sur le parasite *Plamodium falciparum* et les résultats obtenus ont montré que l'acide usnique inhibe la biosynthèse de vitamine E, la molécule importante pour le développement de parasite étudié. Le potentiel antimicrobien d'acide usnique a été aussi décrit par de nombreuses études comme Antonenko et al. (2019), ont trouvés qu'acide usnique a inhibé la croissance de *Bacillus subtilis*. Aussi Honda et al. 2(010) ont trouvé que l'acide usnique a été active contre *Mycobacterium tuberculosis* (H3RV) à une CIM égal à 62.5µg/ml. D'autre souches bactériennes ont été décrites sensibles à l'acide usnique y compris : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori*, *Bacteroides vulgatus*.(Francolini et al. 2004, Do et al. 2019). Aussi les effets anti-inflammatoires de l'acide usnique ont été rapporté dans plusieurs études(Huang et al. 2011, Galanty et al. 2021). (**Figure 23**).

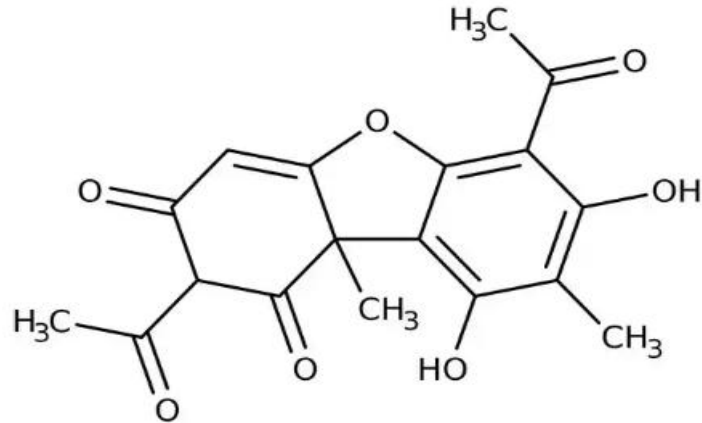


Figure 23: Structures chimique d'Acide usnique

II.4.b. Acide évernique

L'acide évernique (**Figure 24**), un depside avec deux noyau aromatiques liés par un éther, c'est le composé majoritaire d'*Evernia prunastri*, mais il a été isolé par d'autres genres de lichens tels que : *Ramalina*, *Usnea*, et *Hypogymnia* (Girardot et al. 2021, Studzińska-Sroka et al. 2024). Des différentes études publiées sur l'acide évernique ont montré qu'il possède plusieurs propriétés biologiques. Halama and Van Haluwin (2004), ont étudié l'effet antifongique des extraits des lichens et ils ont trouvé que l'acide évernique à inhiber significativement la croissance des deux champignons pathogéniques *Phythium portentosa* et *Phytophthora infestants*. D'autres études sur l'acide évernique qui ont été rapporté par Lee et al. (2021), ont démontré qu'il a des effet neuroprotecteurs et anti-inflammatoires dans les modèles de maladie de parkinson. Par ailleurs, l'acide évernique a été aussi démontré des activité antioxydantes et antibactériennes (Fernández-Moriano et al. 2016b, Shcherbakova et al. 2021).

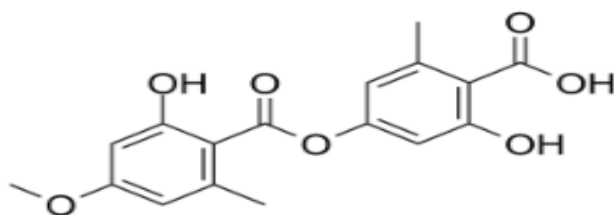


Figure 24: Structure chimique d'Acide évernique

II.4.c. Atranorine

Atranorine l'un des composés chimiques des lichens les plus commun dans différentes familles tels que : Lecanoraceae, Parmeliaceae, Cladoniaceae, et Stereocaulaceae (Kristmundsdóttir et al. 2005, Melo et al. 2011). Atranorine est un depside synthétisé par la voie d'actyl-polymaliny, puisque c'est une des substances les plus connues des lichens où des nombreuses études ont été faite sur les activités biologiques de l'atranorine et ils ont démontrés que atranorine à des effets antioxydantes, anti-inflammatoires(Somasekhar et al. forthcoming). (Melo et al. 2011),suggèrent que l'atranorine possède des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui protègent les cellules hépatiques contre les dommages causés par le stress oxydatif. Aussi la littérature décrit que atranorine possède des activités antibactérienne, antivirale, antifongique, analgésique, et immunomodulateur (Studzinska-Sroka et al. 2017)(Figure 25).

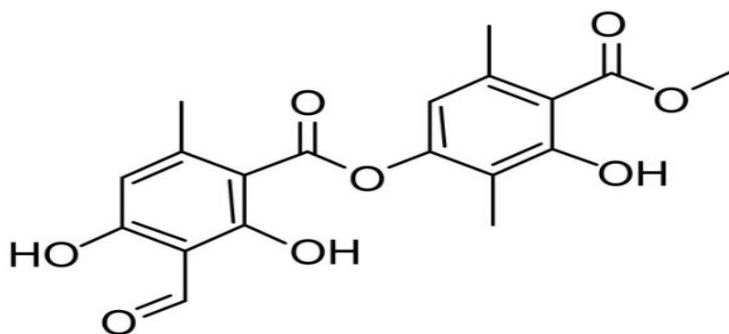


Figure 25: Structure chimique de Atranorine

II.4.d. Acide physodique

Acide physodique est un composé chimique présent dans certains genres de lichens comme *Evernia*. Il appartient à les depsidones, et synthétisé par la voie des polycétides (Singh et al. 2021) (Figure 26). Des études qu'ont été faite sur acide physodique ont montré qu'il possède des propriétés biologiques intéressantes y compris : des activités antibactériennes, antioxydantes, anti-cancéreuses, aussi ils ont démontré qu'il possède un potentiel neuroprotecteur (Cardile et al. 2017).

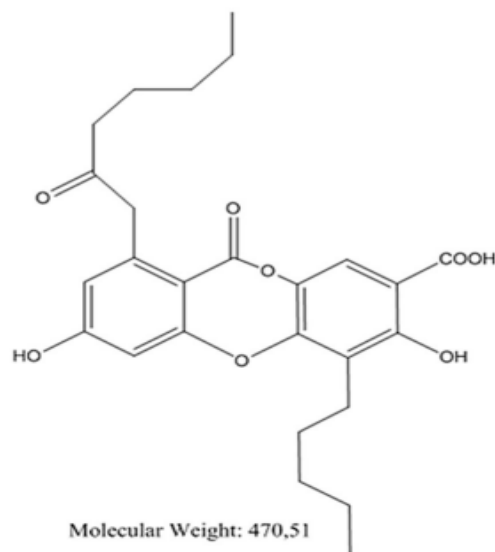


Figure 26: Structure chimique de l'Acide physodique

II.4.e. Limonène

Limonène est un composé terpénique présent dans les huiles essentielles des lichens de genre *Evernia*. Ce composé a été démontré des nombreuses propriétés thérapeutiques : antioxydantes, antimicrobiennes, antifongiques, antidiabétiques, anticancéreuses. Kahrman et al. (2011), ont trouvés que les huiles essentielles extraites à partir des espèces de *Evernia* avec 1.6-6.3% de limonène présentés une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Y. pseudotuberculosis*, aussi ils ont démontrés une activité antifongique.

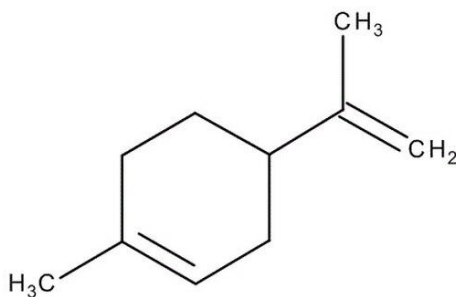


Figure 27: Structure chimique de Limonène

III. Présentation des espèces étudiés

III.1. *Kleinia anteuphorbium* L

Kleinia ou *Senecio anteuphorbium* est une espèce appartenant à la famille des Asteraceae, endémique du Maroc, constant des arganeraies à Euphorbes cactiformes subtitorales sèches à arides (**Figure 28**).

III.1.a. Description botanique

Kleinia est un genre vivace arbustive succulente de h. 0,8-2(3.5) m à tiges épaisses, dressées, simples ou ramifiés de L.2-5×0,8-2,5 cm sans vrilles ni stolons, avec des feuilles squameux ou charnu, alternant ou rassemblé en resettes dans les parties supérieures des tiges. Les fleurs sont tubuleuses ou ligulées selon le sexe, avec des couleurs blanches ou jaune pâle de L 16-20 mm à 5 lobes. Les fruits akènes de 5-6,5-1-1,4 mm, subcylindriques, côtelés, glabres, avec un pappus de sois souples denticulée.

III.1.b. Taxonomie

- Règne : végétal
- Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Asterales
- Famille : Asteraceae
- Genre : *Kleinia*,
- Espèce : *Kleinia anteuphorbium*

- Synonyme : *senecio anteuphorbium*



Figure 28: *Kleinia anteuphorbium*

III.1.c. Famille des Asteraceae

La famille des Asteraceae est une grande famille des plantes à fleurs, qui comprend plus de 1600 genres et 3000 espèces (Paredes et al. 2016, Basaid et al. 2020). Les Asteraceae sont connues et présentes dans le monde entier, mais ils sont plus courants dans les régions arides et semi-arides des zones subtropicales (Michel et al. 2020). Les plantes des Asteraceae sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle et dans l'alimentation à cause de leurs propriétés biologique antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, diurétiques et cicatrisantes, ces effets pharmacologiques des plantes des Asteraceae sont attribués à leurs métabolites secondaires, comme les polyphénols (les acides phénoliques et les flavonoïdes), les acétylènes et les triterpènes (Ahmadu Bello Zaria et al. 2014, Garcia-Oliveira et al. 2021, Rolnik and Olan 2021).

III.2. Espèce *Evernia prunastri*

Evernia prunastri ou Mousse du chêne, une espèce lichénique appartient à la famille des Parmeliaceae, pousse principalement sur les branches des chênes, mais elle est trouvée également couramment sur l'écorce d'autres arbres, elle est largement répandue dans les forêts tempérées montagneuses de l'hémisphère nord (Munzi et al. 2012).

III.2.a. Description botanique :

Le thalle d'*Evernia prunastri* a un aspect fruticuleux à lanière peu divisé, souvent ridé. La face supérieure est vert pâle, jaune-verdâtre avec un réseau parfois lacuneux, et la face inférieure est blanchâtre et légèrement canaliculée. Les apothécies est très rare et les lobes mesurent 1 à 3 mm de largeur (**Figure 29**). Cette espèce pousse aux écorces plus au moins riches en substances nutritives.



Figure 29: *Evernia prunastri*

III.2.b. Taxonomie :

La classification fonctionnelle pour définir *Evernia prunastri* est mentionnée ci-dessous :

Règne : Fungi

Sous-division : Pezizomycotia

Division : Ascomycota

Classe : Lecanormycetes

Ordre : Lecanorales

Sous-ordre : lecanorineae

Famille : Paemeliaceae

Genre : *Evernia*

Espèce : *Evernia prunastri*

III.2.c. Utilisations d'*Evernia prunastri*

Evernia prunastri est largement utilisée dans la médecine traditionnelle où les Grecs antiques ont l'utilisé sous forme de pommade pour soigner les maladies de l'utérus, combattre la fatigue et comme astringent (Crawford 2019), aussi à l'époque les européens, ont utilisé *Evernia prunastri* pour traiter la faiblesse intestinale, la fièvre et les infections pulmonaires.

Evernia prunastri est également utilisé pour réaliser des teintures naturelles. Elle permet de teindre des textiles dans des tonalités allant du rose au violet, a été utilisé pour teindre la laine (couleur violette), notamment pour les toges des Romains (Mendili et al. 2024). Aussi les anciens égyptiens ont utilisé *Evernia prunastri* pour aromatiser le pain et le conserver, grâce à ses propriétés antioxydantes (Romagni and Dayan 2002).

De nos jours, les extraits d'*Evernia prunastri* sont couramment utilisés en parfumerie, pour apporter des notes boisées, piquantes et légèrement sucrées. Elle est également utilisée en biosurveillance de la qualité de l'air en raison de ses particularités bio-accumulatives de métaux lourds et de radioéléments.

III.2.d. Métabolites secondaires de *Evernia prunastri*

Plus de 70 métabolites secondaires différents ont été identifiés et caractérisés chez *Evernia prunastri* dont les composés les plus étudiés sont : Acide usnique, Acide évernique, Atranorin, Chloroatranorine, Atranol, Acide lecanorique et Chlorobutanol, en raison de leurs utilisations dans l'industrie du parfum en tant que composants essentiels des parfums, et de leurs nombreuses activités biologiques. Ces métabolites sont très étudiés, en particulier l'acide évernique qui a démontré des propriétés antibactériennes, antifongiques, anticancéreuses, et antioxydantes (Ranković 2019).

III.3. *Ramalina lacera*

III.3.a. Description botanique

Thalle fruticuleux, arbustif, plutôt mou, vert jaunâtre à blanc verdâtre, terne, ramifié palmer ou irrégulièrement strié de manière réticulée surtout sur la face inférieure. Le cortex très fin constitué d'une seule couche prosoplectenchymateuse dépourvue de brins chondroïdes, moelle blanche, les apothécies sont très rares et le photobionte chlorococcoïde (Hanus et al. 2008).

III.3.b. Taxonomie

La classification fonctionnelle pour définir *Ramalina lacera* est mentionnée ci-dessous :

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Sous-division : Pezizomycotina

Classe : Lecanoromycetes

Sous-classe : Lecanoromycetidae

Ordre : Lecanorales

Famille : Ramalinaceae

Genre : *Ramalina*

Espèce : *Ramalina lacera* (with.) J.R.Laundon

III.3.c. Utilisations de *Ramalina lacera*

Ramalina lacera est une espèce de lichen fait partie de la famille de Ramalinaceae, une large famille de lichen avec 200 espèces. Traditionnellement le genre *Ramalina* est utilisé comme des aliments, des épices, et des curatives. Les espèces de *Ramalina* sont connues par sa richesse en métabolites secondaires, plus de 153 substances organiques ont été isolées et identifiées de différents genres de *Ramalina*. Les études publiées sur ces composés montrent qu'ils ont plusieurs activités biologiques telles que : des activités antibactériennes, anti-

inflammatoires, antifongiques, antioxydantes, et insecticides. L'acide usnique est le composé le plus isolé et il montre les meilleurs résultats (Prashith-Kekuda and Vinayaka 2020).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I. Présentation du milieu d'étude.

I.1. Région d'étude

Notre étude a été menée dans la région de Souss-Massa, l'un des douze régions du Maroc, elle compte quatre provinces et deux préfectures : préfecture de Agadir Idan-Ounan, préfecture de Inzagan Ait Maloul, province de Tiznit, province de Chtouka Ait-Baha, province de Taroudant, et province de Tata. La région a une superficie de 53789 Km², limitée par la région de Marrakech-Safi au Nord, par la région de Guelmim-Oued Noun au sud, à l'ouest par l'Océan Atlantique, et au sud-est par l'Algérie. La région est une zone géographiquement riche et diversifiée. Elle englobe plusieurs caractéristiques topographiques distinctes : des chaînes de montagnes (Haut Atlas et Anti-Atlas), les plaines du Souss et de Chtouka, des Oasis dans la zone sud et la région présente également des caractéristiques désertiques. Cette diversité géologique crée un mélange unique de paysages et d'écosystèmes (**Figure 30**).

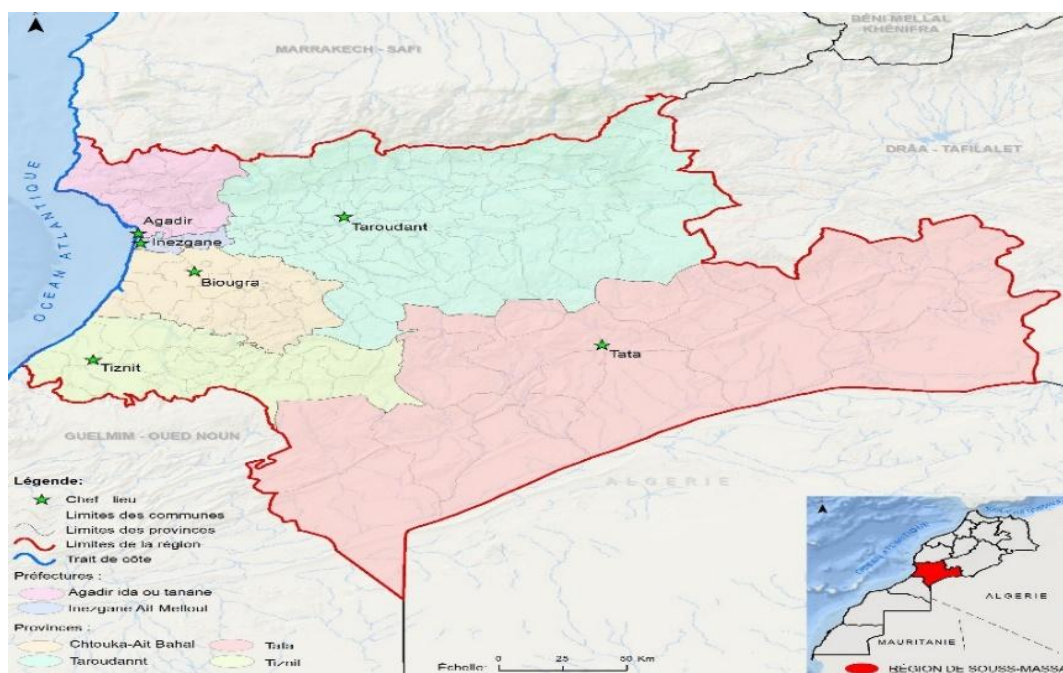


Figure 30: Localisation de la région d'étude

I.2. Climat et les précipitations

Le climat est un facteur écologique très important pour le développement et la répartition de la couverture végétale. La région a un climat aride à semi-aride, le degré d'aridité augmente

au fur et à mesure que l'on se déplace d'ouest en l'est et du Nord au sud. Ainsi, la partie nord, où s'élèvent les montagnes de l'Atlas, a un climat humide à semi-aride au fur et à mesure que l'on se dirige vers les plaines, tandis que les plaines situées en dessous des montagnes de l'Atlas, le bassin de Sousse et le bassin de Massa ont un climat aride. Enfin, la partie nord du Sahara, sont couverte par un climat désertique.

Les précipitation moyennes dans le bassin de Souss-Massa sont de 280mm dans la vallée de Sousse et de 265 mm dans la vallée de Massa. Dans les zones montagneuses de Haut Atlas, les précipitations atteignent 800 mm. Les températures de 11°C à 27°C, avec une moyenne de 19°C. L'ensoleillement est d'environ 3000 heures par an.

I.3. Caractéristiques pédologiques

Les sols de la région sont principalement alluviaux, composés de sable et de limon, généralement avec peu d'argile et d'humus. Les sols sont calcaires. Leur teneur en potasse et en phosphate est moyenne à faible.

II. Méthodologie

Pour atteindre les objectifs fixé pour cette étude certain nombre d'aspects ont été abordés à savoir :

- ✚ Etudes bibliographiques sur l'écosystème de l'arganeraie pour savoir les différentes études qu'ont été effectuées sur le sujet.
- ✚ Etude ethnobotaniques réalisée sur le terrain pour sélectionner de zones présentant une grande diversité, mais également une grande disponibilité en biomasse. Aussi, des interviews ont été réalisée auprès des herboristes et la population locale, pour savoir les différentes utilisations, et les noms vernaculaires de l'espaces étudiées.
- ✚ Etude au laboratoire, pour faire des études phytochimiques, détermination des activités biologiques et la composition chimique de différentes espèces étudiées.

III. Etude ethnobotanique

Les études ethnobotaniques peuvent être très utiles pour la recherche sur les plantes avec des utilisations traditionnelles potentielles, ces utilisations sont d'ordre thérapeutiques, alimentaires, et cosmétiques. Ils permettant également de comprendre la relation entre la culture humaine et les plantes (Menković et al. 2011, Ouhaddou et al. 2014). Pour bien mener les études ethnobotaniques, il faut d'abord réaliser une enquête ethnobotanique auprès des habitants, il est donc nécessaire, d'élaborer à l'avance un questionnaire adapté aux différents objectifs fixés et sélectionner un échantillon de la population à enquêter.

Pour notre étude, l'objectif fixé est d'inventorier des différentes utilisations traditionnelles par la population de Souss-Massa. Enquêtes basées sur les interrogations directes et les questionnaires semi structurés, le travail consiste systématiquement à poser des questions aux personnes ciblées afin de recueillir les réponses à ces questions.

Notre enquête s'est déroulée au mois du Mai, 2022. Le temps interrogatoire de l'enquête variait de 5 à 10 min. l'enquête a été réalisée dans la région de Souss-Massa les lieux considérées sont : agadir Idan-Tanan, inzagan, Ait-Maloul, Tiznit. Le questionnaire utilisé pour cette étude divisé en deux parties, la première partie a été axée sur les informations relatives aux personnes interrogées, et la deuxième partie a été axée sur les renseignements concernant *Kleinia anteuophorbium*. (Annexe illustre le modèle de la fiche utilisé).

IV. Matériel végétal

IV.1. Echantillonnage

Les échantillons des espèces étudiées proviennent de la province de Aghroud à la région de Souss-Massa, pendant le mois du Mai 2022. La station de récolte située à une altitude de 12m. le choix de station se justifie par sa diversité floristique et par l'abondance des espaces étudiés.

Pour la plante *Kleinia anteuphorbium*, la récolte a été réalisée dans la durée de la floraison, seuls les parties aériennes ont été collectés (tiges, fleurs, feuilles). L'espace a été identifié au département de botanique et écologie végétale, à l'institut scientifique de Rabat, Maroc, et un code voucher (114118) a été déposé à l'herbier du même institut.

Pour les deux espèces lichéniques *Evernia prunastri* et *Ramalina lacera*, les thalles ont été collectés à partir de tiges de l'arbre de l'arganier (*Argania spinosa*). L'identification des espèces a été faite au département de biologie par Mr. Allal Douira professeur à l'université Ibn Tofail, Kenitra.

IV.2. Préparation des échantillons de *Kleinia anteuphorbium*

Une fois la plante est récoltée, les tiges de *Kleinia anteuphorbium* sont débarrassés des salissures et séchées à l'abris de la lumière dans un endroit sèche et sec, pour éviter la perte des substances actives. Les tiges sont découpées en petites morceaux pour optimiser le séchage afin d'éviter les moisissures. Dès que les tiges sont bien séchées, elles sont broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, puis la poudre obtenue est stockée dans des petits sacs en papier et étiquetés, et conservés dans un endroit sec et à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'à l'utilisation.

IV.3. Préparation des échantillons de Lichens

Après leurs récoltes. Les deux espèces lichéniques sont débarrassés des salissures, et séchées au laboratoire à l'abris de la lumière dans un endroit sec pour éviter les moisissures. Après le séchage, les deux espèces sont broyées en poudre fine par un Moulin à épices. Les poudres obtenues pour chaque espèce sont stockées dans des sacs en papier étiquetés, puis conserver dans un endroit sec et à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'à l'utilisation.

IV.4. Extraction pour *Kleinia anteuphorbium*

Les métabolites secondaires de *Kleinia anteuphorbium* ont été extraites par deux méthodes d'extraction par macération et extraction par ultrason ou sonication. Les solvants utilisés sont : Méthanol, Eau distillée, et le mélange Méthanol-eau (70/30 (v/v))

IV.4.a. Extraction par macération

Pour la préparation des extraits, la méthode qui utilisée est celle proposée par Lezoul et al. (2020), avec quelques modifications. 5g de la poudre de *Kleinia anteuphorbium* ont macérés dans 50 ml de solutions des solvants, puis le mélange est mis sous agitation permanente pendant 24h, après filtration, les filtras obtenus ont stocké dans des tubes en verres à 4°C jusqu'à utilisation.

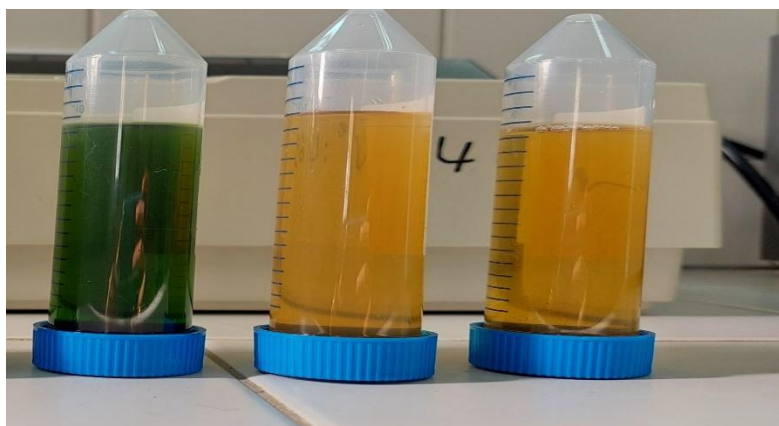


Figure 31: Extraits de *Kleinia anteuphorbium* obtenus par macération

IV.4.b. Extraction par Sonication

5g de poudre fine a été mélangée avec 50 ml de chaque solvant : Méthanol, Eau, et le mélange (70/30 (v/v)). Les mélanges ont été déposés dans un sonicateur à température ambiante pendant 45 minutes, avec une fréquence ultrasonore de 25 kHz. Ensuite, ils ont été filtrés et les filtras retenus ont été stockés dans des tubes à 4°C jusqu'à utilisation pour les analyses (Ojha et al. 2020).



Figure 32: les extraits de *kleinia anteuphorbium* obtenus par sonication

IV.5. Extraction des extraits de lichens

2.5g de poudre des espèces étudiées ont été mélangées avec 50ml de chaque solvant : Acétone, Méthanol, et Eau. Les mélanges sont ensuite mis dans le sonicateur pendant 45 minutes. Après, les extraits ont filtré. Le mélange est conservé au frais (+4°C) jusqu'à utilisation pour les analyses.

IV.6. Rendement

Les rendements d'extractions ont calculé par la relation suivante :

$$R (\%) = (\text{Masse d'extrait obtenu} / \text{Masse initiale de matériel végétale sèche}) \times 100$$

V. Dosage des composés phénolique

Dosage des polyphénols présent au niveau de différents extraits des espèces étudiées à été réalisée par des méthodes spectrophotométriques, par un spectrophotomètre UV-visible type.

V.1. Dosages des polyphénols totaux (TPC)

V.1.a. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique qui réagit avec les phénols et les substances réductrices non phénoliques pour former des chromogènes. Ces derniers peuvent être détectés par spectrophotométrie, car dans des conditions alcalines, l'oxotungstate et l'oxomolybdate formés dans cette réaction d'oxydoréduction affichent une coloration bleue proportionnelle à la concentration de polyphénols. (Lamuela-Raventós 2018)

V.1.b. Mesure

Les teneurs des polyphénols totaux de différents extraits étudiés est déterminés par le réactif de Folin-Ciocalteu, en utilisant la méthode de Ben El Hadj Ali et al. (2014) avec quelques modifications. Ainsi, dans des tubes à essai on a placé 50µl de chaque extrait puis 450µl de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) est ajouté, après 5 min 450µl de carbonate de sodium Na₂CO₃(7.5%) a été ajouté au mélange réactionnel. Le mélange final est incubé pendant 2h à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesuré à 760nm.

Pour la courbe d'étalonnage, l'acide gallique est utilisé comme standard, les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de la matière sèche (EAG/100g MS).

V.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC)

V.2.a. Principe

Le dosage du contenu total en flavonoïdes (TFC) pour les extraits des plantes est couramment réalisée par l'essai colorimétrique au chlorure d'Aluminium Al(III), où l'Al (III) est utilisé comme agent complexant. La méthode repose sur la formation de chélates d'Al(III)-flavonoïdes qui absorbe à 510nm . En raison de leur grand nombre de groupes oxo et hydroxyle, les flavonoïdes peuvent présenter une liaison aux ions métalliques comme Al (III) (figure), selon les conditions expérimentales, en particulier pH. (Shraim et al. 2021)

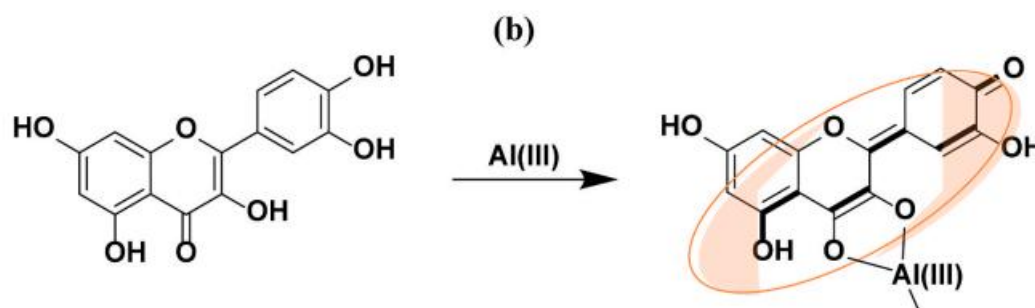


Figure 33: Mécanisme réactionnel de flavonoïdes Al (III)

V.2.b. Mesure

Les teneurs en flavonoïdes ont été déterminés par la méthode décrite par Kocira et al. (2018) avec quelques changements. D'abord, dans des tubes à essai, on a placé 250µl d'extrait et 250µl de chlorure d'aluminium (10%), après 1h d'incubation les absorbances ont mesurées à 510nm par spectrophotomètre UV-visible. Le Rutin (Rutoside) est utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage, les résultats obtenues sont exprimés en mg d'équivalent de Rutin par 100g de la matière végétale (mgRE/100g MS).

V.3. Tanins condensés

V.3.a. Principe

La méthode de Vanilline-HCl est une technique colorimétrique utilisés pour quantifier les proanthocyanidenes, ou tannins condensés des extraits végétaux. La méthode repose sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TC et la formation de complexes rouges. Cela s'explique par la capacité des tanins à se transformer en anthocyanidols rouge en réaction avec la vanilline(Ali-Rachedi et al. 2018).

V.3.b. Mesure

La teneur en tanins a été déterminée selon la méthode décrite par (Andzi Barhé and Feuya Tchouya 2016). 50µl de chaque échantillon a été ajouté à 15ml de vanilline (4%). Après 2 min, 750µl de HCl (12M) a été ajouté au mélange. Après 20min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante a été mesuré à 500 nm. Dans les mêmes conditions, la catéchine a été utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage et la teneur totale en tanins a été exprimée en mgCE/100g MS.

VI. Activité antioxydante

Activité antioxydante a été déterminé par plusieurs méthodes. Pour cette étude nous avons choisi d'évaluer l'activité antioxydante des extraits étudiés par deux méthodes : test DPPH et test FRAP.

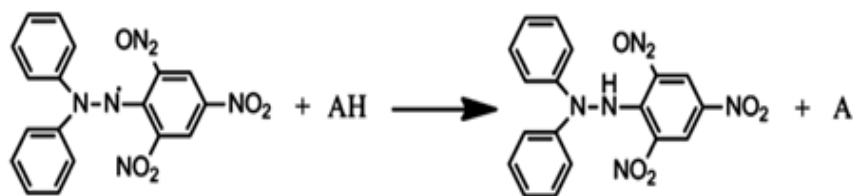


Figure 34: Réaction de l'antioxydant et le radical libre DPPH

VI.1. Test de DPPH

VI.1.a. Principe

Le DPPH ou 1,1-Diphényl-2-picrylhydroxyl, un radical libre stable de de couleur pourpre, en présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH[•] est réduit et devient jaune

l'absorbance mesurée à 517nm est utilisée pour calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon.

L'IC50 est la concentration de l'échantillon qui entraîne 50% d'inhibition. L'échantillon qui présente l'IC50 la plus faible est celui qui présente l'activité antioxydante la plus élevée.

VI.1.b. Mesure

La méthode utilisée est celle de (Togola et al. 2019), avec quelques modifications. D'abord une solution de DPPH (60.3µM) a été préparée et maintenue à l'obscurité, dans des tubes à essais, 1.95ml de DPPH a été ajoutée à 50µl de chaque échantillon à étudier. Après le mélange réactionnel est incubé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.

Le blanc formé de 1.95ml de la solution de DPPH et de 50µl de Méthanol. Les absorbances sont mesurées à 517nm. Le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (A(\text{contrôle}) - A(\text{Extrait}) / A(\text{contrôle})) * 100$$

VI.2. Test Pouvoir réducteur antioxydant de fer (FRAP)

VI.2.a. Principe

Le test est basé sur le pouvoir réducteur d'un composé antioxydant de l'ion ferrique (Fe^{3+}), en ion ferreux (Fe^{2+}). Par conséquent Fe^{2+} peut être évalué en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur vert-bleu dans le milieu réactionnel en 700nm.

VI.2.b. Mesures

La méthode utilisée est celle décrite par (Nawaz et al. 2020), avec quelques modifications. Ainsi, 50µl de chaque extrait est ajoutée à 250µl de Tompon qui contient 10mg de phosphate de sodium dibasique Na_2HPO_4 , 88mg de phosphate monobasique NaH_2PO_4 , et 400ml d' H_2O . Après le mélange réactionnel est vortex, puis 250µl d'une solution de ferricyanure de potassium (1%) sont ajoutées, le mélange ensuite est incubé à 50°C dans un bain-marie pendant 20 min. Après refroidissement, on a ajouté 250µl de l'acide trichloracétique (10%), ensuite le mélange

a été centrifugé à 300rpm pendant 10 minutes. Puis, 250µl du surnagent ont été recueillis et mélangés avec 250µl d'H₂O, 50µl de FeCl₃ (0.1%), ont été ajoutés. Le mélange réactionnel a été laissé à température ambiante pendant 10 min après les absorbances sont mesurées par un appareil UV-visible à une longueur d'onde de 700nm.

VII. Activité antibactérienne

Les souches bactériennes utilisées dans la présente étude sont des souches cliniques de bactéries pathogènes et résistantes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella pneumoniae*.

L'activité antibactérienne de *Kleisia antephorbium* a été testée en utilisant la méthode décrite par Al-Mijalli et al. (2022). Dans des boîtes de pétri contenant de l'agar Luria-Bertani et inoculées avec 1ml de l'inoculum bactérien, un trou de 5mm de diamètre a été percé de manière aseptique à l'aide d'une carotteuse stérile, puis 20µl (50mg/ml) de la solution d'extrait ont été introduits dans le puits. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne a été estimée en mesurant la zone d'inhibition en millimètres.

La méthode de diffusion sur disque a été employée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de lichens (CLSI, 2012 ; Sheehan et al., 2004). Un extrait de 5 mg a été dissous dans 1 ml d'éthanol. Ensuite, 12 µl de cette solution ont été déposés sur des disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre. Des boîtes de Pétri contenant de l'agar Mueller-Hinton (MHA) ont été inoculées avec 100 µl de suspension de chaque souche bactérienne. Les disques de papier filtre, imprégnés de l'extrait de lichen à une concentration de 5 mg/ml, ont été placés sur la surface de l'agar dans les plaques de culture. Des disques antibiotiques (6 mm) prêts à l'emploi, comme la gentamicine (10 µg, BIO-RAD), ont été utilisés comme contrôle positif. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. La présence de zones d'inhibition a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse Vernier, puis enregistrée comme indicateur de l'activité antibactérienne de l'extrait.

VIII. Activité antidiabétique *in vitro*

L'évaluation de l'activité antidiabétique des différents extraits a été déterminée *in vitro* en utilisant enzyme clé impliquées dans la digestion α -amylase.

VIII.1. Principe :

Le principe est basé sur l'interaction entre l'iode et l'amidon non hydrolysé, format un complexe bleu foncé avec les chaînes d'amylose de l'amidon Lors de la réaction enzymatique, l' α -amylase hydrolyse l'amidon, ce qui diminue la quantité de substrat disponible pour interagir avec l'iode. En présence de l'inhibiteurs des extraits, l'amidon ajouté au mélange de dosage enzymatique n'est pas dégradé et forme un complexe de couleur bleu foncé. La présence d'amidon est indiquée par une coloration bleu fonce, l'absence d'amidon par une coloration jaune et la coloration brunâtre indique que l'amidon est partiellement dégradé.(Thete and Dilip 2020) (Figure 31).

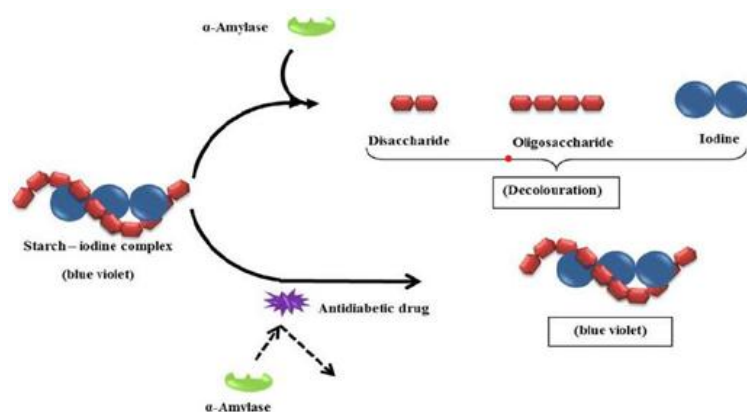


Figure 35: Mécanisme d'hydrolyse de l'amidon par α -amylase(Thete and Dilip 2020)

VIII.2. Mesure

Les différents extraits de *Kleinia anteuophorbium*, *Evernia prunastri* et *Ramalina lacera* sont analysés pour étudier leur activité inhibitrice de l' α -amylase en utilisant la méthode iodine/potassium iodide (IKI) décrite par Odeyemi et al., (2015). A 25 μ l d'extraits, on a ajouté 50 μ l de solution α -amylase 1U dans le tampon phosphate (0.1M, pH 6,9), après le contenu a été incubé à 37°C pendant 10minutes, puis on a ajouté 50 μ l d'amidon tamponné à 1%, ensuite le mélange a été réincubé pendant 10 minutes à 37°C. Puis 25 μ L HCl (1M) a été ajouté pour

arrêter la réaction enzymatique, en suite on a ajouté 100µl de réactif iodé IKI (3g de KI dans 100ml d'eau et 127 mg d'iode (5mM)). L'absorbance a été lue à 580nm. L'activité antidiabétique de l'extrait a été déterminé par l'inhibition de α -amylase et exprimée en pourcentage d'inhibition et calculer par équation suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition de } \alpha\text{-amylase (\%)} = (A-B/A) \times 100$$

A= absorbance de l'enzyme avec l'extrait.

B= absorbance de l'enzyme sans l'extrait.

Aussi, les valeurs IC₅₀ sont calculés. Ils définie la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% de l'activité de l'enzyme.

IX. Réaction d'acylation

La méthode utilisée est celle décrit par Haida et al. (2020), avec quelques modifications. 5 mg de chaque méthanolique extraits sont dissous séparément dans 1ml d'anhydride acétique. 4 gouttes de pyridine sont ajoutées et le mélange est chauffé à 70°C pendant deux heures. Après refroidissement pendant une nuit, le mélange est hydrolysé en ajoutant 6 ml d'eau distillée avec agitation dans un bain d'eau glacée. La phase aqueuse est extraite trois fois avec 10ml de chloroforme, puis la phase organique est lavée avec une solution saturée de bicarbonate de sodium (Na₂CO₃), séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄) et évaporée sous pression réduite.

X. Analyse par GC-MS

Une analyse GC-MS a été réalisée sur une colonne capillaire Rxi-5 ms (30m×0). Le système fonctionne en mode d'impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV. La température d'injection est maintenue à 280°C, et la température d'injection de la source d'ions est maintenue à 250°C. la température initiale de la colonne est ajustée à 65°C pendant 10 min, une augmentation de la 1^{ère} 10°C/min à 80°C (ici 3 minutes), puis de la 2^{ème} 2°C/min à 300°C (ici 5 minutes). L'hélium est utilisé comme un gaz vecteur avec un débit constant de 1 ml/min.

le volume de la solution injectée est de 1.5ml. La structure des composés identifiés a été déterminée en étudiant leurs spectres de masse et confirmée grâce à la base de données de l'appareil. GC-MS a été réalisée à l'institut National de Recherche Agronomique.

XI. Analyse statistique

Les données obtenues ont été traitées à l'aide du logiciel IBM SPSS (version 22, USA). Tous les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm SD d'analyse en trois essais. Les valeurs de IC₅₀ sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe % inhibition en fonction de concentrations. Les courbes et les graphes ont été faits par les logiciels Excel et IBM SPSS.

La différence entre les moyennes est considérée statistiquement significative au seuil de 0,05 ($p < 0.05$).

Dans le cas des extraits de *Kleinia anteuophorbium*, pour calculer le pourcentage de la variation entre les facteurs étudiés à savoir le solvant, la méthode d'extraction et l'interaction solvant-méthode, une analyse de variance (ANOVA) univariée, suivie de post-hoc tests de Tukey, a été effectuée pour déterminer le facteur principal responsable de la variation des différents paramètres étudiés (TPC, TFC, TC, AA, AD et AB).

Pour les extraits de lichens, on a utilisé l'analyse de variance ANOVA one-way et la signification de la différence entre les moyennes a été considérée statistiquement significative, si $p < 0.05$.

Le test de corrélation de Pearson a été employé pour déterminer la relation entre l'ensemble des paramètres.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Etude ethnopharmacologie

I.1. Informations botaniques

Kleinia anteuphorbium, également appelée *Senecio anteuphorbium*, est une plante endémique du sud-ouest du Maroc, dans la région de Souss-Massa. Selon les résultats de l'enquête ethnobotanique, cette plante est connue dans la région par Achbardo.

I.1.a. Utilisations ethno-pharmacologiques

D'après les données collectées au cours de l'enquête, il a été démontré que *Kleinia anteuphorbium* est utilisé par la population locale pour des applications médicales. Les principales maladies traitées par *Kleinia anteuphorbium* étaient le rhumatisme (80 %), suivi d'infections cutanées (15 %), et le diabète. Pour la partie utilisée de la plante, tous les informants ont indiqué que les tiges sont utilisées dans les préparations médicales pour traitement de diverses maladies.

I.1.b. Mode de préparation

Pour faciliter l'administration du principe actif, différentes méthodes de préparations sont utilisées. Dans le **Tableau 3**, des informations sur les modes de préparation ont été incluses. Selon les résultats, les tiges peuvent être utilisées fraîches ou séchées en fonction de la maladie traitée.

Les tiges ont été écrasées et mélangées avec l'huile d'olive pour obtenir une pâte, qui est utilisée comme un topique pour soulager les douleurs du rhumatisme. Pour les infections cutanées, les tiges sont séchées et écrasées en poudre et appliquées sur les blessures. Ainsi, dans le traitement des diabètes, *Kleinia anteuphorbium* mise en poudre ou en suspension dans un peu d'eau.

Tableau 3: Mode de préparation des extraits

Elément traité	Voie administration	Méthode de préparation
Rhumatisme	Topique	Tiges fraîches mélangées avec l'huile d'olive et écrasées en pâte.
Infections cutanées	Topique	Tiges fraîches écrasées en pâte et appliquées sur les blessures infectées
Diabète	Orale	Tiges séchées, broyées en poudre et mélangées avec l'eau.

I.1.c. Analyse qualitative

La valeur d'utilisation (UV) met en évidence l'importance relative de *Kleinia anteupehorbium* chez la population locale de la région de Souss-Massa. Les données de l'analyse quantitative montrent que l'indice de valeur d'utilisation du *Kleinia anteupehorbium* est égal à 0.925 (Tableau). Le niveau de fidélité (FL) selon les résultats présentés dans le tableau varie de 80% à 5%. Le niveau de fiabilité le plus élevé est celui du traitement du rhumatisme (80 %), suivi de l'infection cutanée (15 %), puis du diabète (5 %).

Tableau 4: Résultats de l'analyse quantitative

Indice	Analyse quantitative	Les données analysées
Valeur d'usage (VU)	0,925	Importance relative parmi les habitants de Souss-Massa
Niveau de fidélité (%NF)	80	Rhumatisme
	15	Infections
	5	Diabètes

II. Etude phytochimique de *Kleinia anteupehorbium*

II.1. Analyse de la variance (ANOVA)

Une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée pour déterminer les effets principaux des facteurs étudiés (solvant et méthode d'extraction), ainsi que leurs interactions (S×ME) sur les rendements des différents extraits, le contenu en polyphénols (TPC) et en flavonoïdes (TFC).

Selon les résultats du **Tableau 5**, on constate que le solvant d'extraction a une influence significative sur le rendement d'extraction, TPC, TFC, la méthode d'extraction a également eu une influence significative, à l'exception du cas de TPC ($p > 0.05$), tandis que l'interaction entre la méthode d'extraction et le solvant est significative. Le solvant d'extraction était la principale source de la variation pour les trois variables étudiées (Rendement, TPC, TFC). Pour TPC et TFC, les effets de solvants étaient importants et expliquaient 83.2% et 97.9% de la variation totale respectivement. En revanche, l'effet de la méthode d'extraction et de l'interaction solvant \times méthode était moins important et la variance expliquée était très limitée pour les deux.

Tableau 5: Contribution relative des facteurs étudiés sur le rendement, TPC, TC, et TFC.

Source de variation	% de la variation total	P- value
Rendement		
Solvant (S)	2,23	$P < 0,001$
Méthode d'extraction (ME)	0,012	$P < 0,001$
Interaction (S \times ME)	0,18	$P < 0,001$
TPC		
Solvant (S)	83,22	$P < 0,001$
Méthode d'extraction (ME)	0,10	0,078
Interaction (S \times ME)	16,33	$P < 0,001$
TFC		
Solvant (S)	97,9	$P < 0,001$
Méthode d'extraction (EM)	1,4	$P < 0,001$
Interaction (S \times ME)	1,2	$P < 0,001$
TC		
Solvant (S)	90,42	$P < 0,001$
Méthode d'extraction (EM)	8,81	$P < 0,001$
Interaction (S \times ME)	0,77	$P < 0,001$

II.2. Rendements des extraits de *Kleinia antephorbium*

Les rendements des extraits de la partie aériennes obtenus par sonication et macération sont calculés par rapport au poids de la matière sèche du *kleinia antephorbium* L. Les rendements d'extractions sont exprimés en pourcentage (%) (**Tableau 6**).

Les méthodes d'extraction et les solvants utilisés ont permis d'obtenir des rendements qui sont différent d'un extrait à l'autre varient de 21,82 % à 13,7 %.

Les extraits aqueux ont des bons rendements, contrairement aux extraits méthanolique possèdent des rendements faibles par rapport aux autres extraits. Aussi, les extraits obtenus par macération ont montré des rendements élevés par rapport aux extraits obtenus par sonication pour le même solvant.

Tableau 6: Rendements des extraits de *Kleinia anteuphorbium*

Méthodes d'extraction	Rendement (%)		
	Extrait Méthanolique	Extrait Méthanol/eau	Extrait aqueux
Macération	15,6 ^c ±0,2	17,36 ^b ±0,3	21 ^a ,82±0,5
Sonication	13,7 ^c ±0,1	19,08 ^b ±0,13	20,78 ^a ±0,3

Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne ±SEM(n=3) a, b et c indiquent les groupes statistiques significativement différentes à (p<0.05).

Les résultats obtenus ont montré que le rendement d'extraction de la plante étudié, est affecté par le solvant d'extraction. Le solvant le plus polaire, eau possédait le rendement le plus élevé, tandis que le Méthanol provoquait le rendement le plus faible par rapport aux autres solvants utilisés. On constate que le rendement est meilleur quand la polarité du solvant augmente. Cette différence de rendement de différents extraits étudiés peut-être liés à la polarité des différents composés présents dans le matériel végétal.

Les résultats des autres études de Metrouh-Amir et al., (2015) sur *M. pubescens* une espèce appartient à la même famille des Asteraceae ne sont pas en alignés avec nos résultats, où l'extrait méthanolique présentait un rendement supérieur à l'extrait aqueux, aussi dans la même étude, ils sont trouvés que la combinaison entre eau et les solvants organique donnait des rendements plus élevés par rapport aux extraits obtenus par les solvants organiques absolus. Par contre nos résultats sont également en accord avec les résultats de Hossien and Zineb (2007), qui ont rapporté que l'extrait aqueux possédait le rendement le plus élevé par rapport à l'extrait méthanolique.

De même, Abd Elmageed Mohammed et al. 2020) ont trouvé que l'extrait aqueux de *Sonchus oleraceus* avait un rendement plus élevé comparé à l'extrait méthanolique. Selon les résultats actuels, nous pouvons conclure que la différence de rendement d'extraction est liée à la polarité des différents composés présent dans *kleinia anteuphorbium* L. D'autre part, la technique d'extraction a un effet sur le rendement des extraits, même si le solvant d'extraction est le facteur principal mais, généralement la macération avait des rendements plus élevés que l'extraction par ultrasons.

En générale, le rendement d'extraction des matériaux végétaux, dépend des paramètres des extractions : solvant, le temps, et la nature des composés présentent dans la plante.

II.3. Dosage des composés phénoliques

II.3.a. Dosage des polyphénols totaux (TPC)

La teneur en polyphénols des différents extraits de *Kleinia anteuphorbium* est exprimée en mg équivalent d'acide gallique (AG) par 100 g de matière sèche (**Figure 32**).

D'après les résultats obtenus, il ressort que l'extraits aqueux est le plus riche en polyphénols avec une différence significative ($p < 0.05$).

Les polyphénols sont un groupe principal des métabolites secondaires le plus réponsus chez les plantes. Ces composés sont responsables de la majorité des effets pharmacologiques des plantes tels que : effet anti-inflammatoire, antioxydant, antibactérienne, et antiviral (Batiha et al. 2020, Stromsnes et al. 2021, Chowdhury et al. 2024). Plusieurs études ont montré que les plantes appartiennent à la famille des Asteraceae, sont riche ont composés phénoliques (Sowa et al. 2020, Rolnik and Olas 2021, Piątkowska et al. 2022). Les résultats dans notre étude montrent que les solvants d'extraction ont un impact sur la teneur en polyphénols.

Les teneurs en polyphénols totaux (TPC) varient considérablement entre les extraits étudiés. D'après les résultats présentés dans la **Figure 32**, les extraits aqueux sont les plus riches en polyphénols suivis par les extraits hydro-méthanolique, contrairement aux extraits méthanolique présentent la teneur en polyphénols les plus faibles. Cela peut être attribué à la

différence de solubilité des composés dans les différents solvants utilisés. Cependant, l'eau et le méthanol sont deux solvants polaires et leur mélange extrait particulièrement les flavonoïdes glycosylés et les tannins (Seidel et al. 2008). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Vuong et al, qui ont observé que la plus grande quantité de composés phénoliques se trouvait dans l'extrait aqueux, tandis que la plus faible quantité était présente dans l'extrait méthanolique.

Aussi, Hang ngoc thuy et al (2015) ont rapporté dans leur étude que l'extrait aqueux

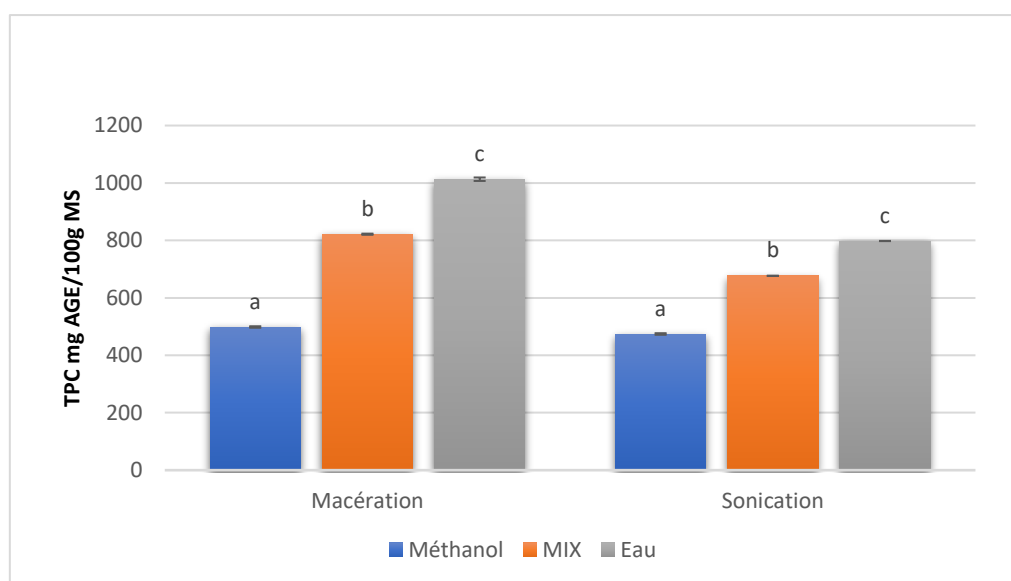


Figure 36: Teneurs en polyphénols de différents extraits de *Kleinia anteuphorbium* présente la grande teneur des composés phénoliques par rapport à l'extrait méthanolique. Par contre les résultats rapportés par Rezie et al (2007) n'étaient pas en accord avec notre résultat, ils ont trouvé que le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction la plus grande quantité des composés phénoliques.

II.3.b. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques les plus importants et les plus divers des composés naturels. Ces composés possèdent un large spectre d'activités chimiques et biologiques (Rice-Evans 2001). Les résultats concernant la teneur en flavonoïdes des divers extraits étudiés sont illustrés dans la **Figure 33**. Les données montrent que les extraits méthanolique obtenus par macération et/ou sonication sont plus riches en flavonoïdes qui égalent à (valeurs), et la quantité la plus basse a été enregistrée par les extraits aqueux (**Figure 33**)

D'après les résultats on constate que les extraits méthanolique contiennent le plus de flavonoïdes, malgré leurs faibles rendements d'extraction par rapport aux autres extraits. Cela peut être contribué à la faible solubilité des flavonoïdes dans l'eau. Les mêmes résultats sont obtenus par Chirinos et al. (2007) qui ont trouvés que le méthanol est le solvant d'extraction optimal pour des flavonoïdes. Par contre d'autres études ont trouvé que le mélange hydroalcoolique donne les teneurs en flavonoïdes les plus élevés par rapport à l'eau et les solvants organiques pures (Turkmen et al. 2007, Metrouh-Amir et al. 2015)

II.3.c. Dosage des tannins de *Kleinia anteuphorbium*

La teneur en tannins totaux dans les différents extraits de *Kleinia anteuphorbium* est évaluée et les résultats sont présents dans la figure et exprimés en mg équivalent de catéchine par 100 g de matière sèche. Les résultats ont montré que la teneur en tannins condensés dans

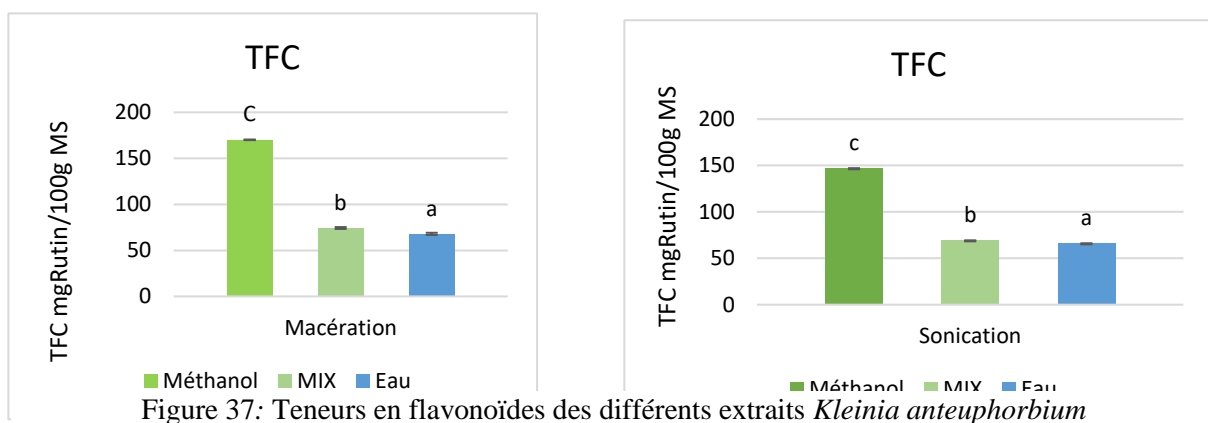


Figure 37: Teneurs en flavonoïdes des différents extraits *Kleinia anteuphorbium*

les extraits de *Kleinia anteuphorbium* présentait des différences significatives ($p < 0.05$) selon le solvant utilisé.

Les extraits méthanolique obtenus par macération et sonication présentent les quantités les plus élevés en tannins totaux qui sont de 162.44 mg EC/ 100g MS et 115.78 mg EC/100g MS respectivement, suivies par les extraits hydroalcooliques de macération et sonication avec des teneurs égales à 51.33 mg EC/ 100g MS et 24.67 mg EC/ 100g MS respectivement. Les autres extraits aqueux enregistrent les teneurs les plus faibles. La faible teneur en tannins condensés obtenue par les extraits aqueux peut être liée au fait que les tanins à poids moléculaire élevé se diffusent plus légèrement que les oligomères dans l'eau (Cheynier 2012). En effet, les conditions d'extraction peuvent également influencer la quantité des tannins présentés dans chaque extrait.

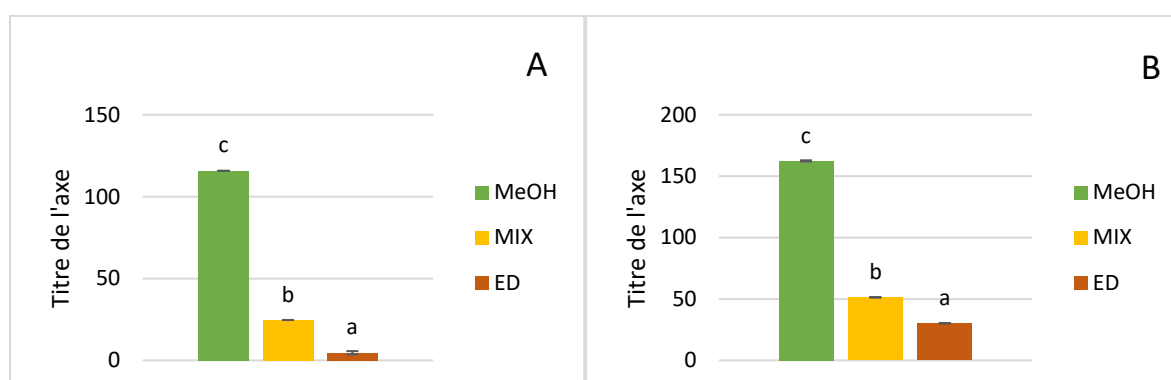


Figure 38: Teneurs en TFC de *Kleinia anteuphorbium*

Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM(n=3) a, b et c indiquent les groupes statistiques significativement différentes à ($p < 0.05$). A : Macération, B : Sonication

II.4. Evaluations biologiques des différents extraits

Dans la présente étude, l'activité antioxydante, antibactérienne et antidiabétique *in vitro* des extraits bruts de la plante médicinale aussi *Kleinia anteuphorbium* sont évaluées en vue d'éventuelles valorisations.

II.4.a. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'une substance se réfère à sa capacité à inhiber l'oxydation. En raison de la complexité des processus d'oxydation, aucune méthode universelle n'existe pour

évaluer cette activité. Généralement, il est indispensable de combiner les résultats de divers tests complémentaires afin d'obtenir une indication précise de la pouvoir antioxydante de l'échantillon analysé (Saint-Cricq de Gaulejac et al. 1999, Tabart et al. 2009).

Les extraits végétaux sont des combinaisons de divers composés, présentent des caractéristiques chimiques variées. Ainsi, il serait plus instructif et même indispensable d'adopter une approche basée sur des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits, afin de mieux comprendre les différents mécanismes impliqués (Öztürk et al. 2007, Gülçin 2009).

Dans cette étude, nous avons, utilisées deux méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des différents extraits : test de piégeage du radical DPPH et réduction de fer (FRAP). L'activité antioxydante des différents extraits de *Kleinia anteuphorbium*, ainsi que le standard, est illustrée sur le tableau.

II.4.a.i. Test de piégeage du radical DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée en mesurant leur capacité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, à une longueur d'onde de 515 nm. Le standard utilisé est l'acide ascorbique.

Il paraît que les différents extraits de *Kleinia anteuphorbium* ont un effet piègeur puissant sur le radical DPPH. Les résultats des analyses d'activité antiradicalaire montrent que le solvant et/ou la méthode d'extraction présente un effet significatif sur activité antiradicalaire ($p < 0.05$) et dépendante de la concentration.

D'après les données obtenus (**Tableau 7**), on remarque que les extraits obtenus par méthanol et/ou les extraits obtenus par le mixte méthanol-eau possédant une importante activité antiradicalaire, par contre les extraits obtenus par l'eau possédant une faible activité inhibitrice.

La présente étude révèle que les six extraits étudiés ont une activité antiradicalaire qui varie d'un extrait à l'autre. L'extrait hydroalcoolique (méthanol-eau 70%) obtenu par sonication possède l'effet piègeur le plus remarquable vis-à-vis du radical DPPH, suivi de l'extrait obtenu

par le même solvant, mais par macération, et enfin les deux extraits aqueux obtenus par les deux méthodes d'extraction (macération et sonication). Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Lahlou et al. (2014), qui ont rapporté dans leur étude sur des extraits de *Kleinia anteuophorbium* obtenus par différents solvants et différentes méthodes d'extraction que les extraits méthanoliques possèdent une activité antiradicalaire plus élevée par rapport aux extraits aqueux. Le fait que les extraits aqueux et organiques présentent une activité différente est souvent attribué au fait que les extraits des solvants organiques sont plus riches de métabolites secondaires polaires, de moyenne et faible polarité (Kintzios et al. 2010).

Il a été rapporté, dans plusieurs études sur les plantes aromatiques et médicinales, que les polyphénols sont principalement des composés responsables de l'activité antiradicalaire (Bors and Michel 2002, Dragsted 2003, Kiselova et al. 2006). Par contre, dans la présente étude, on remarque que les extraits qui possèdent des teneurs plus élevées en polyphénols ou flavonoïdes ne possèdent pas les meilleures activités antiradicalaires, peut-être que l'activité antiradicalaire des extraits de *Kleinia anteuophorbium* attribués à des autres métabolites secondaires.

II.4.a.ii. Pouvoir réducteur (Réduction de fer)

C'est une méthode rapide, facile et reproductible pour mesurer la capacité des substances de nos extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Karagözler et al. 2008). Les extraits contiennent des réducteurs qui réduisent le Fe^{3+} complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Ainsi, on peut évaluer le Fe^{2+} en observant l'augmentation de l'intensité de la couleur, qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'échantillon étudié. (Chang et al., 2008 ; Yadav et al., 2012).

Tous les extraits de *Kleinia anteuophorbium* possèdent un pouvoir réducteur remarquable et concentration-dépendant (Tableau). L'étude statistique ont montrés qu'il y'a une différence significative entre l'activité antioxydante des différents extraits étudiés ($p < 0.05$). L'extrait méthanolique de *Kleinia anteuophorbium* obtenu par macération ou par sonication a manifesté une meilleure activité antioxydante suivi par les extraits obtenus par le mixte méthanol-eau

70%, par contre les teneurs les plus faibles sont obtenus par les extraits aqueux. En comparant les résultats de la réduction de Fer de nos extraits avec celles des standards, on constate qu'aucun extrait n'a montré une meilleure activité que l'acide ascorbique.

Les extraits méthanolique de *Kleinia anteuophorbium* contiennent les teneurs en flavonoïdes les plus élevées, cela pourrait indiquer qu'il existe une corrélation entre leur contenu en flavonoïdes et leur activité réductrice. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Lahlou et al. (2014) qui ont trouvés une corrélation entre la teneur en flavonoïdes de *Kleinia anteuophorbium* et son activité réductrice. De plus, l'activité antioxydante a également été influencées par la méthode et les conditions d'extraction tels que : température, le temps et la polarité des solvants. (Robards, 2003).

Certains auteurs ont rapporté qu'il existe une relation entre l'activité antioxydante et la teneur totale en polyphénols (Miliauskas et al., 2004 ; Djeridane et al., 2006), tandis que d'autres n'ont trouvé aucune corrélation (Bajpai et al., 2005 ; Ruanma et al., 2010). La teneur phénolique totale ne représente pas tous les composés antioxydants de l'extrait, ce qui peut expliquer la relation incertaine entre la teneur en polyphénols et la capacité antioxydante (Tawaha et al., 2007). Les composés antioxydants peuvent présenter de fortes propriétés de chélation des métaux (Kähkönen et al., 1999). Ils agissent comme donneurs d'hydrogène, et des agents de réduction, en raison de leurs propriétés de redox (Pietta,200). La capacité antioxydante dépend de la teneur d'antioxydants dans l'extrait, de la structure et de l'interaction entre ces composés. (Rice-Evans et al., 1997 ; Bourgou et al., 2008).

Tableau 7: Activité antioxydante de différents extraits de *Kleinia anteuphorbium*

Extracts	DPPH (IC ₅₀ mg/mL)	FRAP (mgAAE /100g DW)
Mac -MeOH	0,38 ^b ±0,02	850,79 ^c ±1,7
Mac-MeOH/Eau	0,308 ^a ±0,03	380,29 ^b ±4,5
Mac-Eau	ND	338,69 ^a ±1,8
Son -MeOH	0,364 ^b ±0,03	734,87 ^c ±0,8
Son-MeOH/Eau	0,261 ^a ±0,06	346,26 ^b ±0,5
Son-Eau	ND	330,01 ^a ±0,9

II.5. Activité antibactérienne

L'étude qualitative de la capacité antibactérienne des différents extraits de *Kleinia anteuphorbium* est évaluée sur des souches bactériennes Gram négatives et Gram positives par la méthode de diffusion de disque en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

Le **tableau 8**, montre l'effet antibactérien avec les diamètres d'inhibition des extraits de la plante étudiée.

Tableau 8: Diamètre d'inhibition des extraits de la plante *Kleinia anteuphorbium* L. sur les différentes souches bactériennes.

Extraits	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Mac-MeOH	18±0,03 ^c	7±0,03 ^a	8±0,02 ^b	9±0,2 ^c
Mac-MeOH/Eau	12±0,05 ^a	10±0,03 ^b	15±0,05 ^c	7±0,6 ^b
Mac-Eau	15±0,05 ^b	12±0,04 ^c	6±0,7 ^a	6±0,5 ^a
Son -MeOH	19±0,1 ^c	8±0,07 ^b	7±0,9 ^a	8±0,4 ^b
Son-MeOH/Eau	15±0,02 ^b	8±0,8 ^b	7±0,31 ^a	5±0,9 ^a
Son-Eau	13±0,01 ^a	6±0,2 ^a	8±0,3 ^b	5±01,5 ^a

D'après Moreira et al. (2005), on considère qu'un extrait a un effet antibactérien lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 9 mm.

Dans la présente étude, l'effet des extraits de *Kleinia anteuphorbium* L contre des bactéries Gram positives et négatives a été testé. Les résultats montrent qu'il y a une différence significative ($p < 0.05$) entre les zones d'inhibition des bactéries testées, dépendant du solvant et de la méthode d'extraction utilisée. Les résultats présentés dans le tableau montrent que les extraits de *Kleinia anteuphorbium* L. ont un effet inhibiteur de la croissance de degrés variables contre souches bactériennes testées. Les résultats des zones d'inhibition révèlent que *Pseudomonas aeruginosa* apparaît sensible vis-à-vis des extraits testés, alors que la souche *Staphylococcus aureus* était plus résistante avec des diamètres d'inhibition ne dépassés pas 9 mm. Parmi les extraits testés, les extraits méthanoliques obtenus par macération et sonication ont montré l'effet le plus élevé avec *Pseudomonas aeruginosa*, pour *Escherichia coli* l'extrait aqueux obtenu par macération a montré un effet inhibiteur le plus élevé par rapport à les autres extraits, et pour *Klebsiella pneumoniae* l'extrait hydroalcoolique a montré effet le plus élevé, tandis qu'une très faible activité a été observé contre *Staphylococcus aureus* pour tous les extraits étudiés.

La résistance aux antibiotiques est souvent considérée comme un problème mondial qui met en danger la santé publique, et avec l'émergence de souches bactériennes qui résistent aux antibiotiques classiques et la rareté de nouveaux médicaments, la recherche scientifique a été poussée à ré-évaluer les produits naturels (Yan et al. 2021). Les plantes aromatiques et médicinales contiennent une large variété de composés avec des propriétés antibiotiques. Plusieurs études ont rapporté que l'effet inhibiteurs des plantes peut être attribué à leur composition phénolique (Álvarez-Martínez et al. 2020). Aussi, alcaloïdes provenant des plantes constituent un exemple de composés avec une activité antibactérienne intéressante en raison de leurs caractéristiques chimiques (Othman et al. 2019). Les terpènes constituent une importante

source de composés naturels bioactifs. Particulièrement en raison de leurs propriétés lipophiles, les terpénoïds sont devenus l'un des principaux types d'agents antimicrobiens contre différents micro-organismes (Sharma et al. 2020). Le traitement des infections bactériennes avec des plantes médicinales peut être une solution.

Kleinia anteupehorbium L. montre une activité contre les souches testées. Ces résultats sont originaux, dans la mesure où jusqu'ici aucune donnée publiée sur l'activité antibactérienne des extraits obtenus par des différents solvants et différentes méthodes d'extraction. Il s'agit donc, du premier résultat sur les effets antibactériens des différents extraits de cette espèce.

Néanmoins, des travaux antérieurs signalent des effets antimicrobiens d'huile essentielle de *Kleinia anteupehorbium* L. Elhedar et al., (2019) en étudiant l'activité antibactérienne d'huile essentielle, ont trouvé qu'il avait un effet plus marqué contre *S.aureus* et *P. aeruginosa*, avec des zones d'inhibition de 15 et 16 mm, tandis que *K. pneumonia* reste la bactérie la plus résistante, avec un diamètre de 8 mm. Cependant, il est difficile de comparer ces résultats à ceux de la présente étude, car ici les auteurs étudient l'effet antibactérien d'huile essentielle. Néanmoins, ces résultats ne sont pas en accord avec les nôtres. Dans le cas des extraits, *S. aureus* est la bactérie la plus résistante.

Bien que la littérature suggère que les bactéries Gram-positives sont généralement plus sensibles aux polyphénols et que les bactéries Gram-négatives sont généralement plus difficiles à inhiber, en raison de la présence d'une membrane externe lipophile contenant des niveaux élevés de phospholipides. Ce site rend la paroi cellulaire imperméable qui tend à empêcher l'entrée des inhibiteurs (Panda et al. 2018). Dans notre étude les extraits étudiés ont montré une activité contre les bactéries Gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella pneumonia*), par contre *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) a montré une résistance à tous les extraits testés.

Barral-Martinez et al. (2022) ont rapporté que les extraits de *Chamaemelum nobile* et *Arnica montana* deux plantes appartient à la famille des Asteraceae était actif contre les bactéries Gram-négative et inactive contre les bactéries Gram-positive. Mozirandi and Mukanganyama, (2017) ont rapporté que les extraits de *Vernonia adoensis* (Asteraceae) étaient plus efficaces contre *P. aeruginosa* que contre *S. aureus*. Ces résultats sont en accord avec les nôtres.

In contraste, Surco et al. (2022) ont rapporté que les extraits de *Senecio nutans* (Asteraceae) étaient actifs contre les souches Gram positives at mois contre les souches Gram-négatives.

Ces différences observer entre les extraits des plantes même si sont appartient à la même famille peut être attribuer aux différences de la composition photochimique de chaque plant et aussi, à l'efficacité des conditions d'extraction tel que : solvant, méthode choisie pour extraire des molécules bioactives avec des propriétés antibactériennes.

De plus, les caractéristiques physicochimiques des souches utilisées et des composés phytobiotiques ont une influence sur l'activité antimicrobienne des extraits des plantes(Sari et al. 2006) . Selon Kalemba and Kunicka(2003), la composition chimique a un lien avec l'activité antimicrobienne. Ils ont classé les molécules chimiques en fonction de leur importance en termes d'activités biologiques, en les classant comme suit : phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éthers et hydrocarbures.

Activité antidiabétique *in vitro*

Dans la présente étude, nous avons évalué l'activité antidiabétique de *K. anteuphorbium* L. et identifier les meilleures conditions (solvant et méthode d'extraction) pour avoir les meilleurs résultats. Nous avons utilisé l'amidon comme substrat, principalement pour sa disponibilité, son faible coût et surtout pour la facilité et le dosage par photométrie. L'Acarbose, un inhibiteur commercialement reconnu de α -glucosidase, est un pseudo-tétrasaccharide (analogues de sucres).

Les pourcentages d'inhibition de α -amylase des différents extraits sont présentés dans le **Tableau 9** et la concentration inhibitrice de 50% de l'activité enzymatique (IC₅₀) est calculée et présentée dans la **Figure 35**.

Les résultats montrent que les extraits de *Kleinia anteuphorbium* possèdent une activité antidiabétique. D'après les résultats, il ressort que le pourcentage d'activité inhibitrice vis-à-vis de l'enzyme α -amylase est dose-dépendant. L'extrait aqueux obtenu par macération a fait apparaître une forte activité inhibitrice avec une faible IC₅₀ égale à 2.49 mg/ml. Les extraits aqueux présentent des IC₅₀ significativement inférieurs (lettre a) par rapport aux extraits méthanolique et hydroalcoolique, qui ne diffèrent pas significativement entre eux (lettre b). Cette tendance est observée à la fois pour les extraits obtenus par macération et par sonication.

Tableau 9: Pourcentage d'inhibition de l' α amylase des différents extraits de *Kleinia antephorbium*.

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)						
	Macération			Sonication			Acarbose
	MeOH	MeOH (70%)	Eau	MeOH	MeOH (70%)	Eau	
5	58,07±3,15	53,84±0,47	61,68±1,63	52,82±1,46	52,73±1,25	55,40±1,49	68,2.8±3,2
2	50,91±0,93	50,46±0,67	55,19±2,31	42,51±0,52	33,20±1,98	48,66±0,77	57,27±2,08
1	42,75±3,86	42,65±0,35	47,55±2,90	29,32±1,28	29,71±1,16	36,33±0,81	43,22±3,12
0.5	37,49±1,05	31,06±2,67	27,19±2,3	21,69±0,59	21,95±0,38	22,82±0,94	28,68±3,4

Les lettres au-dessus des barres indiquent les groupes significativement différents ($p < 0.05$)

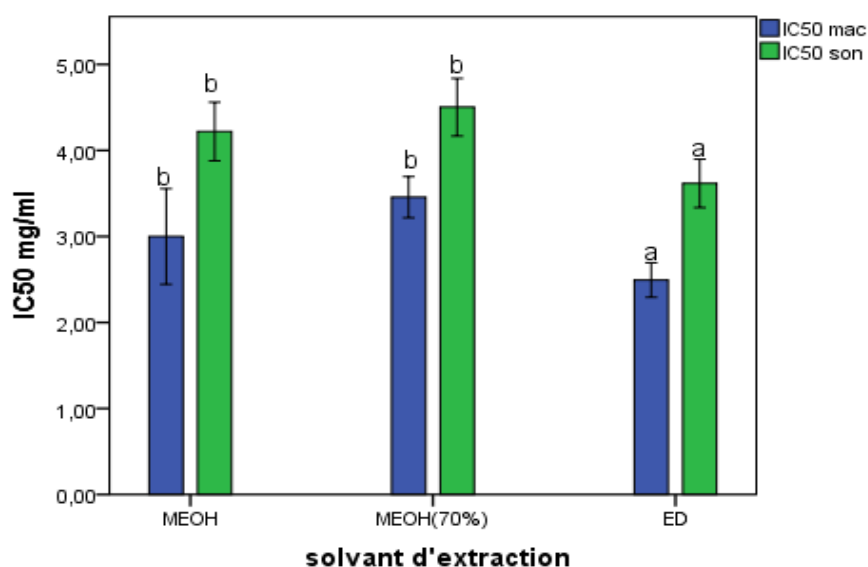


Figure 39: IC50 des extraits de *k. antephorbium*

Le diabète est un trouble métabolique qui se manifeste par une hyperglycémie, soit par une diminution de la sécrétion d'insuline (déficit en insuline), soit par une altération de l'action de l'insuline (résistance à l'insuline) (Choi et al. 2005). En 2016, la Fédération internationale du Diabète (FID) estime qu'environ 435 millions de personnes à travers le monde étaient atteintes de diabète de type II.

La dégradation de l'amidon en sucres simples est principalement effectuée par l' α -amylase et β -glucosidase. Même si ces enzymes n'ont pas été directement liées à l'origine du diabète, les inhibiteurs d' α -amylase et β -glucosidase ont été perçus comme améliorants de la

tolérance au glucose chez les patients atteints diabétiques. Depuis quelques années, de nombreuses recherches ont été menées pour trouver des agents hypoglycémiques efficaces, dans le but d'améliorer la gestion du diabète.

Les plantes utilisées dans les médecines traditionnelles se sont révélées être des sources précieuses de composés et de préparations phytothérapeutiques pour l'élaboration de nouveaux médicaments antidiabétiques. (Eruygur et al. 2019).

D'après les résultats obtenus de l'étude *in vitro* de l'effet inhibiteur de l' α -amylase par les différents extraits étudiés, comparés à ceux de l'acarbose comme molécule de références, nous montrons que les extraits aqueux possèdent une activité inhibitrice importante dose-dépendante par rapport aux autres extraits. Ces résultats peuvent justifier l'utilisation de *K. anteuophorbium* L, par la population locale comme plante hyperglycémiantes. Plusieurs études ethnobotaniques et pharmacologiques est documenté *K. anteuophorbium* L étant plante médicinales utilisées pour traiter le diabète (Ouhaddou1 et al. 2020).

Dans la présente étude, on remarque que les extraits aqueux avec les plus teneurs phénoliques avaient également la plus forte activité inhibitrice contre l'enzyme α -amylase. Cela suggère que les composés phénoliques ont un effet antidiabétique positif combiné. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Atanu et al., (2022), qui ont trouvé que l'effet inhibiteur de l' α -amylase est en relation avec la teneur élevée en polyphénols.

Les composés phénoliques ont un grand potentiel fonctionnel (de Araújo et al. 2019, de Paulo Farias et al. 2020). La bioactivité des composés phénoliques est principalement liée à leur capacité à inhiber les espèces réactives, à transmettre des électrons aux radicaux libres, à réguler le microbiote intestinal ou même activer antioxydantes (de Araújo et al. 2021). De plus, des études scientifiques suggèrent que ces composés ont des propriétés anti hyperglycémiantes, étant considérés comme des agents protecteurs avec un potentiel thérapeutique la gestion du diabète et de ses complications. (Gowd et al., 2020 ; Miranda Pedroso et al., 2019).

A notre connaissance, il n'y a pas encore eu d'étude sur les extraits chez ces espèces étudiées pour l'activité inhibitrice de l' α -amylase. Néanmoins, des travaux antérieurs signalent que certaines espèces du même genre qui appartient à la même famille Asteraceae manifestent une activité antidiabétique. Parmi lesquels, Tundis et al.,(2012) ont trouvé qu'un extrait méthanolique de *S. stebianus* possède une importante et sélective inhibition de l' α -amylase, avec une IC50 de 0.29mg/ml. Conforti et al., (2006) dans leur étude sur l'activité antidiabétique des extraits méthanoliques de deux espèces de Senecio, ont noté que les espèces étudiées *S. inaequidens* et *S. vulgaris* présentaient une activité inhibitrice de l' α -amylase de 93% et 82% respectivement à une concentration de 1mg/ml.

Dans la présente étude, on remarque que les conditions d'extraction ont un impact sur l'activité antidiabétique. Les extraits obtenus par macération montrent une activité inhibitrice plus élevée par rapport aux extraits obtenus par sonication. Les activités biologiques des plantes médicinales dépendent de plusieurs facteurs, à savoir la méthode de préparation de l'extraits, le solvant utilisé et la solubilité des molécules bioactives dans le solvant choisi et l'espèce de la plante.

II.6. L'analyse de GC-MS

Les résultats de l'analyse de GC-MS de l'extrait méthanolique de *Kleinia anteupehorbium* sont présentés dans le **Tableau 10** et la **Figure 40**. L'identification des différents constituants chimiques probables de l'extrait méthanolique étudié est réalisée grâce à la comparaison de leurs temps de rétention, en se basant notamment sur la base de données de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). L'analyse par GC-MS a révélé la présence de 38 composés. Les composés majoritaires étaient 1-Decence,3,4-dimethyl avec un pourcentage de 56,63%, Germaniocol et Lupéol avec un pourcentage de 11,36% et 8,31% respectivement. De plus, m'analyse a révélé la présence de deux alcaloïdes 1H-Pyrazol,5-(t-butyl) -3-phenyl- et 2-Pyrrolidinone,5-(cyclohexylmethyl), bien que ces composés soient présents en petites

quantités, avec des concentrations maximales de 0.282% et 0.06% respectivement. De plus, les composés phénoliques Propyl gallate (0,32%) ont été identifiés en quantité modeste.

Tableau 10: Profil des composés majeurs (<1%) de l'extrait méthanolique de *Kleinia anteuphorbium* et leurs valeurs m/z.

N° pic	Nom du composé	Formule brute	M/Z	% de molécule
6	2-Carene	C10H16	136	4,22 %
23	1-Decene, 3,4-dimethyl-	C12H24	168	56,63 %
24	Cytidine, 5-methyl-	C10H15N3O5	259	1,12 %
26	D-Glucose, 2,3,4,5,6-pentaacetate	C16H22O11	390	3,36 %
29	Isolongifolene, 4,5,9,10-dehydro-	C15H20	200	6,57 %
32	Dodecanoic acid, methyl ester	C13H26O2	214	1,13 %
36	1,1,6-trimethyl-3-methylene-... (nom tronqué)	C33H56	452	1,41 %
37	Germanicol	C30H50O	426	11,36 %
38	Lupeol	C30H50O	426	8,31 %

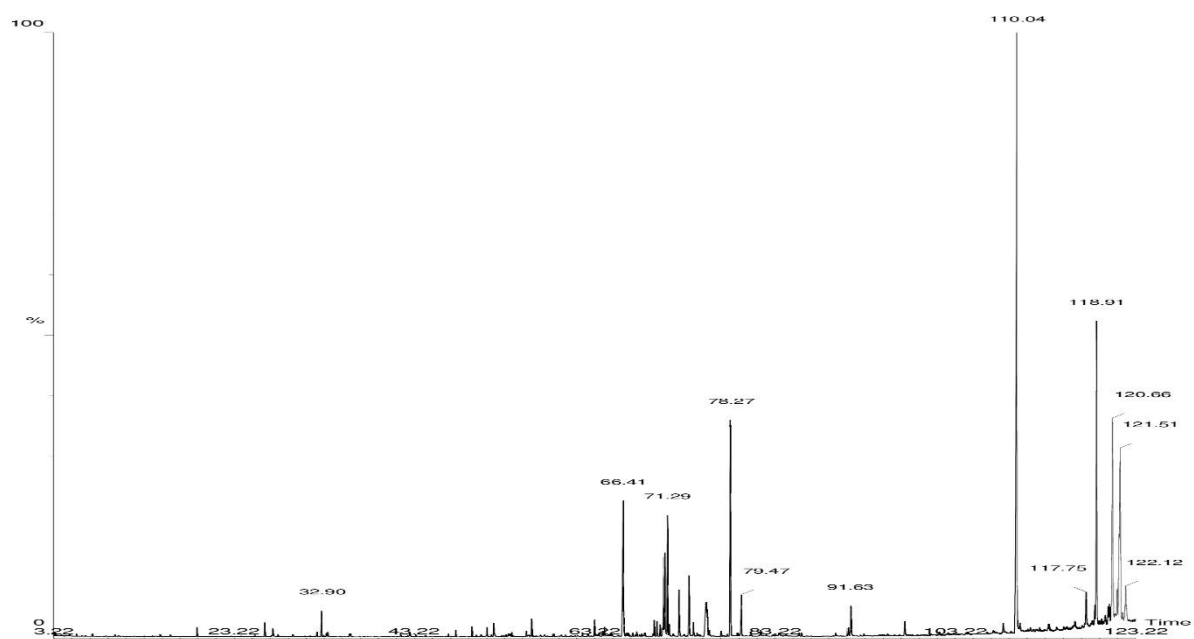


Figure 40: Chromatogramme GC-MS de l'extrait méthanolique de *K. anteuophorium*

La GC-MS est une technique analytique puissante largement utilisée pour identifier les métabolites secondaires des plantes aromatiques et médicinales. L'étude de l'extrait méthanolique de *Kleinia anteuophorbium* a révélé qu'il est constitué d'une variété de composés chimique, en totale 38 composés ont été identifiés. Ces composés sont appartenus aux différentes classes tels que ; les esters, les alcools, les terpènes des hydrocarbures, ainsi que des d'autres composés tels que des triterpènes et des alcaloïdes.

Certaines des composés identifiés par GC-MS dans la présente étude ont des activités biologiques potentiels. Plus précisément, Lupéol et Germanicol sont des triterpenoides qui ont des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes at anti-cancéreuse. Plus précisément, Lupéol est reconnu pour sa capacité à inhiber la croissance tumorale et prévenir le stress oxydatif.

Le phénol,2,4-bis-(1.1-diméthylethyl) est connus pour ses propriétés antioxydantes. Aussi les terpènes tels que 2-Carene et isolongifolene ont des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anti-cancéreuses. De plus, l'Astaxanthine est connu pour ses propriétés antioxydantes at anti-inflammatoires puissantes. Pyrrolidinone possède une activité antioxydante et anti- cancéreuses potentielle.

Analyse GC-MS d'extraits aqueux

L'analyse par GC-MS de l'extrait aqueux de *K. anteuophorbium* a révélé la présence de 42 composés, comprenant des acides gras, des composés phénoliques, des triterpènes et d'autres molécules. Les composés majoritaires étaient : Acide n-hexadécanoïque (Acide palmitique), avec un pourcentage de 15.078%, Hexadécanoate de 1-(1-méthyléthyl) -1,2-éthanediyl, Phénol,2,4-bis(1.1-diméthyléthyl), et Acide octadécanoïque avec des pourcentages de 10.569, 10.005, 7.283%, respectivement. (**Tableau 11 et Figure 41**).

Tableau 11: Résultats de l'analyse de GC-MS de l'extraits aqueux de *K. anteuphorbium*

N° pic	Nom du composé	Formule brute	% de molécule	Masse moléculaire (m/z)
4	Benzaldehyde, 2,4-dimethyl-	C9H10O	5,679 %	134
5	2H-Pyran-2,6(3H)-dione	C5H4O3	1,441 %	112
8	Diethyl adipate	C10H18O4	2,265 %	202
10	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	C14H22O	10,005 %	206
11	Undecane, 3,8-dimethyl-	C13H28	1,709 %	184
14	Tetradecane, 1-iodo-	C14H29I	2,695 %	340
18	Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	C18H36O2	2,660 %	284
19	n-Hexadecanoic acid	C16H32O2	15,078 %	256
20	Phenol, 2,4,6-tris(1-methylethyl)-	C15H24O	1,659 %	220
21	1,4-Benzenediol, 2-methoxy-, diacetate	C11H12O5	6,284 %	224
23	Sebacic acid, but-2-enyl butyl ester	C18H32O4	1,124 %	312
24	Octadecanoic acid	C18H36O2	7,283 %	284

25	Eicosanoic acid, ethyl ester	C22H44O2	3,226 %	340
27	Tributyl acetylcitrate	C20H34O8	5,750 %	402
30	Octadecanoic acid, 3- hydroxypropyl ester	C21H42O3	5,600 %	342
31	Heneicosyl acetate	C23H46O2	1,016 %	354
34	9- Octadecenamide	C18H35NO	1,171 %	281
35	Squalene	C30H50	1,147 %	410
41	Rhodopin	C40H58O	1,305 %	566
42	Hexadecanoic acid, 1-(1- methylethyl)-1,2- ethanediyl ester	C37H72O4	10,569 %	596

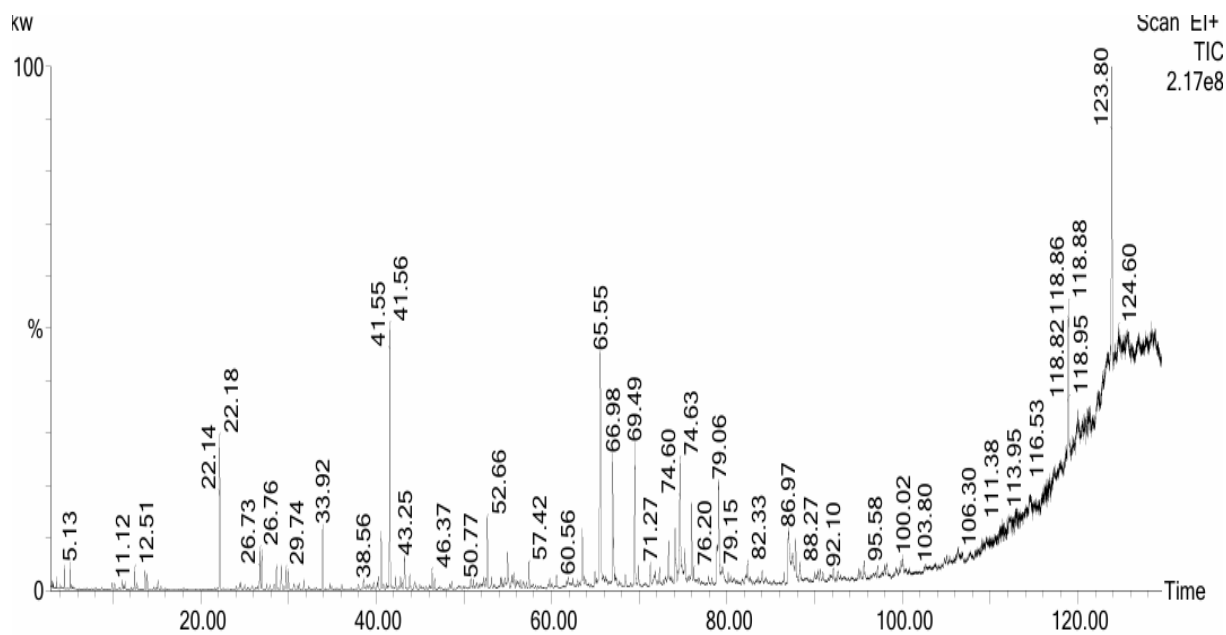


Figure 41: Chromatogramme GC-MS d'extrait aqueux de *K. anteuophorbium*

Les résultats montrent que l'extrait aqueux obtenu par macération de *K. anteuophorbium* est riche en composés bioactifs. L'extrait contient un complexe de composés variés et complémentaires qui possèdent plusieurs activités biologiques. Parmi les activités biologiques les plus représentées, on trouve l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, et anticancéreuse.

Le phénol comme le phénol,2,4-bis (1,1-diméthylethyl) qui possède des propriétés antipathogéniques (Ren et al., 2019). Aussi, le phénol,2,4-bis (1,1-diméthylethyl) possède des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anticancéreuses (Fridayanti et al., 2022). Aussi, 1,4-Benzendiol,2-méthoxy-, diacétate, un composé phénolique qui possède un effet inhibiteur des enzymes digestives des glucides, contribuant au contrôle de la glycémie.

Squalène, un triterpène possède des effets antioxydants et anti-inflammatoires significatifs, (Lou-Bonafonte et al., 2018). Aussi, Squalène réduit la prolifération des cellules tumorales en modulant les voies métaboliques et oxydatives. (Reddy and Couvreur, 2009).

Les caroténoïdes comme Rhodopin inhibent la croissance des cellules cancéreuses (Linnewiel-Hermoni et al., 2015). Et possèdent des propriétés protectrices contre les

dommages oxydatifs (Stahl and Sies, 2003). Ainsi, grâce à leur effet antioxydant et leur capacité à moduler l'expression des gènes.

Citrulline, est un acide aminé agit sur le métabolisme de l'oxyde nitrique, renforçant la réponse immunitaire et améliorant la circulation sanguine. (Papadia et al., 2018).

Longiverbenone est un sesquiterpène possède des activités antimicrobiennes reconnue, efficace contre des pathogènes résistants. (Rahman and Anwar, 2008).

II.7. Corrélation

Les coefficients de corrélation entre l'activités antioxydante, antidiabétique et la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins condensés pour tous les différents extraits de *Kleinia anteuophorbium* sont présentées dans le **Tableau 12**. D'après les résultats il existe une forte et positive corrélation entre l'activité antioxydante, la teneur en flavonoïdes et la teneur en tannins condensées. Par contre dans le cas des polyphénols et l'activité antioxydante la corrélation été négative.

Pour l'activité antidiabétique (AD), il existe une corrélation modes enter la teneur en polyphénols et l'activité antidiabétique ($r=0,529$). Cependant, il n'y avait pas de corrélation directe entre les teneurs en flavonoïdes et tannins condensées.

Tableau 12: Matrix de corrélation

Variables	TPC	TFC	TC	DPPH	FRAP	AD
TPC	1	-0,664*	-0,691**	-0,930**	-0,672**	0,529*
TFC	-0,664*	1	0,977***	0,707**	1,000***	-0,021
TC	-0,691**	0,977***	1	0,761**	0,979***	0,034
DPPH	-0,930**	0,707**	0,761**	1	0,712**	-0,446
FRAP	-0,672**	1,000***	0,979***	0,712**	1	-0,023
AD	0,529*	-0,021	0,034	-0,446	-0,023	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

** $P<0.5$, ** $p<0.01$, *** $p<0.01$

La corrélation est un élément important dans les études phytochimiques des plantes aromatiques et médicinales, car elle permet d'établir des liens entre différents paramètres d'études chimiques, biologiques et pharmacologiques. On a calculé le coefficient de corrélation de Pearson afin de déterminer le lien entre les activités antioxydante, antidiabétique et les contenus de composés phénoliques, flavonoïdes et tannins.

La matrice de corrélations montre qu'il existe une corrélation positive et significative entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes. Ces résultats suggèrent que les

flavonoïdes pourraient être parmi les composants principaux responsables de l'activité antioxydante. Les flavonoïdes représentent une classe de composés phénoliques qui possèdent des propriétés antioxydantes importantes. L'activité antioxydante des flavonoïdes dépend de la structure et du schéma de substitution des groupes hydroxyles.

Aussi, les tannins montrent une corrélation positive et significative avec l'activité antioxydante. La structure chimique des tannins leur permet de lier se aux protéines et aux métaux lourds, ce qui leur permet de neutraliser les radicaux libres et, par conséquent, réduire les dommages oxydatifs.

Dans le cas de la teneur en polyphénols, les résultats montrent qu'il existe une forte corrélation négative entre l'activité antioxydante évaluée par DPPH ($r = -0,939$) et FRAP ($r = -0,672$). Ce qui indique, qu'il y a une relation inverse entre les polyphénols et l'activité antioxydante. Alors, ces résultats suggèrent que possible les polyphénols de *Kleinia anteuphorbium* ne contribuent pas directement ou positivement à l'activité antioxydante.

Plusieurs études ont rapporté qu'il y a une relation entre l'activité antioxydante et les teneurs en polyphénols (Miliauskas et al. 2004). D'autre part, il existe d'autres étude qui expliquent que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais de la présence des autres métabolites secondaires (Bajpai et al. 2005). En revanche, le TPC possible inclut des composés qui n'ont pas d'effet significatif sur l'activité mesurée par DPPH et FRAP (Tawaha et al. 2007).

Kenny et al., (2014), dont leurs études sur l'activité antioxydante des plants de la famille des Asteraceae, ont trouvé une corrélation élevée et positive entre TPC et l'activité antioxydante évaluée par DPPH ($r = 0,897$, $p < 0,05$) et FRAP ($r = 0,920$, $p < 0,05$), ce qui n'est pas en accord avec notre résultat.

Pour l'activité antidiabétique, le matrice de corrélation montre une corrélation modeste mais significative entre la teneur en polyphénols et l'activité antidiabétique. Par contre, aucune

corrélation n'a été montrée entre la teneur en flavonoïdes ou en tannins et l'activité antidiabétique. Ces résultats suggèrent que les flavonoïdes et les tannins ne sont pas les composés responsables de l'activité antidiabétique des extraits de *Kleinia anteuophorbium*.

Plusieurs études ont rapporté que les polyphénols ont un rôle important dans la prévention et le traitement du diabète de type II (Sun et al. 2022a). Les polyphénols ont la capacité de neutraliser les radicaux libres, par conséquent de réduire le stress oxydatif, qui est un facteur contribuant au développement du diabète (Umeno et al. 2016). Aussi, il y a des autres études ou aucune corrélation n'a été trouvée entre la puissance inhibitrice et le taux de polyphénols. Selon une étude de Nikavar et al., (2008), il n'y a pas eu une corrélation entre la capacité inhibitrice de l' α -amylase et la teneur en polyphénols des espèces de *Salvia iraniennes*.

Tableau 13: Matrice de corrélation de l'activité antibactérienne et TPC, TFC, TC

Variabes	TPC	TFC	TC
TPC	1	-0,664*	-0,691*
TFC	-0,664*	1	0,977***
TC	-0,691*	0,977***	1
<i>E. coli</i>	0,056	0,083	0,146
<i>K. pneumonia</i>	-0,412	-0,229	-0,106
<i>S. aureus</i>	-0,647*	0,865**	0,919***
<i>P. aeruginosa</i>	-0,257	0,805**	0,691**

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

P<0.5, **p<0.01, *p<0.01

Les résultats présentés dans le **Tableau 13** montrent qu'il y a une corrélation positive significative entre *S. aureus* et la teneur en flavonoïdes, et en tannin ($r=0,865$ et $r=0,919$ respectivement). Aussi, la corrélation entre TFC, TC et *P. aeruginosa* est positive ($r=0,805$ et $r=0,691$ respectivement). Par contre dans le cas de *E. coli* et *K. pneumonia* il n'existe aucune corrélation entre eux et TPC, TFC, et TC. D'après les résultats il peut suggérer que les flavonoïdes et tannins sont les composés responsables de l'activité antibactérienne contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*.

III. Etude phytochimique de lichens

III.1. Rendements des extraits des lichens

Les rendements des extraits lichéniques obtenus par sonication avec des différents solvants de polarité différentes sont représentés au **Tableau 14**. Les rendements d'extraction varient de 3,32% à 10,46%, dans laquelle pour les deux espèces étudiées, les rendements de l'extraits méthanolique ont les plus élevé avec des valeurs de 10,46 % pour l'extraits méthanolique de *E. prunastri* et 10,032% pour l'extraits méthanolique de *R. lacera*. Par contre les extraits d'acétone ont les plus faibles rendements d'extraction avec un pourcentage de 3,32% et 5,78% pour *E. prunastri* et *R. lacera* respectivement.

Tableau 14: Rendements des extraits de lichens.

Extraction par sonication	Rendement (%)		
	Extrait Acétonique	Extrait Méthanolique	Extrait Aqueux
<i>Evernia prunastri</i>	3,32 ^a ±0,7	10,46 ^c ±1,2	6,7 ^b ±0,8
<i>Ramalina lacera</i>	5,78 ^a ±0,8	10,032 ^c ±0,14	8,67 ^b ±1,3

Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne ±SEM(n=3) a, b et c indiquent les groupes statistiques significativement différentes à (p<0,05).

La présente étude a montré que les rendements d'extraction de lichens est influencé par le solvant d'extraction. Ces variations peuvent être dues à la répartition différentielle des métabolites secondaires, qui peuvent être dues aux facteurs génotypes qui commandent l'accumulation de ces composés dans les espèces (Cardoso et al. 2019). Aussi les réactifs spécifiques utilisés, la variété, la saison de récolte, la maturité d'espèce, et la solubilité dans le solvant d'extraction peuvent évidemment influencer le rendement d'extraction. (Belwal et al., 2020 ; Teng and Choi, 2012 ; Torres-Benítez et al., 2023).

III.2. Dosage des composés phénoliques des lichens

III.2.a. Dosage des polyphénols

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits sont présentés dans le **Tableau 15**. Cette teneur varie de $13,17 \pm 0,5$ à $6,20 \pm 0,01$ pour *Evernia prunastri*, et de $12,10 \pm 0,2$ à $3,31 \pm 0,03$ pour les extraits de *Ramalina lacera*. D'après les résultats, la teneur en polyphénols totaux pour la même espèce obtenue avec différents solvants utilisés a été significativement différente ($p < 0,05$). Pour les deux espèces étudiées, la teneur la plus élevée a été obtenus par l'acétone, par contre l'eau donne la teneur la plus faible.

Il est probable que la variation des concentrations en polyphénols due à la différence en composés phénoliques des extraits, les conditions biotiques tel que : espèce, plante hôte, organe ou état physiologique, ainsi que les conditions abiotiques : la saison, climat et température. (Mounira, 2015). Selon Behera et al., (2009) la teneur en polyphénols totaux d'un extrait lichénique varie en fonction de la nature de l'espèce, des conditions d'extraction, du solvant utilisé, ainsi que de la méthode d'extraction utilisée.

Tableau 15: Teneurs en polyphénols totaux de *Evernia prunastri* et *Ramalina lacera*

Extraits	Teneur en polyphénols totaux en mg AGE/g MS	
	<i>Evernia prunastri</i>	<i>Ramalina lacera</i>
Extraits d'acétone	$13,17^c \pm 0,5$	$12,10^c \pm 0,2$
Extraits de méthanol	$7,73^b \pm 0,25$	$5,22^b \pm 0,2$
Extraits aqueux	$6,20^a \pm 0,01$	$3,31^a \pm 0,03$

III.2.b. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des différents extraits étudiés a été déterminée selon la méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$, qui est une méthode simple, peu couteuse et offre une bonne sensibilité. Il ressort des résultats obtenus (**Tableau 16**) que les extraits méthanolique sont les plus riche en flavonoïdes par rapport aux extraits d'acétone et aqueux. Aussi l'étude statistique

a montré qu'il n'y a pas une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes obtenus par acétone ou l'eau pour les deux espèces, par contre la teneur en flavonoïdes totaux pour la même espèce obtenue avec méthanol a été significativement différente des teneurs en flavonoïdes obtenus par acétone et l'eau ($p < 0,05$).

La solubilité des flavonoïdes dans les extraits d'une espèce végétal est corrélée à la polarité du solvant d'extraction, ainsi qu'au nombre et à la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et à la glycosylation. (Mohammedi et Atik, 2011; Iloki-Assanga et al., 2015).

Tableau 16: Teneurs en flavonoïdes totaux de différents extraits de *E. prunastri* et *R. lacera*

Extraits	Teneurs en flavonoïdes totaux de différents	
	<i>Evernia prunastri</i>	<i>Ramalina lacera</i>
Extraits d'acétone	0,12 ^a ±0,01	0,06 ^a ±0,1
Extraits de méthanol	5,84 ^b ±0,03	3,97 ^b ±0,3
Extraits aqueux	0,05 ^a ±0,03	0,01 ^a ±0,03

III.3. Activité antioxydante des lichens

III.3.a. Activité antiradicalaire des différents extraits de lichens

Les résultats de la capacité anti-radicalaire des différents extraits de lichens sont présentés dans la **figure 42**.

Pour *Evernia prunastri*, la capacité antiradicalaire la plus élevée a été obtenue par l'extrait méthanolique avec un pourcentage d'inhibition égal à 61,59±0.3 %, suivi de l'extrait aqueux (30,14±0,7%), tandis que la capacité la plus faible est attribuée à l'extrait acétonique. Statistiquement, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les pourcentages d'inhibition des extraits aqueux et acétonique, tandis qu'il y a de différence significative ($p < 0,05$) entre les pourcentages obtenus par les extraits aqueux, d'acétone et les pourcentages obtenus par méthanol.

Nos résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *Evernia prunastri* présente la capacité antiradicalaire la plus élevée par rapport aux autres extraits. Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus par Aoussar et al. (2017), qui ont rapporté dans leur étude sur *Evernia prunastri* récolté de la région de Khenifra, que l'extrait d'acétone possède la capacité antiradicalaire la plus élevée à l'extrait méthanolique. Ces différences entre nos résultats peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. L'activité antioxydante dépend de plusieurs facteurs, à savoir la région de récolte, le temps de récolte, et les conditions d'extraction choisies (Brglez Mojzer et al. 2016, Yang et al. 2018, Chen et al. 2021, Zakraoui et al. 2023).

Dans le cas de *Ramalina lacera*, les résultats de l'étude statistique ont montré qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les pourcentages d'inhibition obtenus selon le solvant utilisé. L'extrait méthanolique a montré la plus haute capacité de piégeage de radical de DPPH avec un pourcentage égal à $85,59 \pm 0,2$ %, par contre la capacité la plus faible a été obtenue par l'extrait aqueux avec un pourcentage égal à $27,98 \pm 0,6$ %.

En comparant nos résultats avec les données bibliographiques sur l'activité antioxydante des lichens du genre *Ramalina*, nos résultats sont très bons. Par exemple, (Raphael and Clair 2013) ont documenté dans leur étude que l'extrait méthanolique de *Ramalina pollinarea* n'avait aucune capacité antiradicalaire.

Cependant, la capacité antiradicalaire de l'acide ascorbique ($97,65 \pm 0,6$ %) en était supérieure à tous les extraits étudiés.

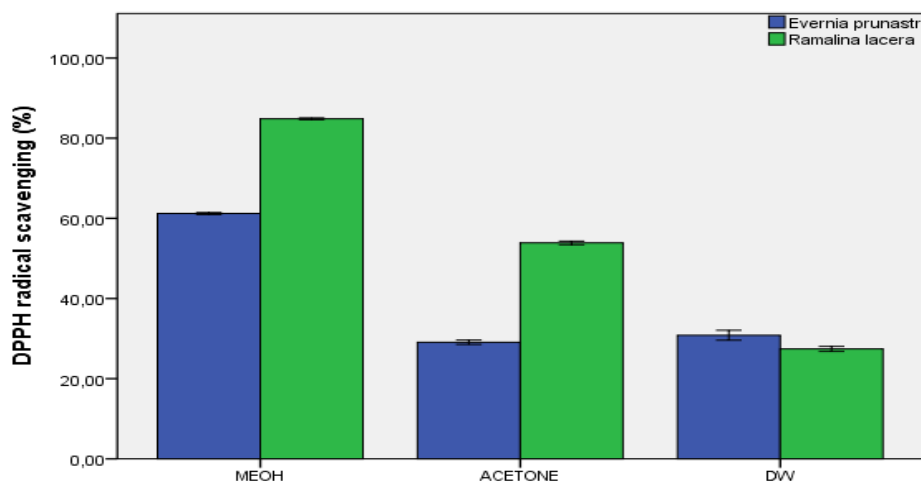


Figure 42: Pourcentage d'inhibition des différents extraits de lichens *E. prunastri* et *R. lacera*

III.3.b. Pouvoir réducteur (Réduction de fer)

Les courbes de la **Figure 43** représentent l'absorbance des différents extraits de lichens *E. prunastri* et *R. lacera*. L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de fer montre que les extraits de deux espèces étudiées présentent un pouvoir réducteur qui varie d'un extrait à l'autre.

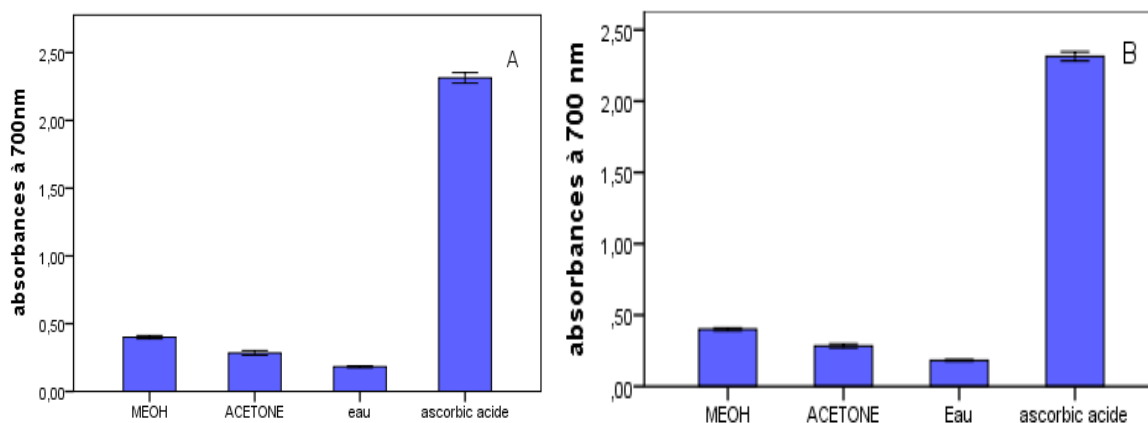


Figure 43: Absorbances des extraits de lichens *E. prunastri* (A) et *R. lacera* (B)

Pour *Evernia prunastri* l'extrait méthanolique est le plus actif, présente une valeur de $A = 0,45$ avec une différence significative par rapport aux autres extraits ($p < 0,05$), mais ce pouvoir reste faible par rapport au standard utilisé (acide ascorbique). La même remarque a été observée chez *Ramalina lacera* l'extrait méthanolique a montré une activité plus élevée par rapport aux autres extraits.

D'après les résultats, il apparaît que le méthanol est le meilleur solvant pour extraire des composés avec une capacité antioxydante par réduction du fer (FRAP). Le méthanol est considéré comme l'un des meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques des plantes aromatiques et médicinales. La solubilité des composés de matériel végétale dans milieu réactionnel peut affecter leurs activités. La majorité des composés phénoliques, synthétisés par les espèces de lichens, sont des aglycones, qui ont une plus grande solubilité dans le méthanol que dans l'eau Odabasoglu et al., (2004).

Aussi, il est important de souligner que l'activité antioxydante peut être attribuée à la présence d'autres composés présents dans l'extrait, comme les caroténoïdes, les acides gras polyinsaturés et les polysaccharides (Singh et al. 2005).

Dans les travaux de Aoussar et al., (2017) sur l'activité antioxydante de *Evernia prunastri* collecté de la province de Khenifra, ils ont trouvé que l'extrait d'acétone est l'extrait qui présente le pouvoir réducteur le plus élevé, avec une absorbance égale à $0,130 \pm 0,01$, alors que l'extraits méthanolique et de dichlorométhane présentent un pouvoir réducteur plus faible. Ces résultats n'ont pas en accord avec notre résultat. Par ailleurs, la méthode et les conditions d'extraction, la région et saison se récolte ont également affecté l'activité antioxydante.

Au terme de la présente étude, il est important de souligner que les deux espèces lichens étudié *Ramalina lacera*, et *Evernia prunastri* sont une bonne source d'antioxydant naturels. L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* constituent qu'une première étape dans la recherche des substances antioxydante du lichen, il serait également intéressant de compléter ce travail par optimisation des conditions d'extraction, isolé les substances responsables de leurs activité antioxydante.

III.4. Activité antidiabétique des lichens

Dans la présente étude, nous avons étudié l'activité antidiabétique de deux espèces lichéniques : *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri*. L'effet d'inhibition de α -amylase est évalué in vitro. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage de l'inhibition de α -amylase par différentes concentrations des différents extraits (**Tableau 17**). **La Figure 44** montre les valeurs IC50 des extraits contre α -amylase.

D'après les résultats, il semble que l'effet inhibiteur est variable en fonction de la dose dépendant de l'activité de α -amylase. Les extraits méthanoliques de *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri* ont montré un effet inhibiteur plus élevé par rapport aux autres extraits. Aussi, on remarque que les extraits aqueux de *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri* ont montré un effet inhibiteur modeste à 5 mg (49,02%±0,68 et 46,94%±0,5 respectivement).

L'extrait méthanolique de *Ramalina lacera* (IC50= 5,6 mg/ml) possède la meilleure activité inhibitrice par rapport à l'extrait méthanolique de *Evernia prunastri* (IC50= 1,97 mg/ml).

Tableau 17: Pourcentages d'inhibitions des différents extraits de *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri*.

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)						
	<i>Ramalina lacera</i>			<i>Evernia prunastri</i>			Acarbose
	MeOH	Acétone	Eau	MeOH	Acétone	Eau	
5	67,94±0,45	64,52±0,19	49,02±0,68	62,87±0,13	50,80±0,6	46,94±0,5	68,2,8±3,2
2	58,27±1,63	50,26±0,82	33,03±3,11	57,21±1,3	32,61±0,7	30,12±0,8	57,27±2,08
1	42,72±1,23	39,01±2,33	18,86±2,15	50,62±3,7	14,42±2,3	17,51±1,3	43,22±3,12
0.5	20,81±1,8	17,79±2,8	6,54±1,01	37,33±3,7	2,97±0,6	3,81±0,6	28,68±3,4

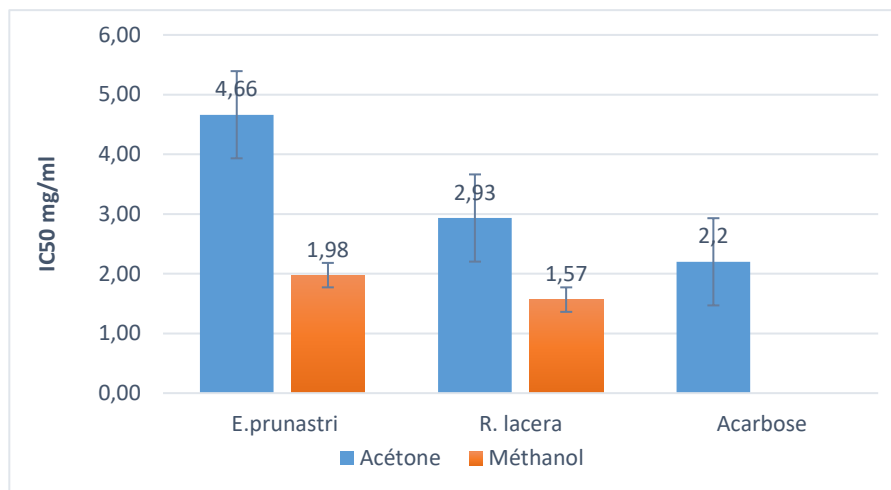


Figure 44: IC₅₀ des différents extraits de lichens

Les composés issus de lichens présentent une grande variété d'effets biologiques, tels que des propriétés antimicrobiennes, des activités anti-inflammatoires, analgésiques, antipyrétique, antiprolifératives et cytotoxiques.

Les lichens utilisent également des inhibiteurs de l'alpha-amylase comme mécanisme de défense pour se protéger des insectes. Ces inhibiteurs altèrent l'action digestive des α -amylase et des protéinases dans l'intestin des insectes et inhibent leur comportement alimentaire normal. Ainsi, les inhibiteurs d'alpha-amylase peuvent jouer un rôle potentiel dans la régulation des niveaux de sucre dans le sang. Différentes études ont suggéré que différents extraits de lichens ont une efficace activité antidiabétique en inhibant l'alpha-amylase.

Dans la présente étude, l'inhibition d'enzyme α -amylase a été choisie pour l'évaluation des propriétés antidiabétique *in-vitro* des différents extraits de lichens : *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri*. D'après les résultats obtenus, on peut supposer que nos extraits ont un effet inhibiteur de α -amylase. D'après les pourcentages d'inhibition et les valeurs de IC₅₀, il est évident que les extraits méthanoliques et Acétonique étaient plus actifs par rapport aux extraits aqueux, mais l'acarbose, étant plus puissant à des concentrations plus faibles que les extraits étudiés. (**Tableau 17 et Figure40**).

A notre connaissance, aucun résultat sur l'évaluation de l'activité antidiabétique *in-vitro* n'a été rapporté par d'autres auteurs sur *Ramalina lacera* pour pouvoir comparer nos résultats, mais pour *Evernia prunastri*, Studzińska-Sroka et al., (2024), ont évalué l'activité antidiabétique par l'enzyme α -glucosidase des différents extraits de *Evernia prunastri*, ils ont trouvé que l'activité antidiabétique est dose-dépendante, et l'extrait méthanolique à 5mg/ml présente une activité inhibitrice de α -Glucosidase de 84%. Par contre, l'extrait aqueux a montré une activité modeste. Ces résultats sont en accord avec nos résultats.

En outre, plusieurs études dans la littérature documentent l'activité antidiabétique des lichens. Shivanna et al., (2015) ont examiné l'effet inhibiteur de α -amylase des extraits de méthanol et d'acétate d'éthyle de *Flavoparmelia caperata* et *Physcia aipolia*. Ils ont trouvé que l'extrait méthanolique de *F.caperata* avait la plus forte inhibition de 49 % à 15 mg/ml, suivi par *P.aipolia* avec une inhibition de 46%. Torres-Benítez et al., (2023), aussi, indiquent que l'extrait éthanolique de lichens : *Placopsis contortuplicata*, *Ochrolechia frigida*, et *Umbilicaria antarctica* possèdent une activité antidiabétique avec des IC_{50} égale à 308.856 μ g/ml, 1.7 mg/ml, et 607.531 μ g/ml respectivement. Hengameh et al., (2016) ont étudié l'activité antidiabétique de *Ramalina sinensis*, *Heterodermia leucomelos*, et *Parmotrema reticulatum*. Les résultats ont montré que l'effet d'inhibition de l'enzyme α -amylase est dose-dépendant. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé a été observé chez l'extrait d'acétate d'éthyle de *H. leucomelos* avec un pourcentage égal à 95 %, suivi par *P. reticulatum* avec un pourcentage égal à 82 % à une concentration de 15 mg/ml.

Plusieurs études ont corrélé l'activité antidiabétique avec les polyphénols. La relation structure-activité des polyphénols isolés d'autres sources végétales tels que les plantes aromatiques et médicinales a montré que l'activité inhibitrice de α -amylase est influencée le nombre des groupes hydroxyles et leurs positions, la méthylation, la méthylation, la glycosylation, etc. En gros on considère que l'hydroxylation des phénols augmente l'activité

inhibitrice de l' α -amylase, tandis que la méthylation bloque les groupes hydroxyles libres et réduit l'activité inhibitrice (Thadhani and Karunaratne 2017). Il est important de noter que les polyphénols de lichens sont de côté structurel différents des polyphénols des plantes. Les polyphénols de lichens sont principalement des phénols monocycliques, des depsides, des depsidones, des dibenzofurans, etc.

D'après cette étude préliminaire, on peut donc conclure que les deux espèces de lichens étudiés possèdent des constituants qui ont révélé des propriétés antidiabétiques ci-dessus et qui peuvent générer des molécules bioactives.

III.5. Activité antibactérienne

Plusieurs études ont rapporté que les extraits de lichens et les composés de lichens ont une activité antibactérienne importante (Gulluce et al. 2006, Ranković et al. 2007, Paudel et al. 2008, Shrestha et al. 2014). L'objectif de cette étude est d'étudier l'activité antibactérienne des extraits d'acétone, de méthanol, et des extraits aqueux des lichens étudiés.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits de lichens *Evernia prunastri* et *Ramalina lacera* ne présentent aucun effet antibactérien sur les bactéries testées (**Figure 42**). Nos résultats sont en accord avec les résultats d'Aslan et al. (2006), qui ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Evernia prunastri* de Turquie ne montre aucune activité antibactérienne contre les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella pneumoniae*. Ainsi, Aoussar et al. (2020), dans leur étude sur l'activité antibactérienne du lichen *Evernia prunastri* de la province de Khenifra, ont trouvé que l'extrait d'acétone n'a pas d'effet antibactérien sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Par contre, dans une autre étude des mêmes auteurs sur l'activité d'extrait *Evernia prunastri*, ils ont trouvé que l'extrait méthanolique obtenu par macération présente un effet antibactérien contre la bactérie *Staphylococcus aureus* (Aoussar et al. 2021).

Kosanić et al. (2013) ont rapporté que l'extraits d'acétone d'*Evernia prunastri* de Serbie montrait un effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* avec des MIB égales à 12,5mg/ml, 25mg/ml, et 6,25mg/ml respectivement.

D'après la littérature, plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antibactérienne d'un extrait. On trouve, les conditions d'extraction, telles que la méthode d'extraction et le solvant utilisé, ont un rôle essentiel sur la capacité des extraits à inhiber la croissance des bactéries, car la composition chimique et la concentration des métabolites secondaires dans l'extrait sont influencées par les conditions d'extraction. En outre, les conditions environnementales telles que la lumière, le pH ou la température peuvent influencer la stabilité des composés actifs. Aussi, l'origine géographique, la saison de récolte ou les différences génétiques peuvent aussi influencer la quantité et la qualité des composés actifs. Finalement, le type de souche bactérienne ciblée peut avoir un impact sur les résultat de l'activi antibactérienne des extraits étudiés (Sari et al. 2006, Klančnik et al. 2011, Othman et al. 2011, Félix et al. 2021).

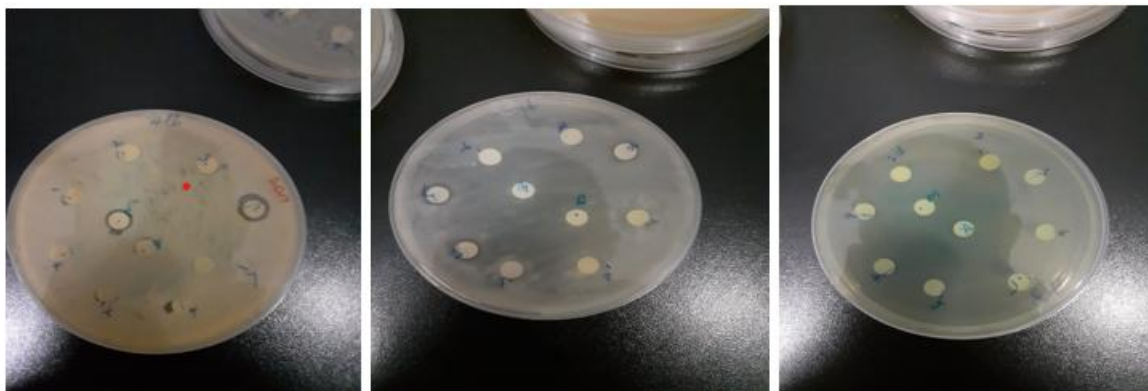


Figure 45:Activité antibactérienne des extraits de lichens

III.6. Corrélation lichens

Dans le plus de savoir la relation entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols et flavonoïdes des lichens étudiés, on a calculé le coefficient de Pearson. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 18**.

Tableau 18: Matrix de corrélations

Espèces	Variables	TPC	TFC	DPPH	FRAP
<i>Evernia prunastri</i>	TPC	1	-0.298	-0.334	0.157
	TFC	-0.298	1	0.999***	0.896**
	DPPH	-0.334	0.999***	1	0.878**
	FRAP	0.157	0.896**	0.878**	1
<i>Ramalina lacera</i>	TPC	1	-0.300	0.167	0.804**
	TFC	-0.300	1	0.890**	0.326
	DPPH	0.167	0.890**	1	0.721*
	FRAP	0.804**	0.326	0.721*	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

P<0.5, **p<0.01, *p<0.01

Pour *E. prunastri*, nous avons observé une corrélation significative et très forte ($r=0.999$, $p<0.01$) entre TFC et l'activité antioxydante mesurée par DPPH. Ainsi, il existe une corrélation significative et positive entre TFC et l'activité antioxydante mesurée par FRAP ($r=0.869$, $p<0.01$). En revanche, la corrélation entre TPC et l'activité antioxydante mesurée par DPPH et FRAP est très faible ($r=-0.334$ et $r=0.157$ respectivement). Ces résultats suggèrent que les flavonoïdes sont les composés responsables de l'activité antioxydante d'*Evernia prunastri*, tandis que les composés non-flavonoïdes ne contribuent pas à l'activité antioxydante.

Dans le cas de *R. lacera*, une corrélation positive et significative a été observée entre TPC et l'activité antioxydante testée par FRAP ($r=0.804$), cependant qu'une corrélation très faible a été observée entre TPC et le test DPPH. Pour les flavonoïdes, TFC était positivement corrélé avec l'activité antioxydante testée par DPPH ($r=0.890$ $p<0.01$), cependant, la corrélation entre TFC et FRAP était très faible ($r=0.326$).

Plusieurs études ont rapporté que l'activité antioxydante des lichens est liée à leur contenu en composés phénoliques. Ranković et al., (2012) ont trouvé une corrélation significative entre les polyphénols et l'activité antioxydante de *Toninia candida* et d'*Usnea barbata*. Kosanić et al., (2011) ont trouvé une corrélation positive entre TPC, DPPH et FRAP ($r=0.84$ et $r=0.89$ respectivement), aussi la corrélation entre DPPH, FRAP et TFC a été positive et significative ($r=0.92$, et $r=0.81$ respectivement). Cependant, certaines études ont trouvé que n'existe aucune corrélation entre TPC et l'activité antioxydante et que d'autres substances non-phénoliques peuvent être responsables de l'activité antioxydante (Odabasoglu et al. 2004).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le but de contribuer à la valorisation de l'arganeraie du sud-ouest marocain, l'espèce endémique *Kleinia anteuphorbium* (famille des Asteraceae), utilisée traditionnellement dans les préparations médicinales pour traiter des affections telles que le rhumatisme, les infections cutanées et le diabète, ainsi que les lichens *Ramalina lacera* et *Evernia prunastri*, ont été soumis à une étude phytochimique et biologique en utilisant différents solvants et méthodes d'extraction.

Dans le présent travail, nous avons quantifié les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins condensés, et évalué *in vitro* l'activité antioxydante (méthodes DPPH et FRAP), l'activité antidiabétique (inhibition de l' α -amylase), ainsi que l'activité antibactérienne contre quatre souches : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*.

Les résultats phytochimiques ont montré que les conditions d'extraction — en particulier le solvant utilisé — influencent significativement la composition en composés phénoliques. Chez *Kleinia anteuphorbium*, l'eau a donné les meilleurs rendements en polyphénols, tandis que le méthanol a été le meilleur solvant pour extraire les flavonoïdes et les tannins. Pour les lichens, l'acétone a permis une meilleure extraction des composés phénoliques, alors que le méthanol a été plus efficace pour les flavonoïdes.

Les données antioxydantes ont révélé une variation selon le solvant d'extraction. Chez *Kleinia anteuphorbium*, l'extrait hydrométhanolique a montré la meilleure activité antiradicalaire ($IC_{50} = 0,261 \pm 0,006$ mg/ml), tandis que l'extrait méthanolique a présenté la capacité réductrice du fer la plus élevée ($850,79 \pm 1,7$ mg EAA/100 g MS). Une corrélation positive significative ($p < 0,05$) a été observée entre l'activité antioxydante (DPPH et FRAP) et les teneurs en flavonoïdes et tannins. Chez les lichens, *Ramalina lacera* a montré une activité antioxydante supérieure à celle de *Evernia prunastri*, avec les extraits méthanoliques montrant globalement les meilleures performances.

Concernant l'activité antibactérienne, les extraits ont montré une efficacité variable selon la souche bactérienne. Globalement, les bactéries Gram-négatives ont été plus sensibles que les Gram-positives. *P. aeruginosa* a été la plus sensible avec une zone d'inhibition de $19 \pm 0,1$ mm, tandis que *S. aureus* s'est révélée la plus résistante. Aucun extrait de lichen n'a montré d'activité antibactérienne significative contre les souches testées.

L'évaluation de l'activité antidiabétique in vitro a révélé que tous les extraits possèdent une activité inhibitrice de l' α -amylase, dose-dépendante. L'extrait aqueux de macération de *Kleinia anteuophorbium* a montré une inhibition maximale de 61,68 % à 5 mg/mL. À la même concentration, l'extrait méthanolique de *Ramalina lacera* a présenté la meilleure inhibition (67,94 %), suivi par *Evernia prunastri* (62,87 %). Une corrélation modeste mais significative ($p < 0,05$) a été relevée entre l'activité antidiabétique et la teneur en polyphénols pour *Kleinia anteuophorbium*.

Enfin, l'analyse GC-MS de l'extrait méthanolique de *Kleinia anteuophorbium* a permis d'identifier 38 composés appartenant à différentes classes chimiques : esters, alcools, hydrocarbures terpéniques, alcaloïdes et autres.

En perspective, les données recueillies dans cette étude, nous encouragent à :

- Optimisation des conditions d'extraction : approfondir l'étude des techniques d'extraction pour améliorer le rendement en composés bioactifs, notamment par l'utilisation de méthodes vertes telles que l'extraction assistée par micro-ondes.
- Isolement et identification structurale : purifier et caractériser les composés bioactifs responsables des activités observées, à l'aide de techniques avancées (HPLC, LC-MS/MS, RMN).
- Évaluation in vivo : valider les activités antioxydantes, antidiabétiques et antibactériennes in vivo sur des modèles animaux pour confirmer leur potentiel thérapeutique.

- Études de toxicité : évaluer l'innocuité des extraits et composés isolés pour un usage thérapeutique futur.
- Exploration d'autres propriétés biologiques : notamment les activités anti-inflammatoire, antifongique, cicatrisante ou anticancéreuse.
- Valorisation biotechnologique et cosmétique : envisager l'intégration des extraits actifs dans des formulations pharmaceutiques, cosmétiques ou nutraceutiques, en particulier dans le contexte du développement durable de l'arganeraie.

ANNEXES

Annexes

QUESTIONNAIRE D'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

Fiche No :

Lieu :

Profil de l'herboriste

Age : A1 < 20 ans A2 : (20-60) A3 > 60 Sexe : Masculin Féminin

Niveau : Non scolarisé Primaire Secondaire Universitaire

PLANTE : Nom scientifique : Nom bambara :

Connaissez-vous cette plante Oui non

- Quelles utilisations faites-vous de cette plante ?
- Quelles maladies soigne-t-elle ?
- Quelles parties récolter (Feuilles Ecorces de tronc Racines) ?
- Quand doit-on récolter ?
- Faut-il l'utiliser à l'état frais sec
- Comment procède-t-on au séchage ?
- Comment se fait la préparation ?
- Quelle quantité de drogue faut-il prendre et dans quel volume d'eau ?
- En cas de décoction ou d'infusion quelle est la durée correspondante ?
- Comment utilise-t-on la préparation ?
- Quelle est la dose journalière ? (Adulte - enfant - femme en état de grossesse)
- En cas d'intoxication comment procéder ?
- Quelle est la durée du traitement ?
- Quel type d'aliment manger ou éviter pendant le traitement ?
- Quels sont les effets secondaires liés à la prise de la plante

Références

- Abd El-Hack, M.E.; de Oliveira, M.C.; Attia, Y.A.; Kamal, M.; Almohmadi, N.H.; Youssef, I.M.; et al. 2023. The efficacy of polyphenols as an antioxidant agent: An updated review. *International Journal of Biological Macromolecules* 250: 126525.
- Abd Elmageed Mohammed; Abdella Ali, Y.; Elzein Hagr, T.; Yosif Altay, S.; Abubakr Musa, R.; Hamadnalla, H. 2020. Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Sonchus Oleraceus* L (Leaves) Extracts. *Journal of Novel Drug Development* 1: 1–4.
- Aboutayeb, H. 2014. La réserve de biosphère de l'arganeraie: un nouvel Eco-territoire touristique au sud du Maroc. *PASOS Revista de turismo y patrimonio cultural* 12: 915–922.
- Achour, A.; Aroui, A.; Defaa, C.; El Mousadik, A.; Msanda, F. 2011. Effet de la mise en défens sur la richesse floristique et la densité dans deux arganeraies de plaine. *Actes du Prem Congrès Int l'Arganier (Agadir, Morocco, 15-17 December 2011)*: 60–69.
- Adamo, P.; Violante, P. 2000. Weathering of rocks and neogenesis of minerals associated with lichen activity. *Applied Clay Science* 16: 229–256.
- Adenubi, O.T.; Famuyide, I.M.; McGaw, L.J.; Eloff, J.N. 2022. Lichens: An update on their ethnopharmacological uses and potential as sources of drug leads. *Journal of Ethnopharmacology* 298: 115657.
- Adlouni, A. 2010. L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Phytothérapie* 8: 89–97.
- Ahad, B.; Shahri, W.; Rasool, H.; Reshi, Z.A.; Rasool, S.; Hussain, T. 2021. Medicinal Plants and Herbal Drugs: An Overview. In: Aftab, T.; Hakeem, K.R. (Eds.), *Medicinal and Aromatic Plants: Healthcare and Industrial Applications*, Springer International Publishing, Cham, p.1–40.
- Ahmadu Bello Zaria; I. Achika, J.; Arthur, D.E.; Gerald, I.; Adedayo, A. 2014. A Review on the Phytoconstituents and Related Medicinal Properties of Plants in the Asteraceae Family. *IOSR Journal of Applied Chemistry* 7: 01–08.
- Ahmed, M.Z.; Rao, T.; Khan, N.A.; Aslam, M.; Pane, Y.S. 2024. Antimicrobial Activities of Lichens. In: *Chemistry, Biology and Pharmacology of Lichen*, John Wiley & Sons, Ltd, p.169–191.
- Alam, F.; Shafique, Z.; Amjad, S.T.; Bin Asad, M.H.H. 2019. Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytotherapy Research* 33: 41–54.
- Alexandre, L.S.; Oliveira, M.S.; Dittz, D.; Sousa, R.W.R.; Ferreira, P.M.P.; Pessoa, C.; et al. 2020. Flavonoids, Cytotoxic, and Antimalarial Activities of *Dipteryx lacunifera*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 30: 544–550.
- Ali-Rachedi, F.; Meraghni, S.; Touaibia, N.; Mesbah, S. 2018. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- Al-Khayri, J.M.; Sahana, G.R.; Nagella, P.; Joseph, B.V.; Alessa, F.M.; Al-Mssallem, M.Q. 2022. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules* 27: 2901.
- Al-Mijalli, S.H.; Assaggaf, H.; Qasem, A.; El-Shemi, A.G.; Abdallah, E.M.; Mrabti, H.N.; et al. 2022. Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in Morocco. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* 2022: 2844880.
- Alom, S.; Ali, F.; Kakoti, B.B.; Choudhury, S.; Ahmed, A.B. 2024. Lichen as a Raw Material in Perfumery and Cosmetic Industries. In: *Chemistry, Biology and Pharmacology of Lichen*, John Wiley & Sons, Ltd, p.275–287.

- Álvarez-Martínez, F.J.; Barrajón-Catalán, E.; Encinar, J.A.; Rodríguez-Díaz, J.C.; Micol, V. 2020. Antimicrobial Capacity of Plant Polyphenols against Gram-positive Bacteria: A Comprehensive Review. *Current Medicinal Chemistry* 27: 2576–2606.
- Andzi Barhé, T.; Feuya Tchouya, G.R. 2016. Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry* 9: 1–8.
- Antonenko, Y.N.; Khailova, L.S.; Rokitskaya, T.I.; Nosikova, E.S.; Nazarov, P.A.; Luzina, O.A.; et al. 2019. Mechanism of action of an old antibiotic revisited: Role of calcium ions in protonophoric activity of usnic acid. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1860: 310–316.
- Aoussar, N.; Manzali, R.; Nattah, I.; Rhallabi, N.; Vasiljevic, P.; Bouksaim, M.; et al. 2017. Chemical composition and antioxidant activity of two lichens species (*Pseudevernia furfuracea* L and *Evernia prunastri* L) collected from Morocco. *JMES* 8: 1968–1976.
- Aoussar, N.; Laasri, F.E.; Bourhia, M.; Manoljovic, N.; Mhand, R.A.; Rhallabi, N.; et al. 2020. Phytochemical Analysis, Cytotoxic, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Lichens. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2020: 8104538.
- Aoussar, N.; Achmit, M.; Es-sadeqy, Y.; Vasiljević, P.; Rhallabi, N.; Ait Mhand, R.; et al. 2021. Phytochemical constituents, antioxidant and antistaphylococcal activities of *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. and *Ramalina farinacea* (L.) Ach. from Morocco. *Archives of Microbiology* 203: 2887–2894.
- de Araújo, F.F.; de Paulo Farias, D.; Neri-Numa, I.A.; Pastore, G.M. 2021. Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry* 338: 127535.
- de Araújo, F.F.; Neri-Numa, I.A.; de Paulo Farias, D.; da Cunha, G.R.M.C.; Pastore, G.M. 2019. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. *Food Research International* 121: 57–72.
- Armstrong, R.; Bradwell, T. 2010. Growth of Crustose Lichens: A Review. *Geografiska Annaler: Series A, Physical Geography* 92: 3–17.
- Armstrong, R.A.; Bradwell, T. 2011. Growth of foliose lichens: a review. *Symbiosis* 53: 1–16.
- Ashraf, M.A.; Iqbal, M.; Rasheed, R.; Hussain, I.; Riaz, M.; Arif, M.S. 2018. Chapter 8 - Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants: An Overview. In: Ahmad, P.; Ahanger, M.A.; Singh, V.P.; Tripathi, D.K.; Alam, P.; Alyemeni, M.N. (Eds.), *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*, Academic Press, p.153–167.
- Aslan, A.; Güllüce, M.; Sökmen, M.; Adıgüzel, A.; Sahin, F.; Özkan, H. 2006. Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Lichens *Cladonia foliacea*., *Dermatocarpon miniatum*., *Evernia divaricata*., *Evernia prunastri*., and *Neofuscella pulla*. *Pharmaceutical Biology* 44: 247–252.
- Asplund, J.; Wardle, D.A. 2017. How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biological Reviews* 92: 1720–1738.
- Atanasov, A.G.; Zotchev, S.B.; Dirsch, V.M.; Supuran, C.T. 2021. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery* 20: 200–216.
- Atanu, F.O.; Ikeojukwu, A.; Owolabi, P.A.; Awioroko, O.J. 2022. Evaluation of chemical composition, in vitro antioxidant, and antidiabetic activities of solvent extracts of *Iringia gabonensis* leaves. *Heliyon* 8.
- Aziz, L.; Mormont, M.; Allali, K. 2013. Effets de la marchandisation de l'arganier sur la vie socioéconomique des populations de l'arganeraie marocaine. *Vertigo: la revue électronique en sciences de l'environnement* 13.

- Azmir, J.; Zaidul, I.S.M.; Rahman, M.M.; Sharif, K.M.; Mohamed, A.; Sahena, F.; et al. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117: 426–436.
- Azwanida, N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants* 04.
- Bajpai, M.; Pande, A.; Tewari, S.K.; Prakash, D. 2005. Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56: 287–291.
- Barral-Martinez, M.; Cassani, L.; Carpena, M.; G. Pereira, A.; Garcia-Oliveira, P.; Chamorro, F.; et al. 2022. Evaluation of the Antimicrobial Potential of Extracts from Plants of the Family Asteraceae. *Medical Sciences Forum* 12: 17.
- Basaid, K.; Mayad, E.H.; Bouharroud, R.; Furze, J.N.; Benjlil, H.; de Oliveira, A.L.; et al. 2020. Biopesticidal value of *Senecio glaucus* subsp. *coronopifolius* essential oil against pathogenic fungi, nematodes, and mites. *Materials Today: Proceedings* 27: 3082–3090.
- Batiha, G.E.-S.; Beshbishy, A.M.; Ikram, M.; Mulla, Z.S.; El-Hack, M.E.A.; Taha, A.E.; et al. 2020. The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods* 9: 374.
- Bell, E.A. 2001. Ecological biochemistry and its development. *Phytochemistry* 56: 223–227.
- Bellavia, D.; Caradonna, F.; Dimarco, E.; Costa, V.; Carina, V.; Luca, A.D.; et al. 2021. Terpenoid treatment in osteoporosis: this is where we have come in research. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 32: 846–861.
- Bellefontaine, R.; Ferradous, A.; Alifriqui, M.; Monteuis, O. 2010. Multiplication végétative de l'arganier, *Argania spinosa*, au Maroc : le projet John Goelet. *BOIS & FORETS DES TROPIQUES* 304: 47–59.
- Belwal, T.; Singh, G.; Jeandet, P.; Pandey, A.; Giri, L.; Ramola, S.; et al. 2020. Anthocyanins, multi-functional natural products of industrial relevance: Recent biotechnological advances. *Biotechnology Advances* 43: 107600.
- Ben El Hadj Ali, I.; Bahri, R.; Chaouachi, M.; Boussaïd, M.; Harzallah-Skhiri, F. 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs. *Industrial Crops and Products* 62: 188–195.
- Benabid, A.; Cuzin, F. 1997. Populations de dragonnier (*Dracaena draco* L subsp. *ajgal* Benabid et Cuzin) au Maroc: valeurs taxinomique, biogéographique et phytosociologique. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 320: 267–277.
- Bennett, R.N.; Wallsgrave, R.M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* 127: 617–633.
- Bergman, M.E.; Davis, B.; Phillips, M.A. 2019. Medically Useful Plant Terpenoids: Biosynthesis, Occurrence, and Mechanism of Action. *Molecules* 24: 3961.
- Bernardini, S.; Tiezzi, A.; Laghezza Masci, V.; Ovidi, E. 2018. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Natural Product Research* 32: 1926–1950.
- Bertelli, A.; Biagi, M.; Corsini, M.; Bainsi, G.; Cappellucci, G.; Miraldi, E. 2021. Polyphenols: From Theory to Practice. *Foods* 10: 2595.
- Bezerra, K.G.O.; Silva, I.G.S.; Almeida, F.C.G.; Rufino, R.D.; Sarubbo, L.A. 2021. Plant-derived biosurfactants: Extraction, characteristics and properties for application in cosmetics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 34: 102036.
- Bhagarathi, L.K.; DaSilva, P.N.B.; Subramanian, G.; Maharaj, G.; Kalika-Singh, S.; Pestano, F.; et al. 2023. An integrative review of the biology and chemistry of lichens and their ecological, ethnopharmacological, pharmaceutical and therapeutic potential. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* 23: 092–119.

- Bhambhani, S.; Kondhare, K.R.; Giri, A.P. 2021. Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. *Molecules* 26: 3374.
- Bharadvaja, N.; Gautam, S.; Singh, H. 2023. Natural polyphenols: a promising bioactive compounds for skin care and cosmetics. *Molecular Biology Reports* 50: 1817–1828.
- Bhattacharyya, S.; Deep, P.R.; Singh, S.; Nayak, B. 2016. Lichen secondary metabolites and its biological activity. *Am. J. PharmTech Res* 6: 1–7.
- Biswas, T.; Dwivedi, U.N. 2019. Plant triterpenoid saponins: biosynthesis, in vitro production, and pharmacological relevance. *Protoplasma* 256: 1463–1486.
- Bondam, A.F.; Diolinda da Silveira, D.; Pozzada dos Santos, J.; Hoffmann, J.F. 2022. Phenolic compounds from coffee by-products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science & Technology* 123: 172–186.
- Bors, W.; Michel, C. 2002. Chemistry of the Antioxidant Effect of Polyphenols. *Annals of the New York Academy of Sciences* 957: 57–69.
- Bosso, A.; Cassino, C.; Motta, S.; Panero, L.; Tsolakis, C.; Guaita, M. 2020. Polyphenolic Composition and In Vitro Antioxidant Activity of Red Grape Seeds as Byproducts of Short and Medium-Long Fermentative Macerations. *Foods (Basel, Switzerland)* 9: 1451.
- Bourbouze, A.; Aïch, A.E. 2005. L'élevage caprin dans l'arganeraie : l'utilisation conflictuelle d'un espace. *Cahiers Agricultures* 14: 447-453 (1).
- Boustie, J.; Tomasi, S.; Grube, M. 2011. Bioactive lichen metabolites: alpine habitats as an untapped source. *Phytochemistry Reviews* 10: 287–307.
- Brglez Mojzer, E.; Knez Hrnčič, M.; Škerget, M.; Knez, Ž.; Bren, U. 2016. Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules* 21: 901.
- Broussaud-Le Strat, F. 2004. Arganier et huile d'argan. *Le Journal de Botanique* 27: 3–8.
- Calvelo, S.; Baccalá, N.; Liberatore, S. 2009. Lichens as Bioindicators of Air Quality in Distant Areas in Patagonia (Argentina). *Environmental Bioindicators* 4: 123–135.
- Câmara, J.S.; Perestrelo, R.; Ferreira, R.; Berenguer, C.V.; Pereira, J.A.M.; Castilho, P.C. 2024. Plant-Derived Terpenoids: A Plethora of Bioactive Compounds with Several Health Functions and Industrial Applications—A Comprehensive Overview. *Molecules* 29: 3861.
- Cardile, V.; Graziano, A.C.E.; Avola, R.; Piovano, M.; Russo, A. 2017. Potential anticancer activity of lichen secondary metabolite physodic acid. *Chemico-Biological Interactions* 263: 36–45.
- Cardoso, J.C.; Oliveira, M.E.B. de; Cardoso, F. de C. 2019. Advances and challenges on the *in vitro* production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira* 37: 124–132.
- Chandra, S.; Rawat, D.S.; Bhatt, A. 2021. Phytochemistry and pharmacological activities of *Saponaria officinalis* L.: A review. *Notulae Scientia Biologicae* 13: 10809–10809.
- Charrouf, Z.; Guillaume, D. 1999. Ethnoeconomical, ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Journal of Ethnopharmacology* 67: 7–14.
- Charrouf, Z.; Guillaume, D. 2002. Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Phytochemistry Reviews* 1: 345–354.
- Chen, C.; Lin, L. 2019. Alkaloids in Diet. In: Xiao, J.; Sarker, S.D.; Asakawa, Y. (Eds.), *Handbook of Dietary Phytochemicals*, Springer, Singapore, p.1–35.
- Chen, J.; Li, Y.; He, X.; Jiao, F.; Xu, M.; Hu, B.; et al. 2021. Influences of different curing methods on chemical compositions in different types of tobaccos. *Industrial Crops and Products* 167: 113534.
- Cheynier, V. 2012. Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry Reviews* 11: 153–177.

- Chira, K.; Suh, J.-H.; Saucier, C.; Teissèdre, P.-L. 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 6: 75–82.
- Chiriac, E.R.; Chițescu, C.L.; Geană, E.-I.; Gird, C.E.; Socoteanu, R.P.; Boscencu, R. 2021. Advanced Analytical Approaches for the Analysis of Polyphenols in Plants Matrices—A Review. *Separations* 8: 65.
- Chirinos, R.; Rogez, H.; Campos, D.; Pedreschi, R.; Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology* 55: 217–225.
- Choi, S.Z.; Lee, S.O.; Jang, K.U.; Chung, S.H.; Park, S.H.; Kang, H.C.; et al. 2005. Antidiabetic stilbene and anthraquinone derivatives from *Rheum undulatum*. *Archives of Pharmacal Research* 28: 1027–1030.
- Chowdhury, M.M.; Sikder, M.I.; Islam, M.R.; Barua, N.; Yeasmin, S.; Eva, T.A.; et al. 2024. A review of ethnomedicinal uses, phytochemistry, nutritional values, and pharmacological activities of *Hylocereus polyrhizus*. *Journal of Herbmed Pharmacology* 13: 353–365.
- Clemensen, A.K.; Provenza, F.D.; Hendrickson, J.R.; Grusak, M.A. 2020. Ecological Implications of Plant Secondary Metabolites - Phytochemical Diversity Can Enhance Agricultural Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 4: 547826.
- Conforti, F.; Loizzo, M.R.; Statti, G.A.; Houghton, P.J.; Menichini, F. 2006. Biological properties of different extracts of two *Senecio* species. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.
- Conti, M.E.; Cecchetti, G. 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment — a review. *Environmental Pollution* 114: 471–492.
- Crawford, S.D. 2019. Lichens Used in Traditional Medicine. In: Ranković, B. (Ed.), *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*, Springer International Publishing, Cham, p.31–97.
- Crozier, A.; Clifford, M.N.; Ashihara, H. 2008. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. John Wiley & Sons, 387p.
- Culberson, C.F.; Elix, J.A. 1989. 15 - Lichen Substances. In: Harborne, J.B. (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 1, Academic Press, p.509–535.
- D'Archivio, M.; Filesi, C.; Benedetto, R.D.; Gargiulo, R.; Giovannini, C.; Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. .
- Delazar, A.; Nahar, L.; Hamedeyazdan, S.; Sarker, S.D. 2012. Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation. In: Sarker, S.D.; Nahar, L. (Eds.), *Natural Products Isolation*, Humana Press, Totowa, NJ, p.89–115.
- Delgado, A.; Gonçalves, S.; Romano, A. 2023. Mediterranean Diet: The Role of Phenolic Compounds from Aromatic Plant Foods. *Foods* 12: 840.
- Den Herder, M.; Kytöviita, M.-M.; Niemelä, P. 2003. Growth of reindeer lichens and effects of reindeer grazing on ground cover vegetation in a Scots pine forest and a subarctic heathland in Finnish Lapland. *Ecography* 26: 3–12.
- Derbel, S.; Ghedira, K. 2005. Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie* 3: 28–34.
- Dewick, P.M. 2002. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. John Wiley & Sons, 524p.
- Di Lorenzo, C.; Colombo, F.; Biella, S.; Stockley, C.; Restani, P. 2021. Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients* 13: 273.
- Dias, R.; Oliveira, H.; Fernandes, I.; Simal-Gandara, J.; Perez-Gregorio, R. 2021. Recent advances in extracting phenolic compounds from food and their use in disease prevention and as cosmetics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

- Do, T.; Nguyen, T.T.H.; Ha, T.N.; Nhu, N.T.H.; Van Lam, N.; Tram, N.T.T.; et al. 2019. Identification of Anti-Helicobacter pylori Compounds From Usnea undulata. *Natural Product Communications* 14: 1934578X19864212.
- Domínguez-Rodríguez, G.; Marina, M.L.; Plaza, M. 2017. Strategies for the extraction and analysis of non-extractable polyphenols from plants. *Journal of Chromatography A* 1514: 1–15.
- Dong, M.; Li, J.; Yang, D.; Li, M.; Wei, J. 2023. Biosynthesis and Pharmacological Activities of Flavonoids, Triterpene Saponins and Polysaccharides Derived from Astragalus membranaceus. *Molecules* 28: 5018.
- Dragsted. 2003. Antioxidant Actions of Polyphenols in Humans. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 73: 112–119.
- Ed Nignpense, B.; Francis, N.; Blanchard, C.; Santhakumar, A.B. 2021. Bioaccessibility and Bioactivity of Cereal Polyphenols: A Review. *Foods* 10: 1595.
- Ed Nignpense, B.; Latif, S.; Francis, N.; Blanchard, C.; Santhakumar, A.B. 2022. Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Polyphenols from Pigmented Barley and Wheat. *Foods* 11: 3697.
- El Gaamouch, F.; Chen, F.; Ho, L.; Lin, H.-Y.; Yuan, C.; Wong, J.; et al. 2022. Benefits of dietary polyphenols in Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* 14.
- Elhidar, N.; Nafis, A.; Kasrati, A.; Goehler, A.; Bohnert, J.A.; Abbad, A.; et al. 2019. Chemical composition, antimicrobial activities and synergistic effects of essential oil from *Senecio anteuphorbium*, a Moroccan endemic plant. *Industrial Crops and Products* 130: 310–315.
- Elshafie, H.S.; Camele, I.; Mohamed, A.A. 2023. A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. *International Journal of Molecular Sciences* 24: 3266.
- Erb, M.; Kliebenstein, D.J. 2020. Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology* 184: 39–52.
- Eruygur, N.; Koçyiğit, U.M.; Taslimi, P.; Ataş, M.; Tekin, M.; Gülçin, İ. 2019. Screening the *in vitro* antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (Asteraceae) ethanol extract. *South African Journal of Botany* 120: 141–145.
- Esclapez, M.D.; García-Pérez, J.V.; Mulet, A.; Cárcel, J.A. 2011. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews* 3: 108–120.
- Estrabou, C.; Filippini, E.; Soria, J.P.; Schelotto, G.; Rodriguez, J.M. 2011. Air quality monitoring system using lichens as bioindicators in Central Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* 182: 375–383.
- Fabela-Morón, M.F. 2024. Bioactive compounds, sensory attributes, and flavor perceptions involved in taste-active molecules in fruits and vegetables. *Frontiers in Nutrition* 11.
- Fan, M.; Yuan, S.; Li, L.; Zheng, J.; Zhao, D.; Wang, C.; et al. 2023. Application of Terpenoid Compounds in Food and Pharmaceutical Products. *Fermentation* 9: 119.
- Faouzi, H. 2003. *L'arganeraie des haha : étude d'un système agraire en mutation (Haut-Atlas occidental, Maroc)*. phdthesis, Université Nancy 2, (<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01750919>).
- Faouzi, H. 2013. L'exploitation du bois-énergie dans les arganeraies : entre soutenabilité et dégradation (région des Haha, Haut-Atlas Occidental, Maroc). *Les Cahiers d'Outre-Mer. Revue de géographie de Bordeaux* 66: 155–182.
- Félix, G.; Soto-Robles, C.A.; Nava, E.; Lugo-Medina, E. 2021. Principal Metabolites in Extracts of Different Plants Responsible for Antibacterial Effects. *Chemical Research in Toxicology* 34: 1970–1983.

- Fernandes, I.; Oliveira, J.; Pinho, A.; Carvalho, E. 2022. The Role of Nutraceutical Containing Polyphenols in Diabetes Prevention. *Metabolites* 12: 184.
- Fernández-Moriano, C.; Gómez-Serranillos, M.P.; Crespo, A. 2016a. Antioxidant potential of lichen species and their secondary metabolites. A systematic review. *Pharmaceutical Biology* 54: 1–17.
- Fernández-Moriano, C.; Gómez-Serranillos, M.P.; Crespo, A. 2016b. Antioxidant potential of lichen species and their secondary metabolites. A systematic review. *Pharmaceutical Biology* 54: 1–17.
- Francolini, I.; Norris, P.; Piozzi, A.; Donelli, G.; Stoodley, P. 2004. Usnic Acid, a Natural Antimicrobial Agent Able To Inhibit Bacterial Biofilm Formation on Polymer Surfaces. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48: 4360–4365.
- Galanty, A.; Zagrodzki, P.; Gdula-Argasińska, J.; Grabowska, K.; Koczurkiewicz-Adameczyk, P.; Wróbel-Biedrawa, D.; et al. 2021. A Comparative Survey of Anti-Melanoma and Anti-Inflammatory Potential of Usnic Acid Enantiomers—A Comprehensive In Vitro Approach. *Pharmaceuticals* 14: 945.
- Garcia-Oliveira, P.; Barral, M.; Carpena, M.; Gullón, P.; Fraga-Corral, M.; Otero, P.; et al. 2021. Traditional plants from Asteraceae family as potential candidates for functional food industry. *Food & Function* 12: 2850–2873.
- Geng, H.; Zhong, Q.-Z.; Li, J.; Lin, Z.; Cui, J.; Caruso, F.; et al. 2022. Metal Ion-Directed Functional Metal–Phenolic Materials. *Chemical Reviews* 122: 11432–11473.
- Ghorbanpour, M.; Hadian, J.; Nikabadi, S.; Varma, A. 2017. Importance of Medicinal and Aromatic Plants in Human Life. In: Ghorbanpour, M.; Varma, A. (Eds.), *Medicinal Plants and Environmental Challenges*, Springer International Publishing, Cham, p.1–23.
- Gies, E. 2017. The Meaning of Lichen. *Scientific American* 316: 52–59.
- Girardot, M.; Millot, M.; Hamion, G.; Billard, J.-L.; Juin, C.; Ntoutoume, G.M.A.N.; et al. 2021. Lichen Polyphenolic Compounds for the Eradication of *Candida albicans* Biofilms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11.
- Goga, M.; Elečko, J.; Marcinčinová, M.; Ručová, D.; Bačkorová, M.; Bačkor, M. 2020. Lichen Metabolites: An Overview of Some Secondary Metabolites and Their Biological Potential. In: Mérillon, J.-M.; Ramawat, K.G. (Eds.), *Co-Evolution of Secondary Metabolites*, Springer International Publishing, Cham, p.175–209.
- González-Gómez, L.; Morante-Zarcero, S.; Pérez-Quintanilla, D.; Sierra, I. 2022. Occurrence and Chemistry of Tropane Alkaloids in Foods, with a Focus on Sample Analysis Methods: A Review on Recent Trends and Technological Advances. *Foods* 11: 407.
- Gowd, V.; Xie, L.; Sun, C.; Chen, W. 2020. Phenolic profile of bayberry followed by simulated gastrointestinal digestion and gut microbiota fermentation and its antioxidant potential in HepG2 cells. *Journal of Functional Foods* 70: 103987.
- Gülçin, İ. 2009. Antioxidant activity of l-adrenaline: A structure–activity insight. *Chemico-Biological Interactions* 179: 71–80.
- Gulluce, M.; Aslan, A.; Sokmen, M.; Sahin, F.; Adiguzel, A.; Agar, G.; et al. 2006. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine* 13: 515–521.
- Guo, Q.; Xiao, X.; Lu, L.; Ai, L.; Xu, M.; Liu, Y.; et al. 2022. Polyphenol–Polysaccharide Complex: Preparation, Characterization, and Potential Utilization in Food and Health. *Annual Review of Food Science and Technology* 13: 59–87.
- Gutiérrez-del-Río, I.; López-Ibáñez, S.; Magadán-Corpas, P.; Fernández-Calleja, L.; Pérez-Valero, Á.; Tuñón-Granda, M.; et al. 2021. Terpenoids and Polyphenols as Natural Antioxidant Agents in Food Preservation. *Antioxidants* 10: 1264.

- Haida, S.; Kribii, A.; Kribii, A. 2020. Chemical composition, phenolic content and antioxidant capacity of *Haloxylon scoparium* extracts. *South African Journal of Botany* 131: 151–160.
- Hakkou, S.; Sabir, M.; Machouri, N. 2023. Principales plantes aromatiques et médicinales forestières dans la région Rabat-Salé-Kénitra, Maroc. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* 11: 1–13.
- Halama, P.; Van Haluwin, C. 2004. Antifungal activity of lichen extracts and lichenic acids. *BioControl* 49: 95–107.
- Hanus, L.O.; Temina, M.; Dembitsky, V. 2008. Biodiversity of the chemical constituents in the epiphytic lichenized ascomycete *Ramalina lacera* grown on difference substrates *Crataegus sinaicus*, *Pinus halepensis*, and *Quercus calliprinos*. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 152: 203–208.
- Heilmann, J. 2010. New Medical Applications of Plant Secondary Metabolites. In: *Annual Plant Reviews Volume 39: Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*, John Wiley & Sons, Ltd, p.348–380.
- Hengameh, P.; Rashmi, S.; Rajkumar, H.G. 2016. In vitro inhibitory activity of some lichen extracts against α -amylase enzyme. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 3: 315–318.
- Hernández, A.; Ruiz-Moyano, S.; Galván, A.I.; Merchán, A.V.; Pérez Nevado, F.; Aranda, E.; et al. 2021. Anti-fungal activity of phenolic sweet orange peel extract for controlling fungi responsible for post-harvest fruit decay. *Fungal Biology* 125: 143–152.
- Honda, N.K.; Pavan, F.R.; Coelho, R.G.; de Andrade Leite, S.R.; Micheletti, A.C.; Lopes, T.I.B.; et al. 2010. Antimycobacterial activity of lichen substances. *Phytomedicine* 17: 328–332.
- Honegger, R. 1998. THE LICHEN SYMBIOSIS—WHAT IS SO SPECTACULAR ABOUT IT? *The Lichenologist* 30: 193–212.
- Horvat, D.; Šimić, G.; Drezner, G.; Lalić, A.; Ledencan, T.; Tucak, M.; et al. 2020. Phenolic Acid Profiles and Antioxidant Activity of Major Cereal Crops. *Antioxidants* 9: 527.
- Hotta, H.; Nagano, S.; Ueda, M.; Tsujino, Y.; Koyama, J.; Osakai, T. 2002. Higher radical scavenging activities of polyphenolic antioxidants can be ascribed to chemical reactions following their oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1572: 123–132.
- Hsu, W.-H.; Chen, S.-Y.; Lin, J.-H.; Yen, G.-C. 2022. Application of saponins extract from food byproducts for the removal of pesticide residues in fruits and vegetables. *Food Control* 136: 108877.
- Huang, Z.; Zheng, G.; Tao, J.; Ruan, J. 2011. Anti-inflammatory effects and mechanisms of usnic acid. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.* 26: 955–959.
- Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V.I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry* 126: 1821–1835.
- Islam, M.; Malakar, S.; Rao, M.V.; Kumar, N.; Sahu, J.K. 2023. Recent advancement in ultrasound-assisted novel technologies for the extraction of bioactive compounds from herbal plants: a review. *Food Science and Biotechnology* 32: 1763–1782.
- Islam, M.N.; Rauf ,Abdur; Fahad ,Fowzul Islam; Emran ,Talha Bin; Mitra ,Saikat; Olatunde ,Ahmed; et al. 2022. Superoxide dismutase: an updated review on its health benefits and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62: 7282–7300.
- Izzo, C.; Vitillo, P.; Di Pietro, P.; Visco, V.; Strianese, A.; Virtuoso, N.; et al. 2021. The Role of Oxidative Stress in Cardiovascular Aging and Cardiovascular Diseases. *Life* 11: 60.
- Jha, A.K.; Sit, N. 2022. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology* 119: 579–591.

- Jones, W.P.; Kinghorn, A.D. 2005. Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Sarker, S.D.; Latif, Z.; Gray, A.I. (Eds.), *Natural Products Isolation*, Humana Press, Totowa, NJ, p.323–351.
- Jones-Moore, H.R.; Jelley, R.E.; Marangon, M.; Fedrizzi, B. 2022. The interactions of wine polysaccharides with aroma compounds, tannins, and proteins, and their importance to winemaking. *Food Hydrocolloids* 123: 107150.
- Joulain, D.; Tabacchi, R. 2009. Lichen extracts as raw materials in perfumery. Part 1: oakmoss. *Flavour and Fragrance Journal* 24: 49–61.
- Juang, Y.-P.; Liang, P.-H. 2020. Biological and Pharmacological Effects of Synthetic Saponins. *Molecules* 25: 4974.
- Justesen, U.; Knuthsen, P.; Leth, T. 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 799: 101–110.
- Kahrman, N.; Yazici, K.; Arslan, T.; Aslan, A.; Karaoglu, S.A.; Yayli, N. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Evernia divaricata* (L.) Ach. .
- Kalemba, D.; Kunicka, A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813–829.
- Kandar, C.C. 2021. Secondary Metabolites from Plant Sources. In: Pal, D.; Nayak, A.K. (Eds.), *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*, Springer International Publishing, Cham, p.329–377.
- Karagözler, A.A.; Erdağ, B.; Emek, Y.Ç.; Uygun, D.A. 2008. Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry* 111: 400–407.
- Katekar, V.P.; Rao, A.B.; Sardeshpande, V.R. 2023. A hydrodistillation-based essential oils extraction: A quest for the most effective and cleaner technology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 36: 101270.
- Kaufmann, B.; Christen, P. 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis* 13: 105–113.
- Kaulmann, A.; Bohn, T. 2016. Bioactivity of Polyphenols: Preventive and Adjuvant Strategies toward Reducing Inflammatory Bowel Diseases—Promises, Perspectives, and Pitfalls. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016: 9346470.
- Kawatra, A.; Gupta, S.; Dhankhar, R.; Singh, P.; Gulati, P. 2022. Application of Phytochemicals in Therapeutic, Food, Flavor, and Cosmetic Industries. In: Swamy, M.K.; Kumar, A. (Eds.), *Phytochemical Genomics: Plant Metabolomics and Medicinal Plant Genomics*, Springer Nature, Singapore, p.85–108.
- Kenny, L.; De Zborowski, I. 2007. Atlas de l'arganier et de l'arganeraie, éd. *IAV Hassan II*.
- Kenny, O.; Smyth, T.J.; Walsh, D.; Kelleher, C.T.; Hewage, C.M.; Brunton, N.P. 2014. Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. *Food Chemistry* 161: 79–86.
- Kha, T.C.; Le, L.T.P. 2021. Plant Extracts: Antimicrobial Properties, Mechanisms of Action and Applications. In: Inamuddin; Ahamed, M.I.; Prasad, R. (Eds.), *Advanced Antimicrobial Materials and Applications*, Springer, Singapore, p.257–283.
- Khalid, T.; Ahmed, A.; Ahmed, A.; Ahmed, A. 2023. Medicinal Plants Adopted as Aphrodisiacs by Traditional Gynecologists in the Souss Massa Region. *Pharmacognosy Journal* 15: 406–413.
- Khallouki, F.; Spiegelhalter, B.; Bartsch, H.; Owen, R.W. 2005. Secondary metabolites of the argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *African Journal of Biotechnology* 4: 381–388.

- Khan, M.F.; Dwivedi, A.K. 2018. A review on techniques available for the extraction of essential oils from various plants. *International Research Journal of Engineering and Technology* 5: 5–8.
- Khare, S.; Singh, N.B.; Singh, A.; Hussain, I.; Niharika, K.; Yadav, V.; et al. 2020. Plant secondary metabolites synthesis and their regulations under biotic and abiotic constraints. *Journal of Plant Biology* 63: 203–216.
- Khoo, H.E.; Azlan, Azrina; Tang, Sou Teng; and Lim, S.M. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research* 61: 1361779.
- Kintzios, S.; Papageorgiou, K.; Yiakoumettis, I.; Baričević, D.; Kušar, A. 2010. Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53: 773–776.
- Kirubakari, B.; Shanmugapriya; Sangeetha, T.; Vijayarathna, S.; Chen, Y.; Kanwar, J.R.; et al. 2019. Antibacterial and Antifungal Agents of Higher Plants. In: Akhtar, M.S.; Swamy, M.K.; Sinniah, U.R. (Eds.), *Natural Bio-Active Compounds: Volume 1: Production and Applications*, Springer, Singapore, p.493–508.
- Kiselova, Y.; Ivanova, D.; Chervenkov, T.; Gerova, D.; Galunska, B.; Yankova, T. 2006. Correlation between the In Vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from bulgarian herbs. *Phytotherapy Research* 20: 961–965.
- Klančnik, A.; Piskernik, S.; Možina, S.S.; Gašperlin, L.; Jeršek, B. 2011. Investigation of some factors affecting the antibacterial activity of rosemary extracts in food models by a food microdilution method. *International Journal of Food Science & Technology* 46: 413–420.
- Kocira, A.; Świeca, M.; Kocira, S.; Złotek, U.; Jakubczyk, A. 2018. Enhancement of yield, nutritional and nutraceutical properties of two common bean cultivars following the application of seaweed extract (*Ecklonia maxima*). *Saudi Journal of Biological Sciences* 25: 563–571.
- Kopustinskiene, D.M.; Jakstas, V.; Savickas, A.; Bernatoniene, J. 2020. Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients* 12: 457.
- Kosanić, M.; Ranković, B.; Vukojević, J. 2011. Antioxidant properties of some lichen species. *Journal of Food Science and Technology* 48: 584–590.
- Kosanić, M.; Manojlović, N.; Janković, S.; Stanojković, T.; Ranković, B. 2013. Evernia prunastri and Pseudoevernia furfuraceae lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *Food and Chemical Toxicology* 53: 112–118.
- Kristmundsdóttir, T.; Jónsdóttir, E.; Ögmundsdóttir, H.M.; Ingólfssdóttir, K. 2005. Solubilization of poorly soluble lichen metabolites for biological testing on cell lines. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 24: 539–543.
- Kumar, S.; Pandey, A.K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal* 2013: e162750.
- Kumar, S.; Abedin, Md.M.; Singh, A.K.; Das, S. 2020. Role of Phenolic Compounds in Plant-Defensive Mechanisms. In: Lone, R.; Shuab, R.; Kamili, A.N. (Eds.), *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture: Volume 1*, Springer, Singapore, p.517–532.
- Lamuela-Raventós, R.M. 2018. Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. In: *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity*, John Wiley & Sons, Ltd, p.107–115.
- Lee, S.; Suh, Y.J.; Yang, S.; Hong, D.G.; Ishigami, A.; Kim, H.; et al. 2021. Neuroprotective and Anti-Inflammatory Effects of Evernic Acid in an MPTP-Induced Parkinson's Disease Model. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 2098.

- Lezoul, N.E.H.; Belkadi, M.; Habibi, F.; Guillén, F. 2020. Extraction Processes with Several Solvents on Total Bioactive Compounds in Different Organs of Three Medicinal Plants. *Molecules* 25: 4672.
- Li, H.; Guo, H.; Luo, Q.; Wu, D.-T.; Zou, L.; Liu, Y.; et al. 2023. Current extraction, purification, and identification techniques of tea polyphenols: An updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Li, K.-M.; Dong, X.; Ma, Y.-N.; Wu, Z.-H.; Yan, Y.-M.; Cheng, Y.-X. 2019. Antifungal coumarins and lignans from *Artemisia annua*. *Fitoterapia* 134: 323–328.
- Lichota, A.; Gwozdziński, L.; Gwozdziński, K. 2019. Therapeutic potential of natural compounds in inflammation and chronic venous insufficiency. *European Journal of Medicinal Chemistry* 176: 68–91.
- de Lima Cherubim, D.J.; Buzanello Martins, C.V.; Oliveira Fariña, L.; da Silva de Lucca, R.A. 2020. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *Journal of Cosmetic Dermatology* 19: 33–37.
- Lin, K.; Li, Y.; Toit, E.D.; Wendt, L.; Sun, J. 2021. Effects of Polyphenol Supplementations on Improving Depression, Anxiety, and Quality of Life in Patients With Depression. *Frontiers in Psychiatry* 12.
- Liu, R.; Qin, S.; Li, W. 2022. Phycocyanin: Anti-inflammatory effect and mechanism. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 153: 113362.
- Liu, W.; Feng, Y.; Yu, S.; Fan, Z.; Li, X.; Li, J.; et al. 2021. The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 12824.
- López-Bascón, M.A.; Luque de Castro, M.D. 2020. Chapter 11 - Soxhlet Extraction. In: Poole, C.F. (Ed.), *Liquid-Phase Extraction*, Elsevier, p.327–354.
- Luca, S.V.; Macovei, I.; Bujor, A.; Miron, A.; Skalicka-Woźniak, K.; Aprotosoai, A.C.; et al. 2020. Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Ludwiczuk, A.; Skalicka-Woźniak, K.; Georgiev, M.I. 2017. Chapter 11 - Terpenoids. In: Badal, S.; Delgoda, R. (Eds.), *Pharmacognosy*, Academic Press, Boston, p.233–266.
- Luque de Castro, M.D.; Priego-Capote, F. 2010. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A* 1217: 2383–2389.
- Lutzoni, F.; Miadlikowska, J. 2009. Lichens. *Current Biology* 19: R502–R503.
- Macheix, J.-J.; Fleuriet, A.; Jay-Allemand, C. 2005. *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. EPFL Press, 212p.
- Maghsoudloo, M.; Bagheri Shahzadeh Aliakbari, R.; Jabbari Velisdeh, Z. 2023. Pharmaceutical, nutritional, and cosmetic potentials of saponins and their derivatives. *Nano Micro Biosystems* 2: 1–6.
- Maisetta, G.; Batoni, G.; Caboni, P.; Esin, S.; Rinaldi, A.C.; Zucca, P. 2019. Tannin profile, antioxidant properties, and antimicrobial activity of extracts from two Mediterranean species of parasitic plant *Cytinus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 19: 82.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727–747.
- aromatiques et médicinales du Maroc, P. 2016. Aromatic and medicinal plants of Morocco: Richness, diversity and threats. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*: 27–42.
- Martinez-Gomez, A.; Caballero, I.; Blanco, C.A. 2020. Phenols and Melanoidins as Natural Antioxidants in Beer. Structure, Reactivity and Antioxidant Activity. *Biomolecules* 10: 400.
- Masyita, A.; Mustika Sari, R.; Dwi Astuti, A.; Yasir, B.; Rahma Rumata, N.; Emran, T.B.; et al. 2022. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their

- roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry*: X 13: 100217.
- Melo, M.G.D.; dos Santos, J.P.A.; Serafini, M.R.; Caregnato, F.F.; de Bittencourt Pasquali, M.A.; Rabelo, T.K.; et al. 2011. Redox properties and cytoprotective actions of atranorin, a lichen secondary metabolite. *Toxicology in Vitro* 25: 462–468.
- Mendili, M.; Lahbib, H.; Saoudi, M.M.; Khadhri, A.; Aschi-Smiti, S.; Ben Amor, Y. 2024. The Power of Lichens: New Eco-Friendly Corrosion Inhibitors from Nature. *ChemistrySelect* 9: e202400440.
- Meng, W.; Mu, T.; Sun, H.; Garcia-Vaquero, M. 2021. Phlorotannins: A review of extraction methods, structural characteristics, bioactivities, bioavailability, and future trends. *Algal Research* 60: 102484.
- Menković, N.; Šavikin, K.; Tasić, S.; Zdunić, G.; Stešević, D.; Milosavljević, S.; et al. 2011. Ethnobotanical study on traditional uses of wild medicinal plants in Prokletije Mountains (Montenegro). *Journal of Ethnopharmacology* 133: 97–107.
- Metrouh-Amir, H.; Duarte, C.M.M.; Maiza, F. 2015. Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial Crops and Products* 67: 249–256.
- Michel, J.; Abd Rani, N.Z.; Husain, K. 2020. A Review on the Potential Use of Medicinal Plants From Asteraceae and Lamiaceae Plant Family in Cardiovascular Diseases. *Frontiers in Pharmacology* 11.
- Miliauskas, G.; Venskutonis, P.R.; van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85: 231–237.
- Milinčić, D.D.; Popović, D.A.; Lević, S.M.; Kostić, A.Ž.; Tešić, Ž.L.; Nedović, V.A.; et al. 2019. Application of Polyphenol-Loaded Nanoparticles in Food Industry. *Nanomaterials* 9: 1629.
- Miranda Pedroso, T.F. de; Bonamigo, T.R.; da Silva, J.; Vasconcelos, P.; Félix, J.M.; Cardoso, C.A.L.; et al. 2019. Chemical constituents of *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. root and its antioxidant, antidiabetic, antiglycation, and anticholinesterase effects in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 111: 1383–1392.
- Moazzen, A.; Öztinen, N.; Ak-Sakalli, E.; Koşar, M. 2022. Structure-antiradical activity relationships of 25 natural antioxidant phenolic compounds from different classes. *Heliyon* 8: e10467.
- Mohammadi, M.; Zambare, V.; Malek, L.; Gottardo, C.; Suntres, Z.; Christopher, L. 2020. Lichenochemicals: extraction, purification, characterization, and application as potential anticancer agents. *Expert Opinion on Drug Discovery* 15: 575–601.
- Molnár, K.; Farkas, E. 2010. Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: a Review. *Zeitschrift für Naturforschung C* 65: 157–173.
- Moreira, M.R.; Ponce, A.G.; del Valle, C.E.; Roura, S.I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology* 38: 565–570.
- Morillas, L.; Roales, J.; Cruz, C.; Munzi, S. 2022. Lichen as Multipartner Symbiotic Relationships. *Encyclopedia* 2: 1421–1431.
- Morton, J.F.; Voss, G.L. 1987. The argan tree (*Argania sideroxylon*, sapotaceae), a desert source of edible oil. *Economic Botany* 41: 221–233.
- Moukal, A. 2004. L'arganier, *Argania spinosa* L. (skeels), usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire*. *Phytotherapie* 2: 135–141.
- Moukrim, S.; Lahssini, S.; Mharzi Alaoui, H.; Rifai, N.; Arahou, M.; Rhazi, L. 2018. Modélisation de la distribution spatiale des espèces endémiques pour leur conservation : cas de l'Argania spinosa (L.) Skeels. *Revue d'Écologie* 73: 153–166.

- de Moura Martins, C.; Morais, S.A.L. de; Martins, M.M.; Cunha, L.C.S.; V. da Silva, C.; Teixeira, T.L.; et al. 2020. Antifungal and cytotoxicity activities and new proanthocyanidins isolated from the barks of *Inga laurina* (Sw.) Willd. *Phytochemistry Letters* 40: 109–120.
- Mozirandi, W.; Mukanganyama, S. 2017. Antibacterial Activity and Mode of Action of *Vernonia adoensis* (Asteraceae) Extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biologically Active Products from Nature*.
- Msanda, F.; Aboudi, A.E.; Peltier, J.-P. 2005. Biodiversité et biogéographie de l'arganeraie marocaine. *Cahiers Agricultures* 14: 357-364 (1).
- Msanda, F.; Mayad, E.H.; Furze, J.N. 2021. Floristic biodiversity, biogeographical significance, and importance of Morocco's Arganeraie Biosphere Reserve. *Environmental Science and Pollution Research* 28: 64156–64165.
- Munzi, S.; Paoli, L.; Fiorini, E.; Loppi, S. 2012. Physiological response of the epiphytic lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach. to ecologically relevant nitrogen concentrations. *Environmental Pollution* 171: 25–29.
- 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: 25.
- Nawaz, H.; Shad, M.A.; Rehman, N.; Andaleeb, H.; Ullah, N. 2020. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 56.
- Nayaka, S.; Haridas, B. 2020. Bioactive Secondary Metabolites from Lichens. In: Sukumaran, S.T.; Sugathan, S.; Abdulhameed, S. (Eds.), *Plant Metabolites: Methods, Applications and Prospects*, Springer, Singapore, p.255–290.
- Nesterkina, M.; Bilokon, S.; Alieksieieva, T.; Kravchenko, I.; Hirsch, A.K.H. 2023. Genotoxic and mutational potential of monocyclic terpenoids (carvacrol, carvone and thymol) in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology Reports* 10: 327–333.
- Nikavar, B.; L, A.A.; H.r, I. 2008. α -AMYLASE INHIBITORY ACTIVITIES OF SIX SALVIA SPECIES. 7: 297–303.
- Notov, A.A. 2014. Fruticose lichens: structural diversity, taxonomic characteristics and evolution. *Wulfenia* 21: 21–31.
- Nugraha, A.S.; Lam, T.H.Y.; Wongso, H.; Firli, L.N.; Keller, P.A. 2024. Lichens. In: *Chemistry, Biology and Pharmacology of Lichen*, John Wiley & Sons, Ltd, p.193–229.
- Nunes, C. dos R.; Barreto Arantes, M.; Menezes de Faria Pereira, S.; Leandro da Cruz, L.; de Souza Passos, M.; Pereira de Moraes, L.; et al. 2020. Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules* 25: 3726.
- Oakenfull, D.; Sidhu, G.S. 1989. Saponins. In: *Toxicants of Plant Origin*, CRC Press,.
- Odabasoglu, F.; Aslan, A.; Cakir, A.; Halis, S.; Karagoz, Y.; Mesut, H.; et al. 2004. *Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species - Odabasoglu - 2004 - Phytotherapy Research - Wiley Online Library*. (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.1488>). Accessed on 05 Oct. 2022.
- Ojha, K.S.; Aznar, R.; O'Donnell, C.; Tiwari, B.K. 2020. Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 122: 115663.
- Oksman-Caldentey, K.-M.; Inzé, D. 2004. Natural compounds derived from plants can be categorized into three different groups according to their final use in developing a drug. *Trends in Plant Science* 9: 433–440.
- Oleszek, W.A. 2002. Chromatographic determination of plant saponins. *Journal of Chromatography A* 967: 147–162.

- Oreopoulou, A.; Tsimogiannis, D.; Oreopoulou, V. 2019. Chapter 15 - Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. In: Watson, R.R. (Ed.), *Polyphenols in Plants (Second Edition)*, Academic Press, p.243–259.
- Othman, L.; Sleiman, A.; Abdel-Massih, R.M. 2019. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Frontiers in Microbiology* 10.
- Othman, M.; Loh, H.S.; Wiart, C.; Khoo, T.J.; Lim, K.H.; Ting, K.N. 2011. Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. *Journal of Microbiological Methods* 84: 161–166.
- Otmani, A.; Amessis-Ouchemoukh, N.; Birinci, C.; Yahiaoui, S.; Kolayli, S.; Rodríguez-Flores, M.S.; et al. 2021. Phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys. *Food Bioscience* 42: 101070.
- Ouhaddou, H.; Boubaker, H.; Msanda, F.; Mousadik, A.E. 2014. An ethnobotanical study of medicinal plants of the Agadir Ida Ou Tanane province (southwest Morocco). *Journal of Applied Biosciences* 84: 7707–7722.
- Ouhaddou1, H.O.H.; Alaoui, A.; Said JLAARIBYA; Sezgin, A. 2020. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for treating diabetes in Agadir Ida Outanane region, Southwestern Morocco. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 6: 72–86.
- Öztürk, M.; Aydoğmuş-Öztürk, F.; Duru, M.E.; Topçu, G. 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry* 103: 623–630.
- Panda, S.K.; Das, R.; Leyssen, P.; Neyts, J.; Luyten, W. 2018. Assessing medicinal plants traditionally used in the Chirang Reserve Forest, Northeast India for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 225: 220–233.
- Pandey, A.K.; Kumar, P.; Saxena, M.J.; Maurya, P. 2020. Chapter 6 - Distribution of aromatic plants in the world and their properties. In: Florou-Paneri, P.; Christaki, E.; Giannenas, I. (Eds.), *Feed Additives*, Academic Press, p.89–114.
- Panzella, L. 2020. Natural Phenolic Compounds for Health, Food and Cosmetic Applications. *Antioxidants* 9: 427.
- Paredes, A.; Leyton, Y.; Riquelme, C.; Morales, G. 2016. A plant from the altiplano of Northern Chile *Senecio nutans*, inhibits the *Vibrio cholerae* pathogen. *SpringerPlus* 5: 1788.
- Pasdaran, A.; Zare, M.; Hamedi, A.; Hamedi, A. 2023. A Review of the Chemistry and Biological Activities of Natural Colorants, Dyes, and Pigments: Challenges, and Opportunities for Food, Cosmetics, and Pharmaceutical Application. *Chemistry & Biodiversity* 20: e202300561.
- Paudel, B.; Bhattarai, H.D.; Lee, J.S.; Hong, S.G.; Shin, H.W.; Yim, J.H. 2008. Antibacterial potential of Antarctic lichens against human pathogenic Gram-positive bacteria. *Phytotherapy Research* 22: 1269–1271.
- de Paulo Farias, D.; Neri-Numa, I.A.; de Araújo, F.F.; Pastore, G.M. 2020. A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food Chemistry* 306: 125630.
- Piątkowska, E.; Biel, W.; Witkowicz, R.; Kępińska-Pacelik, J. 2022. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Asteraceae Family Plants. *Applied Sciences* 12: 12293.
- Pinto, T.; Aires, A.; Cosme, F.; Bacelar, E.; Morais, M.C.; Oliveira, I.; et al. 2021. Bioactive (Poly)phenols, Volatile Compounds from Vegetables, Medicinal and Aromatic Plants. *Foods* 10: 106.
- Pizňak, M.; Bačkor, M. 2019. Lichens affect boreal forest ecology and plant metabolism. *South African Journal of Botany* 124: 530–539.

- Prashith-Kekuda, T.R.; Vinayaka, K.S. 2020. Secondary Metabolites from Lichen Genus (Ramalina Ach.): Applications and Biological Activities. In: *Assessment of Medicinal Plants for Human Health*, Apple Academic Press,.
- Qi, Q.; Chu, M.; Yu, X.; Xie, Y.; Li, Y.; Du, Y.; et al. 2023. Anthocyanins and Proanthocyanidins: Chemical Structures, Food Sources, Bioactivities, and Product Development. *Food Reviews International*.
- Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C.; Pouységu, L. 2011. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition* 50: 586–621.
- Rahaman, Md.M.; Hossain, R.; Herrera-Bravo, J.; Islam, M.T.; Atolani, O.; Adeyemi, O.S.; et al. 2023. Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Science & Nutrition* 11: 1657–1670.
- Rai, S.; Acharya-Siwakoti, E.; Kafle, A.; Devkota, H.P.; Bhattarai, A. 2021. Plant-Derived Saponins: A Review of Their Surfactant Properties and Applications. *Sci* 3: 44.
- Raja, R.; Sreenivasulu, R.M. 2015. Medicinal plants secondary metabolites used in pharmaceutical importance - an overview. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)* 4: 436–447.
- R. Albuquerque, B.; A. Heleno, S.; P. Oliveira, M.B.P.; Barros, L.; R. Ferreira, I.C.F. 2021. Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function* 12: 14–29.
- Rana, A.; Samtiya, M.; Dhewa, T.; Mishra, V.; Aluko, R.E. 2022. Health benefits of polyphenols: A concise review. *Journal of Food Biochemistry* 46: e14264.
- Ranković, B. 2019. *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*. Springer, 260p.
- Ranković, B.; Kosanić, M. 2015. Lichen secondary metabolites. *Cham: Springer International Publishing*.
- Ranković, B.; Kosanić, M. 2021. Chapter 12 - Biotechnological substances in lichens. In: Sinha, R. p.; Häder, D.-P. (Eds.), *Natural Bioactive Compounds*, p.249–265.
- Ranković, B.; Mišić, M.; Sukdolak, S.; Milosavljević, D. 2007. Antimicrobial activity of the lichens *Aspicilia cinerea*, *Collema cristatum*, *Ochrolechia androgyna*, *Physcia aipolia* and *Physcia caesia*. *Italian Journal of Food Science/Rivista Italiana di Scienza degli Alimenti* 19.
- Ranković, B.; Kosanić, M.; Stanojković, T.; Vasiljević, P.; Manojlović, N. 2012. Biological Activities of *Toninia candida* and *Usnea barbata* Together with Their Norstictic Acid and Usnic Acid Constituents. *International Journal of Molecular Sciences* 13: 14707–14722.
- Raphael, J.; Clair, D.L.S. 2013. Screening of Secondary Chemicals from Selected Species of North American Lichens Against Various Pathogenic Bacteria. *Journal of Undergraduate Research* 2013.
- Rather, A.H.; Singh, S.; Choudhary, S. 2021. Antibacterial Activity of *Haematococcus pluvialis* Crude Astaxanthin Extract. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 11: 28–30.
- Rauf, A.; Imran, M.; Abu-Izneid, T.; Iahitsham-UI-Haq; Patel, S.; Pan, X.; et al. 2019. Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 116: 108999.
- Redfern, J.; Kinninmonth, M.; Burdass, D.; Verran, J. 2014. Using Soxhlet Ethanol Extraction to Produce and Test Plant Material (Essential Oils) for Their Antimicrobial Properties. *Journal of Microbiology & Biology Education* 15: 45–46.
- Rice-Evans, C. 2001. Flavonoid Antioxidants. *Current Medicinal Chemistry* 8: 797–807.

- Rippin; Sharma, A.K.; Beniwal, V. 2022. Biosynthesis and medicinal applications of proanthocyanidins: A recent update. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 45: 102500.
- Rolnik, A.; Olas, B. 2021. The Plants of the Asteraceae Family as Agents in the Protection of Human Health. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 3009.
- Romagni, J.G.; Dayan, F.E. 2002. Structural diversity of lichen metabolites and their potential use. *Advances in microbial toxin research and its biotechnological exploitation*: 151–169.
- Rosa, A.C.; Corsi, D.; Cavi, N.; Bruni, N.; Dosio, F. 2021. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules* 26: 1844.
- de la Rosa, L.A.; Moreno-Escamilla, J.O.; Rodrigo-García, J.; Alvarez-Parrilla, E. 2019. Chapter 12 - Phenolic Compounds. In: Yahia, E.M. (Ed.), *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, Woodhead Publishing, p.253–271.
- Saint-Cricq de Gaulejac, N.; Provost, C.; Vivas, N. 1999. Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 425–431.
- Salehi, B.; Ata, A.; V. Anil Kumar, N.; Sharopov, F.; Ramírez-Alarcón, K.; Ruiz-Ortega, A.; et al. 2019. Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components. *Biomolecules* 9: 551.
- Samet, H.; Cikili, Y. 2015. Importance of Medicinal and Aromatic Plants as an Alternative Crop in the Rural Development of Turkey. *Journal of Rural and Community Development* 10.
- Sari, M.; Biondi, D.M.; Kaâbeche, M.; Mandalari, G.; D'Arrigo, M.; Bisignano, G.; et al. 2006. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal* 21: 890–898.
- Schrenk, D.; Gao, L.; Lin, G.; Mahony, C.; Mulder, P.P.J.; Peijnenburg, A.; et al. 2020. Pyrrolizidine alkaloids in food and phytomedicine: Occurrence, exposure, toxicity, mechanisms, and risk assessment - A review. *Food and Chemical Toxicology* 136: 111107.
- Schügerl, K. 2013. *Solvent Extraction in Biotechnology: Recovery of Primary and Secondary Metabolites*. Springer Science & Business Media, 221p.
- Seidel, V.; Peyfoon, E.; Watson, D.G.; Fearnley, J. 2008. Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. *Phytotherapy Research* 22: 1256–1263.
- Sepahvand, A.; Studzińska-Sroka, E.; Ramak, P.; Karimian, V. 2021. *Usnea* sp.: Antimicrobial potential, bioactive compounds, ethnopharmacological uses and other pharmacological properties; a review article. *Journal of Ethnopharmacology* 268: 113656.
- Shahid, M.; Rasool, A.; Anjum, F.; Rehman, M.T. 2020. Biomedical Perspectives of Lichen-Derived Products. In: *Lichen-Derived Products*, John Wiley & Sons, Ltd, p.263–276.
- Shaik, B.B.; Katari, N.K.; Jonnalagadda, S.B. 2022. Role of Natural Products in Developing Novel Anticancer Agents: A Perspective. *Chemistry & Biodiversity* 19: e202200535.
- Sharma, A.; Biharee, A.; Kumar, A.; Jaitak, V. 2020. Antimicrobial Terpenoids as a Potential Substitute in Overcoming Antimicrobial Resistance. *Current Drug Targets* 21: 1476–1494.
- Shcherbakova, A.; Strömstedt, A.A.; Göransson, U.; Gnezdilov, O.; Turanov, A.; Boldbaatar, D.; et al. 2021. Antimicrobial and antioxidant activity of *Evernia prunastri* extracts and their isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 37: 129.
- Shen, N.; Wang, T.; Gan, Q.; Liu, S.; Wang, L.; Jin, B. 2022. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry* 383: 132531.

- Shivanna, R.; Parizadeh, H.; Garampalli, R.H. 2015. Screening of lichen extracts for in vitro antidiabetic activity using alpha amylase inhibitory assay. *Int J Biol Pharm Res* 6: 364–367.
- Shraim, A.M.; Ahmed, T.A.; Rahman, M.M.; Hijji, Y.M. 2021. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT* 150: 111932.
- Shrestha, G.; Raphael, J.; Leavitt, S.D.; St. Clair, L.L. 2014. In vitro evaluation of the antibacterial activity of extracts from 34 species of North American lichens. *Pharmaceutical Biology* 52: 1262–1266.
- Shukla, V.; Joshi, G.P.; Rawat, M.S.M. 2010. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *Phytochemistry Reviews* 9: 303–314.
- Siddiqui, A.J.; Jahan, S.; Singh, R.; Saxena, J.; Ashraf, S.A.; Khan, A.; et al. 2022. Plants in Anticancer Drug Discovery: From Molecular Mechanism to Chemoprevention. *BioMed Research International* 2022: 5425485.
- Siddiqui, T.; Khan, M.U.; Sharma, V.; Gupta, K. 2024. Terpenoids in essential oils: Chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. *Phytomedicine Plus* 4: 100549.
- Singh, G.; Armaleo, D.; Dal Grande, F.; Schmitt, I. 2021. Depside and Depsidone Synthesis in Lichenized Fungi Comes into Focus through a Genome-Wide Comparison of the Olivetoric Acid and Physodic Acid Chemotypes of *Pseudevernia furfuracea*. *Biomolecules* 11: 1445.
- Singh, R.; Poonam; Geetanjali. 2019. Chemotaxonomic Significance of Alkaloids in Plants. In: Ramawat, K.G. (Ed.), *Biodiversity and Chemotaxonomy*, Springer International Publishing, Cham, p.121–136.
- Singh, S.; Kate, B.N.; Banerjee, U.C. 2005. Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*.
- Škerget, M.; Kotnik, P.; Hadolin, M.; Hraš, A.R.; Simonič, M.; Knez, Ž. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 89: 191–198.
- Skinninger, M.A.; Johnston, C.W.; Gunabalasingam, M.; Merwin, N.J.; Kieliszek, A.M.; MacLellan, R.J.; et al. 2020. Comprehensive prediction of secondary metabolite structure and biological activity from microbial genome sequences. *Nature Communications* 11: 6058.
- Šojić, B.; Milošević, S.; Savanović, D.; Zeković, Z.; Tomović, V.; Pavlić, B. 2023. Isolation, Bioactive Potential, and Application of Essential Oils and Terpenoid-Rich Extracts as Effective Antioxidant and Antimicrobial Agents in Meat and Meat Products. *Molecules* 28: 2293.
- Solárová, Z.; Liskova, A.; Samec, M.; Kubatka, P.; Büsselberg, D.; Solár, P. 2020. Anticancer Potential of Lichens' Secondary Metabolites. *Biomolecules* 10: 87.
- Somasekhar, T.; Gundoju, N.R.; Krishna, B.R.; Elkhateeb, W. Forthcoming. Pharmacological Evaluation of Atranorin: A Comprehensive Study on its Biological Activities. .
- Sowa, P.; Marcinčáková, D.; Mílek, M.; Sidor, E.; Legáth, J.; Džugan, M. 2020. Analysis of Cytotoxicity of Selected Asteraceae Plant Extracts in Real Time, Their Antioxidant Properties and Polyphenolic Profile. *Molecules* 25: 5517.
- Sporring, S.; Bøwadt, S.; Svensmark, B.; Björklund, E. 2005. Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with Soxtec extraction, ultrasonication extraction, supercritical fluid extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil. *Journal of Chromatography A* 1090: 1–9.

- Sridhar, A.; Ponnuchamy, M.; Kumar, P.S.; Kapoor, A.; Vo, D.-V.N.; Prabhakar, S. 2021. Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19: 3409–3443.
- Stagos, D. 2020. Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts. *Antioxidants* 9: 19.
- Stark, S.; Wardle, D.A.; Ohtonen, R.; Helle, T.; Yeates, G.W. 2000. The effect of reindeer grazing on decomposition, mineralization and soil biota in a dry oligotrophic Scots pine forest. *Oikos* 90: 301–310.
- Stromsnes, K.; Lagzdina, R.; Olaso-Gonzalez, G.; Gimeno-Mallench, L.; Gambini, J. 2021. Pharmacological Properties of Polyphenols: Bioavailability, Mechanisms of Action, and Biological Effects in In Vitro Studies, Animal Models, and Humans. *Biomedicines* 9: 1074.
- Studzinska-Sroka, E.; Galanty, A.; Bylka, W. 2017. Atranorin - An Interesting Lichen Secondary Metabolite. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 17: 1633–1645.
- Studzińska-Sroka, E.; Bulicz, M.; Henkel, M.; Rosiak, N.; Paczkowska-Walendowska, M.; Sz wajgier, D.; et al. 2024. Pleiotropic Potential of Evernia prunastri Extracts and Their Main Compounds Evernic Acid and Atranorin: In Vitro and In Silico Studies. *Molecules* 29: 233.
- Sujetovienė, G. 2015. Monitoring Lichen as Indicators of Atmospheric Quality. In: Upreti, D.K.; Divakar, P.K.; Shukla, V.; Bajpai, R. (Eds.), *Recent Advances in Lichenology: Modern Methods and Approaches in Biomonitoring and Bioprospection, Volume 1*, Springer India, New Delhi, p.87–118.
- Sun, J.; Rutherford, S.T.; Silhavy, T.J.; Huang, K.C. 2022a. Physical properties of the bacterial outer membrane. *Nature Reviews Microbiology* 20: 236–248.
- Sun, M.-F.; Jiang, C.-L.; Kong, Y.-S.; Luo, J.-L.; Yin, P.; Guo, G.-Y. 2022b. Recent Advances in Analytical Methods for Determination of Polyphenols in Tea: A Comprehensive Review. *Foods* 11: 1425.
- Süntar, I. 2020. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews* 19: 1199–1209.
- Surco, F.; García, J.; Bendezú, M.; Laos, D.; Panay, J.; Valle, M.; et al. 2022. Antioxidant and antimicrobial activity of *Senecio nutans* | *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. (https://doi.org/10.56499/jppres22.1471_10.6.1026). .
- Suriano, S.; Balconi, C.; Valoti, P.; Redaelli, R. 2021. Comparison of total polyphenols, profile anthocyanins, color analysis, carotenoids and tocopherols in pigmented maize. *LWT* 144: 111257.
- Sussmann, R.A.C.; Angeli, C.B.; Peres, V.J.; Kimura, E.A.; Katzin, A.M. 2011. Intraerythrocytic stages of *Plasmodium falciparum* biosynthesize vitamin E. *FEBS Letters* 585: 3985–3991.
- Tabart, J.; Kevers, C.; Pincemail, J.; Defraigne, J.-O.; Dommes, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry* 113: 1226–1233.
- Tabuti, J.R.S.; Dhillon, S.S.; Lye, K.A. 2003. Ethnoveterinary medicines for cattle (*Bos indicus*) in Bulamogi county, Uganda: plant species and mode of use. *Journal of Ethnopharmacology* 88: 279–286.
- Taleb, M.S. 2017. Aromatic and Medicinal Plants in Morocco: Diversity and Socio-Economic Role. 11.
- Tarrier, M.R.; Benzyane, M. 2003. The Moroccan Argan tree forest is dying out: issues and bio-indication. *Science et changements planétaires / Sécheresse* 14: 60–62.
- Tasneem, S.; Liu, B.; Li, B.; Choudhary, M.I.; Wang, W. 2019. Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. *Pharmacological Research* 139: 126–140.

- Tawaha, K.; Alali, F.Q.; Gharaibeh, M.; Mohammad, M.; El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* 104: 1372–1378.
- Teng, H.; Choi, Y.H. 2012. Optimization of extraction of bioactive alkaloids and antioxidants from rhizome coptidis (*Coptis Chinensis* Franch) by using response surface methodology. *Food Science and Biotechnology* 21: 799–806.
- Tetali, S.D. 2019. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. *Planta* 249: 1–8.
- Thadhani, V.M.; Karunaratne, V. 2017. Potential of Lichen Compounds as Antidiabetic Agents with Antioxidative Properties: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017: 2079697.
- Thete, M.; Dilip, A. 2020. Recent advances and methods for in-vitro evaluation of antidiabetic activity: A review. *Int. J. Eng. Appl. Sci. Technol* 4: 194–198.
- Timilsena, Y.P.; Phosanam, A.; Stockmann, R. 2023. Perspectives on Saponins: Food Functionality and Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 24: 13538.
- Tiwari, B.K. 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 71: 100–109.
- Togola, I.; Dembélé, A.A.; Tounkara, F.; Diarra, N.; Konaré, M.A.; Karembé, M.; et al. 2019. Evaluation of in vitro Antioxidant Activities of Ethanol Extracts of *Datura innoxia* Mill. Leaves and Seeds Harvested in Mali. *Annual Research & Review in Biology*: 1–8.
- Torres-Benítez, A.; Ortega-Valencia, J.E.; Jara-Pinuer, N.; Sanchez, M.; Vargas-Arana, G.; Gómez-Serranillos, M.P.; et al. 2023. Antioxidant and antidiabetic activity and phytoconstituents of lichen extracts with temperate and polar distribution. *Frontiers in Pharmacology* 14.
- Trepa, M.; Sułkowska-Ziaja, K.; Kała, K.; Muszyńska, B. 2024. Therapeutic Potential of Fungal Terpenes and Terpenoids: Application in Skin Diseases. *Molecules* 29: 1183.
- Tundis, R.; Menichini, F.; Loizzo, M.R.; Bonesi, M.; Solimene, U.; Menichini, F. 2012. Studies on the potential antioxidant properties of *Senecio stabianus* Lacaita (Asteraceae) and its inhibitory activity against carbohydrate-hydrolysing enzymes. *Natural Product Research*.
- Turkmen, N.; Velioglu, Y.S.; Sari, F.; Polat, G. 2007. Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules* 12: 484–496.
- Twaij, B.M.; Hasan, M.N. 2022. Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology* 13: 4–14.
- Umeno, A.; Horie, M.; Murotomi, K.; Nakajima, Y.; Yoshida, Y. 2016. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules* 21: 708.
- Vaishnav, P.; Demain, A.L. 2011. Unexpected applications of secondary metabolites. *Biotechnology Advances* 29: 223–229.
- Van Haluwyn, C.; Asta, J.; Gavériaux, J.-P. 2022. *Guide des lichens de France: lichens des arbres*. Belin, .
- Verma, N.; Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 2: 105–113.
- Wang, L.; Weller, C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology* 17: 300–312.
- Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology* 126: 485–493.

- World Health Organization, W.H. 2022. WHO establishes the global centre for traditional medicine in India. *World Health Organization. Tersedia* 25.
- Wu, Q.; Zhou, J. 2021. Chapter Two - The application of polyphenols in food preservation. In: Granato, D. (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 98, Academic Press, p.35–99.
- 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: 318.
- Yang, Q.-Q.; Gan, R.-Y.; Ge, Y.-Y.; Zhang, D.; Corke, H. 2018. Polyphenols in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Chemistry, Analysis, and Factors Affecting Composition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17: 1518–1539.
- Yeshi, K.; Crayn, D.; Ritmejeriytè, E.; Wangchuk, P. 2022. Plant Secondary Metabolites Produced in Response to Abiotic Stresses Has Potential Application in Pharmaceutical Product Development. *Molecules* 27: 313.
- Zakraoui, M.; Hannachi, H.; Pasković, I.; Vidović, N.; Polić Pasković, M.; Palčić, I.; et al. 2023. Effect of Geographical Location on the Phenolic and Mineral Composition of Chetoui Olive Leaves. *Foods* 12: 2565.
- Zambare, V.P.; Christopher, L.P. 2012. Biopharmaceutical potential of lichens. *Pharmaceutical Biology* 50: 778–798.
- Zaynab, M.; Fatima, M.; Sharif, Y.; Zafar, M.H.; Ali, H.; Khan, K.A. 2019. Role of primary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis* 137: 103728.
- Zhang, H.-F.; Yang, X.-H.; Wang, Y. 2011. Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. *Trends in Food Science & Technology* 22: 672–688.
- Zhang, Q.; Fan, S.; Xie, H.; Zhang, Y.; Fu, L. 2023. Polyphenols from pigmented quinoa as potential modulators of maize starch digestion: Role of the starch-polyphenol inclusion and non-inclusion complexes. *Food Hydrocolloids* 144: 108975.
- Zhao, Y.; Wang, M.; Xu, B. 2021. A comprehensive review on secondary metabolites and health-promoting effects of edible lichen. *Journal of Functional Foods* 80: 104283.
- Zujko, M.E.; and Witkowska, A.M. 2014. Antioxidant Potential and Polyphenol Content of Beverages, Chocolates, Nuts, and Seeds. *International Journal of Food Properties* 17: 86–92.