REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA

FACULTE DE MEDECINE

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences Médicales

Spécialité : Pharmacognosie

Valorisation d'une plante halophyte des régions steppiques par une étude ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique : *Atriplex halimus* L.

Présentée par Dr **: SAHRAOUI Ouafa**

Maitre-assistante Hospitalo-Universitaire en Pharmacognosie

Devant le jury :

Présidente :

Derradji Leila : Professeur à la Faculté de Médecine, Université d'Annaba

Directrice de Thèse :

Boughandjioua Nadia : Professeur à la Faculté de Médecine, Université d'Annaba

Examinateurs :

Ounaissia Karima : Professeur à la Faculté de Médecine, Université d'Annaba

Selka Mohamed Adil : Professeur à la Faculté de Médecine, Université de Tlemcen

Neghra Abdelhak : Professeur à la Faculté de Médecine, Université d'Annaba

Chader Henni : Professeur à la Faculté de Médecine, Université d'Alger

N° d'ordre :……

Annaba : 2025

Remerciements

عن أبي هريرة رضي الله عنه قال: قال رسول الله صلى الله عليه وسلم «**من لا يشكر الناس لا يشكر الله**» .رواه الترمذي

A Madame Pr ***Derradji Leila*** *Président de Jury*

Je tiens à vous adresser mes remerciements les plus sincères, pour l'honneur que vous me faites en présidant le jury de cette thèse.

Votre dévouement, votre exemplarité et votre éthique professionnelle sont pour moi une source constante d'inspiration. Votre disponibilité et vos conseils clairs et bienveillants, m'ont guidé et encouragé tout au long de ce parcours, même dans les moments les plus exigeants. Vous incarnez à mes yeux l'image d'une cheffe de service à la fois rigoureuse et humaine, alliant intégrité et passion pour son métier. Veuillez recevoir, Madame, l'expression de ma gratitude sincère et de mon profond respect.

A Madame ***Pr BOUGHANDJIOUA NADIA*** *, Directrice de Thèse*

Je souhaite exprimer toute ma gratitude et mon admiration à votre égard.

Votre sagesse, acquise au fil des années et des expériences, a guidé mes pas durant cette thèse, m'apportant sérénité et confiance face aux obstacles. Votre rigueur scientifique et votre exigence ont été, pour moi, des repères essentiels, me poussant à viser l'excellence et à ne jamais céder à la facilité.

Je vous remercie sincèrement pour vos conseils précieux, apportés avec bienveillance, toujours justes et constructifs. Vous avez su m'accompagner non seulement sur le plan académique, mais aussi sur le plan humain, en montrant une écoute attentive, un soutien indéfectible face aux nombreux doutes qui m'ont accompagné.

Au-delà de vos qualités professionnelles, vous êtes un exemple pour nous tous, par votre éthique, votre engagement et votre passion pour la spécialité. Merci de montrer, chaque jour, par vos actions et vos valeurs, ce que signifie être une scientifique et un mentor inspirant.

Sans votre accompagnement et votre foi en mes capacités, ce travail n'aurait jamais pu aboutir de cette manière. Recevez ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

A Monsieur Pr ***Neghra Abdelhak,*** *Membre du Jury*

Je vous exprime toute ma gratitude pour l'honneur que vous me faites en acceptant d'évaluer ce travail. Votre présence au sein de ce jury est pour moi un privilège, d'autant plus que j'ai eu la chance de bénéficier de votre enseignement. Votre rigueur scientifique et votre sens pédagogique ont profondément marqué mon parcours académique et demeurent pour moi une source d'inspiration.

Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon respect.

A Mademe Pr ***Ounaissia Karima****, Membre du Jury*

Votre présence au sein de ce jury est un grand honneur pour moi.

Vos nombreuses compétences, votre sens profond de l'humanité ainsi que votre modestie sont connus de tous. Au-delà de ce rôle académique, vous avez été pour moi un réel soutien au cours de mon parcours, vous m'avez aidé à rester motivé dans les moments d'incertitude.

Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon respect.

A Monsieur Pr ***Chader Henni*** *et Pr* ***Selka Mohamed Adil****, Membres du Jury*

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour avoir accepté, avec bienveillance, d'évaluer ce travail de thèse. Votre disponibilité, votre investissement et vos précieuses remarques constituent un honneur et un enrichissement considérable pour la qualité de ce travail.

Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon respect.

A madame Pr ***Boumendjel Amel****, Professeure en immunologie à la faculté des sciences de Université de Badji Mokhtar Annaba*

Je souhaite vous témoigner ma profonde reconnaissance pour l'aide précieuse que vous m'avez apportée dans la réalisation de cette recherche. Votre rigueur scientifique, votre expertise et votre bienveillance ont été déterminantes pour la réussite de ce travail, notamment lors de la mise en œuvre de l'expérimentation animale.

Vos conseils avisés et votre accompagnement constant m'ont permis d'avancer avec confiance et sérénité dans cette étape cruciale. Vous avez incarné, à mes yeux, l'exemple même d'un encadrement alliant exigence scientifique et humanité.

Veuillez agréer, Madame la Professeure, l'expression de mon respect le plus sincère et de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au Professeure ***Diana Pinto****, Professeur en chimie au Département de Chimie de l'Université d'Aveiro du Portugal, pour son expertise dans la réalisation de l'identification chromatographique des extraits. Sa rigueur scientifique et sa disponibilité ont grandement contribué à la qualité et à la réussite de cette étape essentielle de mon travail.*

J'adresse mes sincères remerciements à Professeure ***Ouhida Soraya*** *, Cheffe de service d'anatomie pathologie au CHU de Sétif, pour son aide précieuse dans la réalisation de la partie histologique. Malgré ses nombreuses responsabilités et un emploi du temps chargé, elle a su me consacrer son temps, son expertise et sa bienveillance, ce qui a grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.*

Veuillez agréer, Madame la Professeure, l'expression de mon respect le plus sincère et de ma profonde gratitude.

Je remercie vivement Dr ***Douaoui Abdelkader*** *et Dr* ***Gharbi Moufida*** *d'avoir mis à ma disponibilité le laboratoire de pharmacologie pour réaliser l'expérimentation animale, vos conseils m'ont permis d'avoir moins d'appréhension et plus de courage.*

Je remercie également Pr ***Brouk Hacene****, Pr* ***Gouri Adel*** *et Dr* ***Houadef Akrem*** *pour leur aide et leur participation active à la partie biochimique.*

Je remercie également Pr ***Ait Kaki Samira*** *pour ses nombreux conseils et son aide durant la réalisation de la partie in silico.*

Je remercie sincèrement Dr ***Adjailia Imene****, Dr* ***Bouriachi Sarra*** *et tous ceux qui ont été présents lors du sacrifice des animaux (Ikram, Yousra, Imene, Lina et Amjade).*

J'adresser mes sincères remerciements à Dr ***Djouder Chaouki*** *pour son aide précieuse, ses recommandations et sa participation active qui m'ont permis d'améliorer ce travail, je vous souhaite l'accomplissement et la réussite dans votre parcours de chercheur.*

Je remercie vivement Dr ***KHRTFI Hind*** *et Dr* ***KADI Yacine*** *pour leur aide et leur participation .*

*Aussi, Je veux remercier profondément les mastérantes (****Ikram*** *et Yousra) et les étudiantes que j'ai encadrées qui ont participé à ce travail.*

Je remercie également toutes les résidentes du service de pharmacognosie de Annaba et plus spécifiquement Dr ***Sana Kantaoui*** *pour son engagement et sa contribution active.*

Je remercie aussi toutes les résidentes du service de chimie analytique de Sétif pour leur aide et leur disponibilité.

Je remercie également les ingénieures de laboratoire qui m'ont aidées (Zahia et Labiba).

Enfin, un grand merci à toutes les personnes qui m'ont aidées de près ou de loin à la réalisation de ce travail de thèse.

الحمد لله رب العالمين، الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله يكتمل النجاح، وأسأله دوام الفضل والبركة في كل عمل أقوم به

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents avec tout mon amour

A mon ***cher papa*** *qui a toujours été ma source de réconfort de soutien et d'exemple dans sa rigueur professionnelle et son dévouement pour la famille*

A ma ***chère maman*** *qui s'est sacrifiée durant toute sa vie pour le bonheur et l'éducation de ses enfants et dont la seule fierté était leur réussite.*

A mon cher époux ***Mohamed Nadjib***

Aucun mot ne pourrait exprimer mon amour, ma gratitude et mon respect.

Je te remercie pour ton soutien indéfectible, tes encouragements constants et ta présence réconfortante durant les moments les plus difficiles. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir été ma force lorsque j'en avais plus

A mes chers enfants ***Mohamed Amine*** *et* ***Ines***

Véritables sources de joie et de motivation, pour leur amour inconditionnel et leur patience durant mes absences. Vous êtes ma plus belle réussite. Puisse Allah vous procurer santé, réussite et bonheur.

À ma chère tante, ***Saadi Fatima Zohra****,*

éminente spécialiste ORL, dont la sagesse et la passion pour la médecine traditionnelle à base de plantes ont profondément inspiré ce travail. Par ton engagement et ton dévouement, tu m'as transmis l'amour du savoir ancestral et l'importance de concilier sciences et traditions.

A mes ***beaux-parents***

Je vous remercie pour votre soutient et votre présence durant les moments difficiles

A ma chère sœur ***Nabila*** *et à mon cher frère* ***Mohamed Anis***

A mes chères belles sœurs ***Narjess****,* ***Yasmine*** *et* ***Houda***

A mes petits neveux et nièces : ***Mehdi, Adel, Maher, Mazen, Celia et Melissa***

Je tiens à vous exprimer tout mon amour et le bonheur de vous avoir à mes côtés toutes ces années

QUE DIEU LE TOUS PUISSANT VOUS GARDE ET VOUS PROTEGE

Wafa

Table des matières

Liste des abréviations XIII

Liste des tableaux XVI

Liste des figures XIX

Introduction 1

Recherche bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les halophytes

I. Généralités sur les halophytes 4

I.1 Classification des halophytes 5

I.2 Mécanismes de protection des halophytes à la salinité 7

I.3 Caractères morpho-anatomiques des halophytes 8

I.4 Caractères phytochimiques des halophytes 9

I.5 Potentialités biologiques des halophytes 12

5.1 Activité antioxydante 12

5.2 Activité antimicrobienne 13

5.3 Autres propriétés 13

I.6 Emplois des halophytes 13

Chapitre II : Monographie sur *l'Atriplex halimus* L

II. Monographie sur *l'Atriplex halimus* L. 15

II. 1 Généralité sur le genre *Atriplex* 15

II.2 La famille des Amaranthaceae 16

II.3 Nomenclature 17

3.1 Nomenclature scientifique 17

3.2 Noms vernaculaires 18

II.4 Position systématique de l'*Atriplex halimus* 18

II.5 Répartition géographique de l'*Atriplex halimus* 19

II.6 Description botanique de l'*Atriplex halimus* L 22

6.1 Description macroscopique 22
6.2 Description microscopique 25
II.7 Composition chimique de l'*Atriplex halimus L.* 27
7.1. Les composés du métabolisme primaire 27
7.2 Les composés du métabolisme secondaire 27
II.8 Propriétés pharmacologiques de l'*Atriplex halimus* L 31
8.1 Propriétés antibactériennes et antifongiques 31
8.2 Propriétés antidiabétiques 31
8.3 Propriétés antioxydantes 32
8.4. Propriétés cytotoxiques et antitumorales 32
8.5. Propriétés hépato-protectrices 32
8.6. Autres propriétés 33
II.9 Toxicité de *l'Atriplex halimus* L 33
II.10 Emplois de *l'Atriplex halimus* L 33
10.1. Emploi alimentaire 33
10.2. Emploi médicinal 34
10.2.1. En phytothérapie 34
10.2.2. En médecine traditionnelle 34
10.3 Emploi cosmétologique 35
10.4. Emploi agro-écologique 35
10.4.1. Utilisation pastorale 35
10.4.2. Remédiassions des sols 35

Chapitre III : le système endocrinien (la thyroïde)

III. Généralités sur le système endocrinien 36
III.1. La glande thyroïdienne 38
III.2. Régulation de la fonction thyroïdienne 39
III.3. Actions physiologiques 40

III.4. Evaluation de la fonction thyroïdienne 41
4.1 Dosages hormonaux 41
4.2. Dosage des auto-anticorps 42
III.5. Les pathologies thyroïdiennes 42
5.1. Anomalies morphologiques 42
5.2. Anomalies fonctionnelles 42
III.6. Les perturbateurs endocriniens (PE) 43
6.1. Définition des PE 43
6.2. Les sources des PE 43
6.3. Impact des PE sur la fonction thyroïdienne 44

Partie expérimentale

I. Matériel 46
I.1. Matériel végétal 46
1.1. Critères de choix de la plante étudiée 46
1.2. Critères de choix du lieu et période de récolte de la plante 46
1.2.1. Description de la zone de récolte 48
1.3 Procédés de séchage et conservation de la plante 50
I.2 Matériel de laboratoire 51
I.3. Matériel animal 52
II. Méthodes 53
II.1. Identification botanique 53
1.1. Préparation de l'herbier 53
1.2. Diagnose botanique 53
1.2.1. Examen organoleptique et macroscopique 54
1.2.2 Examen microscopique 55
II.2. Enquêtes ethnobotaniques 57
2.1 Description des enquêtes 57

2.1.1. Enquête auprès de la population 57
2.1.2. Enquête auprès des herboristes 58
2.2. Traitement des données 60
II.3. Etude phytochimique 62
3.1. Extraction des substances naturelles de *l'Atriplex halimus* 62
3.1.1. Les étapes de pré-extraction 62
3.1.2 Extraction préliminaire 63
3.1.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par la méthodologie des plans d'expériences 63
C. Détermination des réponses choisies 65
3.1.4. Optimisation des conditions d'extraction des alcaloïdes par la méthodologie des plans d'expériences 66
D. Détermination de la réponse choisie 68
3.1.5. Extraction exhaustive en série 68
A. Extraction exhaustive en série à chaud (Soxhlet) 70
B. Extraction exhaustive en série à froid (macération) 71
3.2. Analyse qualitative 73
3.2.1. Le screening phytochimique 73
A. Identification des alcaloïdes 74
B. Identification des composés phénoliques 74
C. Identification des composés terpéniques 77
3.2.2. Analyse qualitative des extraits par chromatographie 81
A. Condition de l'analyse GC-MS 81
B. Condition de l'analyse par UHPLC-MS 82
C. Condition de l'analyse par HPLC-DAD 82
3.3. Analyse quantitative 83
3.3.1. Détermination de la teneur en eau 83

3.3.2. Détermination de la teneur en cendres totales 84
3.3.3. Dosage des composés phénoliques totaux 85
3.3.4. Dosage des flavonoïdes 86
3.3.5. Dosage des tanins condensés 87
3.3.6. Dosage de la berbérine 88
II.4. Evaluation *in silico* 89
4.1. Reverse screening 89
4.2. Les serveurs 89
II.5. Evaluation biologique (*in vitro*) et pharmacologique (*in vivo*) 90
5.1. Evaluation biologique (*in vitro*) 90
5.1.1 Détermination de l'activité anti-oxydante 90
A. Activité antiradicalaire au DPPH 90
B. FRAP méthode (Ferric Reducing Antioxidant Power) 93
5.1.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire 94
A. Inhibition de la dénaturation de l'albumine 94
B. Activité stabilisatrice de la membrane érythrocytaire 95
5.2 Evaluation pharmacologique (*in vivo*) 96
5.2.1. Les extraits testés 96
5.2.2. Le xénobiotique testé 97
5.2.3. Déroulement de l'expérimentation 99
5.2.4. Composition des lots et traitements des rats 100
5.2.5. Sacrifice et prélèvement 101
5.2.6. Dissection des rats et traitement des échantillons 101
5.2.7. Analyses statistiques 104
III. Résultats 105
III.1 Identification botanique 105
1.1. Herbier de la plante 105

1.2. Etude morphologique et macroscopique de la plante 105
1.3. Observation microscopique de la coupe transversale de la feuille *d'A.halimus* L 109
1.4. Observation microscopique de la poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L 111
III.2. Enquêtes ethnobotaniques 115
2.1. Répartition de la population selon les caractéristiques socio-démographiques 115
2.1.1 Répartition selon les tranches d'âge et le sexe 115
2.1.3 Répartition selon le niveau d'étude et la source de l'information..... 116
2.2 Répartition des résultats obtenus sur l'*Atriplex halimus* L : 116
2.2.1 Connaissance et utilisation de la plante 116
2.2.2. Partie utilisée de la plante 117
2.2.3. Les pathologies traitées par la plante: 118
2.2.4. Mode de préparation et association avec d'autres plantes 119
2.2.5. Effets indésirables attribués à la plante 119
2.3. Répartition des herboristes selon les caractéristiques socio-démographiques 120
2.3.1. Répartition selon les tranches d'âge et le sexe 120
2.3.3 Répartition selon le niveau d'étude et la source de l'information..... 121
2.4. Répartition des résultats obtenus sur l'*Atriplex halimus* 121
2.4.1 Connaissance et disponibilité de la plante 121
2.4.2 Source et lieu de récolte de la plante 122
2.4.3. Partie utilisée de la plante 123
2.4.4. Les pathologies traitées 123
2.4.5. Mode de préparation et association avec d'autres plantes 124
2.4.6. Durée de traitement et posologie..... 125
2.4.7. Effets indésirables attribués à la plante 126
2.4.8. Prix de vente de la plante 126
III.3. Etude phytochimique 127
3. 1. Optimisation des procédés d'extraction pour l'extraction des polyphénols 127

3.1.1. La matrice générée par le logiciel 127
3.1.2 Analyse des résultats du plan de criblage définitif..... 128
3. 2. Optimisation des procédés d'extraction pour l'extraction des alcaloïdes 132
3.2 .1. La matrice générée par le logiciel 132
3.2.2. Analyse des résultats du plan de criblage définitif..... 132
3.3. Analyse qualitative 134
3.3.1. Screening phytochimique 134
3.3.2. Analyse qualitative des extraits par chromatographie 136
A. Les extraits optimisés 136
B. Les extraits en série à chaud (par Soxhlet) 142
C. Les extraits en série à froid (par macération) 149
3.4. Analyses quantitatives 157
III.4. Evaluation *in silico* 159
4.1. Prédiction des cibles 163
4.2. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques 171
III.5. Evaluation biologique et pharmacologique 177
5.1. Evaluation biologique (*in vitro*) 177
5.2. Evaluation pharmacologique (*in vivo*) 178
5.2.1. Variation du poids corporel 179
5.2.2. Variation de la consommation en eau et en nourriture 180
5.2.3. Variation du poids absolu des organes prélevés..... 181
5.2.4. Effets sur certains paramètres hormonaux 188
B) Effet sur une hormone hypothalamo-hypophysaire (TSH) 190
5.2.5. Effets sur certains paramètres biochimiques 194
5.2.6. Etude histologique 207
IV. Discussion 216
IV.1 Diagnose botanique 216

IV.2 Enquêtes ethnobotaniques 217
IV.3 Optimisation des méthodes d'extraction 222
3.1. Extraction des polyphénols 222
3.2. Extraction des alcaloïdes 224
IV.4 Analyse qualitative 226
4.1 Screening phytochimique 226
4.2 Analyses chromatographiques 228
IV.5 Analyse quantitative 235
IV.6 Evaluation *in silico* 238
IV.7 Evaluation biologique (*in vitro*) 247
IV.8 Evaluation pharmacologique (*in vivo*) 251
Conclusion 269
Références Bibliographiques 272
ANNEXES 300

Liste des abréviations

AChE : Acétylcholinestérase

ADRA2B : Récepteur adrénergique alpha-2B

ADRA2C : Récepteur adrénergique alpha-2C

AE : Extrait aqueux

AG : Acide gallique

AKR1B1 : Aldose réductase 1B1

AKR1B10 : Aldose réductase 1B10

$AlCl_3$: Trichlorure d'aluminium

ALOX5 : Arachidonate 5-lipoxygénase

BHE : Barrière hémato-encéphalique

BCHE : Butyrylcholinestérase

CA : Carbonic anhydrase (anhydrase carbonique)

C : Groupe contrôle (témoin négatif)

CHRM1 : Récepteur muscarinique M1

COX1 : Cyclooxygénase-1

CYP19A1 : Cytochrome P450 aromatase

DINP : di-isononyl phtalate

DEHP : Di(2-éthylhexyl)

DL50 : Dose létale 50%

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test antioxydant)

DSD : Definitive Screening Design (plan de criblage)

EAA : Équivalent d'acide ascorbique

EAG : Équivalent d'acide gallique

EC : Équivalent de catéchine

EQ : Équivalent de quercétine

ER : Estrogen Receptor

ERα (ESR1) : Estrogen Receptor alpha

ERβ (ESR2) : Estrogen Receptor beta

FC : Facteur de citation

$FeCl_3$: Chlorure de fer

FL : Fidélité (niveau de fidélité)

FLL : faisceaux libéro-ligneux

Fo : fraction absorbée par voie orale

F_{IP} : fraction absorbée par voie intrapéritonéale

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power (test du pouvoir antioxydant réducteur)

GC-MS : Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Gr : Grossissement (microscopie)

HEO : Extrait hydro-éthanolique optimisé

hERG I / II : Inhibiteur human ether related gene (canaux potassiques cardiaques)

HPA : hypothalamo-hypophyso-surrénalien

HPT : hypothalamus-hypophyse- thyroïde

HT : hormones thyroïdiennes

HTA : Hypertension artérielle

HTR2B : Récepteur de la sérotonine 2B

IA : intelligence artificielle

IC_{50} : Concentration inhibitrice à 50 %

IL-2 : Interleukine-2

IP : Voie intrapéritonéale

mg/g : Milligramme par gramme

mg/kg/jr : Milligramme par kilogramme et par jour

MS : matière sèche

NC : Nombre de citation

NOX4 : NADPH oxydase 4

NS : non significatif

OMS : Organisation mondiale de la santé

PE : perturbateur endocrinien

P-gp : Glycoprotéine P (pompe d'efflux)

pH : Potentiel hydrogène

PT : groupe traité au phtalate

PTAE : Groupe traité au phtalate et extrait aqueux

PTHE : Groupe traité au phtalate et extrait hydro-éthanolique

ROS : Reactive Oxygen Species (espèces réactives de l'oxygène)

PPAR : peroxysome proliferation activated receptors

Rt : Temps de rétention en chromatographie

SA score : Synthetic Accessibility score

SERMs : Selective Estrogen Receptor Modulators

SGLT1 (SLC5A1) : Sodium-Glucose Transporter 1

SIGMAR1 : Récepteur Sigma-1

SMILES : Simplified Molecular Input Line Entry System

SNC : Système nerveux central

SOPK : Syndrome des ovaires polykystiques

SRD5A1 : Steroid 5-alpha-reductase type 1

T : Température

T3 : Triiodothyronine

T4 : Thyroxine

TC : Tanins condensés

TNF-α : Tumor Necrosis Factor alpha

TR : Thyroïd Hormone Receptor

TRH : thyrotropine hypothalamique

TSH : Thyroid Stimulating Hormone

TPSA : Topological Polar Surface Area

TPO : thyroperoxydase

UHPLC-MS : Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

UV : Valeur d'usage

WLOGP : Wildman-Crippen LogP

% : Pourcentage

3D : trois dimensions

Liste des tableaux

Tableau 1: Les plantes médicinales halophytes les plus connues du bassin méditerranéen ... 14
Tableau 2: Liste des espèces d'Atriplex recensées en Algérie ... 16
Tableau 3: Les différents noms vernaculaires de *l'Atriplex halimus* L. ... 18
Tableau 4: Classification phylogénétique selon APG IV (2016) de l'*Atriplex halimus* ... 19
Tableau 5: Classification classique de Cronquist (1981) de *l'Atriplex halimus* ... 19
Tableau 6: Principales espèces représentant la végétation steppique ... 21
Tableau 7: Le matériel et réactifs de laboratoire utilisés ... 51
Tableau 8: Niveaux des facteurs sélectionnés pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols ... 64
Tableau 9: Niveaux des facteurs sélectionnés pour l'optimisation de l'extraction des alcaloides ... 67
Tableau 10: Quelques propriétés physico-chimiques du DINP ... 98
Tableau 11 : Mesures moyennes des feuilles *d'Atriplex halimus* L. ... 108
Tableau 12: Répartition des résultats selon les maladies traitées par l'A.*halimus* L. citées par la population ... 118
Tableau 13 : Les effets indésirables attribués à l'A.*halimus* L. cités par la population ... 120
Tableau 14: Lieu d'approvisionnement de la plante ... 122
Tableau 15: : Répartition des résultats selon les maladies traitées par l'A.*halimus* L. citées par les herboristes ... 124
Tableau 16: Les associations avec l'A,halimus L. citées par les herboristes ... 125
Tableau 17 : Les effets indésirables attribués à l'A.halimus L. cités par les herboristes ... 126
Tableau 18: Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la détermination des conditions opératoires optimales de l'extraction des polyphénols ... 128
Tableau 19: Estimations des paramètres du modèle combiné pour le rendement ... 129
Tableau 20: Résumé des différents effets pour le rendement ... 129
Tableau 21: Estimations des paramètres du modèle combiné pour la teneur en polyphénols ... 130
Tableau 22: Résumé des différents effets pour la teneur en polyphénols ... 130
Tableau 23: Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la détermination des conditions opératoires optimales de l'extraction des alcaloïdes ... 132
Tableau 24 : Estimations des paramètres du modèle combiné pour le rendement en alcaloïdes ... 132

Tableau 25: Résumé des effets pour le rendement en alcaloïdes 133
Tableau 26: Résultats du screening phytochimique des feuilles d'Atriplex halimus L..... 135
Tableau 27: Composition de l'extrait HEO des feuilles d'Atriplex halimus L. par UHPLC-MS..... 137
Tableau 28: Composition en alcaloïde de l'extrait HEO des feuilles d'Atriplex halimus L. par HPLC-DAD..... 138
Tableau 29: Composition de l'EAO des feuilles d'Atriplex halimus L. par UHPLC-MS ... 140
Tableau 30: Composition en alcaloïdes de l'extrait AO des feuilles d'Atriplex halimus L. par HPLC-DAD..... 141
Tableau 31: Composition de l'extrait hexane des feuilles d'Atriplex halimus L. par GC-MS 142
Tableau 32: Composition de l'extrait dichlorométhane des feuilles d'Atriplex halimus L. par UHPLC-MS..... 144
Tableau 33: Composition de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles d'Atriplex halimus L. par UHPLC-MS..... 145
Tableau 34: Composition de l'extrait méthanolique des feuilles d'Atriplex halimus L. par UHPLC-MS..... 147
Tableau 35: Composition de l'extrait hexane des feuilles d'Atriplex halimus L. par GC-MS 149
Tableau 36: Composition de l'extrait dichlorométhane des feuilles d'Atriplex halimus L. par UHPLC-MS..... 151
Tableau 37: Composition de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles d'A.halimus L. par UHPLC-MS..... 152
Tableau 38: Composition de l'extrait acétonique des feuilles d'A.halimus L. par UHPLC-MS..... 153
Tableau 39: Composition de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.halimus par UHPLC-MS..... 154
Tableau 40: Composition de l'extrait aqueux des feuilles d'Atriplex halimus par UHPLC-MS..... 156
Tableau 41: Résultats de la teneur en eau et en cendre totale des différentes récoltes des feuilles d'A.halimus L. 157
Tableau 42: Teneurs en composés bioactifs des extraits optimisés d'A.halimus L..... 158
Tableau 43: Teneurs en composés phénoliques de l'extraction en série d'A.halimus L. 159

Tableau 44: Structures et SMILES des molécules évaluées in silico d'Atriplex halimus L. 160
Tableau 45: Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées d'Atriplex halimus L. 163
Tableau 46: Propriétés physico-chimiques des molécules sélectionnées d'A.halimus L. générées par Swiss-ADME 174
Tableau 47: Propriétés pharmacocinétiques prédites par Swiss-ADME et pkCSM des molécules sélectionnées d'A.halimus L. 175
Tableau 48: Les règles de Drug-Likness des molécules sélectionnées d'A.halimus L. par Swiss-ADME 176
Tableau 49: Propriétés toxicologiques prédites par pkCSM et Pro-Tox des molécules sélectionnées d'A.halimus L. 176
Tableau 50: Résultats des activités biologiques des extraits d'Atriplex halimus L. 178
Tableau 51: Synthèse générale des variations du poids absolu des organes observés chez les différents lots expérimentaux 188
Tableau 52:Synthèse générale des paramètres hormonaux observés chez les différents lots expérimentaux 193
Tableau 53:Synthèse générale des effets biochimiques observés chez les différents lots expérimentaux 206
Tableau 54: Principales modifications histologiques observées chez les lots expérimentaux 215

Liste des figures

Figure 1 : Classification des halophytes selon leurs degrés d'adaptation à la salinité du sol ... 6
Figure 2: Les mécanismes de défense des plantes halophytes au stress salin 7
Figure 3: Organisation cellulaire des différentes glandes salines retrouvées chez les halophytes. 9
Figure 4: Structure chimique des osmolytes protecteurs présents chez les halophytes 10
Figure 5: Structure chimiques de quelques composés phénoliques répondus chez les halophytes 11
Figure 6: Composition phytochimique de quelques plantes halophytes 11
Figure 7: Steppe monospécifique d'Atriplex halimus L sur une terrasse limoneuse salée..... 15
Figure 8: Aire de répartition des Amaranthaceae dans le monde 17
Figure 9: Aire de répartition de l'Atriplex halimus L. en Afrique du nord et en Algérie 20
Figure 10: Délimitation des steppes algériennes 21
Figure 11: Feuilles d'Atriplex halimus L. 22
Figure 12: Dessin représentant la fleur mâle (a) et femelle (b) de l'Atripex halimus L. 23
Figure 13: Fleurs mâles et femelles de l'Atriplex halimus L. 23
Figure 14: Dessin et herbier de l'Atriplex halimus L. 24
Figure 15: Les différentes parties botaniques de l'Atriplex halimus L. 25
Figure 16: Structure anatomique du mésophylle de Kranz 26
Figure 17:Coupe transversale de la feuille d'Atriplex halimus 26
Figure 18: Dessin de la nervure centrale d'A.halimus (A) et des trichomes vésiculaires (B) 26
Figure 19:Structure de quelques flavonoïdes isolés et identifiés dans L'A.halimus de Sardaigne 28
Figure 20: Flavonoïdes isolés de A.halimus d'Egypte 29
Figure 21: Structure des alcaloïdes identifiés dans l'Atriplex halimus 30
Figure 22: Intérêt pastoral de l'Atriplex halimus L. dans les hauts plateaux algériens 35
Figure 23: Les principales glandes endocrines 36
Figure 24: Mécanisme d'action des hormones de l'hypophyse 37
Figure 25: La glande thyroïde 38
Figure 26: Structures des hormones thyroïdiennes [ChemSketch] 38
Figure 27: Axe hypoythalamo-hypophyso-thyroïdien et ses facteurs de régulation 40
Figure 28: Schéma des systèmes physiologiques impactés par les PE 45
Figure 29: Récolte manuelle des rameaux d'Atriplex halimus L. 47

Figure 30: Champs d'Atriplex halimus L. dans la zone d'El Maarif 47
Figure 31: Limite administrative et localisation de la wilaya de M'sila 48
Figure 32: Situation géographique de la station de récolte selon Google Maps 49
Figure 33: Aspect du chott el Hodna à différentes périodes 50
Figure 34: Feuilles séchées et récoltés de la région d'El Maarif (M'sila) 50
Figure 35: Sexage des Rats femelles Wistar adultes réceptionnés lors de l'expérimentation. 52
Figure 36 : Les échantillons des feuilles d'A.halimus L. pour observation macroscopique ... 55
Figure 37: Lieu de déroulement de l'enquête ethnobotanique auprès des herboristes 60
Figure 38: Facteurs influençant l'extraction 62
Figure 39: Schéma des étapes d'extraction exhaustive en série 69
Figure 40: Oxydation des composés phénoliques en présence du réactif de Folin-Ciocalteu 85
Figure 41: Formation du complexe Flavonoïde-Aluminium lors du dosage des flavonoïdes 86
Figure 42: Formation du complexe tanin condensé-vanilline lors du dosage 87
Figure 43: Schéma explicatif de la réduction du DPPH en présence d'un anti-oxydant 91
Figure 44: Structure du di-isononyle phtalate 98
Figure 45:Les différents lots de rats Wistar installés au laboratoire de pharmacologie..... 100
Figure 46: Schéma récapitulatif du déroulement de l'expérimentation in vivo 101
Figure 47:Aspect macroscopique des ovaires après dissection 102
Figure 48: Echantillons d'herbier de l'espèce Atriplex halimus L. 105
Figure 49: Port arborescent de l'Atriplex halimus L. d'El Maarif (M'sila) 106
Figure 50: Phyllotaxie des rameaux de feuilles d'Atriplex halimus L. 106
Figure 51: Face supérieure de la feuille d'A.halimus L. observée sous loupe binoculaire Gr10 107
Figure 52: Face inferieure de la feuille *d'A.halimus* L. observée sous loupe binoculaire Gr10x1.6 107
Figure 53: Feuille d'Atriplex halimus L. observée sous la loupe binoculaire au Gr10x4 107
Figure 54: Inflorescences d'Atriplex halimus L. observées sur le lieu de récolte. 108
Figure 55: Inflorescences d'Atriplex halimus L. observée sous loupe binoculaire Gr10x4 .. 108
Figure 56: Fleurs femelles et mâles d'Atriplex halimus L. observées sous loupe binoculaire Gr 10x4 109
Figure 57: Clés d'identification des fleurs mâles et femelles de l'Atriplex halimus L. observée sous loupe binoculaire Gr 10x4 109

Figure 58: Coupe transversale de la feuille d'A.halimus L. en double coloration observée sous microscope optique Gr 10 x10 110
Figure 59: Détail de la coupe transversale de la feuille d'Atriplex halimus L. observée sous microscope optique Gr 10x40 110
Figure 60: Détail des quatre faisceaux libéro-ligneux de la nervure médiane de la feuille d'Atriplex halimus L. observés au microscope optique au Gr10x40 111
Figure 61: Détail du limbe de la feuille d'Atriplex halimus L. avec les petits FLL observée au microscope optique aux Gr10x40 111
Figure 62: Eléments microscopiques de la poudre de feuilles d'Atriplex halimus L. observés au microscope optique à différents grossissements..... 112
Figure 63: Répartition de la population selon l'âge et le sexe 115
Figure 64: Répartition de la population selon le lieu d'habitation..... 116
Figure 65: Répartition de la population selon leur niveau d'étude et la source de l'information..... 116
Figure 66: Connaissance de l'Atriplex halimus par la population questionnée..... 117
Figure 67: Utilisation de l'Atriplex halimus par la population questionnée..... 117
Figure 68: Partie utilisée de la plante par la population questionnée exprimée en FCO 117
Figure 69: Mode de préparation de la plante selon la population 119
Figure 70: Les effets indésirables de l'Atriplex selon FC et FL. 119
Figure 71: Répartition des herboristes selon l'âge et le sexe 120
Figure 72: Répartition des enquêtés selon le lieu d'exercice..... 121
Figure 73: Répartition des herboristes selon leur niveau d'étude et la nature de la formation en plantes médicinales 121
Figure 74: Connaissance et disponibilité de l'Atriplex halimus chez les herboristes..... 122
Figure 75: Source de la plante chez les herboristes..... 122
Figure 76: Partie utilisée de la plante citée par les herboristes exprimée en FCO 123
Figure 77: Mode de préparation de la plante selon les herboristes 125
Figure 78 : Durée et posologie préconisées par les herboristes..... 125
Figure 79 : Les effets indésirables de l'Atriplex selon FC des herboristes..... 126
Figure 80: Prix de 100gr d'Atriplex halimus au niveau des herboristerie 127
Figure 81: Graphiques des résidus des effets principaux pour le rendement 129
Figure 82: Graphiques des résidus des effets principaux pour la teneur en polyphénols..... 130
Figure 83: Profiler de prévision de l'extraction des polyphénols 131

Figure 84: Profileur de surface de l'extraction des polyphénols 131
Figure 85: Graphique des résidus des effets principaux pour le rendement en alcaloïdes.... 133
Figure 86: Profileur de prévision de l'extraction des alcaloïdes 133
Figure 87: Profileur de surface de l'extraction des alcaloïdes selon la nature de l'acide 134
Figure 88: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait hydro-éthanolique optimisé des feuilles d'Atriplex halimus L. 136
Figure 89: Chromatogramme HPLC-DAD de l'extrait hydro-éthanolique optimisé des feuilles d'Atriplex halimus L. 138
Figure 90: Structure des principaux composés identifiés dans l'extrait HEO d'A.halimus L. 139
Figure 91: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait alcaloïdique optimisé des feuilles d'Atriplex halimus L. 140
Figure 92: Chromatogramme HPLC-DAD de l'extrait alcaloïdique optimisé des feuilles d'Atriplex halimus L. 141
Figure 93*:* Structure des composés majoritaires identifiés dans EAO 141
Figure 94: Chromatogramme GC-MS de l'extrait hexane des feuilles d'Atriplex halimus L. 142
Figure 95 : Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait dichlorométhane des feuilles d'Atriplex halimus L. 143
Figure 96: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles d'Atriplex halimus L. 144
Figure 97: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétonique des feuilles d'A.halimus L..... 145
Figure 98: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait méthanolique des feuilles d'Atriplex halimus L. 146
Figure 99: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait aqueux des feuilles d'A.halimus L..... 148
Figure 100: Structure des composés majoritaires identifiés dans les extraits obtenus par Soxhlet..... 148
Figure 101 : Chromatogramme GC-MS de l'extrait hexane des feuilles d'Atriplex halimus L. 149
Figure 102 : Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait dichlorométhane des feuilles d'Atriplex halimus L. 150

Figure 103: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles d'A.halimus L..... 151
Figure 104: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétonique des feuilles d'A.halimus L..... 153
Figure 105: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.halimus L..... 154
Figure 106: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait aqueux des feuilles d'A.halimus L..... 156
Figure 107: Structure des composés majoritaires identifiés dans l'extraction en série par macération 157
Figure 108: Prédiction de l'absorption gastro-intestinale et de la perméabilité hémato-encéphalique par le modèle Boiled-Egg de SwissADME des molécules sélectionnées d'Atriplex halimus L 172
Figure 109: Radar de visualisation des propriétés ADME générées par Swiss-ADME des molécules sélectionnées d'A.halimus L..... 173
Figure 110: Variation du poids corporel chez les différents lots 180
Figure 111 : Le poids corporel final chez les différents lots 180
Figure 112: Variation de la consommation hydrique et alimentaires chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A) 181
Figure 113: Variation de la consommation hydrique et alimentaire chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)..... 181
Figure 114: Variation du poids absolu du foie chez les rats des différents lots..... 182
Figure 115: Variation du poids absolu du rein droit et gauche chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A) 183
Figure 116: Variation du poids absolu du rein droit et gauche chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)..... 184
Figure 117: Variation du poids absolu des ovaires droits et gauches chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A) 185
Figure 118: Variation du poids absolu des ovaires droits et gauches chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)..... 185
Figure 119: Variation du poids absolu de l'utérus chez les rats des différents lots 186
Figure 120 : Variation du poids absolu du cerveau chez les différents lots..... 187

Figure 121: Variation des taux de FT3 et FT4 chez les lots traités par l'extrait aqueux (AE)..... 189
Figure 122: Variation des taux de FT3 et FT4 chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (HE)..... 190
Figure 123: Variation des taux de TSH chez les différents lots..... 191
Figure 124: Variation des taux d'estradiol et de progestérone chez les lots traités par l'extrait aqueux (AE)..... 192
Figure 125: Variation des taux d'estradiol et de progestérone chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (HE)..... 193
Figure 126 : Variation de la glycémie chez les différents lots..... 195
Figure 127: Variation des taux de triglycérides et de cholestérol total chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)..... 196
Figure 128: Variation des taux de triglycérides et de cholestérol total chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)..... 197
Figure 129: Variation des taux de CRP chez les différents lots..... 198
Figure 130: Variation des taux d'Alanine Aminotransférase (ALT) et d'Aspartate aminotransférase (AST) chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe B)..... 199
Figure 131 : Variation des taux d'Alanine Aminotransférase (ALT) et d'Aspartate aminotransférase (AST) chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)..... 200
Figure 132: Variation du taux de phosphatase alcaline (PAL), Gamma glutamyl transférase (γGT) et de bilirubine totale chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)..... 201
Figure 133: Variation du taux de phosphatase alcaline (PAL), Gamma glutamyl transférase (γGT) et de bilirubine totale chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) 202
Figure 134:Variation du taux d'urée et de créatinine chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)..... 203
Figure 135: Variation du taux d'urée et de créatinine chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)..... 204
Figure 136: Variation du taux de cortisolémie chez les différents lots..... 205
Figure 137:Coupes histologiques de la thyroïde de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×10..... 208

Figure 138:Coupes histologiques d'ovaires de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×4 210
Figure 139:Coupes histologiques d'utérus de rats femelles adultes issues de différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×4 211
Figure 140:Coupes histologiques de foie de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×4 212
Figure 141:Coupes histologiques du rein de rats femelles adultes issues de différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr10×4 213
Figure 142:Coupes histologiques du cerveau de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr10×4 215

INTRODUCTION

Introduction :

De nos jours, personne ne peut ignorer que les traitements traditionnels à base de plantes, trouvent un accueil favorable auprès des populations, non seulement du fait qu'ils soient hérités des ancêtres mais parce qu'ils ont prouvé leur efficacité au fil du temps. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) environ 80% de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour les soins de santé[1].

Ainsi, le Directeur général de l'OMS, le Dr Margaret Chan, a déclaré en février 2013 : « *Pour plusieurs millions de personnes, les médicaments à base de plantes, les traitements traditionnels et les praticiens traditionnels constituent la principale voire l'unique source de soins de santé. La médecine traditionnelle apparaît également comme un moyen de faire face à l'inexorable montée de maladies chroniques non transmissibles*. »[1].

Les plantes médicinales demeurent ainsi un pilier essentiel de cette médecine. Elles constituent une source majeure de molécules bioactives, utilisées directement comme agents thérapeutiques ou comme matière première pour la hémisynthèse de principes actifs.

L'Algérie, grâce à sa position géographique et à la diversité de ses climats, abrite une flore riche et variée. La steppe algérienne, qui s'étend sur près de 20 millions d'hectares, renferme de nombreuses espèces spontanées encore peu étudiées[2]. Parmi elles figure *Atriplex halimus* L., appelée *Gteff* en arabe ou *Armâs* en berbère et touareg[3], utilisée en médecine traditionnelle comme hypoglycémiant et pour traiter les pathologies féminines .

Cette plante steppique se caractérise par un feuillage persistant riche en matière azotée et une résistance à la salinité, qui en fait principalement une plante halophyte et fourragère, fortement appréciée par le bétail durant la saison sèche [4].

En Algérie, le genre *Atriplex* appartenant à la famille des Amaranthaceae, est représenté par une 15 espèces mais nous déplorons un manque d'informations sur la nature des principes actifs et leurs potentiels pharmacologiques. Aussi, l'étude de ce genre est délicate vu que beaucoup d'espèces se ressemblent (fleurs petites et fragiles) rendant l'identification difficile[5,6].

En tant que plante halophyte, *Atriplex halimus L.* possède une remarquable capacité d'adaptation au stress salin et oxydatif, grâce à un système antioxydant particulièrement efficace. Les halophytes sont en effet reconnues pour leur richesse en composés phénoliques, dont l'activité biologique dépasse parfois celle des antioxydants synthétiques, souvent

controversés pour leur toxicité potentielle. Ces plantes halophytes représentent pratiquement un réservoir inexploité d'une nouvelle génération d'aliments et de médicaments [7].

Au cours des dernières décennies, peu de recherches ont été consacrées à l'étude des plantes médicinales halophytes, notamment pour confirmer scientifiquement leurs usages traditionnels ou identifier leurs composés à potentiel pharmacologique [8]. Dans le cas particulier de l'*Atriplex halimus L.*, la majorité des travaux se sont focalisés sur ses réponses morpho-physiologiques au stress salin et sur son intérêt en tant que plante fourragère [9,10], sans prendre en compte son potentiel autant que plante médicinale et source de substances bioactives[11].

Ainsi, l'objectif principal de ce travail est la valorisation scientifique *d'Atriplex halimus* L., à travers une étude expérimentale multidisciplinaire (ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique), conduite sur une période de cinq ans (2020 à 2025).

Ce travail de recherche vise essentiellement :

- Une identification des métabolites bioactifs des feuilles d*'Atriplex halimus* poussant dans les zones steppiques de la région de M'sila.
- Une évaluation pharmacologique des extraits de la plante sur la fonction thyroïdienne d'un modèle animale.

Les objectifs secondaires de notre travail étaient :

- Inventeriez les différents emplois traditionnels de l'*Atriplex halimus* par une enquête ethnobotanique auprès de la population et des herboristes ;
- Mise en place de plusieurs protocoles d'extractions des métabolites secondaires en vue d'identifier un large éventail de composés ;
- Appliquer des approches *in silico* (reverse screening) afin de prédire les mécanismes d'action, les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des principales molécules identifiées ;
- Étudier l'effet des extraits chez des rats femelles Wistar exposés à un xénobiotique de type phtalate, en évaluant les fonctions reproductrices et métaboliques ;
- Valoriser cette plante halophyte, comme ressource naturelle à potentiel pharmaceutique et nutraceutique pour les régions steppiques.

Ce travail est organisé en deux parties :

- La première partie représentée par la recherche bibliographique est formulée en trois chapitres. Le premier chapitre décrit les caractéristiques générales des halophytes, le deuxième est représenté par une monographie sur *l'Atriplex halimus* L., et le troisième traite sur la physiologie et la physiopathologique du système endocrinien spécifiquement la fonction thyroïdienne.
- La deuxième partie représentée par l'étude expérimentale, elle est divisée en plusieurs volets : l'étude botanique de la plante, l'enquête ethnobotanique auprès de la population et des herboristes, l'étude phyto-chimique quali-quantitative, et se finalise par une évaluation *in silico*, *in vitro* et *in vivo*.

.

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Généralités sur les halophytes

I. Généralités sur les halophytes :

Les plantes ont la capacité de s'adapter à des conditions environnementales extrêmes, de sorte qu'elles peuvent tolérer le froid, la chaleur, la sécheresse et les inondations. Cependant, 6 % de la superficie totale des terres émergées de la planète souffrent d'un excès de salinité, principalement dans les zones arides et semi-arides et les problèmes de salinité régionale s'aggravent en raison des faibles précipitations et de l'évaporation élevée [12].

La salinité des sols est un problème mondial de plus en plus grave, car le sel entrave la croissance et le développement des plantes et réduit le rendement des cultures [13].

L'Algérie, est particulièrement affectée par la salinisation secondaire des sols, les sols salins couvrent une superficie de 3,2 millions d'hectares [14], cela participe aux chutes des rendements agricoles et la diminution de la diversification floristique[15].

En réponse aux défis induits par ce changement climatique, les halophytes suscitent un intérêt économique croissant dans le monde entier [12]. En plus, ces halophytes sont des sources de métabolites économiquement précieux [7].

Le terme halophyte regroupe les plantes capables de se développer dans des conditions environnementales soumises au stress salin [16].

Les halophytes représentent moins de 2 % de la population de plantes terrestres, on évalue les espèces halophytes entre 2000 et 3000 espèces, et la majorité d'entre elles appartiennent aux Angiospermes[12,17].

On trouve chez les halophytes, des plantes qui ont la capacité de se développer dans des marais salés (salines côtières) et dans les déserts salés continentaux (salines intérieurs), mais les connaissances sur leur anatomie, leur morphologie et la façon dont elles se développent dans ces milieux rudes sont encore rares[17].

Au sein des Angiospermes, les ordres qui comptent le plus grand nombre d'halophytes sont les suivants : Caryophyllales (principalement la famille des Amaranthaceae avec environ 381 espèces halophytes) et les Alismatales, on estime que le nombre total de ce types d'espèces est d'environ 2500 espèces[7,13], correspondant à 550 genres et à 120 familles[8], cela représente environ 0,5 % à 1% de l'ensemble des Angiospermes [8,12,18].

Contrairement aux autres plantes vasculaires, les espèces tolérantes au sel, se caractérisent par une grande plasticité morpho-anatomique, physiologique et métabolique leur permettant de prospérer dans des conditions de stress abiotique (sécheresse et salinité)[7].

Une régulation physiologique complexe (accumulation de grandes quantités de sels par ajustement osmotique) et la synthèse de certaines substances organiques (comme les tanins) protègent le cytoplasme de la salinité élevée [19].

Il n'existe pas de familles strictement halophiles parmi les halophytes ; certaines d'entre elles présentent un nombre élevé d'espèces halophiles. Parmi ces familles, les plus courantes sont les Amaranthaceae (*Atriplex spp, Salicornia spp* ...), Plumbaginaceae (*Limonium* spp.), Poaceae (*Hordeum hystrix, Puccinellia limosa*, etc.), et Asteraceae (*Artemisia spp, Chamomilla spp*…)[12,20].

Les plantes halophytes sont des plantes très diversifiées du point de vue taxonomique, morphologique, anatomique et même écologique, il est donc très difficile de trouver une définition unique aux halophytes[12].

Les plantes halophytes sont des espèces végétales tolérantes au sel, elles sont capables de croître et de se reproduire sous des concentrations élevées de sel (>200 mM de NaCl) et elles emploient des stratégies spécialisées pour faire face à cette salinité[13,21].

La plupart des espèces halophytes se localisent dans des zones salées ou dans des régions désertiques sèches[13]. On les trouve également sur les dunes de sable ou sur les côtes rocheuses, dans les dépressions salines (sabkhas), dans les déserts intérieurs salins et dans les marais salés [20].

Grace à la capacité des halophytes à dessaler le sol, ils améliorent la disponibilité des nutriments et créent des microclimats favorables à la croissance d'autres plantes, ce qui contribue à la productivité de cet écosystème [7].

Aussi, Il est intéressant de noter que de nombreuses espèces d'halophytes ont été utilisées dans la phytothérapie traditionnelle et que, récemment, des extraits d'halophytes ont démontré des activités antimicrobiennes et antioxydantes très intéressantes, et que des recherches supplémentaires doivent être menées pour identifier les métabolites responsables de leurs bioactivités [7,22].

I.1 Classification des halophytes *:*

Marius-Nicuşor et Constantin (2010) [23] ont suggéré une classification des halophytes basée sur les adaptations anatomiques de plus de 70 espèces d'halophytes, leur valeur écologique et fonctionnelle par rapport aux facteurs environnementaux (fig 1) :

1. Les halophytes extrêmes ou **extrémohalophytes :** sont des espèces qui croissent exclusivement dans des environnements salins. Deux types d'halophytes extrêmes ont été décrits par la suite :

(a) Les halophytes extrêmes **irréversibles** ayant les adaptations anatomiques les plus typiques et les plus prononcées, telle que : *Petrosimonia oppositifolia, P. triandra, Salicornia europaea, Suaeda maritima, Halimione verrucifera, Sarcocornia fruticosa, Arthrocnemum macrostachyum, Halocnemum strobilaceum*,..,etc.

(b) Les halophytes extrêmes **réversibles** : ou on retrouve le genre *Atriplex* et d'autres espèces :*Bassia hirsuta, Camphorosma annua, et C. monspeliaca*. Ces espèces sont moins développées que les halophytes irréversibles, et certaines d'entre elles peuvent se localiser dans des habitats moins salinisés.

2. Les mésohalophytes sont des espèces dont les adaptations anatomiques sont intermédiaires entre les halophytes extrêmes et les glycophytes, telle que : *Artemesia spp, Lactuca saligna, Scorzonera cana, Lepidium carpa*,..,etc.

3. Les glycophytes sont des plantes qui, normalement, ne peuvent pas pousser dans des environnements salins [12,23].

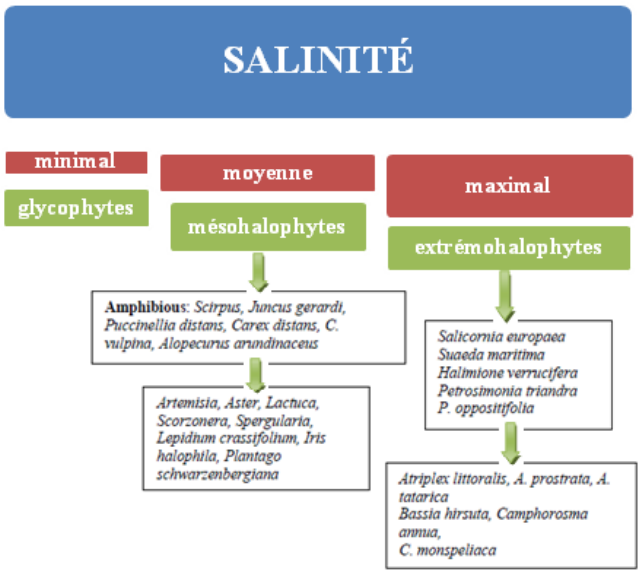


Figure 1 : Classification des halophytes selon leurs degrés d'adaptation à la salinité du sol[17]

On peut conclure que les halophytes ne forment pas un groupe phylogénétiquement apparenté les unes aux autres, leur point commun c'est qu'ils se sont adaptées aux conditions salines de plusieurs manières : morphologiquement, physiologiquement et biochimiquement [21].

I.2 Mécanismes de protection des halophytes à la salinité :

Les halophytes développent des mécanismes de tolérance aux sels spécifiques pour s'adapter aux conditions hautement salines, tels que (fig 2) :

- **l'osmoprotection** est une réponse générale aux sels qui est obtenue par un ajustement osmotique ou par le transport membranaire d'ions afin de maintenir les cellules en vie. En cas de stress salin, les métabolites primaires et secondaires, y compris la proline, les alcools de sucre et les acides aminés, fonctionnent comme des osmolytes dans les halophytes[13],ils s'accumulent dans le cytoplasme pour assurer l'équilibre osmotique[8].
- **la sécrétion de sel par les cellules vésiculaires épidermiques** (EBC) est un autre mécanisme de tolérance aux sels développé par certaines espèces halophytes telle que le quinoa (*Chenopodium quinoa*), les espèces développent des structures épidermiques spécialisées, appelées glandes salines pour stocker et exclure le sel[13,24]. Les halophytes possédant des glandes salines sont collectivement appelés sécréteurs de sel ou **recrétohalophytes**[24].



Figure 2: Les mécanismes de défense des plantes halophytes au stress salin[25]

I.3 Caractères morpho-anatomiques des halophytes :

Les halophytes présentent des caractéristiques morpho-anatomiques particulières qui leur permettent d'accomplir leurs cycles biologiques avec des conditions très strictes. En général, chez ces espèces, les adaptations morpho-anatomiques sont liées à la prévention de la perte d'eau par évapotranspiration, à la dilution des sels absorbés en excès et, dans certains cas à l'excrétion des sels [26].

Ces caractères se retrouvent surtout dans les feuilles et les tiges, car ce sont les organes végétaux les plus rigoureusement exposés aux conditions environnementales[12].

Parmi les caractères les plus importants sont les feuilles réduites ou leur absence, un grand nombre de trichomes et/ou de trichomes glandulaires, la présence de glandes salines, le développement plus important des tissus de soutien, la présence de tissus aqueux et le développement d'une croissance secondaire atypique[12,26].

D'un point de vue structurel, toutes les glandes salines semblent être en grande partie d'origine épidermique et sont donc des trichomes spécialisés. D'un point de vue fonctionnel, il existe deux types de glandes salines, celles qui sécrètent des sels à la surface de la feuille (exo-secrétohalophytes),et celles qui recueillent le sel dans la vacuole d'une cellule vésiculaire spécialisée (endo-secrétohalophytes)[24].

Les similitudes entre les glandes salines permettent de les classer en quatre grands groupes :

1) Les vésicules salines : consistant en une grande cellule vacuolaire avec ou sans cellules pédonculées, que l'on ne trouve que chez les Aizoaceae et les Amaranthaceae (Figure 3, Type 1).
2) Les glandes salines multicellulaires, dont le nombre de cellules varie de 4 à 40, avec des cellules typiquement différenciées en cellules collectrices et sécrétrices dans une structure doublée de cuticule, largement distribuées phylogénétiquement (Figure 3, Type 2),
3) Structures sécrétoires bicellulaires avec une cellule basale et une cellule de tête, trouvées dans les Graminées chloridoïdes (Figure 3, Type 3),
4) Les poils sécrétoires unicellulaires hautement vacuolisés, rencontrés chez les *Porteresia* (Figure 3, Type 4).

Les deux premiers types structuraux se trouvent chez les Eudicots, tandis que le troisième et le quatrième types sont rencontrés chez les Monocotylédones [24].

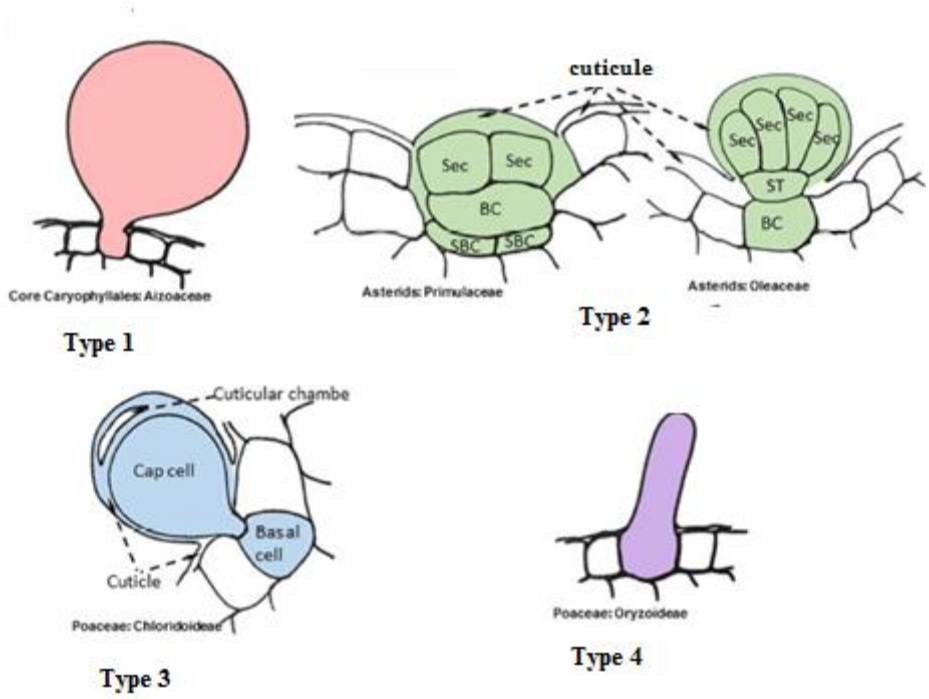


Figure 3: Organisation cellulaire des différentes glandes salines retrouvées chez les halophytes.

Cellule collectrice (Col), cellule sécrétrice (Sec), cellule basale (BC), cellule sous-basale (SBC), cellule de la tige (ST)[24].

Autres caractères morpho-anatomiques des halophytes : L'un des contenus cellulaires pratiquement constants dans les cellules du mésophylle des plantes halophytes, c'est les **cristaux d'oxalate de calcium**, qui prennent différentes formes. En particulier, et selon des recherches récentes, la présence de ces cristaux a un lien avec la tolérance au sel[26] ; les **macles** étant le type de cristaux d'oxalate de calcium le plus fréquent, les prismes polyédriques et les raphides sont trouvés dans une plus petite proportion [12].

I.4 Caractères phytochimiques des halophytes :

Les halophytes extrêmophiles adaptés à une forte salinité, produisent de nombreux métabolites secondaires et primaires qui les aident à s'adapter à leur l'environnement,

La concentration et la diversité des composés bioactifs chez les halophytes sont plus élevées que chez les espèces sensibles au sel, et certains composés sont exclusifs aux halophytes [8,27]. En outre, il semble exister une corrélation positive entre la salinité du milieu et la production de métabolites secondaires [28].

Parmi ces composés, on retrouve : les acides gras insaturés, les composés phénoliques, les caroténoïdes, les vitamines, les huiles essentielles, les glycosides et polysaccharides[7,12].

En raison de la production continue de EOR (espèces oxygénés réactives) due à la chaleur et/ou à la sécheresse, les halophytes subissent un stress oxydatif constant ; c'est pour cette raison qu'elles ont développé de nombreux systèmes antioxydants, notamment des flavonoïdes, des caroténoïdes, des tocophérols…,etc.

Parmi les composés du métabolite primaire présent dans les halophytes, les osmolytes (fig 3), ce terme regroupe des composés de faible poids moléculaire et à propriétés hydrophiles ;ils interviennent dans les mécanismes de défense conventionnels par lequel les halophytes font face aux stress salin ; ils comprennent la proline, le saccharose, la glycine, la bétaïne et le mannitol[18,29].

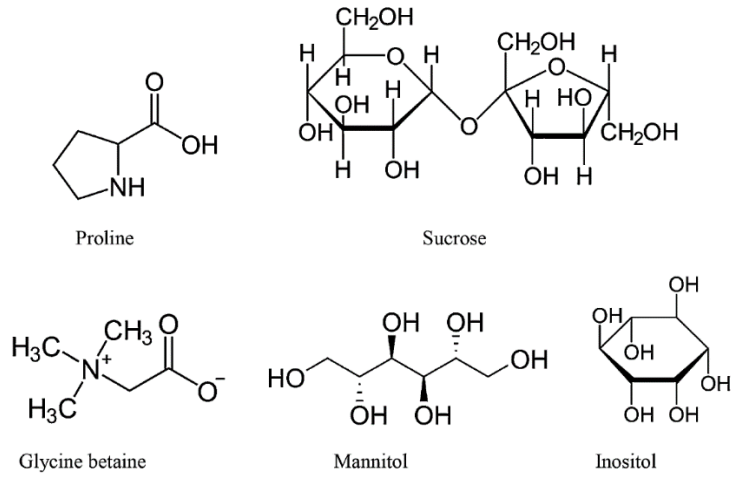


Figure 4: Structure chimique des osmolytes protecteurs présents chez les halophytes[29]

Parmi ces antioxydants naturels présents dans les halophytes, les composés phénoliques sont majoritaires, tels que les anthocyanes, les catéchines, les isocatéchines, les coumarines, les flavones, les isoflavones et les lignanes[16].

Il est important de signaler que les antioxydants contenus dans les halophytes présentent une forte activité biologique, dépassant parfois de nombreux antioxydants naturels provenant de glycophytes médicinaux ou d'antioxydants synthétiques[21].

En termes de structure et d'activité des métabolites secondaires, il a été observé une corrélation entre la tolérance élevée au stress salin et la nature des métabolites secondaires produits par les halophytes[29], les auteurs ont constaté que les polyphénols les plus couramment synthétisés sont les acides phénoliques type : acide chlorogénique, acide vanillique, acide syringique, acide

gallique, et chez les flavonoïdes, on retrouvent la catéchine, les glycosides flavonoïdes, les glycosides isoflavones, et les stilbènes (fig 5)[29,30].

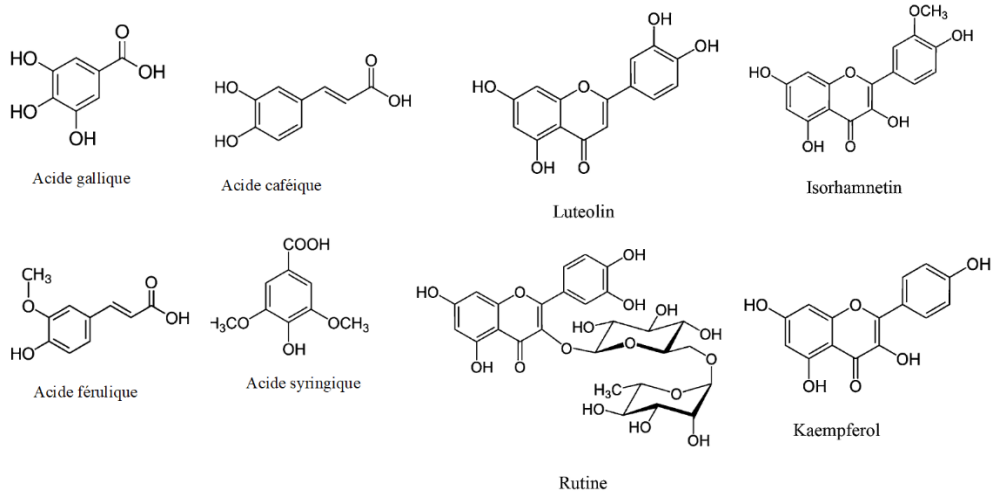


Figure 5: Structure chimiques de quelques composés phénoliques répondus chez les halophytes[29]

On retrouve également des alcaloïdes, des quinones, des stéroïdes, des saponosides et la présence de tanins est généralement un caractère fréquent chez les halophytes[12,31]. Le contenu de ces métabolites secondaires peut varier en fonction de la plante et l'habitat particulier où elle pousse (fig 6)[30].

Aussi, de nombreuses plantes halophytes comestibles et/ou médicinales n'ont pas encore reçu beaucoup d'attention en tant que sources de molécules bioactives. Cependant, les données de recherche disponibles indiquent que l'utilisation de ces sources sous-exploitées et la valorisation de ces plantes présentent un intérêt certain pour la santé humaine [7].

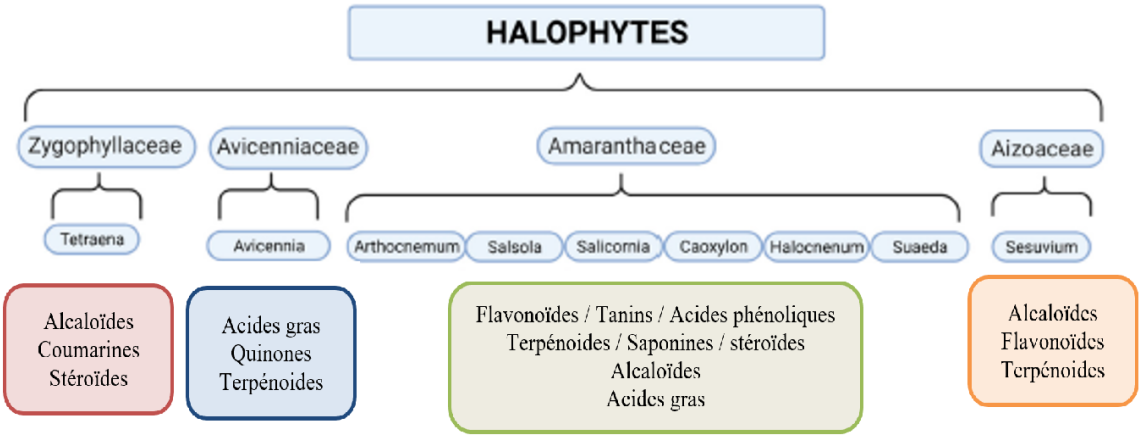


Figure 6: Composition phytochimique de quelques plantes halophytes [15]

I.5 Potentialités biologiques des halophytes

De nombreuses activités sont attribuées aux halophytes :

5.1 Activité antioxydante :

La réponse des halophytes à la salinité se manifeste par la diminution de la conductance stomatique afin de minimiser la perte d'eau, ce qui entraîne une absorption de lumière dépassant la demande de la photosynthèse. Cet excès de lumière excitante affecte le taux de transport d'électrons à travers le photosystème et augmente la production de EOR [12].

Les halophytes ont la capacité de résister et de neutraliser les EOR toxiques, car ils sont équipés d'un puissant système antioxydant [7]. Ces plantes répondent par deux voies antioxydantes :

- la voie enzymatique, qui implique des enzymes comme la superoxyde dismutase et la catalase.
- la voie non enzymatique qui comprend des antioxydants comme le tocophérol, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les alcaloïdes, le glutathion et les acides aminés non protéiques, également les osmolytes (la glycine, bétaïne et la proline)[7,12].

Ainsi, les halophytes sont reconnus pour leurs capacités à éliminer les EOR par les systèmes enzymatiques et non-enzymatiques de nature polyphénoliques, caroténoïdes et vitamines [12]. Les saponines triterpénoïdes sont assez fréquentes chez les plantes de cette famille [32].

On peut en conclure que la teneur en métabolites secondaires présente chez les halophytes, se développant dans un milieu salin est plus élevée que les autres espèces [12], c'est pour cette raison que les extraits de plantes halophytes ont une forte activité de donneur d'hydrogène, ce qui en fait des antioxydants très actifs.

Les principaux types d'antioxydants présents dans les halophytes sont les acides phénoliques (gallique, protocatéchuique, caféique et rosmarinique), les diterpènes phénoliques (carnosol, acide carnosique, rosmanol et rosmarinique), les acides gras, les flavonoïdes (quercétine, catéchine, naringénine et kaempférol), et les huiles essentielles (eugénol, carvacrol, thymol et menthol)[33].

Parmi les systèmes antioxydants enzymatiques des plantes halophytes, nous avons les anticholinestérases (anti-acétylcholinestérase et anti-butyrylcholinestérase). Ces enzymes ont été identifiées dans de nombreuses espèces d'halophytes, y compris l'*Atriplex halimus*[34].

Les actions inhibitrices de nombreux extraits d'halophytes contre l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase offrent une alternative prometteuse pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et la démence sénile[34].

5.2 Activité antimicrobienne :

Plusieurs plantes halophytes ont fait l'objet d'investigations pharmacologiques et ont démontré des effets antiviraux notables. Par exemple, une activité antivirale dirigée contre le virus de l'hépatite B a été mise en évidence chez *Acanthus ilicifolius* L., *Aegiceras corniculatum* (L.) Blanco, *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh., *Bruguiera cylindrica* L., *Ceriops decandra* (Griff.) Ding Hou, *Rhizophora apiculata* Blume, *R. lamarckii* Montrouz, *R. mucronata* Rathbun, *Salicornia brachiata* Sessé & Moc. et *Sesuvium portulacastrum* L [8].

De nombreuses halophytes ont également été étudiées pour leurs propriétés antibactériennes. Les extraits obtenus à partir de différentes parties de plantes, selon divers solvants, ont montré une activité significative contre des bactéries Gram + et Gram – impliquées dans les infections humaines. Par exemple, les extraits de *Citrullus colocynthis*, traditionnellement utilisés contre la tuberculose, ont montré une inhibition notable de *Mycobacterium tuberculosis*. De même, les extraits racinaires de *Exoecaria agallocha* ont exercé une forte activité contre *Salmonella typhi*, tandis que ceux de *Salicornia europaea* L. ont inhibé la croissance de *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens* et *Staphylococcus epidermidis* [8].

En revanche, l'activité antifongique des plantes halophytes reste encore peu explorée et moins documentée que leurs effets antibactériens, soulignant la nécessité d'études approfondies dans ce domaine.

5.3 Autres propriétés :

Les extraits de plantes halophytes ainsi que leurs métabolites ne sont pas seulement des antioxydants, mais ils sont doués de propriétés anti-inflammatoires, antitumorales et protectrices cardiovasculaires[7,12,27].

I.6 Emplois des halophytes

De nombreux halophytes sont utilisés depuis des siècles dans la médecine traditionnelle. Feuilles, racines, graines, fruits, écorces, latex ou plantes entières sont utilisés sous forme de jus, de décoctions ou d'infusions, macérés, réduits en poudre, froissés en pâtes ou en cataplasmes, ou incinérées sous forme de cendres[8].

Dans le bassin méditerranéen, les communautés rurales utilisent les halophytes à la fois comme aliment et comme médicament, qu'elles consomment frais ou cuits[35]. Ces plantes sont principalement utilisées pour le traitement du système urinaire et des maladies internes, ainsi que pour les affections cutanées et respiratoires[8,36].

Les plantes halophytes les plus importantes du bassin méditerranéen dont les utilisations médicinales et thérapeutiques sont bien connues dans la médecine traditionnelle et populaire, sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1: Les plantes médicinales halophytes les plus connues du bassin méditerranéen[25]

Nom scientifique	Famille	Drogues	Emplois
Atriplex halimus L	Amaranthaceae	Parties aériennes	Fourragère, médicinale et alimentaire
Asplenium ceterach L.	Aspleniaceae	Parties aériennes	Médicinale
Cakile maritima Scop.	Brassicaceae	Feuilles	Médicinale et industriel
Cistus monspeliensis L.	Cistaceae	Parties aériennes	Médicinale
Centaurium spp.	Gentianaceae	Parties aériennes, racines	Médicinale
Juncus acutus L.	Juncaceae	Rhizome	Médicinale
Glaucium flavum Crantz.	Papaveraceae	Parties aériennes, racines	Médicinale
Limonium sinuatum (L.) Mill.	Plumbaginaceae	Fleurs	Médicinale
Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud.)	Poaceae	Rhizome	Médicinale et alimentaire
Cynodon dactylon (L.) Pers.	Poaceae	Rhizome	Fourragère et médicinale
Frankenia laevis L.	Frankeniaceae	Parties aériennes	Médicinale
Tamarix gallica L.	Tamaricaceae	Feuilles, fleurs	Médicinale
Typha angustifolia L.	Thyphaceae	Feuilles, Rhizome	Médicinale et alimentaire
Zygophyllum album L.	Thyphaceae	Feuilles, fleurs	Médicinale

CHAPITRE II

Monographie sur *Atriplex halimus* L.

II. Monographie sur *l'Atriplex halimus* L. :

II. 1 Généralité sur le genre *Atriplex*

Les *Atriplex* sont des plantes arbustives vivaces appartenant à la famille des Amaranthaceae (anciennement Chenopodiaceae). On a recensé 420 espèces réparties dans le monde dont 48 sur le bassin méditerranéen [37] ; et une quinzaine d'espèces ont été identifiées en Algérie (tableau 2) [5,38].

Le genre *Atriplex* est assez variable et largement distribué, il est dominant dans de nombreuses régions arides et semi-arides du monde, en particulier dans les sols salins (fig 7). Les *Atriplex* sont extrêmement tolérants à la teneur en sel du sol et leur nom vient du fait qu'ils retiennent le sel dans leurs feuilles [14].

Les espèces du genre *Atriplex* sont utilisées dans les zones affectées par la salinisation des sols, pour la réhabilitation des terres dégradées, pour l'alimentation animale et pour la production de fourrage vert pendant la saison sèche et le contrôle de l'érosion[39].

L'*Atriplex halimus* est la plante autochtone la plus répandue[38], c'est une espèce caractéristique des fourrés halo-nitrophiles méditerranéo-atlantiques[40].

La capacité des *Atriplex* à se développer dans des conditions environnementales difficiles (terrain salé et zone aride), a contribué à son utilisation comme plante de fourrage dans les parcours des petits ruminants (moutons et chèvres), essentiellement au sud et à l'est du bassin méditerranéen (Espagne, Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, Égypte, Liban…)[40,41].



Figure 7: Steppe monospécifique d'*Atriplex halimus* L sur une terrasse limoneuse salée[42].

Tableau 2: Liste des espèces *d'Atriplex* recensées en Algérie[5]

Espèce	Statut	Localisation
Atriplex halimus	Native	Très commune, zones steppiques
Atriplex chenopodioides	Rare	Bouhanifia (Mascara)
Atriplex littoralis	Rare	Environ d'Alger
Atriplex hastata	Assez commune	Tell
Atriplex patula	Assez commune	Tell (Aflou)
Atriplex tatarica	Très rare	Annaba, Sétif
Atriplex rosea	Très rare	Biskra, littoral Alger/Oran
Atriplex dimorphostegia	Assez commune	Sahara septentrional
Atriplex tornabeni	Très rare	Sahel d'Alger, Golfe d'Arzew
Atriplex portulacoides	Assez commune	Tell
Atriplex mollis	Rare	Biskra
Atriplex coriacea	Rare	Biskra
Atriplex glauca	Très rare	Biskra, Oued-el-Khir
Atriplex semibacata	Naturalisée	Introduite
Atriplex inflata	Naturalisée	Introduite

II.2 La famille des Amaranthaceae

Les Amaranthaceae *lato sensu*, appartiennent à l'ordre des Caryophyllales au sein de l'embranchement des Angiospermes, Il s'agit d'une vaste famille qui regroupe 170 genres et presque 2400 espèces[43].

Elle comprend à la fois les Chenopodiaceae et les Amaranthaceae *stricto sensu*, en effet, dans le passé, les deux familles ont été reconnues comme distinctes, bien que proches, mais selon les dernières données phylogénétiques, elles sont regroupées dans une seule famille[32,44].

On retrouve dans cette famille de nombreuses plantes d'importance économique, telles que le quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), l'épinard (*Spinacia oleracea* L.) et la betterave sucrière (*Beta vulgaris* L.) [45].

La plupart des Amaranthaceae poussent dans des milieux arides et salins, ce sont des plantes succulentes, herbacées ou arbustives (lianes) [32], et souvent halophyles. Elles sont xéromorphes et caractérisées par des racines profondes pénétrantes, destinées à absorber la plus grande quantité d'eau possible [6].

Les feuilles sont ordinairement alternes, non stipulées, rarement opposées, parfois épineuses formées de manière à réduire les pertes en eau dues à la transpiration. Les inflorescences sont souvent en grappes ou en épis très denses, avec une fleur petite, tricyclique, hermaphrodite ou rarement unisexuée. Le fruit est généralement un akène[38,46].

Parmi les caractères histo-anatomiques commun des Amaranthaceae, on observe : une richesse en oxalate de calcium; des faisceaux médullaires variés innervant les feuilles, entourés d'une gaines vasculaires; des vaisseaux de bois multiples; des stomates également paracytiques (dia- et anisoctiques); nombreux poils souvent unisériés; pollens souvent amylacés [32].

Ces plantes se rencontrent dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées, mais principalement en Amérique et en Afrique (fig 8), beaucoup d'entre elles sont présentent au niveau des zones steppiques, des déserts et des côtes marines [47].



Figure 8: Aire de répartition des Amaranthaceae dans le monde[32]

II.3 Nomenclature :

3.1 Nomenclature scientifique :

L'Atriplex halimus L. est le nom officiel reconnu par www.theplantlist.org.[48]

Il existe également de nombreux synonymes :

Atriplex halimoides Tineo

Atriplex halimus var. *argutidens* Bornm.

Atriplex halimus var. *granulata* L.Chevall.

Atriplex halimus f. *granulata* (L.Chevall.) Maire

Atriplex halimus var. *hastulata* Maire

Atriplex halimus f. *intermedia* (L.Chevall.) Maire

Atriplex halimus var. *intermedia* L.Chevall.

Atriplex halimus f. *ramosissima* (L.Chevall.) Maire

Atriplex halimus var. *ramosissima* L.Chevall.

Atriplex halimus var. *rifea* Sennen & Mauricio

Atriplex halimus f. *rifea* (Sennen & Mauricio) Maire

Atriplex halimus var. *schweinfurthii* Boiss.

Atriplex halimus var. *serrulata* (Pau) Alcaraz, Garre & Sánchez Gómez

Atriplex halimus f. *venosa* (L.Chevall.) Maire

Atriplex halimus var. *venosa* L.Chevall.

Atriplex kataf Ehrenb. ex Boiss.

Atriplex serrulata Pau

Chenopodium halimus (L.) Thunb.

Schizotheca halimus (L.) Fourr.

3.2 Noms vernaculaires :

Il existe plusieurs noms vernaculaires attribués à *l'Atriplex halimus* L, elles sont recensées au niveau du tableau 3.

Tableau 3: Les différents noms vernaculaires de *l'Atriplex halimus* L.

Langue	Appellations				Références
Arabe	Gtaf ou Guettaff	Hachichat Ezzaj	Ghassoul el Acheb	Chnan	[3,5,6]
	لقطف	حشيشة الزاج	غسول العشابي	شنان	
Berbère	*Aramass*				[5]
Français	Arroche, arroche marine, arroche halime, pourpier de mer				[5,49]
Anglais	Mediterranean saltbush				[41]

II.4 Position systématique de l'*Atriplex halimus* :

Les tableaux 4 et 5 résument la classification phylogénétique selon APG IV et la classification classique de Cronquiste de l'espèce étudiée [32,50,51].

Tableau 4: Classification phylogénétique selon APG IV (2016) de l'*Atriplex halimus*

Rang	Nom Scientifique
Règne	Plantae
Embranchement	Embryophytes
Sous embranchement	Trachéophytes
Super classe	Spermatophytes
Classe	Angiospermes
Clade	Triporées
Clade	Triporées évoluées
Ordre	Caryophyllales
Famille	Amaranthacées
Genre	*Atriplex*
Espèces	*Atriplex halimus* L.

Tableau 5: Classification classique de Cronquist (1981) de *l'Atriplex halimus*

Rang	Nom Scientifique
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chénopodiacées
Genre	*Atriplex*
Espèces	*Atriplex halimus* L.

L'*Atriplex halimus* est divisée en deux sous-espèces :

- la sous-espèce *schweinfurthii* : se rencontre généralement dans les zones arides et/ou salines
- la sous-espèce *halimus* dans les zones semi-arides et non salines[41].

II.5 Répartition géographique de l'*Atriplex halimus* :

L'Atriplex halimus L. pousse naturellement dans toute la Macronésie, le bassin méditerranéen et au-delà en Asie occidentale ; on le rencontre dans le sud du Portugal, la France, le sud et l'est de l'Espagne (les Canaries), l'Italie, la Grèce, Malte, la Turquie, Chypre, Palestine, Syrie, Liban, Jordanie, Tunisie, Maroc, Algérie, Libye, Égypte et Arabie Saoudite[41].

En raison de ses utilisations variées, notamment comme plante fourragère, elle a été introduite ailleurs : par exemple, à Oman, en Iran, en Irak, au Pakistan, en Afrique du Sud, au Chili, en Argentine, en Nouvelle-Zélande et aux États-Unis [41].

En Algérie :

En Algérie, l'*Atriplex halimus* L. est spontanée dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides, les plus grandes superficies correspondent aux zones dites steppiques (Tébessa, Batna, M'sila, Boussaâda, Biskra, Djelfa, Tiaret, Saida, Aghwat…). Elle se rencontre aussi sur le littoral et même au Sahara, particulièrement dans la région de Béchar où les nappes longent les dépressions d'Oueds (fig 9) [10].

Selon Nedjimi et al. (2012), parmi les plantes colonisant les chotts algériens, l'*Atriplex halimus* figure parmi les halophytes dominantes, souvent associée à l'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. Cette prédominance témoigne de la capacité d'adaptation de ces espèces aux conditions extrêmes de salinité et de sécheresse, caractéristiques de ces écosystèmes marginaux. [41,52].

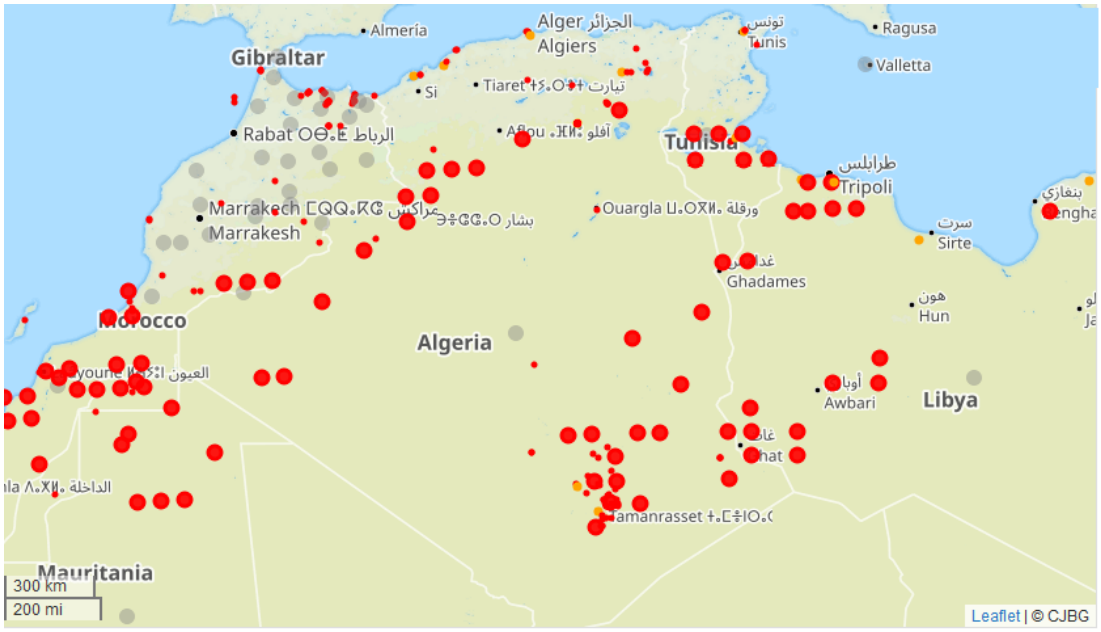


Figure 9: Aire de répartition de *l'Atriplex halimus* L. en Afrique du nord et en Algérie [53]

Description de la zone steppique :

Les steppes algériennes constituent un ensemble géographique dont les limites sont définies par le seul critère bioclimatique. Elles sont situées entre les isohyètes 100 et 400 mm, et se localisent entre deux chaînes montagneuses, l'Atlas tellien au Nord et l'Atlas saharien au Sud, elles couvrent une superficie estimée à environ 20 millions d'hectares (fig 10)[2].

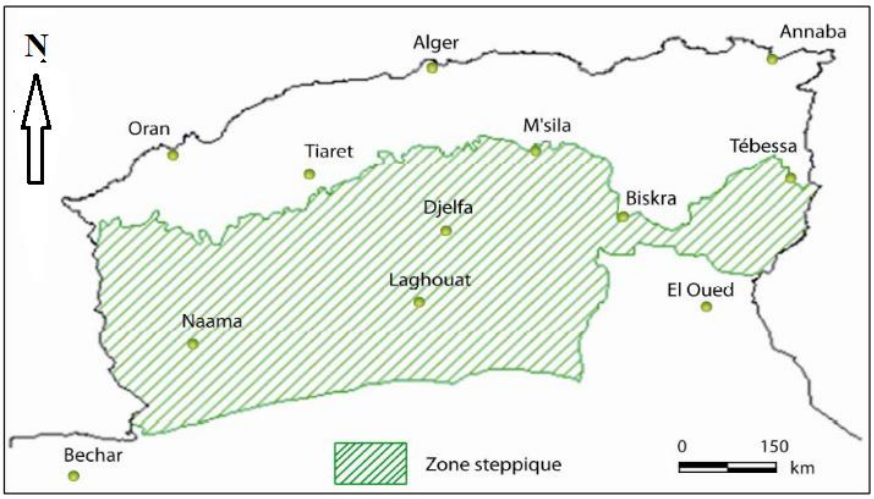


Figure 10: Délimitation des steppes algériennes[52,54]

Climat : Les steppes se caractérisent par un climat de type méditerranéen avec une saison estivale sèche et chaude alternant avec une saison hivernale pluvieuse, fraîche sinon froide.

En général, la pluviométrie moyenne annuelle est faible (entre100 et 400 mm/an) et sa répartition est irrégulière dans le temps et dans l'espace[52]. Le régime thermique des steppes est du type continental et l'amplitude thermique annuelle est généralement supérieure à 20°C, Ces variations de précipitations et de températures ont des conséquences sur l'état de la végétation [55].

Nature de la végétation : La végétation steppique est très inégale autant par sa composition floristique que par sa densité. Au-delà des zones de cultures, des forêts et des zones improductives, la végétation steppique occupe 15 millions d'hectares, elle est dominée par les espèces citées dans le tableau 6 [52].

Tableau 6: Principales espèces représentant la végétation steppique [2]

Nom de la plante	Superficie
l'Alfa : *Stipa tenacissima*	4 millions d'hectares,
Chih : *Artimisea herba alba*	3 millions d'hectares
Sennagh : *Lygeum spartum*	2 millions d'hectares
Guettaf : *Atriplex halimus*	1 million d'hectares

Le reste de la zone est occupé par des associations diverses d'espèces :*Aristida pungens, Thymelaea microphylla, Retama retam, Artemisia campestris, Arthrophytum scoparium et Peganum harmala*.

II.6 Description botanique de l'*Atriplex halimus* L :

6.1 Description macroscopique

L'*Atriplex halimus* L. est un arbuste pouvant atteindre 2 m de hauteur, très rameux, à parties herbacées glauques argentées, couvertes de poils, à tiges, dressées, très rameuses puis étalées, arrondies ou faiblement anguleuses, souvent légèrement effilées vers l'extrémité. Le système racinaire, bien développé et blanchâtre, contribue à sa capacité d'ancrage et de résistance aux milieux salins[5,6].

Les feuilles sont alternes, brièvement mais nettement pétiolées, épaisses et légèrement charnues. Leur forme est variable, allant d'ovale à rhomboïdale ou triangulaire, parfois hastée. Elles présentent une base atténuée à cunéiforme, un sommet obtus à ogival souvent muni d'une petite pointe mucronée, et des marges entières ou faiblement sinuées-dentées [5].

Les feuilles supérieures sont plus étroites, généralement lancéolées, parfois légèrement aiguës à acuminées. Toutes montrent une nervation discrètement trinervée à la base, avec une nervure médiane plus saillante sur la face inférieure et un réseau de nervilles fines à terminaisons libres. Les plus grandes feuilles atteignent environ 4,5 × 3 cm (fig. 11) [38].



Figure 11: Feuilles d'*Atriplex halimus* L.[42]

Les fleurs sont monoïques, à glomérules ordinairement multiflores, formant des épis ordinairement denses et courts, nus, groupés en panicules terminales, ± feuillées. Les fleurs femelles à glomérules à la base, et mâles au sommet(fig 12 et 13).

les fleurs mâles sont pentamères, à 5 sépales presque libres, obovales, très furfuracés sur le dos, obtus, infléchis, à 5 étamines, à filets aplatis, ± connés à la base ; anthères exsertes, jaunes, ovées ; rudiment d'ovaire oblong, court, hyalin.

Les fleurs femelles sont nues, à 2 bractéoles herbacées ; ovaire arrondi, comprimé latéralement, à 2 stigmates filiformes, subégaux, connes à la base en un style épais et très court. La floraison de mai à décembre. Espèce très polymorphe [38,41].

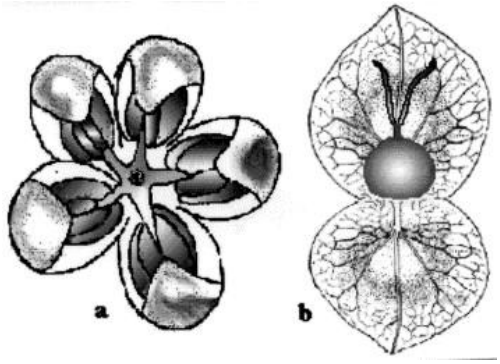


Figure 12: dessin représentant la fleur mâle (a) et femelle (b) de l'*Atripex halimus* L.[42]



Figure 13: Fleurs mâles et femelles de *l'Atriplex halimus* L.[42]

le fruit est un akène sec et monosperme, entouré de deux bractéoles appelées valves fructifères (fig 14 et 15), qui persistent et s'élargissent après la floraison. Ces valves, de forme réniforme à sub-orbiculaire, mesurent en moyenne 4 à 6 mm de large, avec une largeur souvent supérieure à la hauteur. Leur surface est généralement lisse, parfois légèrement tuberculeuse, et leur marge peut être entière ou faiblement dentée. À maturité, elles deviennent coriaces et assurent la protection ainsi que la dissémination du fruit. Les fruits arrivent à maturité en automne-hiver[41].

La graine unique, mesure environ 1,5 à 2 mm de diamètre, de couleur brune-foncée, à forme lenticulaire, reste enveloppée dans un péricarpe membraneux entre les deux valves verticales; à embryon annulaire, à radicule ascendante, à extrémité un peu saillante vers le milieu [5,38].

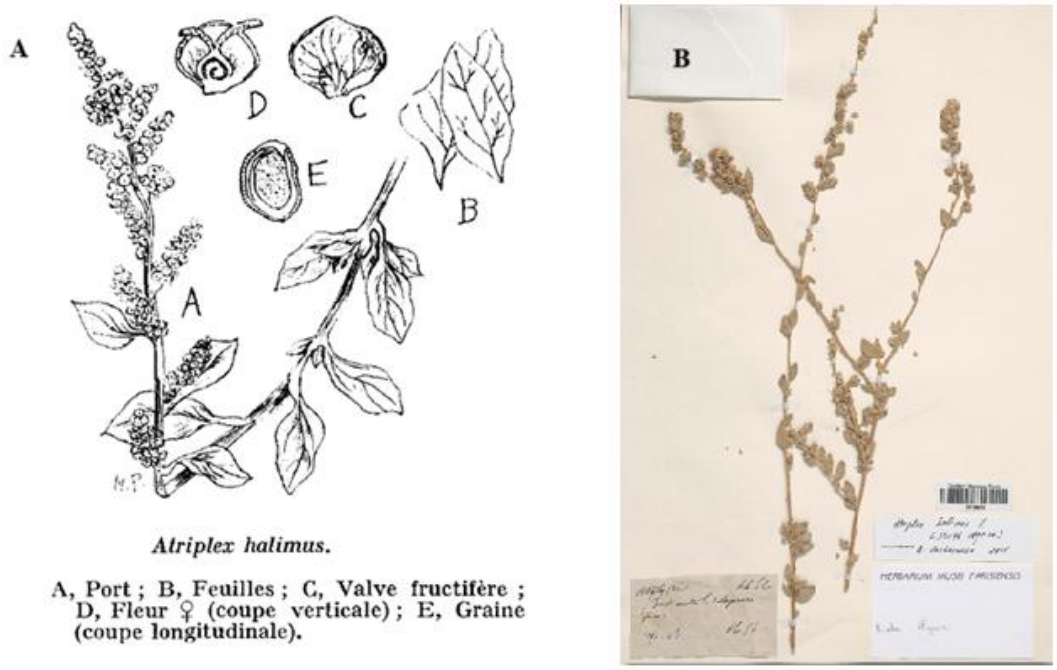


Figure 14: Dessin et herbier de *l'Atriplex halimus* L.
A : dessin de *l'Atriplex halimus* extrait de la Flore de l'Afrique du Nord. Volume VIII.1962
B: photo de l'herbier d'*Atriplex halimus* extrait de « *museum national d'histoire naturelle MNHN de Paris* »[56]

L'Atriplex halimus L. est divisée en deux sous-espèces ou variétés, ceci est basé sur les différences de morphologie :

- la sous-espèce *schweinfurthii*, les branches fructifères sont dépourvues de feuilles, rigides et ont souvent une teinte rougeâtre, tandis que ses feuilles sont très variables en taille, forme et couleur, de verdâtre à grisâtre, et ses valves de fruits sont réniformes et avec des bords obscurément dentés [40,41].
- La sous-espèce *halimus* a des branches supérieures torsadées avec des rameaux feuillus quelque peu scorpioïdes. Ses feuilles sont plus ou moins hastées, verdâtres à l'état jeune et gris argenté à l'état vieux, et les valves de ses fruits sont réniformes à bords entiers[40,41].

L'Atriplex halimus L. est une espèce adaptée aux sites ayant des étés avec une intensité lumineuse et une température très élevée. Cette résistance est assurée par l'ombrage mutuel des feuilles et à la réflexion de la lumière par les cristaux de sel déposés à la surface des feuilles lors de l'effondrement des poils vésiculés, qui donnent aux feuilles une couleur gris verdâtre[41].



Figure 15: Les différentes parties botaniques de l'*Atriplex halimus* L. [38]

A : la plante en pied**, B** : les feuilles, **C** : la plante en fleur, **D** : la plante fructifère, **D_1** : périanthe fructifère, **E** : le fruit.

6.2 Description microscopique

Au niveau des feuilles d'*Atriplex halimus* on observe en coupe transversale les éléments suivants :

- Un épiderme relativement mince accompagné d'un hypoderme.
- Une couche de cellules de gaine de faisceau entourant chaque faisceau vasculaire.
- Des cellules palissadiques disposées radialement, bien que la gaine de faisceau soit ouverte.
- La présence de poils vésiculés ou trichomes vésiculaires à la surface des feuilles. Ces cellules vivantes sont constituées de poils en forme de ballon d'un diamètre de 80 à 200 mm et dont la surface est recouverte d'une matière cireuse, attachés à un pédoncule qui est enchâssé dans une cellule épidermique [41].

L'anatomie de Kranz a ainsi été mise en évidence dans le limbe *Atriplex halimus*, où tous les faisceaux vasculaires sont entourés d'une gaine (incomplète ou complète) de cellules assimilatrices légèrement allongées radialement par rapport au faisceau vasculaire; par conséquent, ce type de configuration de Kranz correspondrait au modèle atriplicoïde (fig 16, 17 et 18) [12,26].

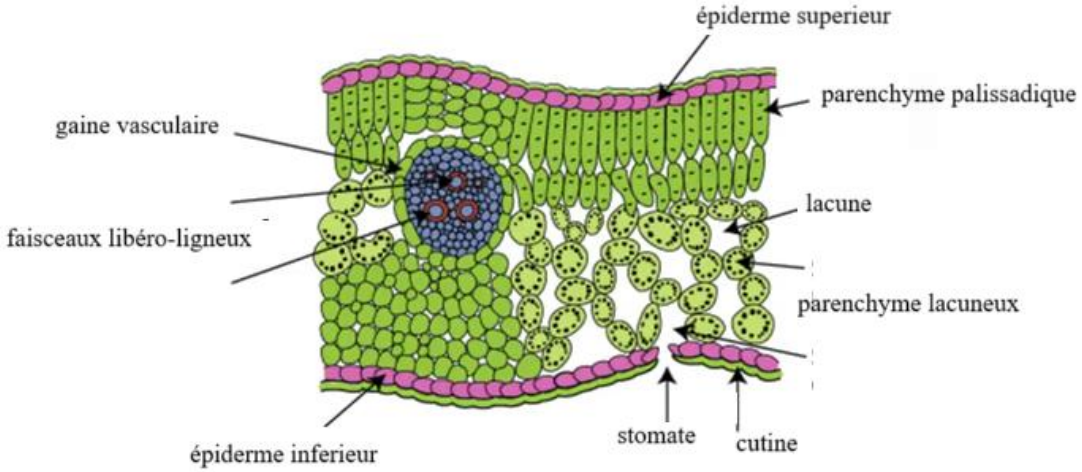


Figure 16: Structure anatomique du mésophylle de Kranz [57]

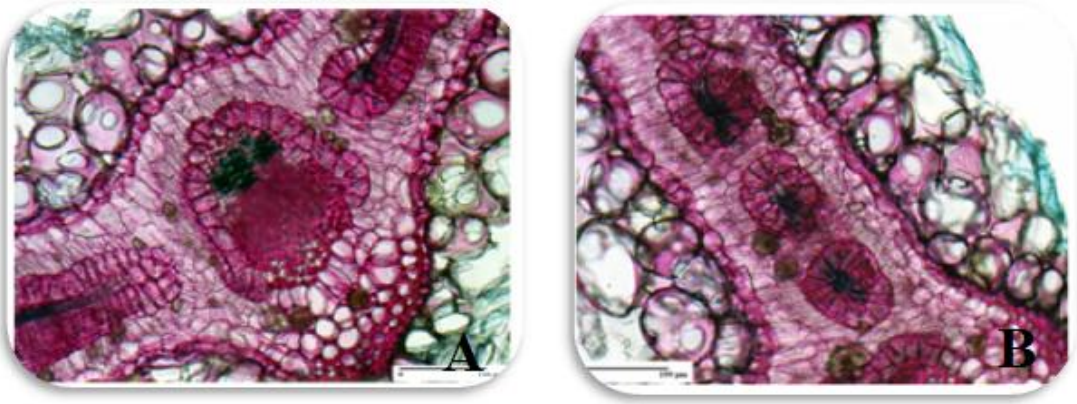


Figure 17:Coupe transversale de la feuille *d'Atriplex halimus* [26]
A : la nervure centrale ; **B** : le limbe

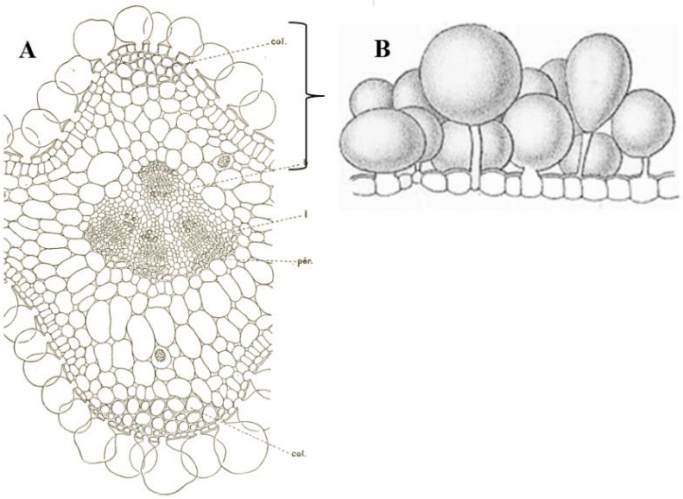


Figure 18: Dessin de la nervure centrale *d'A.halimus* (A) et des trichomes vésiculaires (B)[12,58]

Description des poils vésiculaires : Ces poils sont constitués de deux cellules : un pédoncule formé d'une à trois cellules et une grande cellule, intensément vacuolisée (Fig. 18).À l'intérieur des cellules vésicales, la concentration de sodium et de chlorure est plus élevée que dans le mésophylle et supérieure à celle de l'environnement extérieur [12,26].

II.7 Composition chimique de l'*Atriplex halimus L.* :

La composition chimique de *l'Atriplex halimus* L. dépend de plusieurs paramètres, tels que le climat, l'âge de la plante et la saison de récolte [41].

Les recherches phytochimiques antérieures sur plusieurs espèces du genre *Atriplex* ont révélé la présence de nombreuses classes de métabolites secondaires : saponosides, alcaloïdes, et composés phénoliques en particulier, les flavonoïdes et les tanins[59].

D'autres métabolites ont été identifiés dans la classe des alcaloïdes : pipérine, berbérine, éphédrine et palmatine[60].

7.1. Les composés du métabolisme primaire :

L*'Atriplex halimus* L. est riche en protéines, fibres alimentaires (cellulose), sels minéraux (Na, K, Ca, Mg et P)[61], en vitamines (vit A, C, et D) et en acide oxalique, dans toute la plante [62].

La teneur en cendres est élevée, de l'ordre de 28% en matière sèche (MS), et en protéine brute de l'ordre de 16% MS [63], l'acide aminé majoritaire est la proline[60].

7.2 Les composés du métabolisme secondaire :

Les trois classes de métabolistes secondaires ont été identifiées dans *l'Atriplex halimus* L.

7.2.1. Les composés phénoliques :

A. Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires très répondus chez les plantes, ils dérivent de l'acides benzoïque (C6-C1) et de l'acide cinnamique (C6-C3).

Parmi les acides phénoliques identifiés dans les parties ariennes de l'*A. halimus* : acide gallique, acide chlorogénique, acide p-coumarique, acide trans-cinnamique, acide 3-hydroxy-4-méthoxycinnamique, acide vanillique, l'acide p-hydroxy benzoïque, acide m-anisique, acide salicylique, acide férulique, acide caféique et acide protocatéchique [60,64,65].

Les acides phénoliques identifiés dans *A. halimus* L. sont très importants en raison de leurs propriétés pharmacologiques variées (antimicrobiennes, antioxydants, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anti-ulcéreuses…) [66,67].

B. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des polyphénols dérivant du diphénylpropane (C6-C3-C6), très répondus chez les végétaux[67].

De nombreux flavonoïdes ont été identifiés dans *A.halimus,* telle que : catéchine, rutine, myricétine, quercétine, méthoxyquercétine, naringénine et des glycosides d'isorhamnétine [65].

Dans l'étude de Clauser et al. (2013) sur l'*A.halimus* de Sardaigne, l'identification des flavonoïdes a été établie sur la base des mesures HR-MS et RMN 1D et 2D et quatre nouveaux flavonosides ont été isolés et caractérisés montrant un modèle de glycosylation atypique, ces 4 composés sont :

- Composé 1 de formule générale **$C_{34}H_{41}O_{21}$** a été établi comme : 3',5'-diméthoxymyricétine-3-O-β-D-xylopyranosyl-7-O-fucopyranosyl-(1-3)-β-D glucopyranoside ;
- Composé 2 de formule générale **$C_{38}H_{47}O_{24}$,** a été identifié comme : 3'-méthoxyquercétine-7-O-β-D-fucopyranosyl-(1-3)-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-xylopyranosyl-(1-4)-β-xylopyranoside ;
- Composé 3 de formule générale **$C_{34}H_{39}O_{20}$** a été identifié comme : 3'-méthoxyquercétine-7-O-α-L-rhamnopyranosyl-3-O-α-arabinofuranosyl-(1-6)-β-D-glucopyranoside ;
- Composé 4 de formule générale **$C_{29}H_{33}O_{17}$** a été identifié comme **:** 3',5'-diméthoxymyricétine-7-O-fucopyranosyl-(1-3)-β-D-glucopyranoside (fig 19) [64].

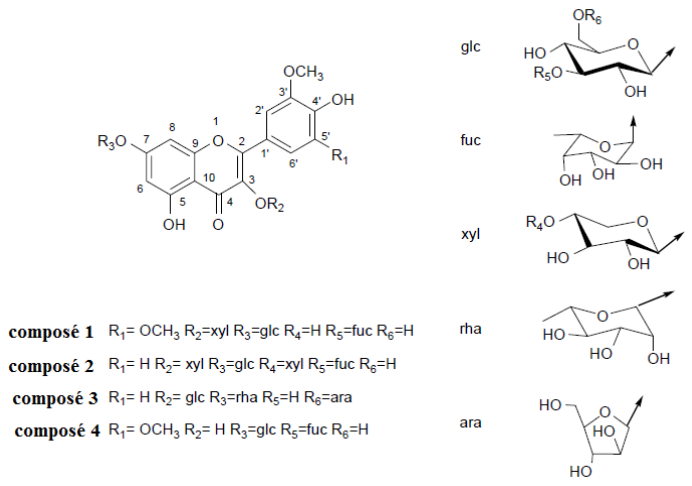


Figure 19:Structure de quelques flavonoïdes isolés et identifiés dans L'*A.halimus* de Sardaigne[64]

Dans l'étude d'Emam et al. (2011), l'analyse chromatographique des parties aériennes de *A.halimus* a permis d'identifier des glycosides de flavonol, flavone, flavanone et d'isoflavone :

- les glycosides de flavonol identifiés étant l'isorhamnétine-3-O-glucopyranoside, l'éther de rutine-4`, 7-diméthyle et le kaempférol-3,7-dirhamnoside-4`-méthyloxyde ;
- les glycosides de flavone identifiés étant la vicénine-II et l'isoorientine ;
- les glycosides de flavanone identifiés étant la naringénine-4`-O-rhamnopyranoside et l'hespéridine ;
- le glycoside d'isoflavone identifiés étant la 4`-méthoxy-7-glucoside-5-hydroxyisoflavone[60].

Dans l'étude de Kabbasha et al. (2012) ; l'analyse RMN et SM de l'extrait éthanolique d'A.*halimus* d'Egypte, a permis d'identifier 2 nouveaux flavonoïdes, des glycosides de flavonol méthylés représentés par :

- Composé 1, désigné sous le nom d'**atriplexoside A**, de formule générale **$C_{33}H_{40}O_{20}$**, identifié comme le 3'-O-méthylquercetin-4'-O-β-apiofuranoside-3-O-(6"-O-α-rhamnopyranosyl-β-glucopyranoside)
- Composé 2, désigné sous le nom d'**atriplexoside B**, de formule générale **$C_{38}H_{48}O_{24}$**, identifié comme le 3'-O-méthylquercetin-4'-O-(5""-O-β-xylopyranosyl-β-apiofuranoside)-3-O-(6"-O-α-rhamnopyranosyl-β-glucopyranoside) (fig 20)[68].

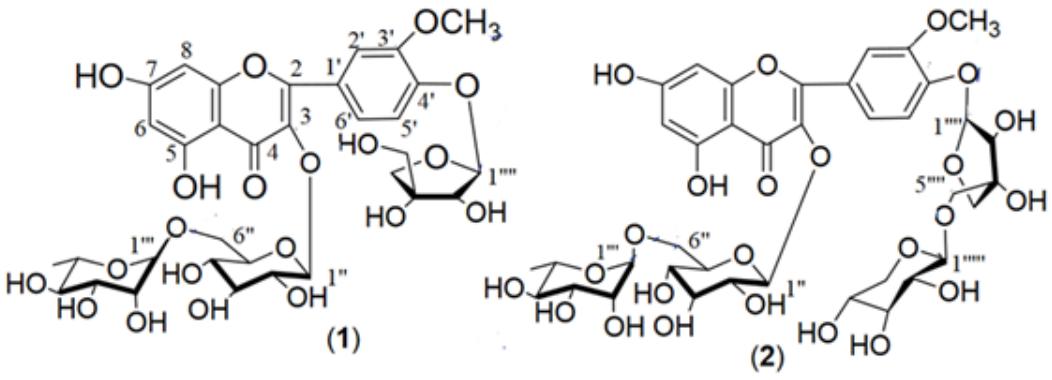


Figure 20: Flavonoïdes isolés de A.*halimus* d'Egypte [68]

7.2.2. Les composés terpéniques :

La présence d'huiles essentielles dans *A.halimus* L. n'a été signalée que dans quelques études, selon l'étude de Kerzadi et al. (2024), où les rendements en huiles essentielles des feuilles

étaient faibles, de l'ordre de 0,02 % du poids de la matière sèche avec une composition dominée par des monoterpènes oxygénés [69].

D'autres études ont mis en évidence la présence de composés terpéniques et stéroïdiques lors du criblage phytochimique. Toutefois, l'identification précise de ces molécules dans *Atriplex halimus* L. n'a été rapportée que dans quelques travaux, mentionnant notamment la détection du β-sitostérol et du squalène.[60,64].

Par contre, l'étude de Naboulsi et al. (2022) sur l'*A.halimus* du Maroc, a rapporté l'identification des saponines triterpénoïdes dérivés principalement de l'acide oléanolique[70] et cela a été également signalé dans d'autres espèces *Atriplex,* tels que : *A,sembiccata* et *A.lasiantha* [59,71].

7.2.3. Les alcaloïdes :

Plusieurs études ont confirmé la présence d'alcaloïdes au niveau des extraits d'*A.halimus* [9,72,73], Parmi les alcaloïdes isolés et identifiés dans les feuilles d'*Atriplex halimus*, la berbérine est la plus fréquemment rapportée [60,65,74]. D'autres alcaloïdes tels que la pipérine, l'éphédrine et la palmatine ont également été mentionnés (fig 21) [60].

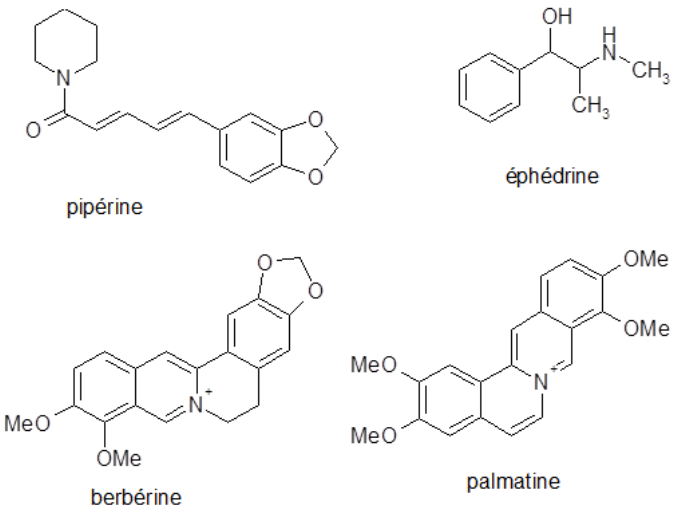


Figure 21: Structure des alcaloïdes identifiés dans *l'Atriplex halimus*[60]

La berbérine de formule générale $C_{20}H_{18}NO_4^+$, est un alcaloïde à noyau benzylisoquinoléine non basique et quaternaire [75], c'est le 5,6-dihydro-9,10-diméthoxybenzo[g]-1,3-benzodioxolo[5,6-a]quinolizinium [75,76] et c'est l'alcaloïde principalement signalé dans l'*A.halimus.*

II.8 Propriétés pharmacologiques de l'*Atriplex halimus* L.:

8.1 Propriétés antibactériennes et antifongiques :

Plusieurs études ont évalué les propriétés antimicrobiennes de l'*Atriplex halimus* ; dans l'étude de Chikhi et al. (2014), des extraits hexanes et méthanoliques de parties aériennes fraiches d'*Atriplex halimus* L. ont été testés, *in vitro*, sur des bactéries Gram positives et négatives (*Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterocolitica*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermis*), les extraits méthanoliques riches en métabolites secondaires ont démontré une activité antimicrobienne plus forte que les extraits hexanes [4].

Dans l'étude de Berreghioua et Ziane. (2022), l'extrait aqueux d'*A.halimus* du Sahara a révélé une activité importante sur *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie pathogène et très résistante à toutes sortes d'agents antimicrobiens[77].

Dans l'étude de Chaouche et al. (2021), l'extrait d'*A.halimus* de la région de Tlemcen n'a démontré aucune activité contre les souches testées, par rapport à l'extrait d'EL Oued, et cette activité est limité à certaines espèces de Gram positives et négatives[78].

Ainsi, l'activité antibactérienne *d'Atriplex halimus* est ciblée et n'est efficace que contre certaines bactéries pathogènes spécifiques, notamment *Staphylocucus aureus* [78–80].

De plus, dans l'étude d'El Aasr et al. (2016), les composés extraits d'*A.halimus* d'Egypte ont révélé une activité notable contre *Candida albicans* [80].

8.2 Propriétés antidiabétiques :

L'activité antidiabétique de *l'Atriplex halimus* a été évaluée sur modèle animal, et les extraits de de la plante ont démontré une efficacité contre le diabète, en diminuant les niveaux de glucose dans le sang.

Chikhi et al. (2014) ont étudié l'effet antidiabétique de l'extrait aqueux des feuilles d'*Atriplex halimus* L. chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine, ils ont conclu que l'extrait aqueux a une dose de 200mg/Kg/jr, réduit de façon significative l'élévation du taux de glucose dans le sang après un traitement de 30jours[4].

Dans l'étude de Bounouar et al. (2022), l'extrait aqueux des feuilles d'*A. halimus* récoltées de Bechar a été également efficace contre l'hyperglycémie causée par la streptozotocine aux deux

doses testées de 100 et 200mg/Kg/jr et a provoqué une diminution significative des niveaux de glucose et a protégé les rats contre les complications du diabète [81].

Ainsi, l'*Atriplex halimus* L., largement utilisée en médecine traditionnelle pour ces propriétés antidiabétiques, a démontré une efficacité réelle.

8.3 Propriétés antioxydantes :

De nombreuses études ont évalué les propriétés antioxydantes des extraits *d'A. halimus*. Dans l'étude de Benhammou et al. (2009), les propriétés antioxydantes des extraits des feuilles et des tiges d'*Atriplex halimus*, évaluées par la méthode de DPPH, ont démontré que les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle était les plus puissantes avec des valeurs IC_{50} de 1,73 et 2,04 mg/ml respectivement [9].

Dans l'étude d'El bouzidi et al. (2022), l'extrait éthanolique d'*A.halimus* du Maroc, a montré une grande capacité à réduire la solution colorée en violet du radical DPPH avec une valeur IC50 égale à 0,36 ± 0,05 mg/mL par rapport à l'antioxydant acide ascorbique (0,19 ± 0,02 mg/mL)[82].

Les métabolites secondaires présentent dans les extraits d'*Atriplex halimus* sont une bonne source d'antioxydants qui peuvent être impliqués dans la prévention des dommages cellulaires causés par les radicaux libres.

8.4. Propriétés cytotoxiques et antitumorales :

Dans l'étude de Al-Senosy et al. (2018), l'extrait méthanolique *d'Atriplex halimus* L. a montré un effet antiprolifératif et une cytotoxicité élevée sur les cellules cancéreuses, type carcinome hépatocellulaire humain (HepG2) (IC_{50} = 54,86 µg/ml), la lignée cellulaire d'adénocarcinome mammaire humain (MCF-7) (IC_{50} de 153,6 µg/ml) et contre la lignée cellulaire du cancer du poumon (A549) (IC_{50} = 101,9 µg/ml). En revanche, cet extrait n'induit pas d'inhibition de la croissance sur les lignées cellulaires normales[83].

8.5. Propriétés hépato-protectrices :

L'étude de Slama et al. (2018) évaluant l'activité hépato-protectrice de l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* L. contre des lésions induites par le tétrachlorure de carbone (CCl_4). Les taux élevés d'enzymes sériques, de bilirubine et d'urée, dus à l'hépatotoxicité de CCl_4, ont été considérablement réduits après prétraitement par l'extrait de l'*Atriplex halimus*[84].

Les résultats de cette étude ont démontré une activité protectrice significative de la plante, dans la réduction de lésions hépatocellulaires induites par CCl_4.

8.6. Autres propriétés :

L'effet immunomodulateur des composés phénoliques d'*Atriplex halimus* L. a également été mis en évidence. Une réduction marquée des taux d'IL-6, d'IL-1β, de TNF-α et de COX-2, rétablis à des niveaux proches de la normale dans les modèles d'inflammation induite par le LPS, suggère leur rôle potentiel en tant qu'agents immunomodulateurs [80].

L'extrait butanolique d'*Atriplex halimus* L. a montré une activité anti-leishmanienne notable contre *Leishmania major*, l'agent responsable de la leishmaniose cutanée. La concentration inhibitrice moyenne (IC_{50}) a été estimée à 92,09 ± 3,41 µg/mL, comparativement à 1,5 ± 0,95 µg/mL pour l'amphotéricine B, utilisée comme contrôle positif.[68].

II.9 Toxicité de *l'Atriplex halimus* L :

Dans l'étude de Chikhi et al. (2014), une étude de toxicité aiguë de l'extrait aqueux *d'Atriplex halimus* L. a été réalisée sur des rats expérimentaux à des doses graduelles de l'extrait (1000, 2500 et 3000 mg/kg de poids corporel) qui ont été administrées per os, les animaux ont été observés pendant les 2 semaines suivant l'administration et aucune toxicité n'a été observée[4].

Aucun signe de toxicité n'a été signalé, dans d'autres travaux, pour *Atriplex halimus* L. jusqu'à présent. Toutefois, étant donné que l'espèce est un hyperaccumulateur de métaux lourds, la toxicité pour l'homme suite à la consommation de plantes sauvages récoltées sur des sols contaminés, est un risque qu'il faut prendre en considération[25].

II.10 Emplois de *l'Atriplex halimus* L :

10.1. Emploi alimentaire :

Depuis l'Antiquité, elle a été consommée par l'homme en période de pénurie en sources alimentaires[41].

L'Atriplex halimus est un arbuste réputé pour la valeur nutritive et énergétique de ses feuilles tendres, non seulement pour le bétail, mais aussi comme aliment pour les nomades et la population locale steppique.

En effet, au printemps, dans plusieurs régions en Algérie (Djelfa) et Tunisie (Gabès), les jeunes pousses du *Guettef* sont consommées par l'homme, en les préparant comme des épinards. Elles peuvent aussi être cuites à la vapeur ou à la poêle. Dans la région de Gafsa en Tunisie, elles servent à la préparation d'un couscous spécial, le *bethbotha* [41,85].

Les feuilles de l'arroche marine sont consommées crues dans les salades, dans certains pays d'Europe. Bien que l'âcreté provoquée par une élimination insuffisante des saponines pendant la cuisson ne rendre pas cet aliment très savoureux, sa consommation reste très acceptable par la population locale[85].

10.2. Emploi médicinal :

10.2.1. En phytothérapie :

L'extrait *d'A.halimus L.* entre dans la composition d'un phytomédicament à action antidiabétique : le **Glucolevel®**, combiné à des extraits de *Juglans regia* L., *d'Olea europea* L. et *d'Urtica dioica* L. [41,86].

« Glucolevel®», a été développé en fonction des connaissances approfondies sur les plantes du système médical greco-arabe. Les résultats des essais *in vitro* et *in vivo* ont démontré l'innocuité, la tolérabilité et l'efficacité des associations des quatre plantes pour réguler l'homéostasie du glucose [86].

10.2.2. En médecine traditionnelle :

En médecine traditionnelle, l'*Atriplex halimus* L. est classé parmi les plantes les plus utilisées par la population steppique pour soigner l'hyperglycémie[85].

Les feuilles *d'Atriplex halimus* L. sont également utilisées dans le traitement de la maladie du sommeil, l'acidité gastrique, comme émétique[3,87], dans le traitement du l'hypertension et comme diurétique [87,88], dans le traitement des maladies cardiaques et du rhumatisme (un extrait préparé à l'eau bouillante est ajouté à l'eau du bain)[41].

Au Sahara occidental, les cendres de *l'Atriplex halimus* L., reprises par l'eau sont utilisées dans le traitement de l'acidité gastrique et les graines sont ingérées comme vomitif[3].

Les sahariens attribuent aussi au pourpier de mer, la propriété de soigner « le debbeb » qui est une maladie grave du dromadaire causée par un trypanosome que lui inoculent les taons (*Tabanidae*) : les feuilles sont contusées puis appliquées sur les plaies pour les assécher[3].

Les racines, découpées en lanières à la manière du *swak*, servent pour les soins de la bouche et des dents[3,89].

On utilise aussi l' *Atriplex halimus* L. pour soigner les inflammations des voies urinaires (cystites) et des lithiases urinaires[85].

10.3 Emploi cosmétologique :

L'*Atriplex halimus* produit par incinération des cendres sodées, employées pour le dégraissage des vêtements et pour la préparation du savon (une solution de cendres est ajoutée à des matières grasses puis le tout est porté à ébullition quelques heures pour obtenir la saponification)[3].

10.4. Emploi agro-écologique :

10.4.1. Utilisation pastorale

L'Atriplex halimus présente un grand intérêt comme plante fourragère dans les régions arides et semi-arides.

Depuis les années 1960, l'*Atriplex halimus* L. a été plantée principalement pour assurer une alimentation au bétail dans ces zones arides aux petits ruminants (moutons et chèvres) ainsi qu'aux bovins et aux chameaux, cela s'explique par son contenu élevé en matière azotée, son adaptation à la sécheresse et à la salinité, son feuillage persistant et très apprécié durant toute l'année[41,85].

Ces pâturages sont particulièrement consommés par les dromadaires; par contre, pour les petits ruminants, ils ne sont consommés qu'au cours de l'été (d'août à fin novembre) en absence de plantes annuelles et de graminées (fig 22) [85].



Figure 22: Intérêt pastoral de *l'Atriplex halimus* L. dans les hauts plateaux algériens[42]

10.4.2. Remédiassions des sols :

L'*A.halimus* représente l'une des meilleures solutions pour la remédiassions des terres agricoles dégradées dans les zones arides et semi-arides.

Grâce à son système racinaire étendu et profond, il a été utilisé dans des projets de conservation des sols arides en Algérie, en Égypte, en Libye, en Jordanie, en Nouvelle-Zélande, en Espagne, en Syrie et en Tunisie, en particulier comme haie de contour pour contrôler le ruissellement et l'érosion des sols, la réduction de la vitesse du vent et sa plantation favorise aussi le recyclage des nutriments dans les sols appauvris[41].

CHAPITRE III

Le système endocrinien : la thyroïde

III. Généralités sur le système endocrinien

Le système endocrinien, ou hormonal, est l'un des deux grands systèmes de communication du corps humain, l'autre étant le système nerveux. Les glandes endocrines sont réparties dans tout l'organisme et sécrètent au moins une cinquantaine d'hormones[90].

Le système endocrinien assure trois grandes fonctions : il maintient l'équilibre des fonctions internes du corps humain, répond adéquatement aux stimuli internes et externes, et gère le développement du stade embryonnaire à l'âge adulte.

Le système endocrinien est un ensemble de glandes et de cellules spécialisées qui produisent et libèrent des hormones directement dans la circulation sanguine. Ces hormones sont des messagers chimiques qui agissent à distance sur des organes cibles, permettant la coordination et la régulation de nombreuses fonctions essentielles de l'organisme, telles que la croissance, le métabolisme, la reproduction, l'équilibre énergétique, la gestion du stress et l'homéostasie[91].

Les principales glandes du système endocrinien comprennent (fig 23) :

- L'hypothalamus et l'hypophyse (cerveau) ;
- La thyroïde et les glandes parathyroïdes (cou) ;
- Le thymus (thorax) ;
- Le pancréas et les glandes surrénales (abdomen) ;
- Les ovaires (femmes) et les testicules (hommes)[91].

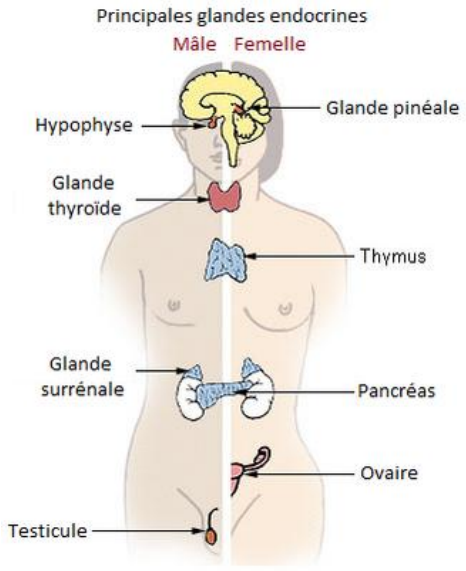


Figure 23: Les principales glandes endocrines [91]

Aussi, le système endocrinien est contrôlé par le SNC par le complexe hypothalamo-hypophysaire. Les cellules nerveuses de l'hypothalamus synthétisent et libèrent des médiateurs qui vont entrainer dans l'hypophyse antérieure la sécrétion d'hormones qui seront, elles-mêmes, distribuées dans l'organisme comme hormones[90].

Ainsi l'hypophyse et l'hypothalamus jouent un rôle central dans l'homéostasie, le métabolisme, dans les sphères de la reproduction, de l'équilibre hydrique électrolytique et acido-basique…

Les cellules hypophysaires permettant la synthèse des hormones stimulines eux même responsables du travail des glandes périphériques que sont la thyroïde, les gonades et les surrénales[90].

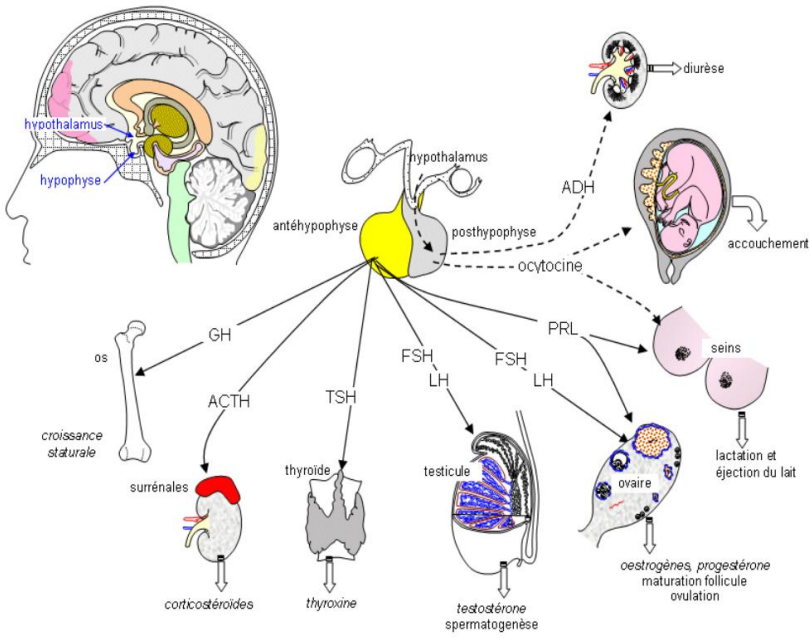


Figure 24: Mécanisme d'action des hormones de l'hypophyse[90]

Nous allons développer dans ce chapitre, une glande endocrine essentielle : la **thyroïde.**

La glande thyroïde joue un rôle important dans de très nombreuses fonctions physiologiques ; elle est située à la base du cou, elle sécrète des hormones qui exercent leurs actions sur toutes les cellules de l'organisme et les dysthyroïdies représentent une part importante des consultations en endocrinologie[91].

III.1. La glande thyroïdienne

La glande thyroïde est l'une des plus grandes glandes endocrines de l'organisme (fig 25), pesant environ 15 à 30 gr chez l'adulte normal[92,93], elle a la forme d'un papillon, son nom provient du terme grec "*thyreos*", qui signifie bouclier[94,95].

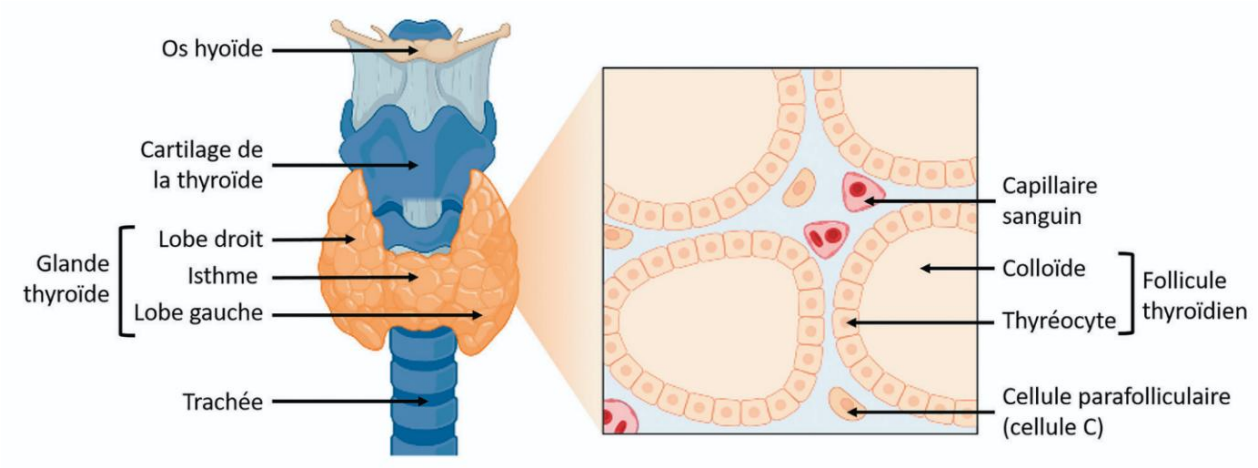


Figure 25: La glande thyroïde[93]

La glande thyroïde normale produit deux hormones thyroïdiennes (hormones iodotyronines), la 3,5,3'-triiodotyronine (T3) et la 3,5,3',5'-tetraiodotyronine, encore appelée thyroxine (T4) (fig 26). C'est majoritairement la T4 qui est sécrétée directement par la thyroïde, pour être transformée en T3 (hormone active) en périphérie par les enzymes déiodinases [96].

Ces hormones sont nécessaires au fonctionnement normal d'une variété de processus physiologiques affectant pratiquement tous les appareils de l'organisme. Une carence en hormones thyroïdiennes, causée par une variété de conditions, entraîne de nombreux processus physiopathologiques, dont certains ont des conséquences potentiellement graves en l'absence de traitement [92].

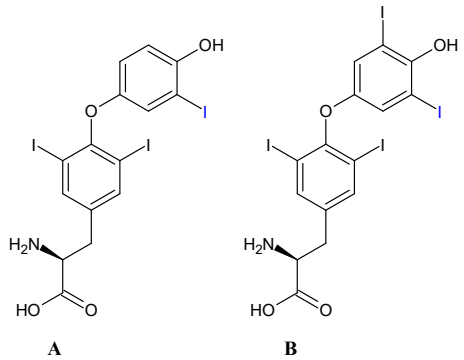


Figure 26: structures des hormones thyroïdiennes [ChemSketch]

A : 3,5,3'-triiodotyronine (T3), **B** : la 3,5,3',5'-tetraiodotyronine (T4)

Les hormones thyroïdiennes sont essentielles à la croissance, à la multiplication et à la différenciation de toutes les cellules de l'organisme, notamment dans le système nerveux central, le squelette et les bourgeons dentaires. À divers degrés, elles régulent le métabolisme basal des protéines, des lipides et des glucides [93].

III.2. Régulation de la fonction thyroïdienne

La fonction thyroïdienne normale est le résultat d'un axe hypothalamus-hypophyse- thyroïde (HPT) bien régulé qui maintient des concentrations normales des hormones thyroïdiennes (HT) et détermine le point de départ de leur biosynthèse [33].

La thyrotropine hypothalamique (TRH) stimule la synthèse et la sécrétion de la thyrotropine hypophysaire (TSH) et elle est libérée par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. La TRH est considérée comme le régulateur hypothalamique le plus important de la sécrétion de TSH [33,34].

La TSH est libérée dans la circulation pour réguler la synthèse des hormones thyroïdiennes dans la thyroïde. Elle est le principal régulateur du développement, de la croissance et de la fonction de la thyroïde en agissant à son niveau pour stimuler toutes les étapes de la biosynthèse et de la sécrétion des HT [96].

La sécrétion de TSH est le résultat de l'apport positif de la TRH hypothalamique et de l'apport négatif des HT circulantes [33,34].

Les hormones thyroïdiennes « thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3) » contrôlent la sécrétion de TRH et de TSH par rétroaction négative afin de maintenir les niveaux physiologiques des principales hormones de l'axe HPT (fig 27) [96].

Le rétrocontrôle négatif des hormones thyroïdiennes sur la sécrétion de TSH constitue un facteur de régulation essentiel, la TSH diminue en cas d'hyperthyroïdie et augmente lors de l'hypothyroïdie [96].

Les carences en hormones thyroïdiennes sont assez fréquentes, que ce soit par atteinte auto-immune de la thyroïde (maladie de Hashimoto) ou après thyroïdectomie pour hyperthyroïdie ou processus tumoral, voire par insuffisance hypophysaire [90].

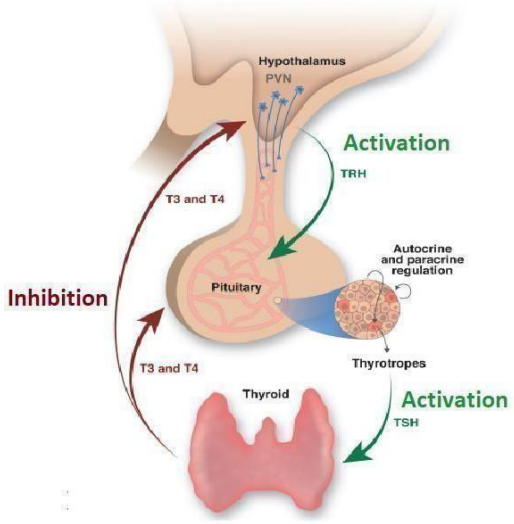


Figure 27: Axe hypoythalamo-hypophyso-thyroïdien et ses facteurs de régulation[95]

III.3. Actions physiologiques :

Au niveau de la glande thyroïde, la T4 est sécrétée en plus grande quantité que la T3, seul la T3 présente une activité biologique. La thyroxine (T4), considérée comme précurseur, doit être désiodée dans les tissus périphériques (foie, rein et muscle) par une thyroxine 5'-désiodase pour donner la T3[93,95].

Chez un sujet normal, la T4 est le reflet de l'activité thyroïdienne et la T3 constitue l'hormone active[95].

Les hormones thyroïdiennes ont des activités biologiques sur, pratiquement, toutes les cellules de l'organisme.

La T3 se fixe sur des récepteurs nucléaires liés à l'ADN augmentant par la suite la transcription génique. Il existe des récepteurs TRα et TRβ (Thyroïd Hormone Receptor) dont la répartition est variable en fonction des tissus et qui ont une sensibilité différente à la T3 [1].

- **au niveau métabolique** : les hormones thyroïdiennes stimulent la synthèse protéique à faible dose et favorisent le catabolisme à forte dose. Ils stimulent également la lipolyse du tissu adipeux en synergie avec les catécholamines, ainsi que le métabolisme du cholestérol. Elles sont hyperglycémiantes, elles facilitent l'absorption intestinale des monosaccharides, la glycogénolyse hépatique, la gluconéogenèse et la dégradation de l'insuline. En outre, elles accroissent le métabolisme de base en favorisant la consommation d'oxygène et la synthèse d'ATP qui produit, par la suite, de la chaleur[93].

- **au niveau cardiaque :** induisant des effets chronotropes (fréquence cardiaque) et inotropes (force de contraction) positifs.
- **au niveau intestinal :** elles augmentent le transit intestinal en stimulant le péristaltisme.
- **Au niveau du système nerveux** : elles interviennent aussi dans le fonctionnement harmonieux du système nerveux, en cas d'hyperthyroïdie, on observe une nervosité, des troubles du sommeil et à une certaine agressivité.
- **au niveau cutané :** Elles participent en outre au développement cutané en agissant sur le métabolisme des mucopolysaccharides et de la fibronectine.
- **Au niveau génital :** Dans le cadre d'un déficit en hormones thyroïdiennes, des troubles des fonctions génitales et sexuelles sont observés, comme des troubles de la libido ou une impuissance chez l'homme et une aménorrhée ou des ménorragies avec carence lutéale chez la femme[93].

III.4. Evaluation de la fonction thyroïdienne ;

Le diagnostic d'une dysthyroïdie peut se poser sur un ensemble de signes cliniques et biologiques.

Le dosage de TSH, T4, T3 et des auto-anticorps sont les dosages les plus courants pour l'exploration de la fonction thyroïdienne [95].

4.1 Dosages hormonaux :

4.1.1. TSH : le dosage de la TSH est considéré comme l'indicateur le plus sensible pour évaluer le dysfonctionnement thyroïdien.

Les concentrations de TSH sont corrélées à la concentration de T4 de façon exponentielle.

Les concentrations sériques basales de TSH sont comprises entre 0,3 à 6 mUI /L [92,95].

4.1.2. Hormones libres T4 et T3 :

La T4 libre est le reflet majeur de la fonction sécrétoire de la glande thyroïde ; une variation minime de T4 entraine une très grande variation de TSH mais avec un temps de latence dont il faut tenir compte.

La T3 libre est un marqueur périphérique car seulement 15 à 20% sont d'origine thyroïdienne.

Les valeurs de références sont :

- T4L = 10-23 pmol/L ;
- T3L = 3,9-6,6 pmol/L[95].

4.2. Dosage des auto-anticorps :

Les auto-anticorps antithyroïdiens sont nombreux et leur dosage aide au diagnostic étiologique des affections thyroïdiennes auto-immunes : auto-anticorps antithyroglobuline, auto-anticorps antirécepteurs de TSH, auto-anticorps antithyroperoxydase…[92,95]

III.5. Les pathologies thyroïdiennes

Les dysthyroïdies représentent les pathologies endocriniennes les plus fréquentes ; elles touchent tous les âges, mais surtout le sexe féminin (5 à 7 fois plus fréquentes)[92,95].

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), la prévalence des dysthyroïdies (troubles de la fonction thyroïdienne) varie selon les types et les populations.

On peut classer les dysthyroïdies en anomalies morphologiques et anomalies fonctionnelles.

5.1. Anomalies morphologiques

- **Le goitre :** C'est la maladie thyroïdienne la plus fréquente dans le monde. Sa prévalence peut atteindre jusqu'à 23 % chez la femme adulte dans certaines régions[97].

  Le terme « goitre » désigne simplement l'augmentation anormale du volume de la glande thyroïde. Un goitre peut se produire dans une glande qui produit trop d'hormones (hyperthyroïdie), trop peu d'hormones (hypothyroïdie) ou la bonne quantité d'hormones (euthyroïdie)[95,98].

  Une carence iodée sévère peut induire l'apparition d'un goitre par adaptation de la fonction thyroïdienne au déficit en iode[98].
- **Les nodules thyroïdiens :** c'est une hypertrophie des tissus thyroïdiens, fréquemment trouvées chez 4 à 7% de la population générale lors d'un examen clinique, plus de 90% des nodules sont bénins[98].

5.2. Anomalies fonctionnelles

- **Hypothyroïdie** : La prévalence globale de l'hypothyroïdie varie entre 2,5 % et 14 % selon les populations étudiées, avec une prédominance féminine marquée[99], hypothyroïdie primaire de l'adulte est une insuffisance de production des hormones thyroïdiennes, d'installation progressive et le plus souvent reconnue tardivement[95], à symptomatologie peu bruyante[100].
- **Hyperthyroïdie** : Sa prévalence est estimée entre 0,5 % et 2 % de la population adulte, avec une prédominance féminine pouvant être jusqu'à 10 fois plus élevée[99], c'est une hypersécrétion prolongée d'hormones thyroïdiennes avec hyper fonctionnement du tissu

thyroïdien, se manifestant cliniquement par tachycardie, troubles vasomoteurs et neuropsychiques, amaigrissement et accélération du transit[95,101].

III.6. Les perturbateurs endocriniens (PE) :

6.1. Définition des PE :

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des agents exogènes qui interfèrent avec les actions endocriniennes, et ont un effet délétère sur l'homme, la progéniture ou les sous-populations exposés. L'exposition du fœtus aux PE se produit par le biais du placenta et de l'allaitement, tandis que les adultes sont exposés par la nourriture, l'inhalation et le contact cutané[102].

Cependant, les perturbateurs endocriniens ne doivent pas être confondus avec les modulateurs endocriniens, qui sont des composés qui interagissent avec les systèmes hormonaux sans les perturber. Par exemple, le café, le chocolat ou le soja, sont bien connus pour interagir avec le système hormonal. Cependant, leur consommation en quantités conventionnelles, ne présentent aucun danger pour l'homme[103].

6.2. Les sources des PE

Aujourd'hui, on estime qu'il y a plus de 4000 PE et que la pollution causée par ces produits chimiques augmente. Par conséquent, la santé humaine est sérieusement affectée par les effets connus ou inconnus de ces produits chimiques sur les systèmes hormonaux[103].

L'OMS, en collaboration avec le Programme des Nations Unies pour l'Environnement, a publié un rapport de référence intitulé « *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals* » en 2012, qui dresse un état des lieux des PE et de leurs effets sur la santé humaine et l'environnement[104].

Selon le rapport, la liste des perturbateurs endocriniens parmi les composés naturels et synthétiques présents dans les pesticides, plastiques, cosmétiques, produits électroniques, additifs alimentaires et contaminants environnementaux est comme suit :

- Bisphénol A (BPA) et autres bisphénols (utilisés dans les plastiques et résines)
- Phtalates (plastifiants présents dans de nombreux produits de consommation)
- Polychlorobiphényles (PCB) (anciens fluides industriels, interdits mais persistants)
- Dioxines (sous-produits de combustion et de certains procédés industriels)
- Pesticides organochlorés (ex. DDT, DDE)
- Retardateurs de flamme bromés (PBDE)
- Composés perfluorés (PFAS, PFOA, PFOS)

- Parabènes (conservateurs cosmétiques)
- Alkylphénols
- Triclosan (antibactérien dans certains savons)
- Atrazine (herbicide)
- Perchlorate (composant de certains explosifs et engrais)
- Métaux lourds (plomb, mercure, cadmium)
- Phytoœstrogènes (substances naturelles de certaines plantes, comme le soja)

6.3. Impact des PE sur la fonction thyroïdienne

Les PE peuvent intervenir à n'importe quel niveau de la fonction thyroïdienne, y compris dans l'axe hypothalamus-hypophyse-thyroïde, la thyroïde elle-même, la synthèse, la libération, le transport, le métabolisme des hormones et l'action sur les tissus cibles[103,105].

Cela rend les études sur les PE très difficiles parce que leur action peut impliquer différentes cibles et n'implique pas nécessairement un changement détectable dans les niveaux d'hormones thyroïdiennes. Par conséquent, la manifestation clinique des effets des PE sur la thyroïde peut être très différente par rapport à celles des maladies traditionnelles de la thyroïde[103,106].

Le mécanisme d'interférence est basé principalement sur des similitudes structurelles entre les PE et les hormones thyroïdiennes, ils peuvent intervenir en perturbant plusieurs axes, par exemple :

- Absorption de l'iode : plusieurs produits chimiques environnementaux peuvent interférer avec son absorption (perchlorate, le chlorate, le nitrate et le thiocyanate) et cette inhibition de l'absorption par ces anions peut être importante dans les zones déficientes en iode et chez les femmes ;
- Les thiocyanates et les isoflavones peuvent inhiber la thyroperoxydase (TPO), qui est essentielle à la synthèse de l'hormone thyroïdienne ;
- Les PE peuvent réduire la circulation des hormones thyroïdiennes en induisant les enzymes hépatiques responsables de la clairance des T4/T3 ;
- Les composés phénoliques (PCB et les PBDE) peuvent influencer la liaison de l'hormone thyroïdienne aux protéines porteuses ;
- Les phtalates peuvent se comporter à la fois comme un agoniste des récepteurs thyroïdiens et antagoniste[103,106].

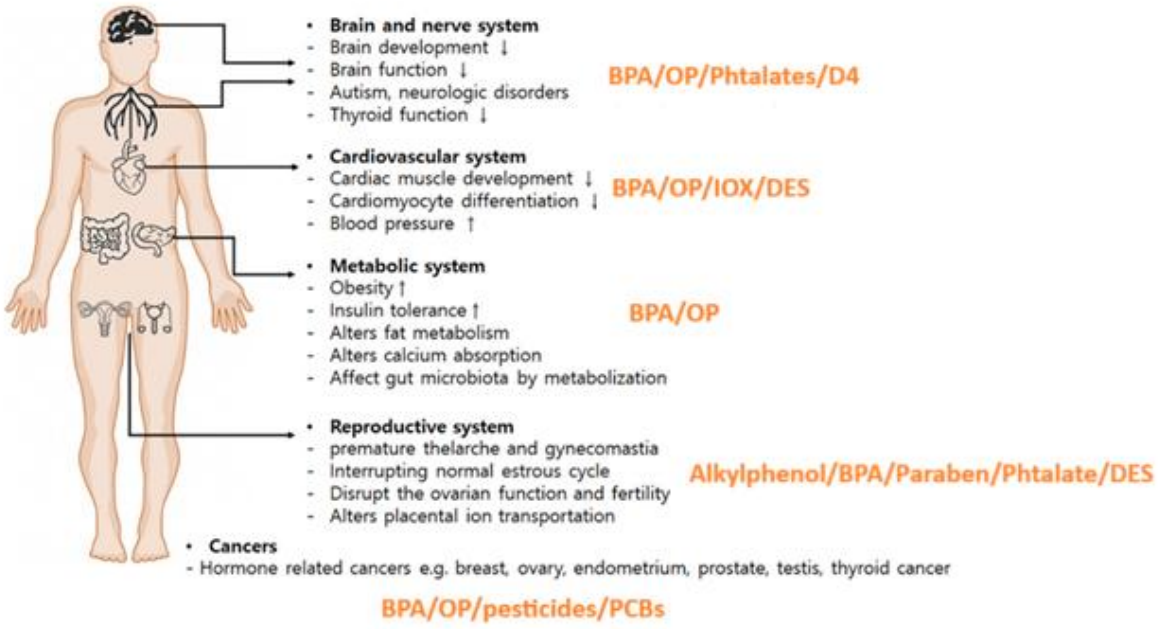


Figure 28: Schéma des systèmes physiologiques impactés par les PE[105]

BPA : bisphénol A, OP : octylphénol, D4 : octaméthylcyclotétrasiloxane, IOX : ioxynil, DES : diéthylstilbestrol, BPC : biphényles polychlorés.

Les mécanismes complexes d'interaction des PE et de la fonction endocrine ne sont que partiellement étudiés, mais des preuves claires ont été établies à partir d'études animales, biochimiques et humaines que certains produits chimiques spécifiques peuvent affecter l'activité hormonale avec des conséquences importantes pour la santé humaine.

Donc, il serait nécessaire d'utiliser des méthodes spécifiques pour dépister le potentiel agoniste/antagoniste des PE sur les récepteurs endocriniens et l'effet de modulation hormonale (plantes et substances naturelles) afin d'envisager des thérapies ciblées[105].

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel :

I.1. Matériel végétal :

1.1. Critères de choix de la plante étudiée :

Devant la menace croissante du réchauffement climatique, de la sécheresse et de la salinité des sols, les plantes dites halophytes qui peuvent pousser dans ces conditions climatiques extrêmes sont une vraie alternative.

L'Algérie fait partie des pays méditerranéens menacés par la sécheresse, le développement de la salinité des sols et la désertification, ces phénomènes aggravent la dégradation des sols, limite la productivité agricole, la biodiversité floristique et impacte les conditions de vie des populations locales[52].

La plante choisie pour notre étude pousse spontanément dans des régions steppiques, salines et sous des climats arides et semi-arides, *Atriplex halimus* L ; dont la population locale utilise les feuilles pour nourrir le bétail et également comme plante médicinale ; dont le principal emploi traditionnel est le traitement des troubles de la thyroïde et des troubles ovariens.

Cette plante reste mal connue et peu étudiée du point de vue phytochimique et pharmacologique.

La valorisation de cette plante halophyte steppique, à travers notre travail, peut apporter de vraies solutions durables à plusieurs problématiques dont la population locale est confrontée.

1.2. Critères de choix du lieu et période de récolte de la plante :

Les qualités des plantes récoltées à différents endroits peuvent varier considérablement selon le lieu et la période de récolte, même si elles sont traitées dans les mêmes conditions[107].

Les feuilles sont généralement récoltées au stade le plus prospère de la vie des plantes, lorsque les feuilles sont épaisses et vertes et en période de floraison [107].

Nous avons effectué trois récoltes durant trois années successives (2021, 2022, 2023) au niveau de la localité d'El Maarif, à proximité du chott d'El Hodna, Wilaya de M'sila et ceux en période de fleuraison de *l'Atriplex,* du mois de Juin jusqu'au mois de Septembre, une vingtaine de pieds ont été récoltés.

Suite aux recherches bibliographiques, les populations naturelles *d'Atriplex halimus L.* en Algérie, se localisent essentiellement dans les régions steppiques et préférentiellement dans les Chotts [85], d'où le choix de la wilaya de M'sila et spécifiquement du chott el Hodna [5,108].



Figure 29: Récolte manuelle des rameaux *d'Atriplex halimus* L. (Kaarar.N 2022 et 2023)

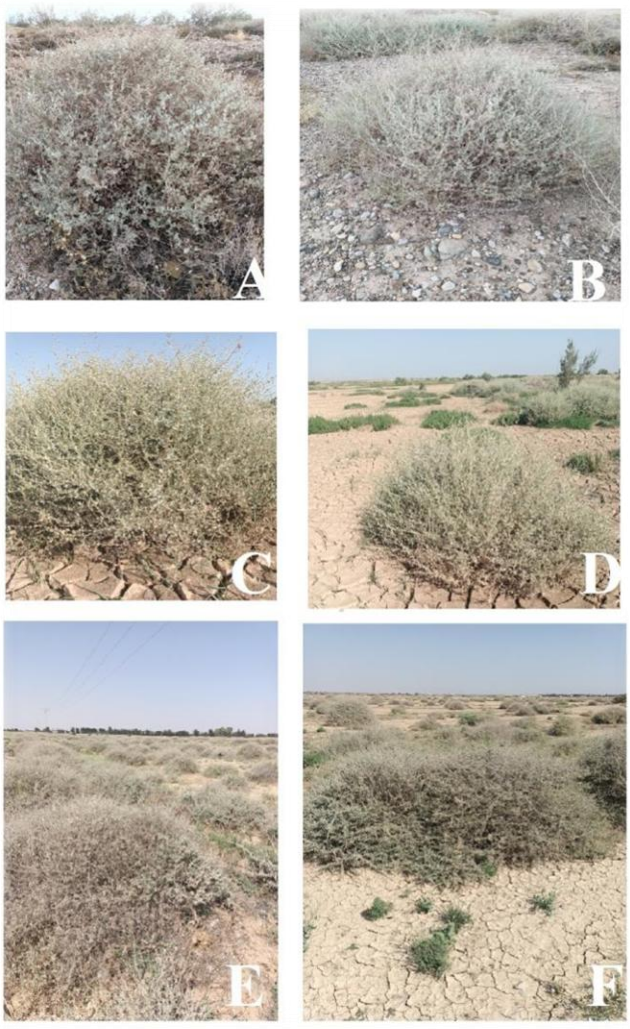


Figure 30: Champs d'*Atriplex halimus* L. dans la zone d'El Maarif (Sahraoui O)
A et B : récolte de 2021, C et D : récolte de 2022, E et F : récolte de 2023

1.2.1. Description de la zone de récolte :

A. Description de la Wilaya de M'sila :

La wilaya de M'sila est située au Sud-Est d'Alger à 248 km, elle occupe une position privilégiée dans la partie centrale de l'Algérie du nord. Dans son ensemble, elle fait partie de la région des Hauts Plateaux du Centre et s'étend sur une superficie de 18.175 km^2. Elle est limitée au Nord Est par les wilayat de Bordj Bou-Arreridj et Sétif ; au Nord-Ouest par les wilayas de Médéa et Bouira ; à l'Est par la wilaya de Batna ; à l'Ouest par la wilaya de Djelfa ; et au Sud Est par la wilaya de Biskra, elle se trouve en latitude 35°.42' Nord et en longitude 04°.33' Est, sur une altitude d'environ 500 m[109].

Sa morphologie et sa position géographique stratégique, au contact du Tell et du bassin d'el Hodna, au cœur des Hauts-Plateaux, confèrent à cette région un aspect écologique unifié représenté par la prédominance de la steppe qui couvre 1 200 000 ha (soit 63 % de la superficie totale) de la wilaya[108].

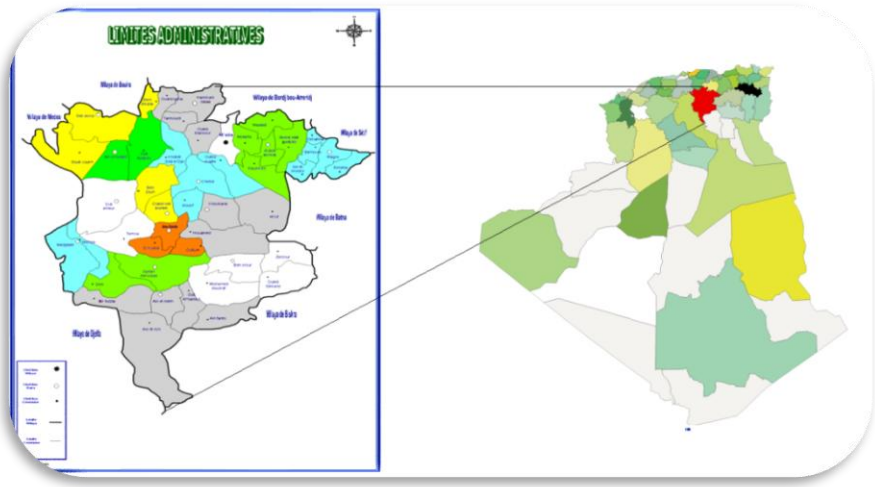


Figure 31: Limite administrative et localisation de la wilaya de M'sila [109]

Le territoire de la Wilaya constitue une zone charnière et de transition entre les deux grandes chaînes de montagnes que sont l'Atlas Tellien et l'Atlas Saharien.

La configuration géographique y est comme suit :

- Une zone de montagnes de part et d'autre du Chott El Hodna ;
- Une zone centrale constituée essentiellement de plaines et de hautes plaines ;
- Une zone de chotts et de dépression avec le Chott El Hodna au Centre Est et le Zahrez Chergui au Centre Ouest ;
- Une zone de dunes de sable éolien[109].

Le climat de la Wilaya de M'sila est de type continental soumis en partie aux influences sahariennes. L'été y est sec et très chaud, alors que l'hiver y est très froid.

Sur le plan pluviométrique, la zone la plus arrosée est située au nord ; elle reçoit plus de 480 mm par an (Djebel Echchouk - Chott de Ouenougha) et la zone la plus sèche est située à l'extrême sud de la Wilaya et reçoit moins de 200 mm/an [109].

B. Coordonnée de la zone de récolte :

La récolte a eu lieu dans une commune rurale de la wilaya de M'sila nommée **El Maarif (**المعاريف**),** c'est une commune située dans la partie centrale de la région géographique des Hauts Plateaux, dans la plaine d'El Hodna, à une altitude moyenne de 400 m, à l'ouest du Chott el Hodna. Les coordonnées géographiques sont : 35° 24′ 55″ Nord, 4° 20′ 39″ Est en DMS (degrés, minutes, secondes), avec un climat semi-aride sec et froid [109,110].

Aussi, le choix de la zone d'**El Maarif (**المعاريف**)** a été décidé à la suite de plusieurs concertations avec la direction des forêts de la wilaya de M'sila, et ce pour sa richesse en *Atriplex halimus*, qui pousse spontanément dans cette zone et à proximité du chott El Hodna (zone de salinité élevée).

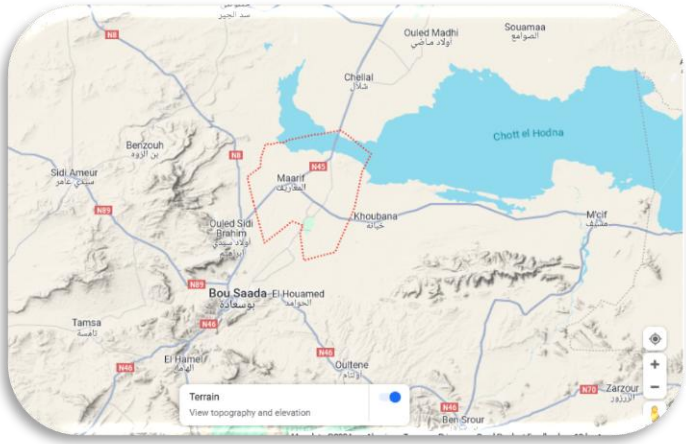


Figure 32: Situation géographique de la station de récolte selon Google Maps[111]

Le chott est défini comme une dépression fermée caractérisée par une étendue d'eau salée peu profonde, souvent périodique, qui peut être partiellement ou totalement asséchée selon les saisons, elle se situe dans des régions semi-arides ou arides, où l'eau s'accumule temporairement lors des rares pluies, puis s'évapore presque totalement, laissant une croûte de sel à la surface. Les rivages du chott portent souvent une végétation type halophile. Chott El Hodna est l'un des plus grands chotts de l'Algérie avec une superficie de 362 000 ha[112,113].

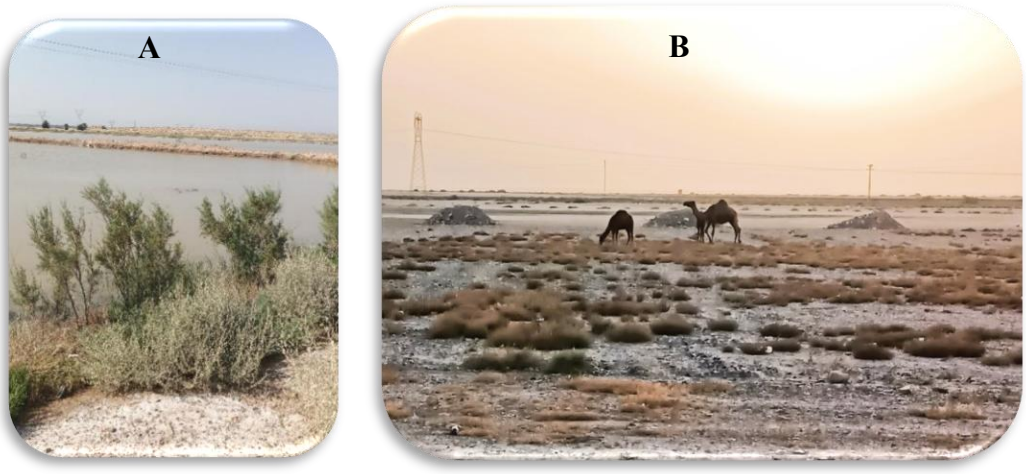


Figure 33: Aspect du chott el Hodna à différentes périodes (Sahraoui O)
A : après une période pluvieuses B : après une période de sècheresse

1.3 Procédés de séchage et conservation de la plante :

Après la récolte, le matériel végétal a été transporté dans des sacs en tissus et séché dans un endroit sec, aéré, à l'abri de la lumière et de l'humidité, afin de préserver la drogue et ces constituants de toute dégradation.

Le séchage a duré 2 semaines, les feuilles ont été récupérer et conserver dans des enveloppes en carton fermées et étiquetées,

L'étiquette porte le nom de l'espèce, la date et le lieu de récolte, ces échantillons ont été conservés au niveau du laboratoire de pharmacognosie, de la faculté de Médecine de Annaba, jusqu'à utilisation.

Une partie du matériel végétal a été réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, en respectant un temps de broyage court (de 1 à 2mn) afin d'éviter la dégradation des composés actifs thermosensibles sous l'effet de la chaleur généré par le broyage.



Figure 34: Feuilles séchées et récoltés de la région d'El Maarif (M'sila)

I.2 Matériel de laboratoire

Tableau 7: Le matériel et réactifs de laboratoire utilisés

Appareils	Réactifs	Standards
• Loupe binoculaire Zeiss • Microscope optique Zeiss • Microscope optique Optica • Spectrophotomètre UV-visible (thermo scientificevolution 201) • Spectrophotomètre visible DIAB • pH-mètre (AD1030) • Balance de précision (KERN 440 ; 35N) • Plaque chauffant (DIAB MS-H380-Pro) • Evaporateur rotatif (DIABRE100-Pro) • Etuve (memmert 50L) • Bain marie (memmert 10L) • Broyeur (BOMMAN capacité 450g) • Tamiseur (FRITSCH) • Balance analytique (ADAM NIMBUS max 210g d=0,0001g) • Chauffe ballon • Four à moufle • Bain de sable • Lampe UV, 254/365nm, Vilber LourmaM	• Eau distillée • Ethanol • Hydrate de chloral • NaClO • Acide acétique • Vert de méthyle • Rouge Congo • Méthanol • Ether de pétrole • Hexane • dichlorométhane • Acétate d'éthyle • Acétone • Réactif de Folin-Ciocalteu • HCL (50%) • Trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ • $FeCL_3$ (à 10% et à 2%) • Acide sulfurique • Acide Phosphorique • carbonate de sodium Na2CO3 à 75mg / • Anhydride acétique • NH4OH (25%) • rognure de Mg • Réactif de Stiasny • Acétate de Na • Réactif de Mayer • Réactif de Boucharda • Réactif de Dragendorff • méthanol grade HPLC • Acide acétique grade HPLC	• Acide gallique • Quercétine • Catéchine • Berbérine • Palmatine • Pipérine • Acide ascorbique • Diclofenac sodique • DINP (diisononylphtala

I.3. Matériel animal :

Notre étude a été réalisée sur une soixantaine de rats albinos femelles de souche Wistar, ***Rattus norvegicus,*** provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevages de Dely Ibrahim, Alger), âgés de 8 semaines et ayant un poids corporel compris entre 210 et 220 g.

Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

Le choix des rats femelles a été motivé par les résultats de l'enquête ethnobotanique, qui a révélé que les feuilles d'*Atriplex halimus L.* sont majoritairement utilisées par les femmes pour le traitement des affections ovariennes et thyroïdiennes ainsi que des troubles de la fertilité. Afin d'évaluer l'impact potentiel de la plante sur le système endocrinien féminin, notre étude a donc porté sur des rats Wistar femelles adultes.

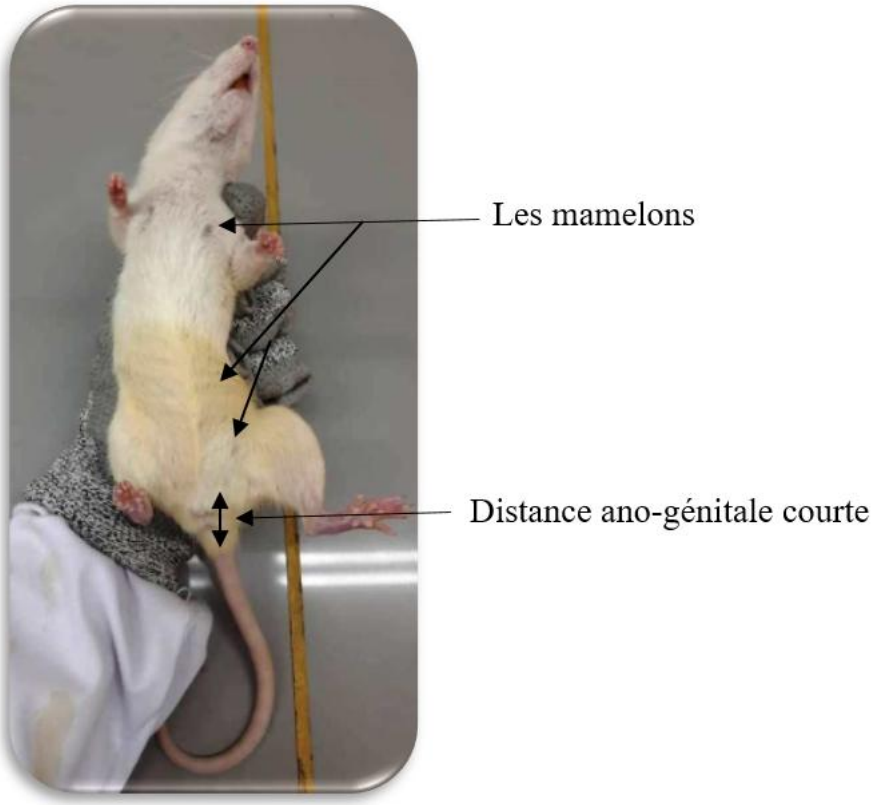


Figure 35: Sexage des Rats femelles Wistar adultes réceptionnés lors de l'expérimentation

II. Méthodes :

II.1. Identification botanique

1.1. Préparation de l'herbier

la plante a été collecté lorsque tous les caractères morphologiques sont présents et l'échantillon pressé et séché, est monté sur une feuille d'herbier et étiqueté avec la date et le lieu de la récolte, ainsi qu'un numéro d'identification pour la traçabilité[114].

Le spécimen de référence a été identifié sur la base de la "*Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* " de Quezel et Santa. (1962), avec l'aide du Professeur en Botanique médicale, Pr Ounaissia Karima, de la faculté de Médecine de l'Université de Badji Mokhtar d'Annaba, en comparant avec des spécimens d'herbier disponibles au laboratoire de botanique médicale, de la faculté de Médecine d'Annaba et l'herbier national de l'Institut d'agronomie d'El Harrach- Alger.

Il convient de noter que la nouvelle classification phylogénétique APG IV (2016) a été adoptée pour mettre à jour la famille ainsi que la sous espèce.

1.2. Diagnose botanique

L'analyse d'une drogue végétale débute par les essais botaniques qui consistent à décrire la drogue végétale sur le plan macroscopique et microscopique afin de contrôler son identité et sa pureté[114,115]. La fiabilité de la diagnose botanique repose sur cinq critères :

- Identification : l'échantillon doit être identifié avec précision par un botaniste ;
- Représentativité : l'échantillon doit être représentatif de l'espèce ;
- Pureté : l'échantillon doit être exempt d'impuretés ou de matières étrangères pour ne pas compromettre l'intégrité de la caractérisation ;
- Echantillons multiples : plusieurs échantillons authentifiés doivent être examinés afin de saisir les variations intraspécifiques ;
- Matériel entier : la caractérisation doit être développée sur un matériau entier, non broyé, afin de saisir l'arrangement unique des tissus au sein de l'espèce (la fiabilité de la diagnose diminue avec l'augmentation de la fragmentation de la plante)[114].

Ces critères ont été respectés au cours de l'identification botanique.

La diagnose botanique fait appel à deux types d'examens :

- L'examen organoleptique et macroscopique des feuilles d'*Atriplex halimus* L.

- L'examen microscopique des coupes histologiques et de la poudre des feuilles d'*Atriplex halimus* L.

1.2.1. Examen organoleptique et macroscopique

Le premier contact avec la drogue permet de repérer des éléments d'identification immédiats comme la morphologie, l'odeur, la couleur, la saveur, mais aussi certains éléments (le degré de pureté, présence ou absence des tâches, de moisissures et de matières étrangères…).

Les caractéristiques organoleptiques (la forme, la taille, la couleur, l'odeur, le goût) sont également évaluées [116].

L'examen de la feuille d'*Atriplex halimus* L. portera plus particulièrement sur l'odeur, le gout, la couleur, la différence de teinte entre face supérieure et inférieure, forme générale, les nervures plus ou moins apparentes, la nature de leur bord, la présence ou l'absence du pétiole ou de duvet.

A. Test de l'odorat :

En écrasant 0.1 mg de drogue entre le pouce et l'index, ainsi les constituants odoriférants sont libérés. On détermine l'intensité de l'odeur (sans- faible- marquée- forte) et le type de l'odeur (aromatique – fruitée – moisie – rance…) [117].

B. Test du gout :

Placer 5 à 10 mg de drogue en poudre sur la langue et garder en bouche pendant 10 à 30 secondes, après recracher l'échantillon et rincer la bouche. Noter le gout : sucré, salé, amer, acide, piquant, métallique…[117].

C. Test du toucher :

Toucher la drogue entière ou en morceau afin d'apprécier soit : la dureté, une drogue collante ou irritante à sa surface, une drogue lisse ou rugueuse…[117].

D. Examen macroscopique :

L'étude macroscopique est la description morphologique des parties de la plante à l'œil nu en plaçant le matériel végétal sur une surface claire, ou en utilisant un stéréomicroscope. Il s'agit d'observer la couleur, la forme, les dimensions... [116,117]. Les mesures macroscopiques sont exprimées en mm.

L'observation à la loupe binoculaire permet d'examiner des organes entiers ou des parties de feuilles sans préparation particulière, en visualisant des détails invisibles à l'œil nu, tels que la forme, la texture, la nervation, la présence de poils, ou d'autres structures superficielles [114].



Figure 36 : Les échantillons des feuilles *d'A.halimus* L. pour observation macroscopique

1.2.2 Examen microscopique :

L'analyse microscopique est indispensable pour l'identification d'une drogue végétale, la détermination de la pureté et la recherche d'une éventuelle falsification, elle se fait au moyen du microscope optique.

Plusieurs examens microscopiques ont été effectués, tel que :

A. Coupes histologiques de l'organe

La préparation de coupes transversales permet la caractérisation de l'espèce et fournis des informations essentielles à la diagnose. Ainsi, l'arrangement des tissus dans une drogue végétale est beaucoup plus diagnostique d'une espèce que ne le sont les tissus, qui sont communs à toutes les espèces [114].

Intérêt : la coupe d'un organe comprend tous les éléments structurels anatomo-histologiques organisés de la surface vers le centre, contrairement à un échantillon pulvérisé, ou les tissus délicats (cambium, cellules criblées…) sont complètement désintégrés et les trichomes sont souvent brisés, ce qui rend la caractérisation difficile[114].

Méthodologie de préparation d'une coupe transversale :

- Nous avons réalisé des sections à la main sur plusieurs échantillons de feuilles d'*A.halimus* L. en tenant la partie de l'organe humidifiée à sectionner entre le pouce et l'index d'une main et en coupant avec le rasoir de l'autre main.
- Réaliser des coupes transversales aussi fines que possible.
- Les coupes doivent être immédiatement recueillies dans un verre à montre contenant de l'eau distillée pour maintenir leur humidité et leur souplesse.
- Les coupes les plus fines sont sélectionnées à l'aide d'une pince afin de les colorer par la suite[114,118].

La technique de double coloration des coupes

Parmi les techniques de coloration des membranes cellulaires, une des plus utilisées et qui permet de mettre en évidence les deux types de tissus existants dans la structure histologique est la technique de la double coloration au **vert de méthyle et rouge Congo**[119]**.**

Principe : sur une coupe aussi fine que possible, on fait agir successivement des solutions d'hypochlorite de sodium et l'acide acétique dilué. Les contenus cellulaires sont détruits, les parois cellulaires sont respectées. En faisant agir simultanément ou successivement le vert de méthyle et le rouge Congo, les parois cellulosiques se colorent en rose et les parois lignifiées ou sclérifiées se colorent en vert [118].

Mise en œuvre pratique :

Les coupes sont placées successivement dans les bains suivants :

- ► L'hypochlorite de sodium dilué au 1/2 (eau de javel) (pendant 10-20 min) ; pour vider le contenu cytoplasmique des cellules et préserver les membranes.
- ► L'eau distillée contenant quelques gouttes d'acide acétique (pendant 30 secondes), pour neutraliser l'excès d'eau de javel et fixer les colorants.
- ► Le vert de méthyle (pendant 1 min), colore les parois lignifiées ou tubérisées en vert, comme celle du bois et du sclérenchyme.
- ► Le rouge Congo (pendant 15 min), colore les parois cellulosiques en rose (caractéristique du parenchyme cellulosique, du liber et du collenchyme).
- ► Les coupes sont rincées avec de l'eau distillée entre chaque étape de coloration[118].
- ► Les coupes sont montées entre lame et lamelle avec une goutte d'eau distillée et observées au microscope optique à objectif 10 puis 40.

B. <u>Observation de la poudre</u>

Principe : la drogue préalablement séchées est réduites en poudre et observée sous microscope optique en présence ou non d'un colorant spécifique (eau iodée, soudon III) ou d'éclaircissants (hydrate de chloral, acide lactique …)[117].

Mise en œuvre pratique :

Les étapes de montage d'une poudre végétale suivies sont les suivantes :

- ► L'échantillon préparé est placé sur une lame de microscope et quelques gouttes de solution d'hydrate de chloral sont ajoutées.

- Recouvrir d'une lamelle de verre puis maintenir la lame au-dessus d'une flamme ou sur une plaque chauffante jusqu'à ce que la solution fasse de légères bulles.
- La procédure doit être répétée jusqu'à ce que l'échantillon paraisse clair.
- Il est important que l'objet ne devienne pas sec, par l'ajout de gouttes supplémentaires de solution d'hydrate de chloral le long du bord de la lamelle.
- Pour la conservation de la lame pendant quelques jours, on ajoute une goutte de glycérol(50-85%) à l'un des bords de la lamelle pour empêcher la cristallisation de la solution d'hydrate de chloral[114,117].

II.2. Enquêtes ethnobotaniques

2.1 Description des enquêtes :

Les enquêtes ethnobotaniques ont été menées dans le but de recueillir les connaissances traditionnelles et les usages populaires associés à *l'Atriplex halimus* L.

Pour cela nous avons réalisé deux enquêtes ethnobotaniques, une auprès de la population locale ou pousse spontanément la plante et une deuxième auprès des herboristes qui vendent la plante dans les zones où elle n'est pas disponible.

2.1.1. Enquête auprès de la population :

Cette étude est une **enquête ethnobotanique descriptive et transversale** menée auprès de la population des zones steppiques sur une période allant de janvier à mai 2021.

Critères d'inclusion et de non-inclusion :

Les personnes incluses dans l'enquête correspondent à des adultes âgés de plus de 20 ans, résidant dans une zone steppique ou à proximité immédiate. Les personnes de moins de 20 ans ou n'habitant pas dans les zones ciblées n'ont pas été retenues.

Choix du lieu de l'étude :

L'enquête a concerné deux wilayas steppiques, M'sila et Bordj Bou Arreridj. Le choix de ces régions s'explique par la présence spontanée d'*Atriplex halimus* L., qui fait partie intégrante de la flore locale.

Méthode de sélection et déroulement :

Les participants ont été recrutés de manière aléatoire, sans distinction de sexe ou de niveau d'instruction, dans divers lieux publics (marchés, administrations, pharmacies, structures de santé…).

L'enquête a été conduite sous forme d'entretiens individuels semi-structurés d'une durée moyenne de 15 minutes, à l'aide d'un questionnaire administré par les enquêtrices (Annexe I). Les discussions ont été menées en langue locale (arabe), afin de mettre les répondants dans une situation de confiance et de confort [120].

Outil de collecte de données :

Le questionnaire utilisé comprenait 10 questions, dont 3 fermées dichotomiques, 3 à choix multiples et 4 ouvertes. Il était structuré en deux parties :

- la première relative à l'informateur (wilaya, âge, genre),
- la seconde relative à la plante (noms vernaculaires, sources, domaines et modes d'utilisation, durée du traitement et posologie, effets secondaires...).

le questionnaire a été validé par Pr Jaque Florentin, président de la société française ethnopharmacologie.

Aspects éthiques :

L'enquête a été réalisée conformément aux principes de la Déclaration d'Helsinki. Le consentement oral des participants a été obtenu, la confidentialité des données a été respectée, et la transparence des résultats a été assurée, y compris pour les usages non validés scientifiquement [121].

Limites rencontrées :

La principale difficulté rencontrée lors de notre enquête, était la réticence de la population à répondre au questionnaire en raison des mesures sanitaires et de la distanciation sociale instaurées durant la période post-COVID-19. Cela a réduit la taille finale de l'échantillon.

2.1.2. Enquête auprès des herboristes :

Cette étude est une enquête ethnobotanique **descriptive** et **transversale** menée auprès d'herboristes répartis entre l'Est algérien et une wilaya steppique, sur une période allant de mars 2022 à mai 2023.

Critères d'inclusion et de non-inclusion :

Les herboristes inclus dans l'enquêtes, sont ceux ayant une expérience professionnelle supérieure à 5 ans. Les herboristes ayant une expérience inférieure à 5 ans n'ont pas été retenus.

Choix de la population et terrain de l'étude :

Cinq wilayas de l'Est algérien (Annaba, Skikda, Guelma, Souk Ahras et Tébessa) ont été ciblées, ce choix est justifié par la proximité des enquêtrices (lieu d'habitation et d'étude) et le

nombre d'herboristes importants. Une wilaya des Hauts-Plateaux, M'sila, a également été incluse du fait de la présence spontanée *d'Atriplex halimus* L.

Méthode de sélection et déroulement :

Le recrutement a été réalisé selon la méthode de boule de neige. L'enquête a pris la forme d'entretiens individuels semi-structurés d'environ 15 minutes, guidés par un questionnaire administré par les enquêtrices (Annexe I). Les entretiens se sont déroulés en langue locale (arabe) afin de favoriser la compréhension et la confiance [120].

Outil de collecte de données :

Le questionnaire comportait 21 questions, réparties en 5 questions fermées dichotomiques, 15 à choix multiples et 1 ouverte. Deux volets principaux y figuraient :

- des informations sur l'informateur (wilaya, âge, sexe, niveau d'éducation, origine du savoir),
- des données liées à la plante (noms vernaculaires, sources d'approvisionnement, modes d'utilisation, durée du traitement, posologie, effets secondaires…).

Le questionnaire a été validé par Pr Jaque Florentin, président de la société française ethnopharmacologie.

Aspects éthiques :

L'enquête a respecté les principes de la Déclaration d'Helsinki. Le consentement oral a été recueilli, la confidentialité assurée et la transparence des résultats garantie, y compris pour des usages non validés scientifiquement [121].

Limites rencontrées :

Certaines difficultés ont été observées, notamment le refus de quelques herboristes de répondre ou de partager leurs connaissances, et l'insuffisance d'expérience de certains répondants.

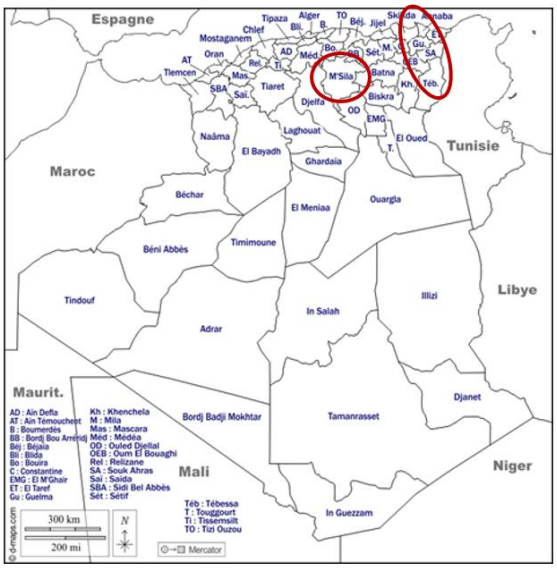


Figure 37: Lieu de déroulement de l'enquête ethnobotanique auprès des herboristes[122].

2.2. Traitement des données :

L'analyse statistique des données a été prise en charge par le tableur Excel 2016, pour être présentée sous forme de tableaux et d'histogrammes. Elle a fait appel aux méthodes simples de statistiques descriptives.

Les **variables quantitatives** sont décrites en utilisant les indices ethnobotaniques, tel que :

- **Fréquence de Citation (FC)** : désigne le nombre d'informateurs locaux ayant déclaré une utilisation médicinale traditionnelle de l'espèce[123], C'est un indice important pour évaluer le niveau de connaissances des plantes par les enquêtés[121]; il se calcule comme suit :

$$FC = \frac{n}{N}$$

n : le nombre de personnes interrogées ayant citées la plante ; N : le nombre total de personnes interrogées au cours de l'enquête.

- **Valeur d'Usage (UV)** : Somme des usages rapportés pour la plante, cette valeur évalue l'importance culturelle d'une plante en fonction du nombre d'utilisations rapportées par les informateurs[124,125]. Elle se calcule selon la formule suivante :

$$UV = \frac{\sum Ui}{N}$$

Ui : Nombre total d'utilisations mentionnées pour la plante *i* par les informateurs.

N : Nombre total d'informateurs interrogés.

- **Niveau de fidélité (FL):** ce facteur indique la spécificité d'usage de la plante pour une maladie précise[126,127] ; il se mesure comme suit :

$$FL(\%) = \frac{Np}{N} \times 100$$

Np : nombre d'herboriste utilisant la plante pour une pathologie spécifique ; N : nombre total citant la plante

- **Fréquence de citation d'organe** (**FCO**) : il mesure la fréquence de réponse donnée par les enquêtés par organes utilisés pour chaque espèce [124]; Il indique les organes les plus utilisés par espèce et varie de 0 à 100 ; il est exprimé par la formule suivante :

$$\boldsymbol{FCO = \frac{S}{N} \times 100}$$

S : nombre de personne ayant donné une réponse positive pour l'utilisation de l'organe concerné ; N: nombre total de personnes interrogées.

- **Valeur d'usage ethnobotanique (VUE)** : La valeur d'usage de chaque espèce ou Use Value species (UVs)[124], elle peut être calculée selon la formule suivante :

$$VUE = \frac{U}{N}$$

U : le nombre d'usages (alimentaire, cosmétologique, thérapeutique, toxique…) où l'espèce (s) est mentionnée ; N : le nombre total d'informateurs

Aussi, les **variables qualitatives** sont décrites en utilisant l'indice suivant **:**

- Classification des usages thérapeutiques selon la **Classification Internationale des Maladies (CIM-11)**.

II.3. Etude phytochimique :

3.1. Extraction des substances naturelles de *l'Atriplex halimus* :

3.1.1. Les étapes de pré-extraction :

1. Le broyage de la drogue :

Le broyage est une étape d'extraction importante, car il favorise la pénétration du solvant dans les structures cellulaires des tissus végétaux, ce qui permet de dissoudre les métabolites et d'augmenter le rendement de l'extraction, Le choix de la technique de broyage dépend de la consistance de la drogue, de sa dureté et de sa nature[128].

Le broyage a été effectué dans un broyeur mécanique de marque Allemande « BOMMAN » d'une capacité de 400g.

L'étape de broyage est effectuée sur une période courte avant l'étape de l'extraction**, une semaine,** pour éviter l'altération et l'évaporation des phytoactifs,

2. Homogénéisation et détermination de la granulométrie de la poudre végétale :

Cette opération est une étape de pré-extraction très critique, elle est régie par la règle d'or ***« diminution de la taille des particules - meilleure surface - meilleur contact soluté-solvant - meilleure extraction »*** [128].

Elle a été effectuée dans une tamiseuse

3. Le stockage :

Les conditions de stockage de notre poudre sont les suivantes : des flacons en verre teinté bien fermés et conservés au réfrigérateur à 4°C.

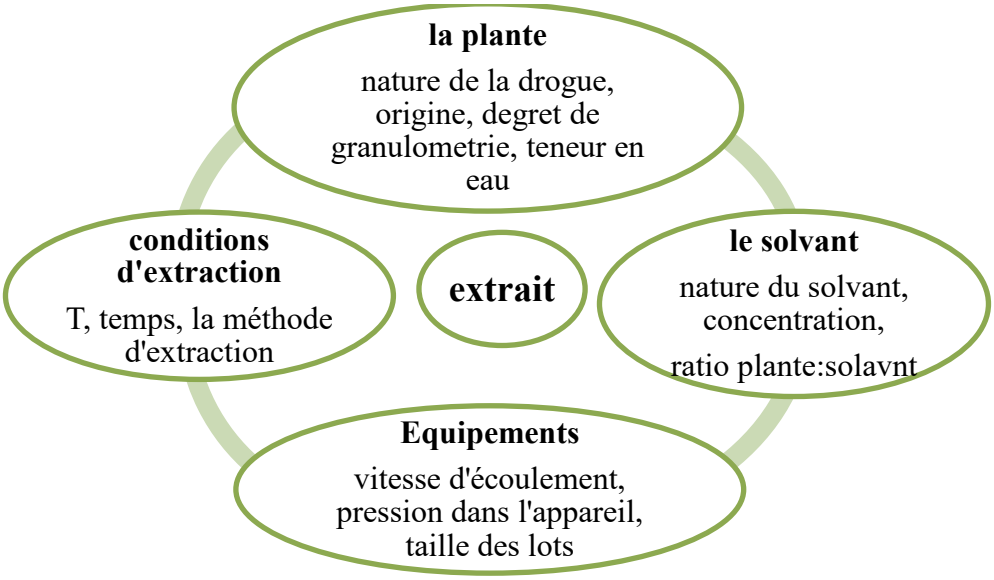


Figure 38: Facteurs influençant l'extraction[128]

3.1.2 Extraction préliminaire :

Pour une drogue dont la composition reste mal connue, La première étape de l'isolement et l'identification des métabolites secondaires est une extraction initiale (extraction préliminaire) Une extraction initiale est toujours effectuée, généralement sur une petite quantité de matériel végétal, afin d'obtenir un extrait primaire.

Cet extrait a pour but la connaissance de métabolites bioactifs potentiels présent dans notre drogue, et pour cela on reproduit les méthodes d'extraction employées traditionnellement.

Une fois les métabolites spécifiques ont été identifiés dans l'extrait initial on passe à une extraction à plus grande échelle[128].

3.1.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par la méthodologie des plans d'expériences

L'objectif de cette partie est d'optimiser une méthode d'extraction des composés phénoliques présents dans *l'Atriplex halimus* en identifiant et en optimisant les facteurs significatifs permettant d'obtenir une teneur maximale en polyphénols.

La méthodologie des plans d'expériences permet d'obtenir le maximum d'informations avec un nombre réduit d'expérience tout en rassurant l'expérimentateur sur la sureté et la précision des résultats attendus. Cette approche offre une grande précision prédictive, une efficacité économique supérieure et une meilleure rigueur scientifique par rapport aux méthodes univariées traditionnelles[129,130].

A. Choix du plan d'expérience :

Le plan d'expérience choisi était un plan de **criblage définitif** (*définitive screening designs, DSDs*) proposé par Jones B et Nachtsheim 2011.

Ces plans de criblages sont aptes à déterminer de manière concluante lesquels de plusieurs facteurs affectent la réponse, et détecter les interactions actives entre deux facteurs et à identifier les effets non linéaires (quadratiques) [131].

Pour cela nous avons sélectionné quatre facteurs soupçonnés influents sur le rendement de l'extraction et la teneur des polyphénols : **la granulométrie, le pourcentage du solvant d'extraction, la température et le pH.**

Chaque facteur possédait deux niveaux, un niveau inférieur symbolisé par -1 et un niveau supérieur symbolisé par +1, en ajoutant des essais centrés (0) afin d'identifier les causes des

effets non linéaires (tableau 9) et les réponses choisis étaient le rendement de l'extraction et la teneur en composés phénoliques.

La génération de la matrice d'expérience ainsi que l'analyse statistique des résultats ont été réalisées à l'aide du logiciel **JMP pro 18.0.0**.

Tableau 8: Niveaux des facteurs sélectionnés pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols

Facteur / Niveaux	Granulométrie	Ethanol	T	pH
-1	180-250µm	60%	20°C	4
0	250-355 µm	70%	35°C	5,5
+1	355-500 µm	80%	50°C	7

B. Méthode d'extraction :

L'extraction des polyphénols a été faite selon la procédure d'extraction conventionnelle solide liquide sous agitation continue : la **macération**

Le solvant organique polaire sélectionné pour l'extraction est **l'éthanol**, ce choix est justifié par :

- L'éthanol est un solvant non polluant (solvant vert)[132] ;
- Il est peu toxique (en comparaison avec son homologue, le méthanol, un solvant polaire très utilisés pour l'extraction des composés phénoliques dont la toxicité est plus élevée)[133,134] ;
- Il est peu couteux.

Les étapes de l'extraction :

Les étapes d'extraction sont comme suit :

1- la drogue séchée est broyée jusqu'a atteindre la granulométrie optimale.

2- Macérer 5g de poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L. dans un erlenmeyer, avec 50ml du solvant, ajuster le pH et la T d'extraction et procéder à l'extraction pendant 3 heures sous agitation continue.

3- Filtrer l'extrait sous vide pour obtenir un extrait brut.

4- Evaporer le solvant dans un évaporateur rotatif à T = 40C° sous P réduite jusqu'à obtenir un extrait sec.

5- Peser l'extrait sec.

C. Détermination des réponses choisies

Deux réponses ont été choisies pour optimiser les conditions d'extraction :

- Le rendement
- Teneur en polyphénols

C.1.Le rendement

Principe : C'est le poids indicatif des constituants chimiques extractibles du produit brut sous différents solvants. Après l'extraction quel que soit le solvant utilisé, le rendement de l'extraction est déterminé à partir de la formule suivante[128] :

La formule pour le calculer **:** $\boldsymbol{R}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{P'}}{\boldsymbol{P}}\boldsymbol{x100}$

R : Rendement d'extraction exprimé en pourcentage

P : Poids (g) d'extraits secs obtenus après évaporation du solvant

P_0 : Poids (g) de la prise d'essai de la matière végétale

C.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode spectrale selon le protocole de Boizot et Charpentier, 2006 avec quelques modifications[135].

Principe : Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Le réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange **d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène**. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre **725 et 750 nm** est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présente dans les extraits végétaux [135].

Mise en œuvre pratique :

- Réaliser une gamme d'étalonnage avec l'acide gallique (AG) avec des concentrations comprises entre 0,5 à 0,03125mg/ml ;
- Préparer une dilution pour chaque extrait éthanolique (de l'ordre de 1/25) afin que l'absorbance soit comprise entre 0.5 à 1 ;
- Prélever 200 µl de chaque extrait et ajouter 1ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué au 1/10 ème ;
- Incuber 5 min à T ambiante, puis introduire dans chaque tube 800µl de Na_2CO_3 à 7,5% ;
- Agiter et incuber durant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière ;

- Mesurer l'absorbance à **765nm** contre un blanc.

Expression des résultats :

- Calculer les teneurs en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec l'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g).

3.1.4. Optimisation des conditions d'extraction des alcaloïdes par la méthodologie des plans d'expériences

L'objectif de cette partie est d'optimiser une méthode d'extraction des alcaloïdes présents dans les feuilles *d'Atriplex halimus* L. en identifiant les facteurs significatifs permettant d'obtenir une teneur maximale en alcaloïdes.

A. Extraction des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés à caractère basique, au niveau de la plante, ils sont sous forme de combinaisons salines et leur extraction est basée sur la différence de solubilité selon le pH du milieu[136].

Les alcaloïdes en milieu basique, sont sous formes de bases et sont solubles dans les solvants organiques apolaires ; les alcaloïdes en milieu acide, sont sous formes de sels et sont solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires[136,137].

Nous avons choisi la méthode de l'extraction par l'eau acide et ce choix est justifié comme suit :

- La plupart des alcaloïdes présents dans les plantes brutes sont sous forme de sels d'acides organiques[136] ;
- Méthode simple et présente une sélective accrue envers les alcaloïdes sous forme de sels [128,136];
- L'eau acide est un solvant non toxique pour le manipulateur et l'environnement ;
- Cette méthode se prête à une optimisation selon les paramètres opératoires sélectionnés (température, temps, concentration d'acide)[138] ;
- permet d'obtenir des rendements élevés tout en limitant la co-extraction d'impuretés (lipides, pigments)[137].

B. Choix du plan d'expérience :

Le plan d'expérience choisi était un plan de **criblage définitif** (*définitive screening designs, DSDs*) proposé par Jones B et Nachtsheim 2011.

Pour cela nous avons sélectionné trois facteurs soupçonnés influents sur l'extraction des alcaloïdes : **la nature de l'acide, la température et le temps de l'extraction.**

Les deux facteurs continus (T et temps d'extraction) possédait deux niveaux, un niveau inférieur symbolisé par -1 et un niveau supérieur symbolisé par +1, en ajoutant des essais centrés (0) afin d'identifier les causes des effets non linéaires (tableau 10).

Le facteur restant (nature de l'acide) était un facteur catégoriel représenté par HCl et H_3PO_4.

La réponse choisie était le rendement de l'extraction.

La génération de la matrice d'expérience ainsi que l'analyse statistique des résultats ont été réalisées à l'aide du logiciel **JMP pro 18.0.0**

Tableau 9: Niveaux des facteurs sélectionnés pour l'optimisation de l'extraction des alcaloides

Facteur / Niveaux	T	Temps d'extraction
-1	20°C	4 h
0	40°C	3 h
+1	60°C	2 h

C. Méthode d'extraction par l'eau acide :

Principe : le matériel végétal est immergé dans une solution aqueuse acide. Dans ce cas, les alcaloïdes forment des sels et sont solubles en milieu aqueux. L'alcaloïdes peuvent être récupérés sous forme de bases libres en basifiant l'extrait aqueux, suivie d'une extraction par un solvant organique apolaire[136,139].

Mise en œuvre pratique :

Les étapes d'extraction selon le protocole de Yubin et al. (2014) sont comme suit [137]:

- la drogue végétale séchée est broyée jusqu'à atteindre la granulométrie optimale (inferieur à 180µm).
- Faire macérer, sous agitation continue, 5g de poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L. dans un erlenmeyer, avec 50ml d'une solution aqueuse acide à 5%, ajuster la T et le temps d'extraction selon la matrice générer par le logiciel ;

- Réaliser une filtration sous vide pour obtenir un extrait brut ;
- Procéder à une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décantation, en alcalinisant le milieu avec l'hydroxyde de sodium (NaOH à 200g/l) et ajouter 50ml de dichlorométhane, la vérification du pH a été réalisée par papier pH ;
- Récupérer la phase organique apolaire et procéder à un lavage à l'eau distillé en 3 fois, pour éliminer les impuretés restantes ;
- Sécher la phase organique apolaire par l'ajout du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) ;
- Evaporer le solvant dans un évaporateur rotatif à T = 40C° sous P réduite ;
- Peser l'extrait sec.

Les difficultés rencontrées :

- Lors de l'extraction liquide-liquide, la formation d'une émulsion entre le dichlorométhane et l'eau acide, suite à l'agitation, a rendu la décantation difficile et lente (24h) pour palier à ce problème, on a procédé à une agitation douce.

D. Détermination de la réponse choisie :

Le rendement : C'est le poids indicatif des constituants chimiques extractibles du produit brut sous différents solvants, le rendement de l'extraction est déterminé à partir de la formule suivante : $\mathbf{R\ (\%) = 100.P/P_0}$

R : Rendement d'extraction exprimé en pourcentage ; **P** : Poids (g) d'extraits secs obtenus après évaporation du solvant ; $\mathbf{P_0}$: Poids (g) de la prise d'essai de la matière végétale

3.1.5. Extraction exhaustive en série :

L'extraction exhaustive en série est une méthode d'extraction visant à obtenir plusieurs extraits bruts à partir du même matériel végétal. Elle est généralement employée pour extraire différents groupes phytochimiques solubles dans des solvants de polarités différentes[128,136].

En fonction de la substance phytochimique recherchée, l'extraction peut commencer par l'utilisation progressive de solvants non polaires jusqu'à des solvants très polaires. Parfois, ce processus peut être couplé à une méthode d'extraction par solvant à partir de laquelle le résidu restant de drogue végétale est pesé et utilisé pour l'extraction successive suivante à l'aide d'un autre solvant, comme indiqué dans la figure 39, ce type d'extraction permet d'améliorer l'isolement des composés à partir des drogues végétales dont la composition est complexe[140].

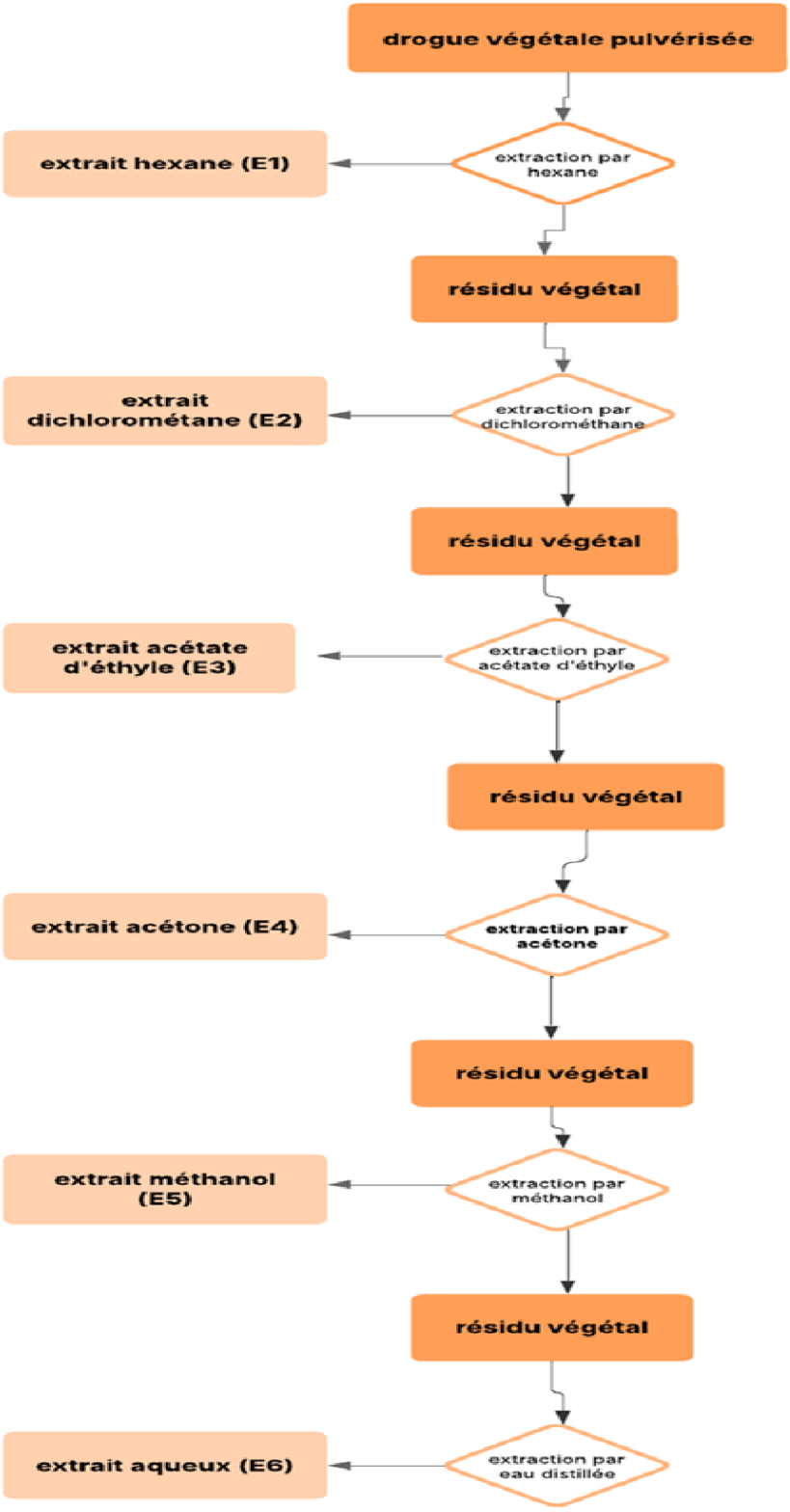


Figure 39: Schéma des étapes d'extraction exhaustive en série (schéma original réalisé par l'auteur)

A. Extraction exhaustive en série à chaud (Soxhlet)

A.1. Principe :

L'extraction par Soxhlet est une technique d'extraction solide-liquide qui permet de séparer les composés solubles d'une matrice solide en utilisant un solvant et un processus de distillation continue. Le principe de fonctionnement repose sur le fait que le solvant est chauffé, vaporisé, puis condensé et coulé sur l'échantillon, le solubilisant et le transférant dans un ballon[141].

A.2. Mise en œuvre pratique :

Extraction par l'hexane :

- Placer 25g de poudre végétale de granulométrie inferieure à 180µm dans une cartouche en cellulose ;
- Faire le montage du Soxhlet en ajoutant 250ml d'hexane dans le ballon ;
- Lancer l'extraction en comptant 4h à partir de l'ébullition du solvant ;
- Récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par le dichlorométhane :

- Récupérer la poudre végétale de la cartouche et la sécher durant 24 ;
- Peser la poudre végétale récupérée et la placer dans une cartouche en cellulose ;
- Faire le montage du Soxhlet en ajoutant 250ml de dichlorométhane dans le ballon ;
- Lancer l'extraction en comptant 4h à partir de l'ébullition du solvant ;
- Récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par acétate d'éthyle :

- Récupérer la poudre végétale de la cartouche et la sécher durant 24h ;
- Peser la poudre végétale récupérée et la placer dans une cartouche en cellulose ;
- Faire le montage du Soxhlet en ajoutant 250ml d'acétate d'éthyle dans le ballon ;
- Lancer l'extraction en comptant 4hà partir de l'ébullition du solvant ;
- Récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;

- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par acétone :

- Récupérer la poudre végétale de la cartouche et la sécher durant 24h ;
- Peser la poudre végétale récupérée et la placer dans une cartouche en cellulose ;
- Faire le montage du Soxhlet en ajoutant 250ml d'acétone dans le ballon ;
- Lancer l'extraction en comptant 4h à partir de l'ébullition du solvant ;
- Récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par méthanol :

- Récupérer la poudre végétale de la cartouche et la sécher durant 24h ;
- Peser la poudre végétale récupérée et la placer dans une cartouche en cellulose ;
- Faire le montage du Soxhlet en ajoutant 250ml de méthanol dans le ballon ;
- Lancer l'extraction en comptant 4h à partir de l'ébullition du solvant ;
- Récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par eau distillée :

- Récupérer la poudre végétale de la cartouche et la sécher durant 24h
- Peser la poudre végétale récupérée et la placer dans un flacon en verre teinté
- Faire le montage du Soxhlet en ajoutant 250ml d'eau distillée dans le ballon ;
- Récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans une étuve réglée à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

B. Extraction exhaustive en série à froid (macération)

B.1. Principe :

La macération consiste à immerger la matière végétale (grossières ou en poudre) dans un récipient bouché contenant un solvant et à laisser macérer à température ambiante pendant une période plus ou moins longues (de quelques heures à quelques jours) sous agitation continue. Le traitement a pour but de ramollir et de briser les parois cellulaires de la plante afin de libérer les substances phytochimiques solubles, le mélange est par la suite filtré[142,143].

B.2. Mise en œuvre pratique :

Extraction par l'hexane :

- Placer 25g de poudre végétale de granulométrie inferieure à 180µm dans un flacon en verre teinté de 500ml ;
- Ajouter 250ml d'hexane et faire macérer à T ambiante sous agitation continue durant 24h ;
- Filtrer sous vide et récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par le dichlorométhane :

- Récupérer la poudre végétale, la sécher durant 24h et la peser ;
- Placer la poudre végétale dans un flacon en verre teinté de 500ml ;
- Ajouter 250ml de dichlorométhane et faire macérer à T ambiante sous agitation continue durant 24h ;
- Filtrer sous vide et récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par acétate d'éthyle :

- Récupérer la poudre végétale, la sécher durant 24h et la peser ;
- Placer la poudre végétale dans un flacon en verre teinté de 500ml ;
- Ajouter 250ml d'acétate d'éthyle et faire macérer à T ambiante sous agitation continue durant 24h ;
- Filtrer sous vide et récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par acétone :

- Récupérer la poudre végétale, la sécher durant 24h et la peser ;
- Placer la poudre végétale dans un flacon en verre teinté de 500ml ;
- Ajouter 250ml d'acétone et faire macérer à T ambiante sous agitation continue durant 24h ;
- Filtrer sous vide et récupérer l'extrait brut ;

- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par méthanol :

- Récupérer la poudre végétale, la sécher durant 24h et la peser ;
- Placer la poudre végétale dans un flacon en verre teinté de 500ml ;
- Ajouter 250ml de méthanol et faire macérer à T ambiante sous agitation continue durant 24h ;
- Filtrer sous vide et récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

Extraction par eau distillée :

- Récupérer la poudre végétale, la sécher durant 24h et la peser ;
- Placer la poudre végétale dans un flacon en verre teinté de 500ml ;
- Ajouter 250ml d'eau distillée et faire macérer à T ambiante sous agitation continue durant 24h ;
- Filtrer sous vide et récupérer l'extrait brut ;
- Réaliser l'évaporation dans un rotavapor réglé à 40°C et sous pression réduite ;
- Peser le résidu sec obtenu et le conserver dans un flacon en verre teinté.

A la fin de cette expérimentation, nous avons obtenu au total 14 extraits, 2 extraits optimisés et 12 extraits avec des solvants de polarités croissantes selon un procédé d'extraction à chaud et à froid.

3.2. Analyse qualitative :

3.2.1. Le screening phytochimique :

Le screening phytochimique ou criblage phytochimique consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés sur des réactions de coloration, de précipitation ou de fluorescence plus ou moins spécifiques à chaque classe de métabolites secondaires[140].

Il est généralement effectué pour identifier la présence ou l'absence de substances phytochimiques dans l'extrait brut de la plante.

Les résultats sont exprimés en présence (+), absence (−) ou douteux (±)[140], ces réactions sont rarement assez spécifiques ou sensibles pour permettre des conclusions sans équivoques[144].

A. Identification des alcaloïdes :

Principe :

Les alcaloïdes sont des substances azotés qui ont la capacité de former un précipités colorés en milieu aqueux acide avec certains sels de métaux lourds et métalloïdes, telle que le : bismuth, mercure, tungstène...etc. et divers complexes iodés, l'ensemble de ces réactifs est nommé **« les réactifs généraux des alcaloïdes »**[115]**.**

Il faut employer au moins deux ou trois de ces réactions en guise de vérification et de laisser suffisamment de temps aux complexes de se former avant de prononcer un résultat négatif (24h)[144].

Préparation de l'extrait : on fait macérer 1 g de poudre végétale avec 10 ml d'acide chlorhydrique ou d'acide phosphorique à 5 % durant 20mn sous agitation puis on filtre[144].

Test de Mayer : à 2mL de filtrats, on ajoute le réactif de Mayer (iodure mercurique de potassium). La formation d'un précipité de couleur jaune indique la présence d'alcaloïdes[140].

Test de Wagner : à 2 mL du filtrat, on ajoute le réactif de Wagner (iode et iodure de potassium). La formation d'un précipité brun rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes[145].

Test de Dragendroff : à 2mL de filtrats, on ajoute quelques gouttes de réactif de Dragendroff (solution d'iodure de potassium et de bismuth). La formation d'un précipité rouge-orangé indique la présence d'alcaloïdes[140].

B. Identification des composés phénoliques :

B1. Identification des phénols :

Test au chlorure ferrique (test de Brayer) :

Principe : Les polyphénols ont la capacité de former des chélates colorés avec les sels des métaux lourds. Leur présence au sein d'une drogue est mise en évidence par l'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité noir intense après l'ajout de perchlorure de fer à l'extrait de drogue.

Préparation de l'extrait : on mélange 1 g de poudre végétale avec 8 ml d'eau distillée et éthanol 2-6 V/V et chauffer au bain marie (60°C) pendant 5min en agitant de temps en temps ; puis Filtrer.

Test de Beyer : ajouter à1ml de l'extrait trois à quatre gouttes de solution de chlorure ferrique à 10%. La formation d'une couleur bleu-noir ou d'un précipité indique la présence de phénols[141].

B2. Identification des tanins

Réaction de Stiasny :

Principe : En milieu chlorhydrique et en présence de formol à chaud, les tanins condensés se polymérisent et forment des macromolécules qui précipitent.

Test de Stiasny : à 4 ml de l'extrait phénolique, ajouter 2ml de réactif de Stiasny, chauffer la préparation au bain marie pendant 15 min à 90°C, l'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des tanins condensés.

Filtrer la solution après traitement par le réactif de Stiasny, neutraliser le filtrat par l'acétate de sodium et ajouter quelques gouttes de $FeCl_3$ à 10%. L'apparition d'un précipité noir indique la présence de tanins hydrolysables [146].

Réaction de Bate-Smith :

Principe : Le chauffage des tanins condensés en milieu chlorhydrique et en présence d'air, libère des anthocyanidols de couleur rouge.

Test de Bate-Smith : Introduire dans un tube à essai 0.2 gramme de poudre végétale, ajouter 3ml du butanol chlorhydrique et chauffer la préparation au bain marie pendant 15 min à 90°C. L'apparition d'une coloration rouge brun intense indique la présence des tanins condensés[146,147].

B3. Identification des flavonoïdes

Test au NH_4OH : A 2 mL d'extrait éthanolique, ajouter 2 mL de NH_4OH aqueux à 10% puis 1ml HCl dilué à 50%. La formation d'une couleur jaune-orange qui devient incolore à l'ajout de HCl dilué indique la présence de flavonoïdes [147].

Test au chlorure d'aluminium : A 1 ml de l'extrait éthanolique, on ajoute quelques gouttes d'$AlCl_3$ 1%. L'apparition d'une fluorescence jaune indique la présence des flavonoïdes [148].

Test à la cyanidine :

Principe : La réaction à la cyanidine utilise le pouvoir réducteur de métaux (magnésium et zinc) en milieu acide (formation d'hydrogène naissant), pour réduire spécifiquement le noyau flavonoïque. Les hétérosides flavonoïques en solution alcoolique, mis en présence d'hydrogène naissant, donnent des dérivés diversement colorés selon la structure chimique des flavonoïdes[149].

Réaction à la cyanidine : à 1ml de l'extrait éthanolique, ajouter 0.5 ml HCl concentré et une pincée de rognures de magnésium. Afin d'éviter l'élévation de la température au cours de la réaction, il faut impérativement immerger le tube à essai dans un récipient rempli d'eau froide et le maintenir avec une pince en bois[150].

En présence d'hydrogène naissant les flavonoïdes en solution alcoolique donnent des colorations diverses :

- Coloration orangée avec les flavones.
- Coloration rouge cerise avec les flavonols.
- Coloration rouge violacée avec les flavanones.
- Pas de coloration avec les chalcones [146].

B4. Identification des coumarines

Principe : Les coumarines ont un spectre UV caractéristique à 366 nm fortement influencé par la nature et la position des substituants, profondément modifié en milieu alcalin (KOH, NaOCH3) par ouverture du cycle lactonique.

Les coumarines hydroxylées présentent une fluorescence en lumière UV variant du bleu au jaune et au pourpre. Cette fluorescence est exaltée en présence d'ammoniaque[148].

Préparation de l'extrait : 1 gr d'échantillon frais finement broyé a été extrait avec 10 ml de méthanol 80% pendant 10 minutes et filtré.

Test des coumarines : L'extrait méthanolique a été dilué de moitié avec de l'eau distillée et répartis dans deux tubes à essai, le premier a servi de témoin négatif et on ajoute 0,5 ml de NH_4OH à 10% au deuxième tube.

- Chauffer les deux tubes au bain-marie jusqu'à ébullition.
- Après refroidissement et filtration, observer les tubes sous la lampe UV à 360nm[150].

Selon la structure des coumarines, on observe des fluorescences diverses :

- Fluorescence bleue pour les coumarines hydroxylées en C7.
- Fluorescence pourpre pour les coumarines prénylées.
- Fluorescence jaune pour les furocoumarines[146].

B5. Identification des anthocyanosides :

Principe : La caractérisation des anthocyanes est basée sur leur capacité à changer de couleur en fonction du pH du milieu. Cette capacité découle des propriétés physico-chimiques du cation 2-phényl-benzopyrylium lequel :

- En milieu acide fort (pH < 3-4) : La forme cationique (ion oxonium) est colorée en rouge.
- En milieu acide faible (4<pH<6) : formation d'une anhydrobase de couleur bleu/vert [147,150].

Préparation de l'extrait : mélanger 1 gr de poudre végétale avec 5 ml de méthanol à 80%,, laisser macérer pendant 5 min puis filtrer.

Test : Répartir l'extrait en deux tubes à essai.

- Le premier tube sert de témoin négatif
- Le deuxième tube, on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré ou H_2SO_4 concentrée, observer l'apparition d'une coloration rouge intense.
- Ajouter par la suite quelques gouttes de NaOH 200 mg/l, observer le changement de couleur en bleu/vert [146].

B6. Identification des anthracénosides

Principe : Elle est basée sur la coloration rouge intense des dérivés du 1,8-dihydroxy anthraquinones en milieu fortement alcalin ce qui aboutit à la formation d'un dianion rouge (polaire et hydrosoluble) dans la phase aqueuse.

Test de Borntrager (pour les dérivés libres anthraquinonique) : Mesurer1 g d'échantillon en poudre et ajouter 5 ml de chloroforme. Agiter pendant 5 minutes et filtrer. Ajouter au filtrat un volume égal de solution de KOH à 10 %. Une couleur rose, rouge ou violette dans la couche aqueuse après agitation indique la présence d'anthraquinone libre[147].

Test de Borntrager modifié (pour les hétérosides d'anthraquinone) : À 1 g de l'échantillon en poudre, ajouter 5 ml HCl à 10 % et faire bouillir pendant 3 minutes. Filtrer la solution chaude, refroidir et extraire doucement avec 5 ml d'éther. Prélever à la pipette la couche supérieure et agiter doucement dans un tube à essai contenant la moitié de son volume de solution KOH à 10%. Une couleur rose à rouge cerise dans la couche aqueuse alcaline indique la présence d'anthraquinones[147].

C. Identification des composés terpéniques :

C1. Identification des huiles essentielles

L'identification des huiles essentielles dans notre échantillon selon le procédé d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.

Principe :

On porte à ébullition un mélange eau et de drogue végétale, sous l'effet de la chaleur, les cellules du végétal éclatent et libèrent les espèces chimiques volatiles et odorantes qui sont entraînées par la vapeur d'eau.

Le mélange se condense dans le réfrigérant refroidi par l'eau du robinet, sous forme de deux phase non miscible huileuse et aqueuse.

Mise en œuvre pratique :

- Peser 100g de feuilles *d'A.halimus* et placer dans un ballon rempli d'eau distillée ;
- Monter le clevenger et ouvrer l'arrivée d'eau froide ;
- Porter le mélange à 105°C ;
- lancer la distillation pendant 3h de temps ;
- observer la présence d'une couche huileuse non miscible à l'eau et mesurer son volume.

C2. Identification des iridoïdes :

Préparation de l'extrait : préparer un décocté de 1 gr de drogue végétale dans 5 ml d'eau distillée et récupéré le filtrat.

Test des iridoïdes : Ajouter 1 ml d'HCl concentré et porter le mélange au bain marie à 60°C pendant 5 minutes. La formation d'un précipité noir indique la présence des iridoïdes [151].

C3. Tests pour l'identification des saponosides :

Indice de mousse

Principe : L'indice de mousse est le degré de dilution d'un décocté aqueux de la plante qui dans des conditions bien déterminées, donne une mousse persistante de 1 cm, après un délai de 15 min de repos[115].

Préparation de l'extrait : introduisez 1g de poudre de la drogue avec 100ml d'eau distillée et portez le mélange à ébullition modérée pendant 30 min, filtrez et ajustez le filtrat à 100ml après refroidissement.

Protocol opératoire :

- dans une série de 10 tubes à essai de 16 cm de haut et de 16 mm de diamètre, introduisez successivement 1, 2, 3..., 10 ml de décocté et ajustez le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée.
- Agitez chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 s à raison de deux agitations par seconde, après l'avoir bouché avec le pouce puis laissez reposer pendant 15 min.
- Mesurez la hauteur de la mousse[148].

Calcul de l'indice de mousse : Le calcul s'effectue de la façon suivante :

- Si un des tubes a une hauteur de mousse résiduelle de 1 cm, On appelle « Indice de mousse : IM », l'inverse de la dilution correspondant à ce tube.

$$\mathbf{C = \frac{P}{V} x\ D} \quad \rightarrow \quad \mathbf{IM = \frac{1}{C}}$$

C : concentration de tube ayant une mousse de 1 cm ; P : poids de la poudre ; V : volume d'eau pour préparer la solution ; D : dilution additionnelle de tube ayant une mousse de 1 cm

- Si la hauteur de la mousse est inférieure à 1cm dans tous les tubes, IM est < 100
- Si la hauteur de la mousse est supérieure à 1cm dans tous les tubes, IM est >1000[152].

C4. Identification des phytostérols et triterpènes :

Test de Libermann-Burchard

Principe : En présence de l'anhydride acétique et de l'acide sulfurique concentré, un extrait organique éthéré ou chloroformique contenant des stéroïdes donne une coloration rouge brunâtre qui vire au vert olive[128].

Préparation de l'extrait : Faire macérer 4 gr de la poudre végétale dans 20 ml d'éther pendant 24h, filtrer et évaporer pour obtenir un résidu sec.

Réaction de Libermann-Burchard : Ajouter successivement 1 ml de dichlorométhane, 1 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré et observer l'apparition immédiate d'une coloration bleue verte après l'ajout d'H_2SO_4, indique la présence des phytostérols[153].

Test de Salkowski

Principe : L'addition de l'acide sulfurique à l'extrait chloroformique donne un anneau de coloration rouge brunâtre à l'interface des deux couches.

Préparation de l'extrait : Faire macérer 0.5 gr de la poudre végétale dans 3 ml de dichlorométhane pendant quelques minutes en agitant de temps en temps, récupérer le filtrat dans un tube à essai.

Réaction de Salkowski : Ajouter prudemment 2 ml d'acide sulfurique concentré, observer la formation d'un anneau rouge-brunâtre, à la zone de contact des deux liquides, il y a et la couche surnageante devenant verte révèle la présence des triterpènes[148].

C3. Identification des hétérosides cardiotoniques

Préparation de l'extrait : selon la méthode de la défécation plombique

► Introduire 1gr de poudre végétale pulvérisé dans 20ml d'alcool à 50% et porter à ébullition pendant 2 minutes.

- ► Ajouter 5 gouttes d'acétate basique de plomb à l'aide d'une pipette puis filtrer.
- ► Déposer le filtrat dans une ampoule à décantation, ajouter 15 ml de dichlorométhane et agiter.
- ► Récupérer la phase organique sur sulfate de sodium anhydre (séchage), puis filtrer
- ► Evaporer la phase organique au bain sable [146].

Test de Keller-Killani : Traiter 5 ml d'extrait avec 2 ml d'acide acétique glacial contenant une goutte de solution de chlorure ferrique. Ajouter au mélange 1 ml d'acide sulfurique concentré. Un anneau brun à l'interface indique un désoxysucre caractéristique des cardénolides. Un anneau violet peut apparaître sous l'anneau brun, tandis que dans la couche d'acide acétique, un anneau verdâtre peut se former peu à peu dans la couche inferieure[154].

Tests avec les dérivés nitrés en milieu alcalin :

Principe : ces réactions caractérisent les chainons lactoniques pentagonal mono insaturé présent au niveau des génines type cardénolides, ce sont des réactions spécifiques.

Les dérivés aromatiques nitrés en milieu alcalin causent l'ouverture du cycle lactonique et la formation des dérivés fortement colorés.

Réaction de Baljet : sur le résidu d'évaporation, on ajoute quelques gouttes de soude à 10 % et quelques gouttes d'acide picrique à 1%. On observe l'apparition d'une coloration rouge orangé stable.

Réaction de Kedde : sur le résidu d'évaporation, on ajoute quelques gouttes de soude à 10 % + et quelques gouttes d'acide 3-5 dinitrobenzoique à 1 %, on observe l'apparition d'une coloration rouge pourpre stable[115].

D. Identification de mucilages

Principe : ce test est basé sur la propriété des mucilages à gonfler au contact de l'eau en prenant une consistance visqueuse parfois collante semblable à la gélatine.

Préparation de l'extrait : préparer un décocté de 1 gr de drogue végétale dans 10 ml d'eau distillée, filtrer dans un tube à essai.

Test des mucilages : Ajouter 5 ml d'alcool absolu au décocté de la plante et observer la formation d'un précipité floconneux après agitation[155].

.

3.2.2. Analyse qualitative des extraits par chromatographie :

L'analyse qualitative des différents extraits a été réalisée par une méthode chromatographique simple (HPLC-DAD) et couplées à la spectroscopie de masse (UHPLC/SM et CPG/SM).

La CPG/SM a été utilisée pour l'identification des extraits hexanes et HPLC et UHPLC/SM pour les autres extraits.

L'identification par spectrométrie de masse a été réalisée au niveau du département de chimie ; laboratoire de chimie organique ; de l'université d'Aveiro. Portugal

A. Condition de l'analyse GC-MS

L'analyse GC-MS des extraits a été réalisée à l'aide d'un appareil Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, équipé d'un auto-échantillonneur AOC-20i, d'une source d'ionisation à impact électronique réglée à 0,1 kV et d'un filtre de masse quadripolaire haute performance.

La séparation des composés a été réalisée dans une colonne capillaire DB-5J&W (30,0 m de longueur x 0,25 mm de diamètre x 0,25 µm d'épaisseur du film).

L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 1,18 mL/min. La température d'injection GC a été fixée à 320 °C et un rapport de division de 50 a été appliqué avec un volume d'injection de 1 µ L. La température de la source d'ionisation a été fixée à 250 °C et la température de l'interface à 300 °C.

Dans une balance analytique, 20 mg d'extraits ont été pesés et dilués dans du dichlorométhane avec 1mL de n-tétracosane comme étalon interne. Les extraits ont été dissous dans un bain à ultrasons.

Pour la silylation, 250µL de pyridine, 250µL de N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA) et 50µL de chlorure de triméthylsilyle (TMSCl) ont été ajoutés. Le mélange a été maintenu dans un bain-marie à 70 °C pendant 45 min, les groupes hydroxyles et carboxyles présents dans chaque métabolite secondaire étant convertis respectivement en éthers et esters de triméthylsilyle (TMS). Ils ont ensuite été injectés deux fois dans l'appareil GC-MS.

La quantité de réactifs de silylation, la température du bain-marie et le temps de réaction ont été préalablement optimisés pour assurer une conversion totale de tous les composés avec des groupes hydroxyles en dérivés TMS correspondants.

Le début d'acquisition des spectres a été fixé à 6,5 min avec une température initiale de 90 °C, maintenue pendant 4,00 min suivie d'une élévation de 16 °C/min jusqu'à 180 °C puis une

élévation de 6 °C/min jusqu'à 250 °C et enfin une élévation de 3 °C/min jusqu'à 300 °C maintenue pendant 5,00 min.

B. Condition de l'analyse par UHPLC-MS

Les extraits de plantes ont été analysés dans un équipement UHPLC Ultimate 3000 (Dionex Co., San Jose, CA, USA), couplé à un détecteur UV (Dionex Co., San Jose, CA, USA) et à un spectromètre de masse Thermo LTQ XL (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI).

L'élution a été effectuée avec un mélange de 0,1 % (v/v) d'acide formique dans l'eau (Phase A) et d'acétonitrile (Phase B). Une colonne C18 Hypersil Gold (Thermo Scientific, USA) de longueur de 100 mm ; de diamètre interne de 2,1 mm et de diamètre des particules de 1,9 µm a été utilisée.

Le débit a été maintenu à 0,2 mL/min. Le volume d'injection était de 10 µL. Les données spectrales UV-Vis ont été enregistrées dans la plage de 200 à 500 nm tandis que les profils de chromatogramme ont été enregistrés à 280 nm.

L'instrument fonctionnait en mode ions négatifs et avec une tension d'aiguille ESI réglée à 5,00 kV et une température capillaire ESI de 275 °C.

Le balayage complet couvrait la plage de masse de m/z 100 à 2000 uma . De l'azote (pureté > 99 %) a été utilisé avec une pression de gaz réglée à 520 kPa (75 psi). Des expériences CID–MS/MS et MS ^{2} ont été acquises simultanément pour les ions précurseurs en utilisant l'hélium comme gaz de collision avec une énergie de collision de 25 à 35 unités arbitraires.

Les composés phénoliques ont été identifiés en comparant leur temps de rétention et leurs données MS avec ceux des étalons purs injectés dans les mêmes conditions ou en comparant les spectres MS et MS/MS avec ceux rapportés dans la littérature.

C. Condition de l'analyse par HPLC-DAD :

L'analyse des extraits a été réalisée à l'aide d'un appareil Shimadzu LC-20A. Cette analyse a pour objectif d'identifier les alcaloïdes au niveau des extraits optimisés selon la méthode de Zhou et al. 2020 [156] avec quelques modifications.

Les conditions chromatographiques étaient les suivantes :

- Phase mobile : Méthanol-1% Acide acétique (51:49)
- Volume d'injection : 10µL ;
- Débit : 0,5 ml/min ;

- Colonne : C18 (100mm x 4,6mm) 5µm ;
- Longueur de l'onde de détection : 345nm pour la berbérine, 350 nm pour la palmatine et 340 nm pour la pipérine.
- L'élution a été effectuée en mode isocratique.

La préparation des solutions témoins et échantillons :

- Berbérine à 0,1mg/mL dans le méthanol grade HPLC
- Palmatine à 0,1mg/mL dans le méthanol grade HPLC
- Pipérine à 0,1mg/mL dans le méthanol grade HPLC
- Extrait hydro-éthanolique optimisé à 1mg/mL dans l'eau ultra-pure
- Extrait alcaloïde optimisé à 0,06 mg/mL dans l'eau ultra-pure

3.3. Analyse quantitative :

Une fois que les substances phyto-chimiques sont identifiées dans notre plante, l'étape suivante consiste à en déterminer leurs quantités.

Intérêt : L'analyse quantitative est très importante dans le cadre de l'évaluation du potentiel médicinal des plantes et la détermination de leur utilisation dans la vie quotidienne, elle permet de fournir des explications sur les potentiels pharmacologiques et toxicologiques des plantes et dans le cadre du control cela permet la normalisation des médicaments à base de ces plantes[140].

3.3.1. Détermination de la teneur en eau :

La détermination de la teneur en eau ou de la perte à la dessiccation a été effectuée par méthode gravimétrique. Ce dosage permet de quantifier l'eau présente dans la drogue.

Principe : La teneur en eau est évaluée par la perte de masse de l'échantillon après séchage à une température contrôlée (100-105 °C) jusqu'à masse constante. Cette perte correspond essentiellement à l'eau contenue dans la drogue végétale[147].

Mise en œuvre pratique :

- ► Tarer un cristallisoir en porcelaine de 7 cm de 1.5 cm de hauteur préalablement séché à l'étuve et refroidi dans un dessiccateur.
- ► Placer environ 1 gr de drogue grossièrement broyée dans ce cristallisoir et déterminer le poids exact (M) de cette prise d'essai au mg près.
- ► Porter à l'étuve à 100-105°C pendant 16h.

- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser.
- Répéter l'opération 3 fois.
- Rapporter la perte de poids à 100gr de drogue
- Le calcul du résultat selon équation :

$$\mathbf{MS\%} = \left(\frac{\mathbf{P3 - P1}}{\mathbf{P2 - P1}}\right)\mathbf{x\ 100}$$

P1 : poids en gr du creuset vide ; P2 : poids en gr du creuset et de l'échantillon ; P3 : poids en gr du creuset et de l'échantillon après dessiccation[157].

- Une humidité résiduelle élevée favorise le développement de microorganismes (bactéries, levures, moisissures), l'altération des principes actifs et la mauvaise conservation de la drogue végétale[147].

3.3.2. Détermination de la teneur en cendres totales

La détermination des cendres totales permet d'évaluer la teneur en matières minérales (inorganiques) d'une drogue végétale, par calcination[153].

Les drogues végétales, riches en minéraux (cristaux d'oxalate de Ca^{++}), présentent un taux de cendres naturellement élevé[115].

Principe : L'échantillon est incinéré à haute température (environ 600 °C) jusqu'à disparition complète de la matière organique. Le résidu minéral (cendres) est pesé et exprimé en pourcentage du poids initial.

Mise en œuvre pratique :

- Tarer un creuset en porcelaine de 7 cm de 1.5 cm de hauteur préalablement séché à l'étuve et refroidi dans un dessiccateur.
- Placer environ 1gr de drogue grossièrement broyée dans ce creuset et déterminer le poids exact (M) de cette prise d'essai au mg près.
- Porter le creuset au four à moufle et maintenir la température pendant 1 heure à 600° +/- 25°C.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser.
- Le calcul du résultat selon équation suivante[153]:

$$\mathbf{CT\%} = \left(\frac{\mathbf{P2 - P1}}{\mathbf{M}}\right)\mathbf{x\ 100}$$

P1 : poids en gr du creuset vide ; P2 : poids en gr du creuset après calcination de la plante ; M : Prise d'essai exact en gr de la plante avant calcination

3.3.3. Dosage des composés phénoliques totaux (méthode spectrale de Folin-Ciocalteu):

Principe :

En présence du réactif constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) réduit, lors de l'oxydation des phénols en milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm, proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux[135].

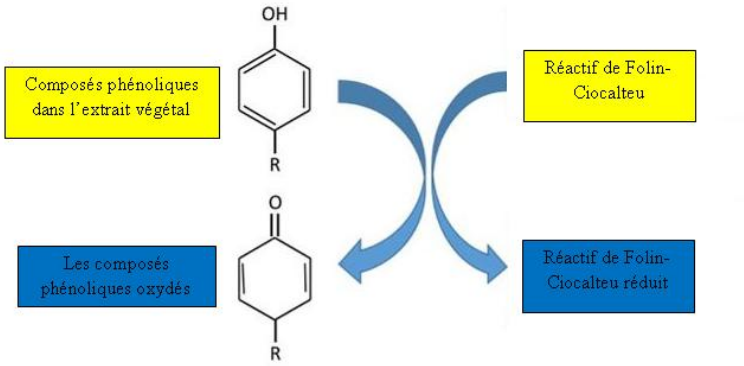


Figure 40: Oxydation des composés phénoliques en présence du réactif de Folin-Ciocalteu

Mise en œuvre pratique :

Selon le protocole de Benhamou et al. (2009)[9], avec quelques modifications:

- Préparer une dilution pour chaque extrait, afin que l'absorbance soit comprise entre 0.5 à 1.
- Prélever 200 µl de chaque extrait et ajouter 1ml de Réactif Folin-Ciocalteu dilué au 1/10ème dans l'eau distillée.
- Incuber 5 min à T ambiante, puis introduire dans chaque tube 800µl de Na_2CO_3 à 7,5%.
- Agiter et incuber durant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Mesurer l'absorbance à **765 nm** contre un blanc.
- Les échantillons ont été préparés en triplicata (n = 3).

Expression des résultats :

Les concentrations en composés phénoliques sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique (AG) par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g ES).

3.3.4. Dosage des flavonoïdes (méthode spectrale au trichlorure d'aluminium) :

Principe :

Le dosage des flavonoïdes est basé sur leurs capacités à former des chélates colorées, Flavonoïdes-Aluminium, entre le groupement carbonyle en position 4 et le groupement hydroxyle en 3 ou en 5 (flavones et flavonols), ou avec les groupements ortho-dihydroxyles du cycle A ou B des flavonoïdes. L'ajout d'$AlCl_3$ provoque un déplacement bathochromique vers la longueur d'onde visible, ce qui est indiqué par la coloration jaune intense de la solution, l'ajout d'acétate de sodium maintient la longueur d'onde dans le domaine du visible[158].

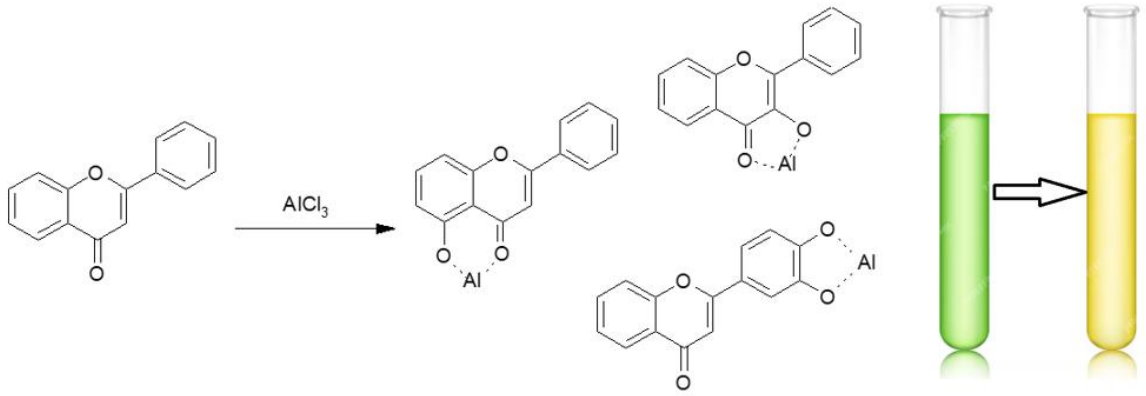


Figure 41: Formation du complexe Flavonoïde-Aluminium lors du dosage des flavonoïdes [105].

Mise en œuvre pratique :

La teneur en flavonoïdes des extraits végétaux est déterminée selon le protocole d'*Akpo et al.* (2023), avec quelques modifications [159,160].

- Prélever 500 µL de l'extrait dont la concentration est de 1 mg/mL.
- Ajouter 500 µL de solution d'$AlCl_3$ à 2% (dissous dans le méthanol).
- Incuber les échantillons pendant une heure à température ambiante.
- Mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre Vis à λ de 415 nm.
- Les échantillons ont été préparés en triplicata et la valeur moyenne de l'absorbance est déterminée (n = 3).
- La quercétine (Q) a été utilisée comme témoin et fut préparée à des concentrations comprises entre 10 à 200µg/mL dans du méthanol.

Expression des résultats :

Les teneurs en flavonoïdes ont été calculées à partir de la droite de régression du standard (quercétine) et ont été exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg d'EQ/g ES) [159].

3.3.5. Dosage des tanins condensés (méthode spectrale à la vanilline chlorhydrique) :

Principe :

La vanilline réagit avec les monomères catéchiques et les unités terminales des proanthocyanidines pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm. Elle ne réagit pas avec les unités intermédiaires des proanthocyanidines car son site de fixation (le C6) est pris dans la liaison monomère–monomère C4-C6 des tanins condensés.

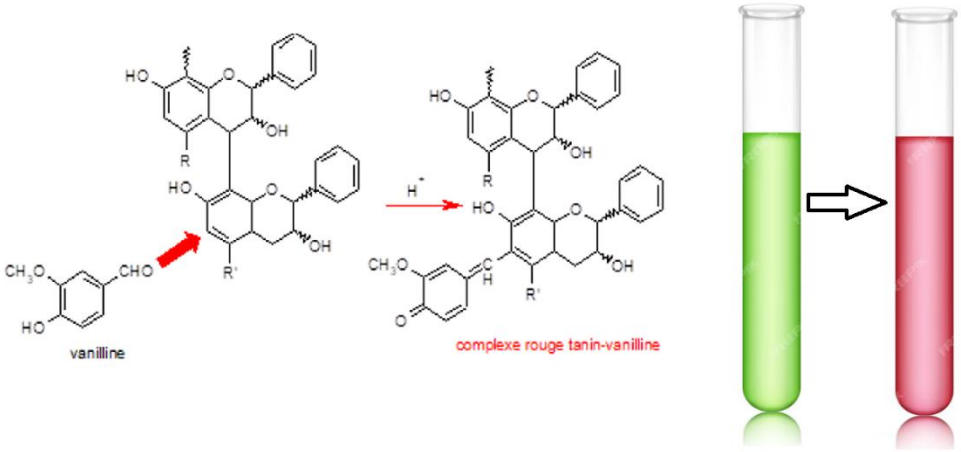


Figure 42: Formation du complexe tanin condensé-vanilline lors du dosage

Mise en œuvre pratique :

La teneur en tanins condensés des extraits est déterminée à l'aide d'une méthode spectrophotométrique, selon le protocole Broadhurst et Jones. (1978) [161,162], avec quelques modifications

- Prélever 250 µL de chaque extrait et ajouter 1,5 mL de la solution de vanilline à 4% préparée dans du méthanol.
- Agiter vigoureusement dans un vortex.
- Ajouter 1,5 mL d'acide chlorhydrique concentré et agiter vigoureusement.
- Incuber le mélange durant 20min à T ambiante et à l'abri de la lumière.
- Lire les absorbances à 500 nm contre un blanc.

- Les échantillons ont été préparés en triplicata et la valeur moyenne de l'absorbance est déterminée (n = 3).
- La catéchine (CAT) a été utilisée comme témoin et fut préparée à des concentrations comprises entre 10 à 200µg /mL dans du méthanol.

Expression des résultats :

Les teneurs des tanins condensés ont été calculées à partir de la droite de régression du standard (catéchine) et ont été exprimées en mg d'équivalent de catéchine (CAT) par gramme d'extrait sec (mg ECAT/g ES) [159].

3.3.6. Dosage de la berbérine :

Principe :

Le dosage de la berbérine est basé sur une méthode spectrophotométrique. La méthode implique la mesure de l'absorbance UV au maximum d'absorption 348 nm pour la quantification de la berbérine dans les préparations à base de plantes.

L'interférence avec d'autres composés naturels a été éliminée en effectuant un procédé d'extraction adapté pour en isoler la fraction alcaloïde[163].

Mise en œuvre pratique :

La teneur en berbérine réalisée sur l'extrait alcaloïdiques est déterminée à l'aide d'une méthode spectrophotométrique, selon le protocole de Joshi et al. (2013), avec quelques modifications [163] :

- Préparer la solution mère de berbérine à une concentration de 1mg/mL dans l'éthanol.
- Préparer les solutions étalons de berbérine ayant des concentrations allant de 2 à 20µg/mL de berbérine.
- L'absorbance de chaque solution standard a été mesurée à 348 nm, en utilisant l'éthanol comme blanc.
- Déterminer l'absorbance de l'extrait optimisé alcaloïdique dilué dans l'éthanol à 348nm.
- Toutes les mesures ont été réalisées en triplicata (n = 3).

Expression des résultats :

- La teneur en berbérine de l'extrait alcaloïdique est calculée à partir de la droite de régression du standard (berbérine) et exprimées en µg de berbérine par g d'extrait sec, selon l'expression (µg Ber/g ES)

II.4. Evaluation *in silico:*

4.1. Reverse screening:

Principe : Le reverse screening ou criblage inversé, appliqué à une molécule naturelle, consiste généralement en une série d'étapes visant à identifier les cibles biologiques potentielles de cette molécule, souvent en partant de la molécule pour remonter vers ses effets ou interactions, il se base sur deux principes intégrant l'intelligence artificielle (IA):

- Criblage par similarité de forme (Shape Screening) : La molécule naturelle est comparée à une base de données de ligands connus par leur forme tridimensionnelle et les protéines associées aux ligands similaires sont considérées comme cibles potentielles.
- Criblage par modèle pharmacophore (Pharmacophore Screening) : Un modèle pharmacophore (ensemble des caractéristiques chimiques nécessaires à l'interaction avec une cible) est généré pour la molécule, ce modèle est utilisé pour rechercher des protéines dont les sites actifs correspondent à ce pharmacophore[164].

4.2. Les serveurs :

L'utilisation de plusieurs serveurs a pour objectif de prédire les cibles et les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques.

Les serveurs utilisés pour la prédiction des cibles sont :

- SwissTargetPrediction : www.SwissTargetPrediction.ch

Le Swiss trarget prediction est basé sur la méthode du shape screening (similarité de structure 2D et 3D)

- Netinfer : http://lmmd.ecust.edu.cn/netinfer/

Le Netinfer est basé sur la méthode de Substructure-Drug-Target Network-Based Inference (similarité de sous-structures chimique, méthode adaptée aux molécules naturelles).

- Polypharmacology browser 2 : https://ppb2.gdb.tools/

Le Polypharmacology browser 2 est basé sur la méthode pharmacophore, shape screening et IA (recherche de similarité structurale et de groupement pharmacophore).

Les serveurs utilisés pour la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques sont :

- SwissADME : http://www.swissadme.ch/
- pkCSM : http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/
- Pro-Tox : https://tox.charite.de/protox3/index.php?site=home

Mise en œuvre pratique :

- Choisir les molécules à évaluer
- téléchargement de la molécule sur **Pubchem** (pour récupérer la structure 3D et le SMILES de la molécule) ou dessiner la structure dans le serveur
- Soumission de la molécule (structure chimique) sous format SMILES, SDF, ou 3D sur la plateforme en ligne.
- Prédiction des cibles : les cibles protéiques associées aux molécules similaires sont récupérées.
- Calcul des probabilités ou des scores : Pour chaque cible, un classement est attribué indiquant la vraisemblance que la molécule testée interagisse avec cette cible, basée sur la similarité et les données statistiques.

Les mêmes étapes sont suivies pour la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques.

II.5. Evaluation biologique (*in vitro*) et pharmacologique (*in vivo*) :

5.1. Evaluation biologique (*in vitro*)

5.1.1 Détermination de l'activité anti-oxydante :

De nombreuses méthodologies sont disponibles pour évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant des substances naturelles. Nous avons utilisé deux tests pour évaluer cette activité :

- ► Activité antiradicalaire au DPPH
- ► FRAP essaye.

A. Activité antiradicalaire au DPPH

Principe :

La méthode au DPPH est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH˙ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) initialement violette foncée en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), ce qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH.H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune pâle[165].

Cette réduction, qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH˙, est suivie par spectrométrie UV-visible à 517 nm, par rapport à un standard (l'acide ascorbique) l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants

présents dans le milieu à donner des protons. Elle est indépendante de toutes activités enzymatiques[165,166].

Expression des résultats :

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\mathbf{I\% = [A\ contrôle - Abs\ Échantillon/Abs\ Contrôle)] \times 100}$$

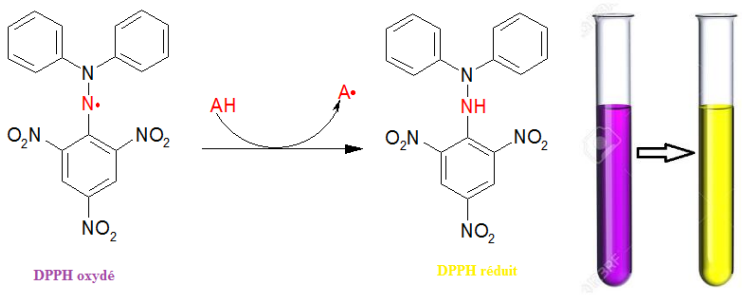


Figure 43: Schéma explicatif de la réduction du DPPH en présence d'un anti-oxydant[167].

Avantages de la méthode :

1. Cette méthode fait réagir l'extrait avec le DPPH dans le mélange méthanol/eau, ce qui facilite l'extraction des composés antioxydants de l'échantillon.
2. Le DPPH peut réagir avec l'ensemble de l'échantillon et que le temps nécessaire à la méthode permet au DPPH de réagir lentement, même avec des antioxydants faibles.
3. La méthode DPPH peut être utilisée dans des solvants aqueux et des solvants organiques non polaires et donc peut être utilisée pour examiner les antioxydants hydrophiles et lipophiles.
4. Une méthode valide et précise car le composé radicalaire est stable et n'a pas besoin d'être généré.
5. Elle prend en compte non seulement la concentration de l'antioxydant mais aussi le temps de réaction de piégeage pour atteindre le plateau.
6. L'efficacité antioxydante est mesurée à T ambiante, de sorte que le risque de dégradation thermique des molécules testées est réduit[165].

Inconvénients :

1. Le DPPH ne peut être soluble que dans un solvant organique (éthanol ou méthanol).
2. Cette méthode est limitée par le fait que le radical DPPH peut interagir avec d'autres radicaux (ROO^-, OH^-…).

3. La DPPH est sensible à certaines bases de Lewis et à certains types de solvants, ainsi qu'à l'oxygène.
4. L'absorbance du DPPH diminue à la lumière[165].
5. La détermination absolue de la concentration inhibitrice à cinquante pour cent (IC_{50}) dépends de la concentration initiale du DPPH utilisée, alors qu'une valeur relative serait plus cohérente et pourrait être comparée aux résultats d'autres études[168].
6. La non-standardisation de la méthode au DPPH pour l'évaluation de l'activité antioxydante a généré des données divergentes dans plusieurs études, même pour des échantillons provenant de la même matrice ou source (la concentration du DPPH, le temps de réaction, le pH, le solvant et présence d'ions métalliques ou de sels inorganiques) [168].

Mise en œuvre pratique :

Selon le protocole de Sanchez-Moreno, avec quelques modifications[169] :

- Un volume de 2mL d'extraits végétaux de différentes concentrations (de 100 à 1000µg/mL) est ajouté à 2mL d'une solution de DPPH· à 0,1mM préparée dans l'éthanol.
- Un blanc est préparé en remplaçant l'extrait par de l'éthanol.
- Le mélange est agité vigoureusement dans un vortex et laissé au repos pendant 120 minutes à l'obscurité.
- L'absorbance de la solution résultante est mesurée à 515 nm.
- L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif[78,170].
- Tous les tests sont effectués en triplicata.

Expression des résultats :

- Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\textbf{\% d'inhibition du DPPH} = [(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

A_1 : Absorbance du blanc (méthanol DPPH).A_2 : Absorbance de l'échantillon.

- On détermine graphiquement la concentration inhibitrice à 50% « **IC_{50}** » appelée aussi « **EC_{50}** » (Efficient concentration 50); elle correspond à la concentration de l'échantillon testé (en µg/ mL) nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH et les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique (antioxydants standards)[78].

B. FRAP méthode (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Principe :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}), cela produit une solution de couleur bleue selon la réaction suivante[171,172] :

$$[Fe(CN)_6]^{3-} + RH \rightarrow [Fe(CN)_6]^{4-} + R^{\bullet}$$

RH : Substance active antioxydante. $R^{\bullet}$: Substance active oxydée.

Mise en œuvre pratique :

Selon le protocole de *Malino* et *Dieng* avec quelques modifications [173,174]:

- Prélever 1mL de chaque extrait à différentes concentrations et ajouter 2,5 mL de tampon phosphate (0,2 M à pH = 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium à 1%.
- Incuber le mélange pendant 20 minutes à 50°C, puis ajouter 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10% pour arrêter la réaction.
- Le mélange est centrifugé à 3000 tours pendant 10 minutes à T ambiante.
- Récupérer 2,5 mL du surnageant et ajouter 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de chlorure de fer à 0,1% (préparer extemporanément).
- L'absorbance est mesurée à 700nm contre un blanc préparé avec de l'eau distillée.
- L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.
- Tous les essais sont effectués en triplicata.

Expression des résultats

- Les résultats du test FRAP seront exprimés en mg équivalents d'acide ascorbique par g d'extrait sec (mg EAA/g),
- selon la courbe d'étalonnage établie avec des concentrations connues d'acide ascorbique (annexe VII) [78].

5.1.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire :

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'évaluation *in vitro* des propriétés anti-inflammatoires d'un extrait de plantes. Dans notre travail, les activités anti-inflammatoires ont été évaluées par deux méthodes :

- l'inhibition de la dénaturation des protéines.
- l'activité stabilisatrice de la membrane.

A. Inhibition de la dénaturation de l'albumine :

Principe : L'activité anti-inflammatoire des extraits de plante est évaluée par leur capacité à prévenir la dénaturation des protéines. L'extrait de plante testé est mélangé avec une solution d'albumine (albumine sérique bovine, albumine de l'œuf) puis soumis à un stress thermique (chauffage) ou chimique qui induit la dénaturation de l'albumine.

La prévention de la dénaturation est mesurée par la modification de l'absorbance (spectrophotométrie) due à la formation ou non d'agrégats protéiques dénaturés.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation est calculé en comparant l'absorbance de l'échantillon testé à celle du contrôle sans extrait.

Mise en œuvre pratique :

Cette méthode a été adaptée selon le protocole d'Adekola et al. (2022)[175], avec certaines modifications.

Préparation de l'albumine d'œuf :

- Casser un œuf frais et séparer le blanc.
- Diluer le blanc d'œuf dans de l'eau distillée q.s.p. 200 mL.
- Chauffer à 70°C sous agitation douce jusqu'à obtention d'un aspect laiteux.
- Filtrer la solution à l'aide de papier filtre Whatman n°1.
- Conserver au frais jusqu'à utilisation.

Déroulement de l'essai :

- Préparer des dilutions de l'extrait dans de l'eau distillée (0,1 à 5 mg/mL).
- Introduire 2 mL de l'échantillon avec 200 µL d'albumine d'œuf et 2,8 mL de tampon PBS-A (pH 6,4).
- Incuber le mélange à 37 ± 2°C pendant 15 minutes puis chauffer les tubes à 70°C pendant 5 minutes.
- Laisser refroidir à T ambiante.

- Lire les absorbances à 540 nm.
- L'eau distillée a servi de blanc et le diclofénac (10 à 100 µg/mL) comme témoin positif.
- Tous les tests sont effectués en triplicata.

Expression des résultats :

Le calcul de pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique est déterminé comme suit :

% Inhibition = (Abs témoin négatif - Abs échantillon / Abs témoin négatif) × 100

On détermine la concentration efficace (IC_{50}) des extraits qui correspond à la concentration nécessaire qui inhibe 50% de la dénaturation de l'albumine.

B. Activité stabilisatrice de la membrane érythrocytaire

Principe : Le test se base sur l'effet des extraits de plantes sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par un stress thermique.

Mise en œuvre pratique :

Nous avons suivi le protocole de Gupta et al. (2021)[176], avec quelques modifications.

- **Préparation de la solution tampon PBS pH = 6,4 :**

Peser 1,79 g de phosphate disodique (Na_2HPO_4) et 1,36 g de phosphate monopotassique (KH_2PO_4) avec 7,02 g de chlorure de sodium (NaCl), dissoudre se mélange dans une quantité suffisante d'eau distillée, afin d'obtenir un volume final de 1000 ml de solution, vérifier le pH

- **Préparation de la suspension des globules rouges humaines :**

Le sang a été recueilli auprès d'un volontaire humain en bonne santé qui n'avait pas pris d'anti-inflammatoires pendant deux semaines avant le prélèvement.
Les échantillons de sang frais (environ 6 ml) ont été récupérés dans des tubes EDTA et centrifugés à 3000 tpm, pendant 10 min.

Le surnageant est éliminé et le culot globulaire a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à 3000 tpm, pendant 5 min. Le volume des globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 3% de globules rouges humains, avec la solution tampon (PBS).

- **Préparation des extraits végétaux et du contrôle positif :**

Les extraits aqueux et hydro-éhanoliques d'*Atriplex halimus* L. ont été préparés à des concentrations comprises entre 0,1 à 5 mg /ml dans de l'eau distillée

Des dilutions de diclofénac sodique ont été préparées à des concentrations comprises entre 10 à 100 µg/ml dans du PBS.

- **Déroulement de l'essai :**

- Mélanger 1ml de la suspension érythrocytaire à 3 % avec 1ml d'extraits.
- Le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1ml de suspension érythrocytaire et 1ml de PBS.
- Le contrôle positif a été préparé en mélangeant 1ml de suspension érythrocytaire et 1ml de différentes dilutions du diclofénac sodique.
- Les tubes ont été soumis à une T de 54° C pendant 30 minutes afin d'induire l'hémolyse.
- Après incubation, les tubes ont été centrifugés à 3000 tpm pendant 10 minutes,
- Le surnagent a été prélevé et mesuré à 540 nm.

Expression des résultats :

% Inhibition = (Abs témoin négatif - Abs échantillon / Abs témoin négatif) × 100

On détermine la concentration efficace (IC_{50}) des extraits qui correspond à la concentration nécessaire qui inhibe 50% de l'hémolyse.

5.2 Evaluation pharmacologique (*in vivo*)

Afin de compléter l'étude ethnobotanique et phytochimique, une évaluation pharmacologique *in vivo* a été réalisée sur des rats Wistar femelles. Cette expérimentation visait à déterminer les effets biologiques des extraits *d'Atriplex halimus* L. ainsi que leur potentiel protecteur sur diverses fonctions physiologiques, notamment endocriniennes et métaboliques, en présence d'un perturbateur endocrinien appartenant à la famille des phtalates.

5.2.1. Les extraits testés :

Deux extraits ont été testés lors de l'expérimentation animale :

- un extrait aqueux des feuilles *d'Atriplex halimus* L. obtenu par macération dans de l'eau distillée (selon l'usage traditionnel).
- Un extrait hydro-éthanolique optimisé des feuilles *d'Atriplex halimus L.* (sélectionné à partir de nos travaux, un extrait riche en composés phénoliques)

Ces deux extraits ont été testés à la dose de **200 mg/kg/jour**, Cette dose a été choisie selon de nombreuses études antérieures réalisées sur le genre *Atriplex* [4,84,177].

5.2.2. Le xénobiotique testé :

A. Choix du xénobiotique :

Le toxique employé durant notre expérimentation appartient à la famille des **phtalates.**

Les phtalates ou les esters de l'acide phtalique, constituent un vaste groupe de substances chimiques perturbatrices du système endocrinien[104].

Ils sont utilisés dans le processus de fabrication du plastique à base de chlorure de polyvinyle (PVC) afin d'augmenter sa durabilité et sa flexibilité, ils sont présents dans les matériaux de construction, les jouets pour enfants, l'industrie alimentaire, les matériaux d'emballage(les emballages alimentaires), les dispositifs médicaux (les poches de sang) et dans les produits cosmétiques comme vecteur de parfum...[178,179]

La bioaccumulation des phtalates peut se produire également dans les plantes médicinales et alimentaires en raison de la culture de ces plantes dans des zones contaminées par les phtalates (eaux et sols)[180].

Les phtalates sont des substances lipophiles (voir tableau 10) et ils ne se lient pas de manière covalente aux plastiques, les rendant facilement relargables des matériaux les contenants. Par conséquent, l'homme peut être exposé en interagissant avec les matériaux contenant ces phtalates[181], les rendant omniprésents dans son environnement[178,180].

Aussi reconnu pour provoquer des perturbations endocriniennes dans le système reproducteur, en particulier dans les testicules et les ovaires, les phtalates ne sont qu'une des nombreuses classes de produits chimiques dont les propriétés œstrogéniques ou anti-androgéniques ont été signalées[180].

Il a été démontré qu'ils ont également des effets néfastes sur la thyroïde, le foie, les reins, le cœur, le cerveau et d'autres fonctions organiques, entraînant une série de maladies, notamment l'obésité, des troubles neurologiques et un dysfonctionnement immunitaire[182].

Les phtalates sont classés en trois types : les phtalates de faible poids moléculaire, les phtalates de transition et les phtalates de haut poids moléculaire. Les phtalates de faible poids moléculaire ont été définis comme ceux produits à partir d'alcools à chaîne carbonée droite $\leq$ C3 ; les phtalates de poids moléculaire élevé ont été définis comme ceux produits à partir d'alcools ayant des chaînes carbonées droites $\geq$ C7 [178,180].

Et parmi les phtalates de poids moléculaire élevés nous avons utilisé le di-isononyl phtalate (DINP) ou le bis(7-méthyloctyle)benzène-1,2-dicarboxylate (figure 44) [181,183], un phtalate

de plus en plus utilisé pour remplacer les phtalates de bas poids moléculaire considérés comme très toxiques, cela aboutit à une large exposition au DINP dans l'environnement et constitue donc un véritable problème de santé publique [179].

Selon les dernières recherches, il a été démontré que le DINP pénètre dans le corps humain par différentes voies, essentiellement par inhalation, par voie orale, par voie cutanée et par voie intraveineuse [184]et provoque des inflammations cutanées, des maladies thyroïdiennes, voire des lésions cérébrales, hépatiques et rénales [179,184].

L'exposition au DINP a également un effet toxique sur l'appareil reproducteur masculin et féminin, il réduit la concentration de la testostérone dans les testicules [182] et entraîne une atrésie folliculaire dans l'ovaire du poisson zèbre[185].

Le tableau 10 résume quelques propriétés physico-chimiques du xénobiotique utilisé dans l'expérimentation.

Tableau 10: Quelques propriétés physico-chimiques du DINP [183,186].

Formule générale	$C_{26}H_{42}O_4$
Poids moléculaire	418.6 g/mol
Densité	0.972 g/cm^3 à 20 °C
Solubilité dans l'eau	Très faible
Solubilité dans les solvants organiques	Soluble éthanol, méthanol, acétone et benzène
Log P (coefficient de partage octanol/eau)	9,37 (forte lipophilie)

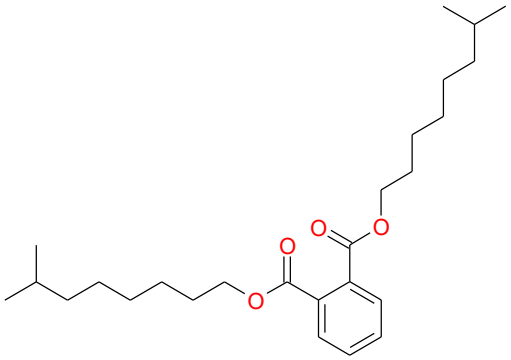


Figure 44: Structure du di-isononyle phtalate

B. Préparation du xénobiotique :

La voie d'administration choisie pour le xénobiotique est la voie intra-péritonéale (IP), c'est une des voies les plus couramment utilisées dans les études sur les rongeurs, elle consiste à injecter la substance dans la cavité péritonéale.

C'est une technique facile à maîtriser, rapide et peu stressante pour les animaux, elle est adaptée aux substance très lipophile avec un taux de distribution plus élevé dans les tissus; cette voie est couramment utilisée dans les études chroniques et sub-chroniques[187].

Deux autres considérations sont à prendre en compte lors de l'administration IP sont la stérilité et l'absence d'irritation (utilisation de seringue jetable à usage unique).

Le véhicule choisi est l'huile de maïs ; tous les contenants en verre ont été stérilisés et conservés à l'abri de la lumière [188].

La dose de DINP sélectionnée a été choisie selon la littérature[189], conformément au rapport d'évaluation des risques de l'Union Européenne[190] et adaptée selon le calcule suivant :

- La NOAEL (niveau sans effets indésirables) du DINP sur le système endocrinien par voie orale = 50mg/kg/jr[191].
- La dose minimale qui induit une perturbation endocrinienne par voie orale du DINP=250mg/kg/jr [191].
- La dose maximale qui induit des perturbations endocriniennes visibles par voie orale du DINP =750mg/kg/jr[191,192].

Selon la formule de determination de la dose IP suivante : **Dose IP = Dose orale x F_o / F_{IP}**

F_o : biodisponibilité orale du DINP 40% (≈0,4) et **F_{IP} :** biodisponibilité IP du DINP 100%(= 1)

La dose qui induit une perturbation endocrinienne du DINP par voie IP est comprise entre 100 et 300mg/kg/jr et la dose IP de DINP sélectionnée était de **200mg/kg/jr.**

5.2.3. Déroulement de l'expérimentation :

- l'expérimentation animale a été menée conformément aux directives du Comité pour l'utilisation des animaux de laboratoire (Déclaration de Bale 2010)[193] et en respectant les règles d'éthiques (Le principe des 3R :Remplacer, réduire et raffiner) enseignées lors de la 5ème édition de la formation en expérimentation animale assurée par l'institut Pasteur d'Alger (Annexe VIII).

- Les rats ont été placés dans des cages en polyéthylènes tapissées de copeaux de bois (5 rats par cage) et le nettoyage des cages et le changement de litière ont été assurés un jour sur deux jusqu'à la fin de l'expérimentation.
- Ils ont été nourris à volonté avec un concentré énergétique équilibré provenant de l'ONAB de Boucheggouf dont la composition est détaillée dans l'Annexe VIII.
-Tous les animaux ont été examinés rigoureusement et pesés avant le début de l'expérimentation.
- Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, aux conditions du laboratoire de pharmacologie, à une température voisine de 22°± 2°C et une photopériodicité naturelle.

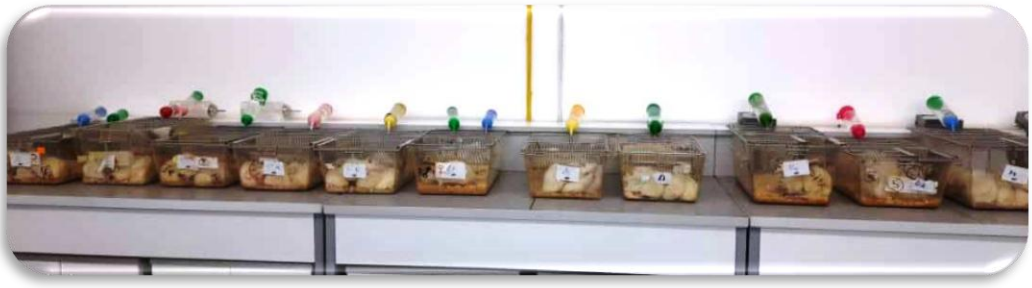


Figure 45:Les différents lots de rats Wistar installés au laboratoire de pharmacologie

5.2.4. Composition des lots et traitements des rats

Les rats femelles ont été répartis au hasard en **6 groupes** expérimentaux de 10 rats chacun, l'expérimentation a duré 28 jours (période sub-chronique), ce qui couvre entre 8 à 10 cycles œstraux chez les rats femelles adultes.

Les 6 groupes ont été traités comme suit :

- **Le groupe contrôle (C)**: est désigné comme le groupe **témoin négatif**, ce groupe est exposé aux mêmes conditions que les autres groupes en recevant uniquement les véhicules [194,195].
- **le groupe extrait aqueux (AE)** : est désigné comme le groupe **témoin positif aqueux**, il a reçu l'extrait aqueux de la plante à la dose de **200 mg/kg/jour** par voie orale [4,84,177,196].
- **le groupe extrait hydro-éthanolique (HE)** : est désigné comme le groupe **témoin positif hydro-éthanolique**, il a reçu l'extrait hydro-éthanolique optimisé de la plante à la dose de **200 mg/kg/jour** par voie orale[177,196].

- **Le groupe toxique phtalate (PT)** : est désigné comme le groupe **toxique**, il a reçu le DINP par voie intra-péritonéale (IP) à une dose de **200 mg/kg/jour** dissous dans **0,5 ml** d'huile de maïs [179,181,188,197].
- **le groupe phtalate et extrait aqueux (PTAE)** : est désigné comme le groupe **améliorant aqueux**, il a reçu le DINP par voie IP et l'AE par voie orale à raison de **200 mg/kg/jour** respectivement.
- **le groupe phtalate et extrait hydro-éthanolique (PTHE)** : est désigné comme le groupe **améliorant hydro-éthanolique,** il a reçu le DINP par voie IP et l'EH par voie orale à raison de **200 mg/kg/jour** respectivement.

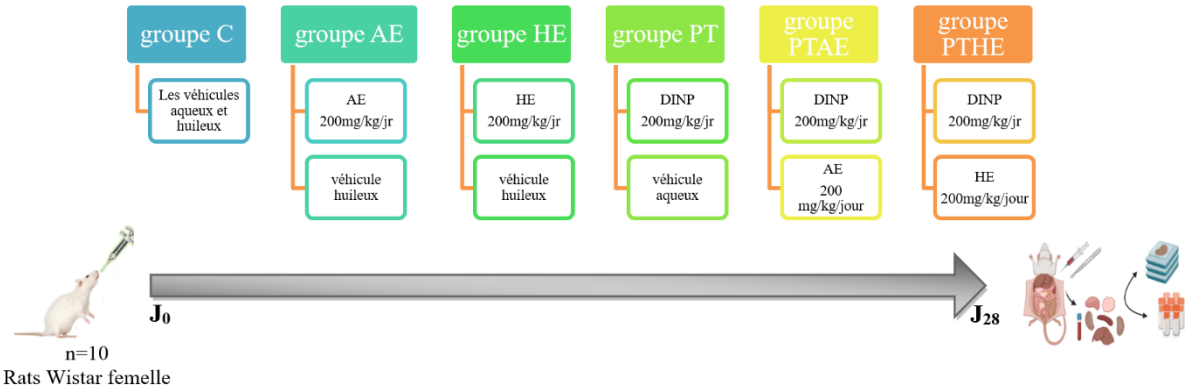


Figure 46: Schéma récapitulatif du déroulement de l'expérimentation *in vivo*

5.2.5. Sacrifice et prélèvement :

Le sacrifice a eu lieu le 28ème jour après le début de l'expérimentation.

Les animaux ont été sacrifiés 24 h après le dernier traitement et une nuit de jeûne, par la méthode de décapitation.

Les échantillons de sang ont été prélevés sur l'artère carotide au niveau du cou dans des tubes héparinés et secs.

Les organes prélevés sont : la thyroïde, le cerveau, le foie, le rein. Les ovaires et l'utérus

5.2.6. Dissection des rats et traitement des échantillons :

Les rats ont été disséqués immédiatement après le sacrifice, selon les étapes suivantes :

- Placer le rat sur le dos.
- A l'aide des aiguilles, accrocher le rat au bac de dissection au niveau des pattes.
- À l'aide d'une pince et de ciseaux, réaliser une petite ouverture (boutonnière) au-dessus de l'appareil uro-génital, en ne pinçant que la peau pour éviter d'abîmer les organes internes

- ► Dans l'ouverture, introduire une sonde cannelée délicatement, jusqu'à la tête. Elle sert de guide aux ciseaux afin de ne pas percer la musculature et les viscères, puis inciser.
- ► Ouvrir de la même manière dans les membres antérieurs et postérieurs.
- ► Séparer à la main la peau de la musculature, la rabattre sur les côtés et l'épingler.
- ► Découper le thorax en faisant attention au cœur et aux poumons ainsi qu'aux vaisseaux sanguins.
- ► Terminer d'ouvrir le thorax et récupérer les organes d'intérêt.

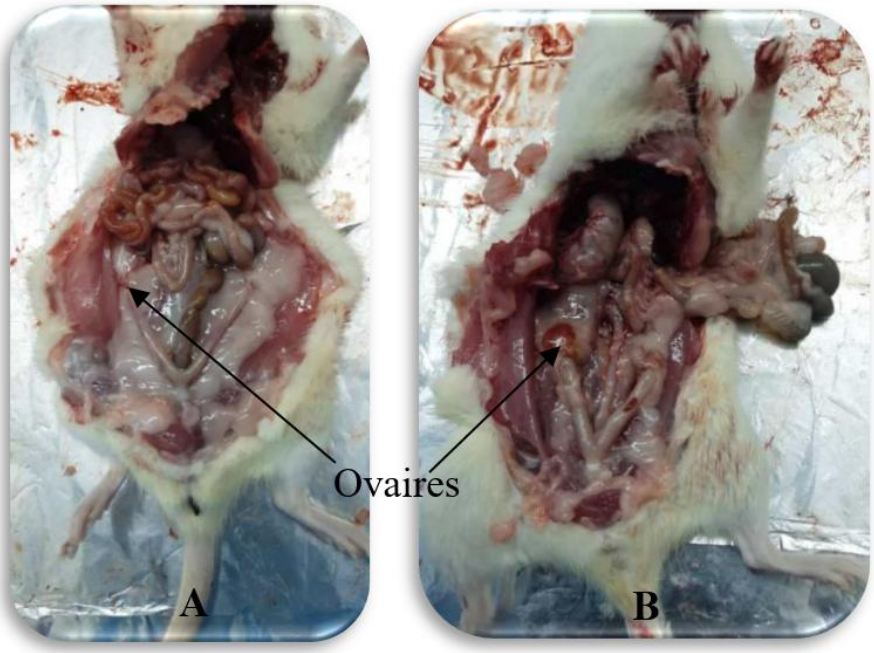


Figure 47:Aspect macroscopique des ovaires après dissection

A : ovaire normal de rat femelle groupe C ; **B** : hypertrophie ovarienne chez rat femelle groupe PT

Traitement des prélèvements sanguins :

Des échantillons de sang ont été prélevés sur l'artère carotide au niveau du cou dans des tubes héparinés et secs, les tubes secs ont été laissés à coaguler à T ambiante pendant 15 minutes, puis tous les tubes ont été centrifugés à 2500 tours/mn pendant 15 minutes et conservés à -80°C jusqu'à ce qu'ils soient analysés.

Les paramètres déterminés sont :

- ➢ Les paramètres biochimiques : Glycémie ; CRP ; Urée et créatinine ; TGO (ASAT) et TGP (ALAT) ; Triglycérides et cholestérol total ; Albuminémie et protéines totales ; bilirubine totale, phosphatases alcalines et γ-glutamyl transférase.
- ➢ Les hormones : T3L, T4L, cortisol, TSH, œstrogènes et progestérone.

Les paramètres biochimiques et endocriniens ont été déterminés à l'aide d'automates type Mindrey série CL, Biosystems BA analyzers et Beckman coulter selon les protocoles décrits dans l'annexe VI.

Traitement des organes :

Après la dissection des rats, la thyroïde, le foie, les reins, les ovaires, l'utérus et le cerveau ont été excisés chirurgicalement, lavés immédiatement avec une solution saline glacée (NaCl 0,9 %) et pesés[84,198].

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du service d'anatomo-pathologie de EPH El-Hadjar Annaba, à l'aide d'appareil automatisés selon la technique classique de Houlot (Houlot,1984) qui comporte les étapes suivantes (Annexe VIII):

Fixation dans le formol :

Les organes cibles ont été fixés dans du formol à 10 %, un des fixateurs les plus couramment utilisés en histologie.

les organes sont coupés en fine couche à l'aide d'un bistouri et placés dans des cassettes avec un code d'identification pour chaque échantillon.

Déshydratation :

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%).

Inclusion :

Les tissus sont plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur).

Les tissus étant imbibés de paraffine, vient alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe.

Coupes et coloration

Les blocs d'inclusions sont collés sur un porte-échantillon, la surface à coller est ramollie au moyen d'une lame métallique chauffée modérément à la flamme, puis posée sur le porte-objet sur lequel le bloc adhère très bien après une légère pression.

Les coupes sériées sont réalisées à l'aide d'un microtome (l'épaisseur est de 4 à 7microns). Ces coupes sont étalées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine qui nécessite la présence de l'alcool acide, eau ammoniacale et solution d'Eosine.

5.2.7. Analyses statistiques :

Les logiciels R (version 4.3.2, R Core Team, 2021) et R Studio (version 2023.12.1+402) ont été utilisés pour l'analyse statistique. Toutes les données sont exprimées en moyenne plus ou moins l'écart-type (Moy ± SEM).

Une comparaison entre les différents groupes a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur suivi du test post-hoc de Tukey pour évaluer la signification des différences.

La signification statistique a été fixée à $p < 0,05$ et la signification des résultats est exprimée comme suit :

* : différence significative ($p \leq 0,05$)

** : différence hautement significative ($p \leq 0,01$)

*** : différence très hautement significative ($p \leq 0,001$)

**** : différence très très hautement significative ($p \leq 0,0001$)

RESULTATS

III. Résultats

III.1 Identification botanique

1.1. Herbier de la plante :

L'identification morphologique de l'espèce a été réalisée par le Pr Ounaissia K, Professeur en botanique médicale de la Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar d'Annaba. En comparant notre échantillon avec celui de l'herbier national de l'Institut d'agronomie d'El Harrach- Alger et l'herbier disponible au laboratoire de botanique médicale de faculté de médecine de Annaba.

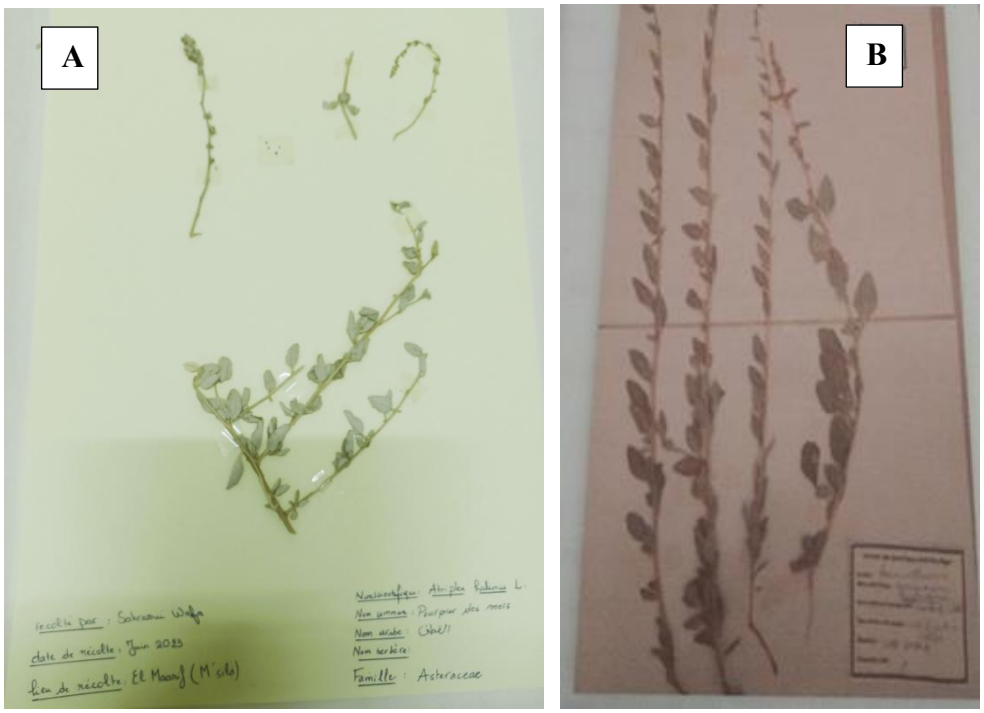


Figure 48: Echantillons d'herbier de l'espèce *Atriplex halimus* L.

A : herbier monté au laboratoire de pharmacognosie 2023 ; B: herbier de référence de INA Octobre 1954

1.2. Etude morphologique et macroscopique de la plante :

L'Atriplex halimus L. est un arbuste très rameux, de 1 à 2m de hauteur selon l'âge de la plante; les tiges sont érigées, dressées ligneuses (fig 49 et 50), blanchâtres, souvent plus ou moins effilés ; Le système racinaire de l'espèce est pivotant, les racines sont de forme cylindrique, de couleur marron.



Figure 49: Port arborescent de *l'Atriplex halimus* L. d'El Maarif (M'sila)

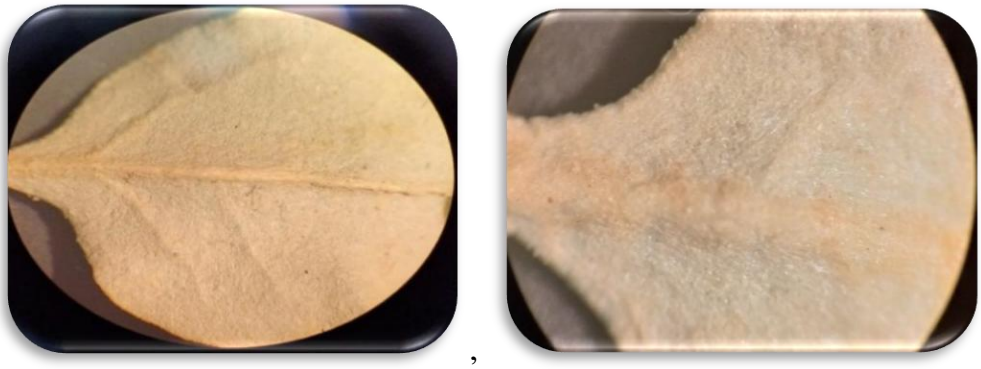


Figure 50: Phyllotaxie des rameaux de feuilles *d'Atriplex halimus* L.

La feuille est simple, ovale et entière, courtement pétiolée (fig 51), à une seule nervure médiane un peu saillante à la face inferieure (fig 52), épaisse glauque, finement velue, dépourvue de stipule et alterne (fig 50) ; les feuilles de couleur vert cendré à gris argenté, plus ou moins charnues, ont une odeur caractéristique d'herbe et un gout salé, la longueur moyenne des feuilles est de 2 cm et la largeur est de 1.1 cm (tab 11).



Figure 51: Face supérieure de la feuille *d'A.halimus* L. observée sous loupe binoculaire Gr10



,

Figure 52: Face inferieure de la feuille *d'A.halimus* L. observée sous loupe binoculaire Gr10x1.6



Figure 53: Feuille d'*Atriplex halimus* L. observée sous la loupe binoculaire au Gr10x4

A : pétiole ; B : poil tecteur

Tableau 11 *:* mesures moyennes des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Moyenne
Longueur (mm)	25	20	21	21	16	21	17	31	17	19	**21**
Largeur (mm)	14	13	12	13	10	12	13	14	10	12	**11**

Les fleurs d'*Atriplex halimus* L. sont monoïques groupées en épis de glomérules denses et courts (fig 54). Les glomérules femelles se trouvent à la base de la tige, les mâles sont au sommet (fig 55).

Les fleurs femelles sont nues, le gynécée est composé d'un ovaire arrondi, enveloppé entre deux bractées surmontées d'un seul style très court avec deux stigmates, le gynécée est bicarpellé, gamocarpellé, les fleurs males sont très petites formée de 5 étamines épitépales (opposée avec les 5 tépales) (fig 56 et 57).



Figure 54: Inflorescences *d'Atriplex halimus* L. observées sur le lieu de récolte.



Figure 55: Inflorescences d'*Atriplex halimus* L. observée sous loupe binoculaire Gr10x4

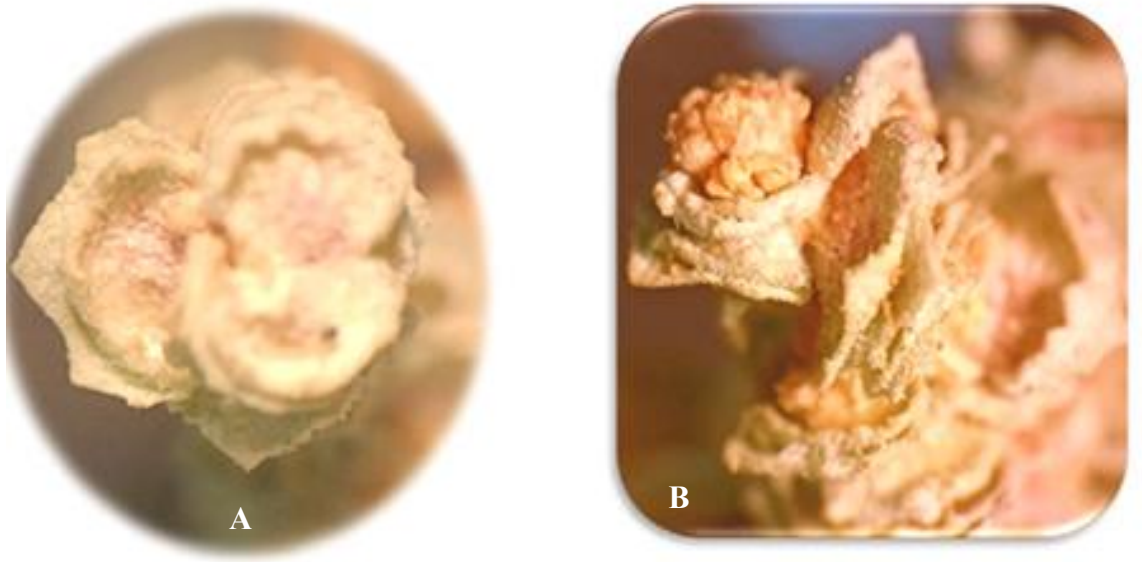


Figure 56: Fleurs femelles et mâles *d'Atriplex halimus* L. observées sous loupe binoculaire Gr 10x4
A : fleur femelle vue de face ; **B** : fleur mâle vue latérale

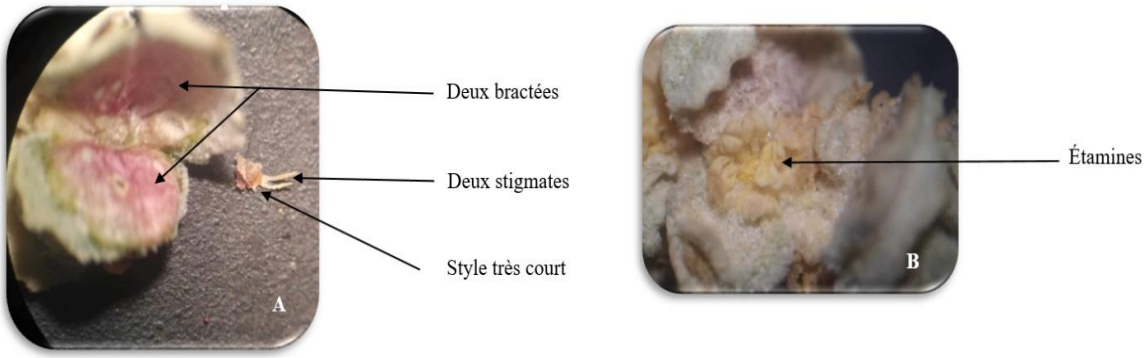


Figure 57: Clés d'identification des fleurs mâles et femelles de l'*Atriplex halimus* L. observée sous loupe binoculaire Gr 10x4
A : fleur femelle ; **B** : fleur mâle.

1.3. Observation microscopique de la coupe transversale de la feuille *d'A.halimus* L :

La coupe transversale de la feuille *d'Atriplex halimus* a permis d'observer sous microscope optique la succession des tissus comme suit :



Figure 58: Coupe transversale de la feuille *d'A.halimus* L. en double coloration observée sous microscope optique Gr 10 x10

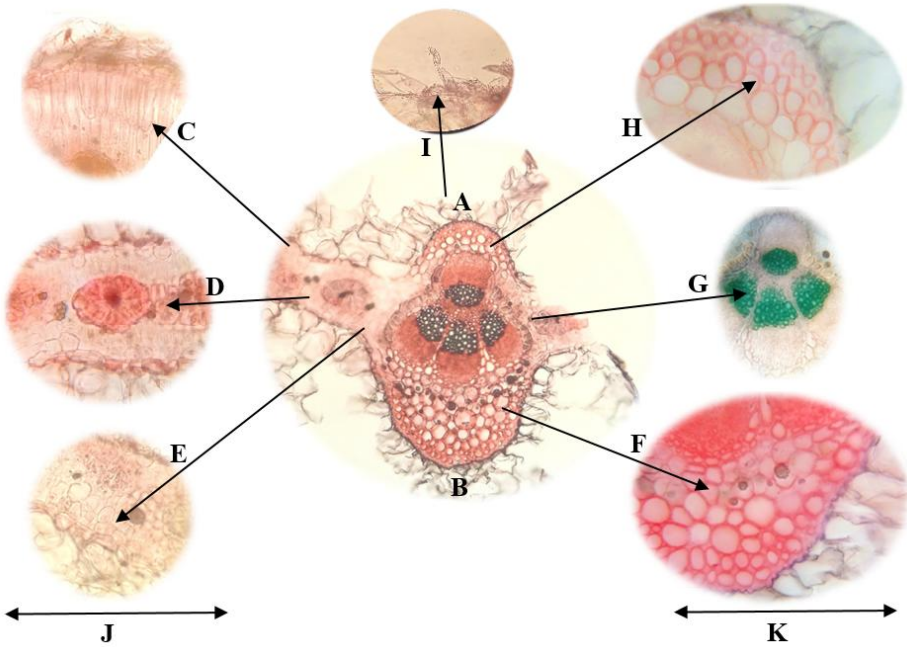


Figure 59: Détail de la coupe transversale de la feuille *d'Atriplex halimus* L. observée sous microscope optique Gr 10x40

A : face supérieure de la feuille ; **B** ; face inferieure de la feuille **; C** : parenchyme palissadique organisé en deux couches ; **D** : gaine vasculaire entourant les faisceaux libéro-ligneux secondaires ; **E** : parenchyme lacuneux lâche ; **F** : parenchyme à méats avec nombreux macle d'oxalate de Calcium ; **G** : faisceaux libéro-ligneux ; **H** : collenchyme rond ; **I** : poils tecteurs **J** : éléments du limbe ; **K** : éléments de la nervure médiane ;

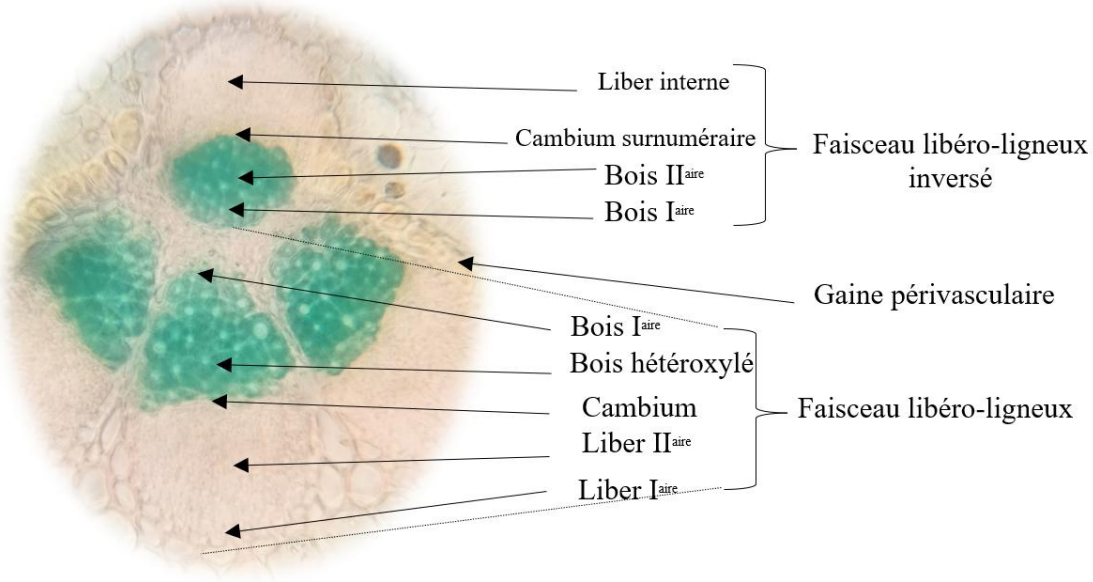


Figure 60: Détail des quatre faisceaux libéro-ligneux de la nervure médiane de la feuille *d'Atriplex halimus* L. observés au microscope optique au Gr10x40

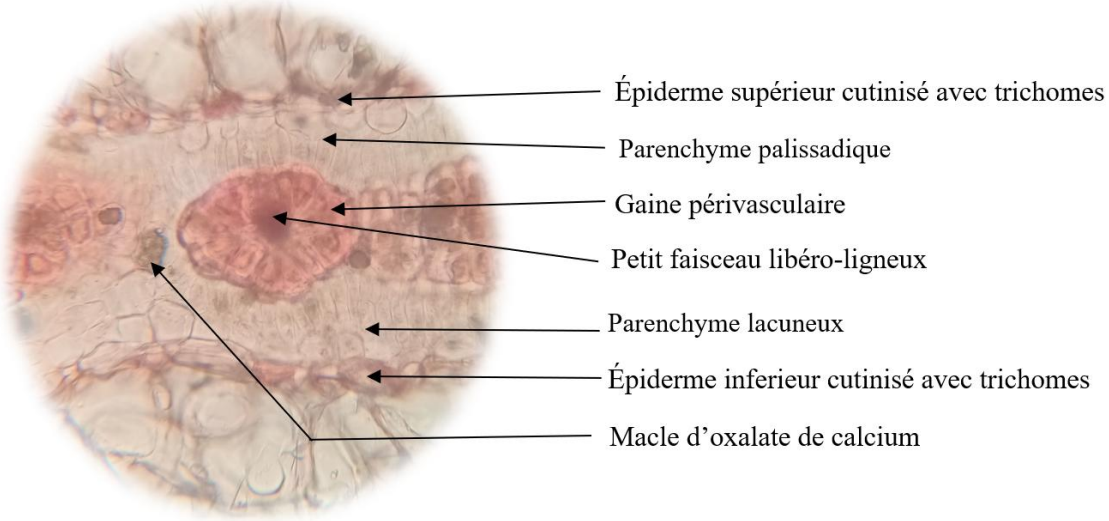


Figure 61: Détail du limbe de la feuille *d'Atriplex halimus* L. avec les petits FLL observée au microscope optique aux Gr10x40

1.4. Observation microscopique de la poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L :

La poudre des feuilles *A.halimus* L. est de couleur vert-argenté, de saveur salée et d'odeur caractéristique, examinée au microscope optique en utilisant l'hydrate de chloral comme réactif éclaircissant, on a observé les éléments suivants

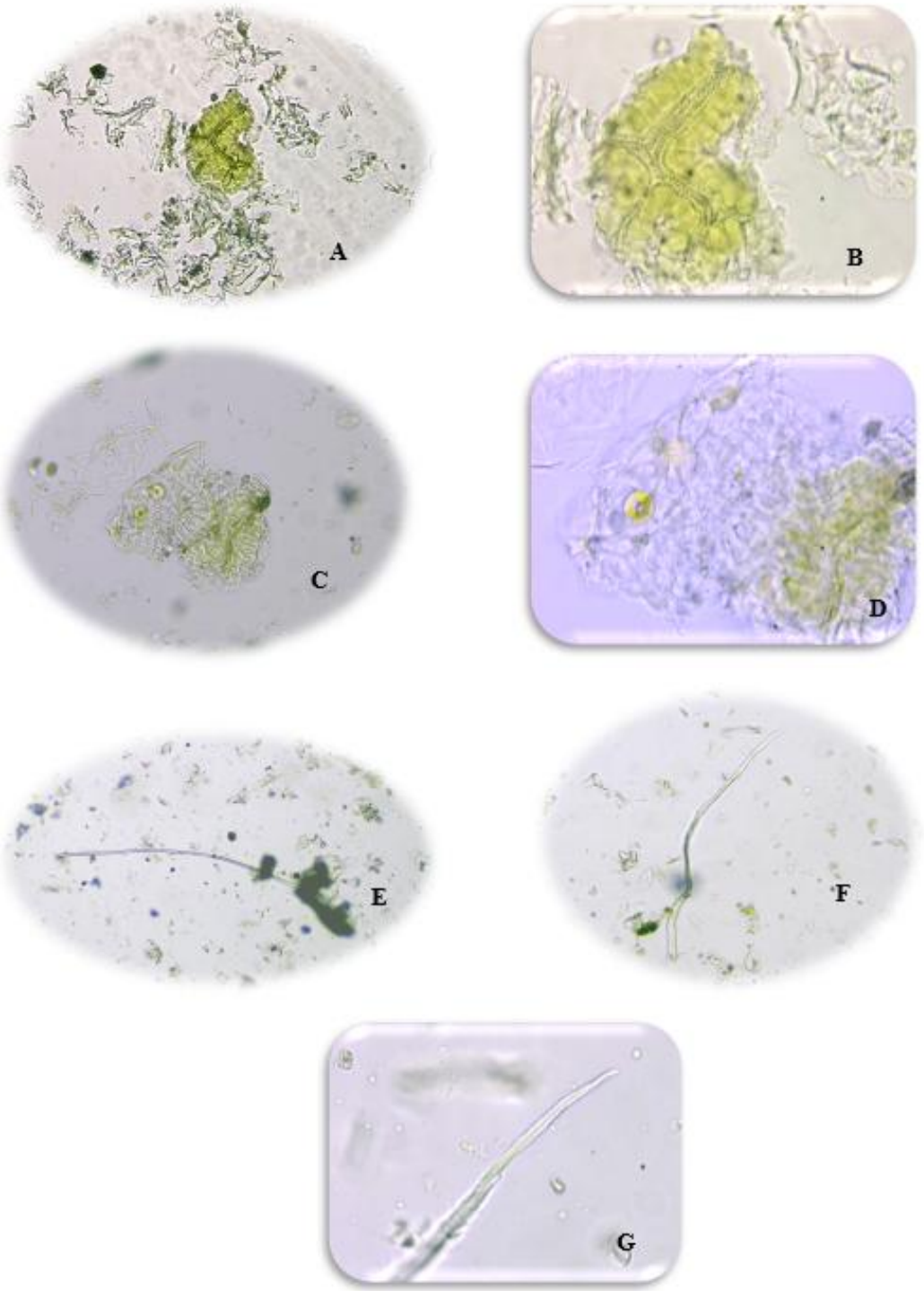


Figure 62: Eléments microscopiques de la poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L. observés au microscope optique à différents grossissements.

A et **B** : Gaines périvasculaires observée aux Gr 10 x10 et 10 x40 ; **C** et D : Fragment d'épiderme supérieur avec stomates anomocytiques observé aux Gr 10 x10 et 40 x10 ; **E, E et G** : Poil tecteur long unicellulaire à extrémité pointue observé aux Gr 4 x10 ; 10 x10 et 40 x10

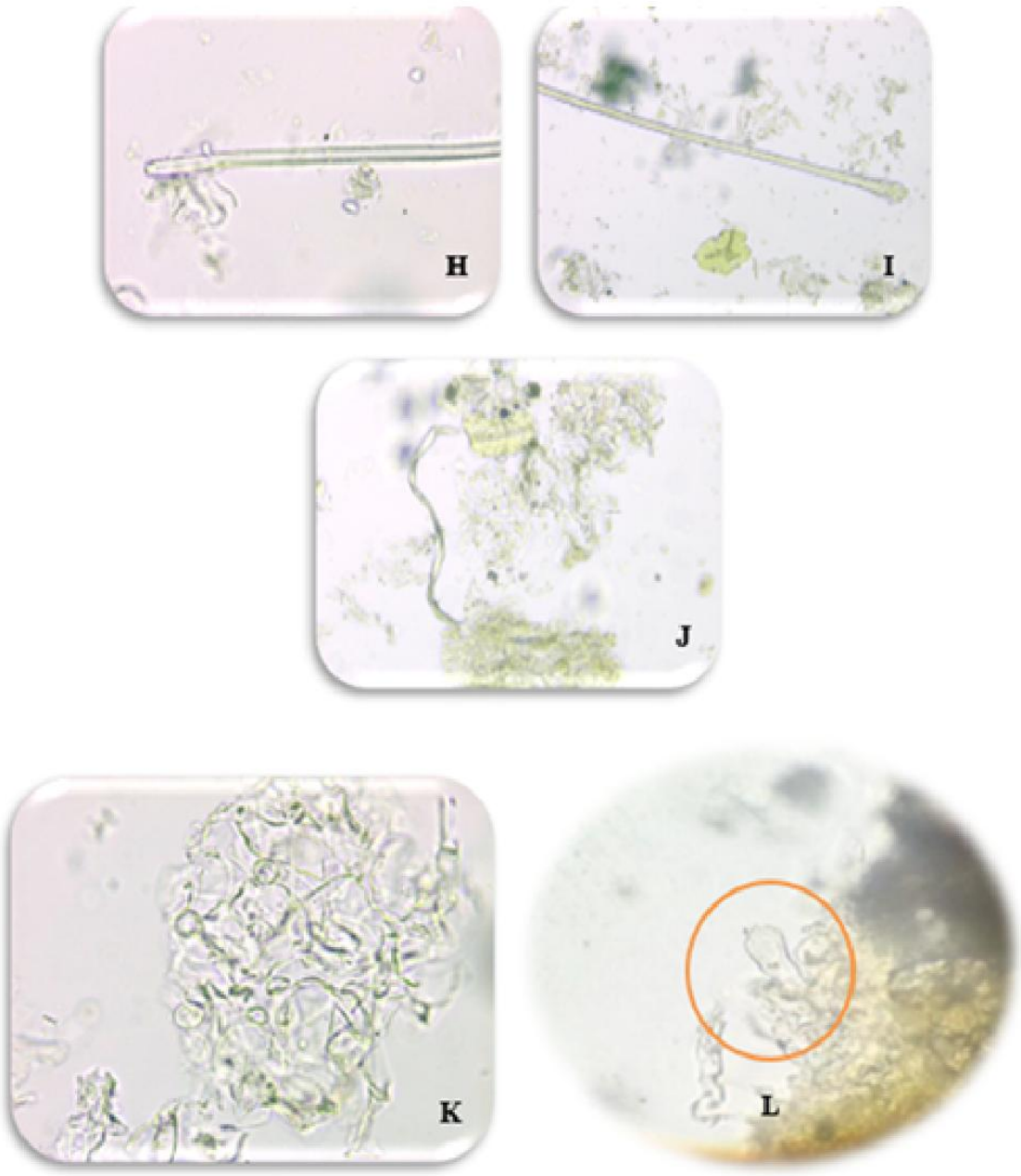


Figure 62 (suite): Eléments microscopiques de la poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L. observés au microscope optique à différents grossissements.

H et **I** : Les extrémités du poil tecteur très long observés au Gr 40 x10 ; **J** : Fragment d'épiderme avec poil tecteur sinueux observé au Gr 10 x10 ; **K** : Fragment d'épiderme avec points d'insertion des poils tecteurs observé au Gr 40 x10 ; **L** : Trichome vésiculaire excréteur de sel (glande saline) observé au Gr 10 x 40.

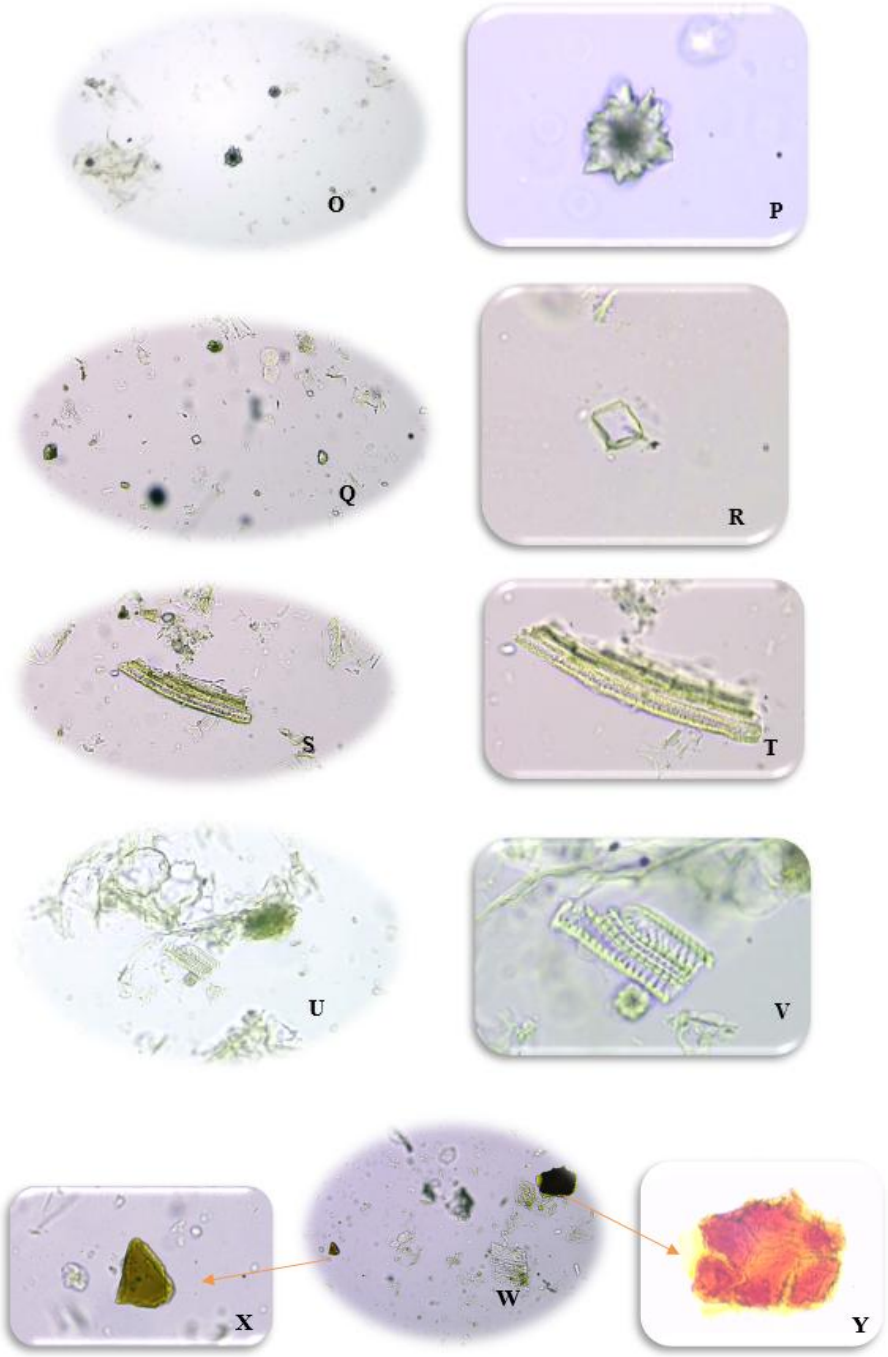


Figure 62 (suite): Eléments microscopiques de la poudre de feuilles *d'Atriplex halimus* L. observés au microscope optique à différents grossissements.

O et **P** : nombreuses macles d'oxalate de calcium observées aux Gr 10 x10 et 40 x10 ; **Q** et **R** : prismes d'oxalate de calcium observés aux Gr 10 x10 et 40 x10 ; **S** et **T** : Vaisseaux de bois ponctués observés aux Gr 10 x10 et 40 x10 ; **U** et **V** : Vaisseaux de bois réticulés observés aux Gr 10 x10 et 40 x10 ; **W** ; **X** et **Y** : Fragments de résine observés aux Gr 10 x10 et 40 x10

III.2. Enquêtes ethnobotaniques :

Dans le cadre de la valorisation de *l'Atriplex halimus* L. une espèce largement répondue dans les zones steppiques, une enquête ethnobotanique a été menée auprès de la population locale ou pousse spontanément *l'Atriplex* et auprès des herboristes afin de recueillir les connaissances empiriques liées à l'utilisation de cette espèce.

La présentation des résultats ci-dessous met en évidence les principaux usages rapportés ; les parties de la plante les plus utilisées ainsi que les modes de préparations.

Au total, l'enquête ethnobotanique a inclus 140 répondants issus des zones steppiques ainsi que 90 herboristes répartis dans différentes régions.

2.1. Répartition de la population selon les caractéristiques socio-démographiques

2.1.1 Répartition selon les tranches d'âge et le sexe :

La population ayant participé à notre enquête est dominée par les femmes (69%) avec un sex-ratio de 0,45 et la population interrogée appartient majoritairement à la catégorie des jeunes adultes (67%).

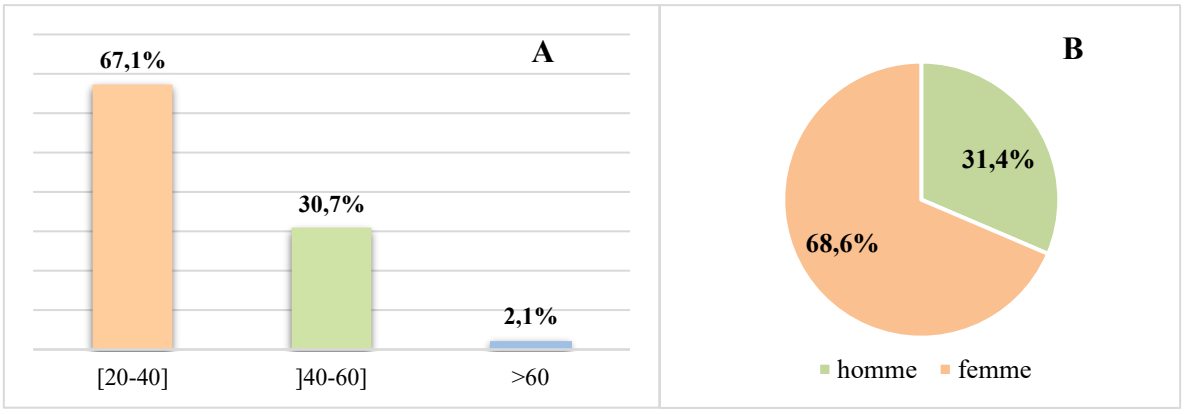


Figure 63: Répartition de la population selon l'âge et le sexe
A : selon l'âge ; **B** : selon le sexe

2.1.2. Répartition selon le lieu d'habitation

La population ayant participé à notre enquête est majoritairement de la Wilaya de M'sila avec un pourcentage de 53%, suivie de la wilaya de Borfj Bou Arreridj (BBA) à 27%, les autres wilaya (Djelfa, Khenchla, Oum el-bouaghi et Batna) ont des pourcentages plus faibles de l'ordre de 20%.

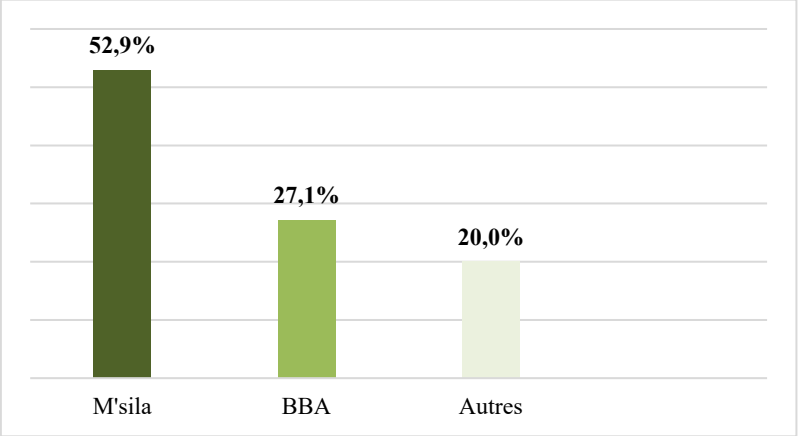


Figure 64: Répartition de la population selon le lieu d'habitation

2.1.3 Répartition selon le niveau d'étude et la source de l'information

Selon notre enquête, le niveau d'études prédominant de la population questionnée est le secondaire à 38%, suivie de près du niveau universitaire avec un pourcentage de 28%.

Aussi, la majorité de la population acquièrent des informations sur la plante à travers d'autres utilisateurs et du savoir-faire populaire à 37%, suivie par les herboristes avec un pourcentage de 27%.

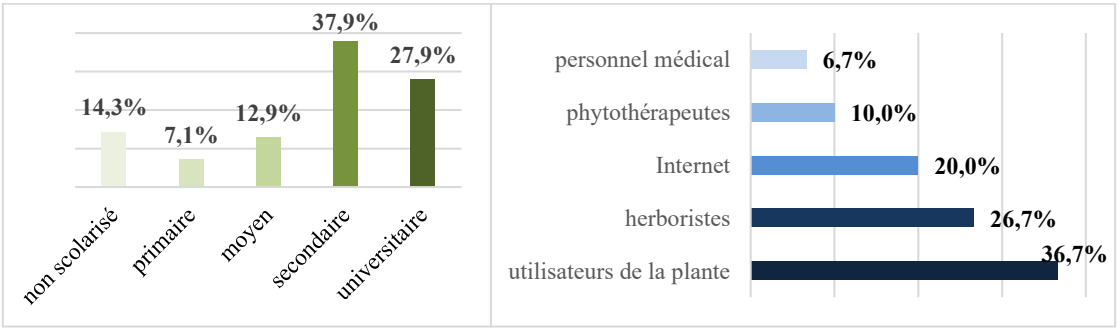


Figure 65: Répartition de la population selon leur niveau d'étude et la source de l'information

2.2 Répartition des résultats obtenus sur l'*Atriplex halimus* L :

2.2.1 Connaissance et utilisation de la plante :

Selon les résultats de notre enquête, la fréquence de citation (FC) de la plante par la population interrogée représente 59% et la plante est principalement connue par les femmes à 74%.

Concernant son utilisation, 58% de la population enquêtée déclare avoir utilisé *l'Atriplex* et principalement les femmes à 88%.

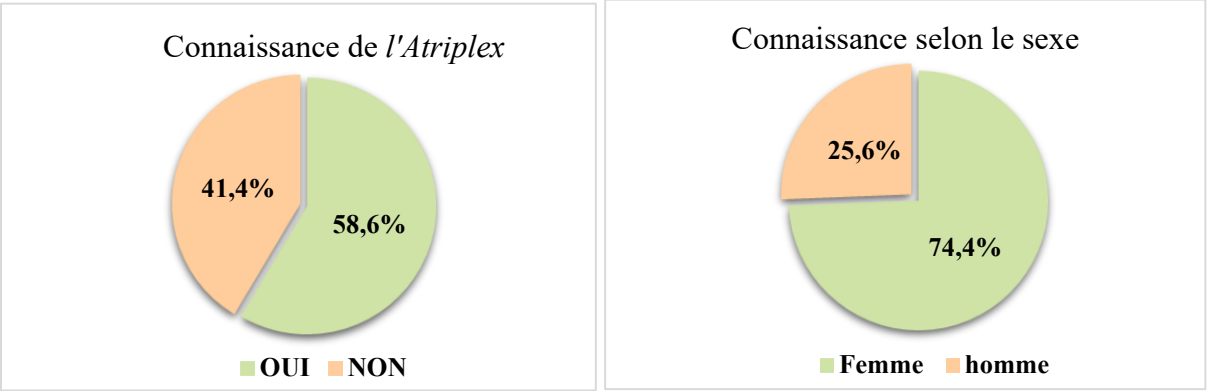


Figure 66: Connaissance de *l'Atriplex halimus* par la population questionnée

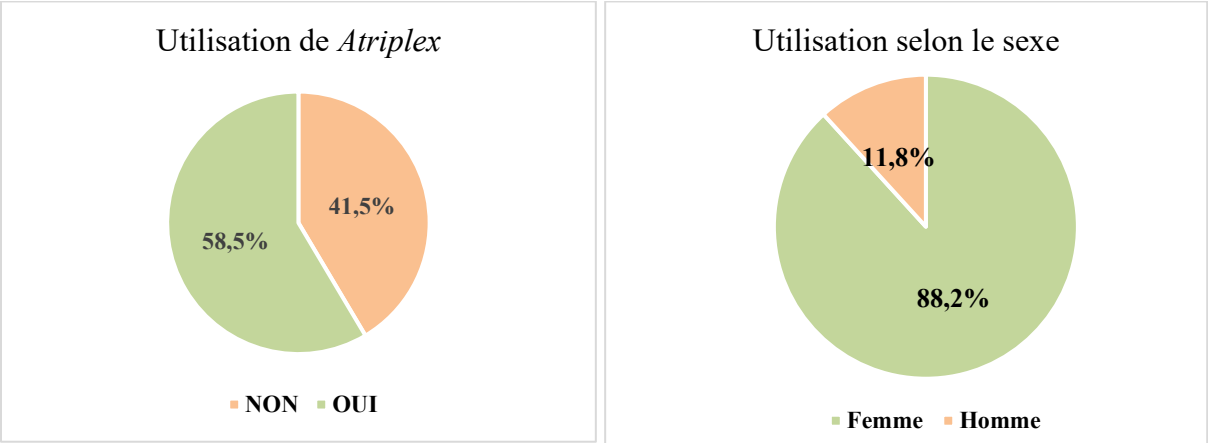


Figure 67: Utilisation de *l'Atriplex halimus* par la population questionnée

2.2.2. Partie utilisée de la plante :

Selon les fréquences de citation d'organes (FCO), la partie de la plante qui est principalement utilisée dans les préparations médicinales est la feuille à 92%, les autres parties ont une utilisation marginale.

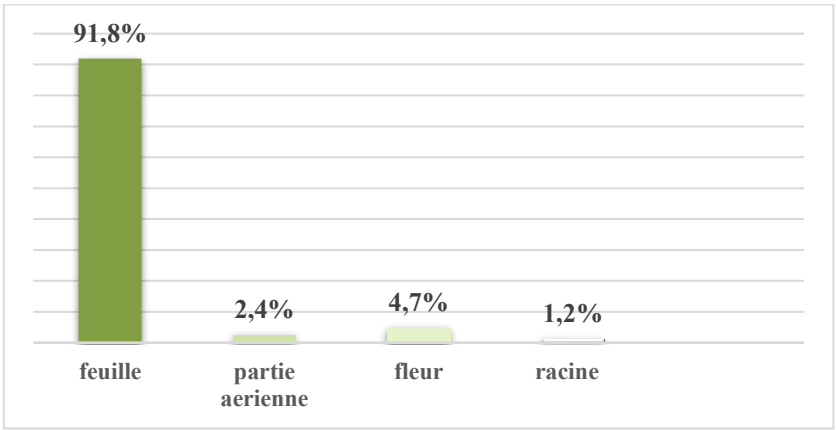


Figure 68: Partie utilisée de la plante par la population questionnée exprimée en FCO

2.2.3. Les pathologies traitées par la plante :

Selon les résultats de notre enquête, le nombre total de citation d'usage est de 133 pour *l'Atriplex*, cela permet de déterminer la valeur d'usage (UV) qui est égale à 0.95.

Aussi, la fréquence de citation (FC) et le niveau de fidélité (FL) des maladies citées par la population interrogée sont regroupés au niveau du tableau 12, ces maladies ont été traduites et classées selon l'appellation de la CIM-11 [199].

Les maladies principalement traitées par *l'Atriplex* appartiennent à la catégorie des pathologies endocriniennes (FC de 51% et FL de 88%) ; et plus spécifiquement les kystes ovariens (FC de 31% et un FL de 52%) suivie du goitre (FC de 11% et un FL de 19%).

Tableau 12: Répartition des résultats selon les maladies traitées par *l'A.halimus* L. citées par la population

Classification de la maladie selon CIM-11	NC	FC (%)	FL (%)	Maladies	Code CMI-11	NC	FC (%)	FL (%)
Maladies endocriniennes, nutritionnelles ou métaboliques	72	51	88	Kystes ovariens	GA10	43	31	52
				Goitre	5A01	16	11	19
				Nodules thyroïdiens	5A01.1	5	4	6
				Diabète	5A14	4	3	5
				Obésité	5B81.4	4	3	5
Maladie de l'appareil génital-urinaire	26	19	32	Infertilité féminine	GA31	17	12	21
				Trouble du cycle menstruel	SB8Z	7	5	9
				Infection urinaire	GC08	2	1	2
Tumeurs	17	12	21	Cancer du sein	2C6Z			
Lésions par chaleur	6	4	7	Brulure thermique	ND50			
Maladie infectieuse ou parasitaire	4	3	5	Infection	1H0Z			
Maladie inflammatoire des articulations	4	3	5	Arthrite	FA20.Z			
Maladie de l'appareil digestif	3	2	4	Constipation	ME05.0			
Maladie du sang	1	1	1	Anémie	3A9Z			

Remarque : Le facteur de citation (FC) a été calculé par rapport à tous les informateurs (N = 140) et le niveau de fidélité (FL) a été calculé uniquement sur la base des informateurs ayant déclaré connaître la plante (N = 82)

2.2.4. Mode de préparation et association avec d'autres plantes :

Le mode de préparation prédominant pour *A.halimus* L. selon la population est la décoction à 65% suivie de l'infusion à 20% ; la plante est préparée majoritairement seule à 96%.

Aussi, la fréquence d'utilisation mentionnée par la population est une utilisation journalière jusqu'à la guérison à 97%.

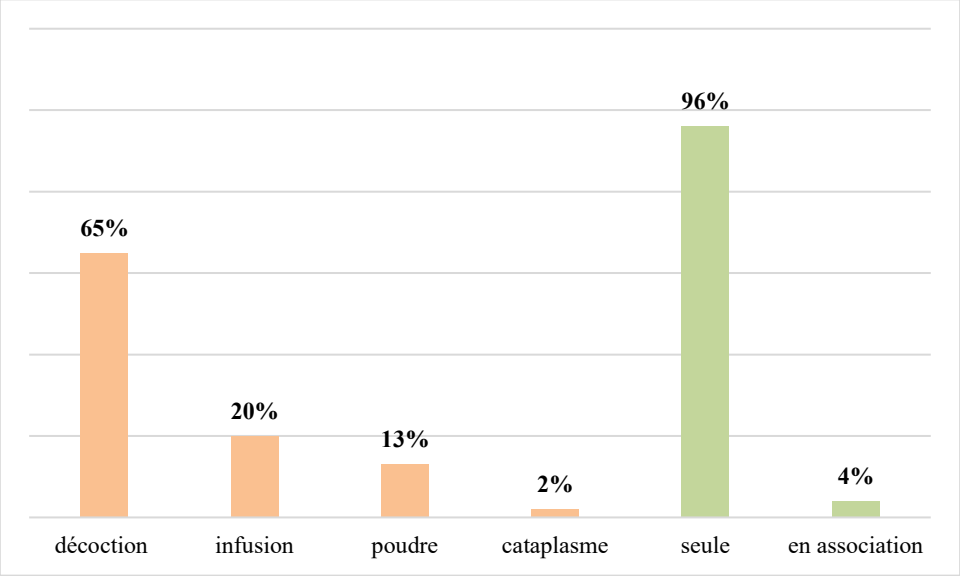


Figure 69: Mode de préparation de la plante selon la population

2.2.5. Effets indésirables attribués à la plante

Parmi les usagers de la plante, 20% d'entre eux attributs des effets indésirables à *l'Atriplex*, et l'effet indésirable spécifique est HTA à 69% (tab 13).

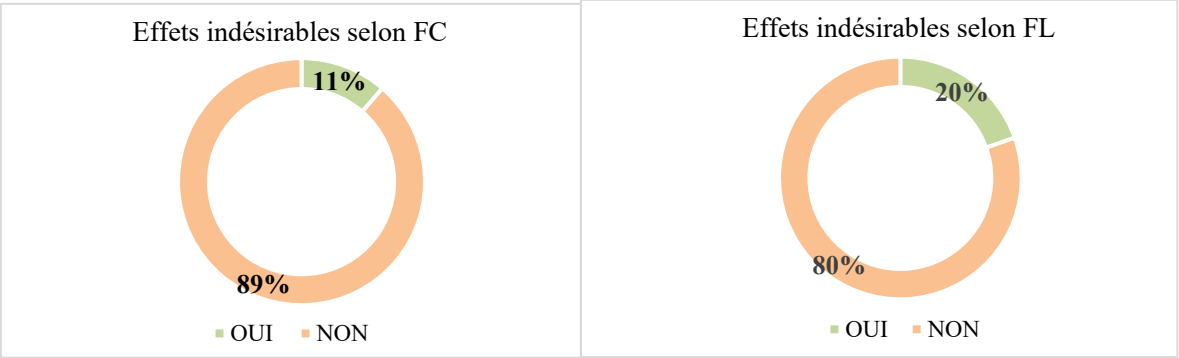


Figure 70: Les effets indésirables de *l'Atriplex* selon FC et FL.

Tableau 13 : Les effets indésirables attribués à *l'A.halimus* L. cités par la population

Effets indésirables	Nombre de citation	FC (%)	FL (%)
HTA	11	8	69
Douleur abdominale	3	2	19
Soif	2	1	12.5
Vomissement	2	1	12.5
Diarrhée	1	1	6
Hypoglycémie	1	1	6
Perte d'appétit	1	1	6

2.3. Répartition des herboristes selon les caractéristiques socio-démographiques

2.3.1. Répartition selon les tranches d'âge et le sexe :

Les herboristes ayant participé à notre enquête sont essentiellement des hommes (94%) avec un sex-ratio de 17, et appartenant majoritairement à la catégorie des jeunes adultes (63%) suivie des adultes murs (30%).

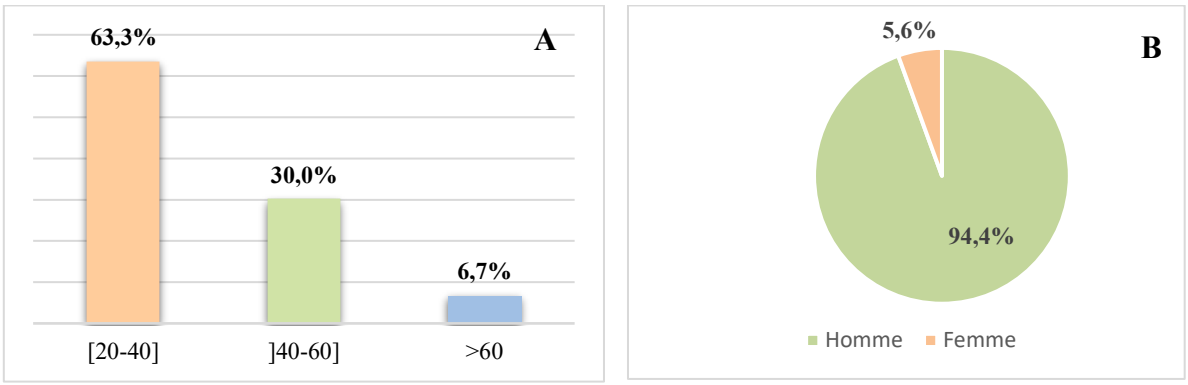


Figure 71: Répartition des herboristes selon l'âge et le sexe
A : selon l'âge ; **B** : selon le sexe

2.3.2. Répartition selon la Wilaya d'exercice

Les herboristes questionnés sont majoritairement de la Wilaya de Annaba avec un pourcentage de 34%, suivie des herboristes de la wilaya de M'sila à 24%, les autres wilayas sont représentées par des pourcentages plus faible de 14 à 7%.

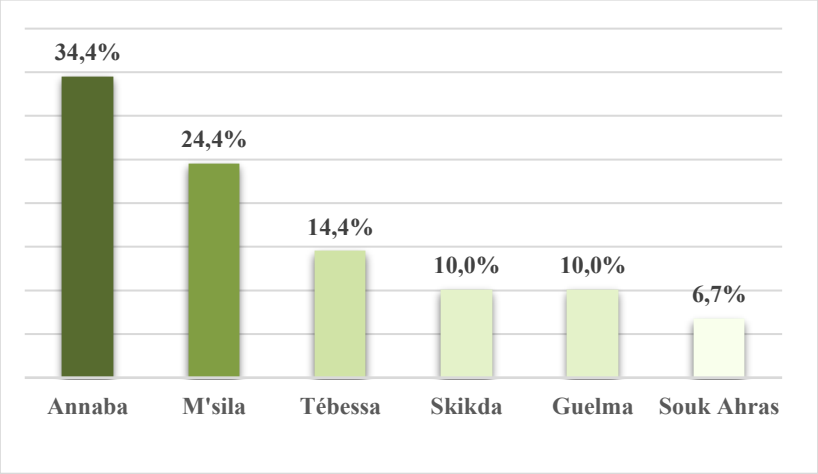


Figure 72: Répartition des enquêtés selon le lieu d'exercice

2.3.3 Répartition selon le niveau d'étude et la source de l'information

Selon notre enquête, le niveau d'études prédominant des herboristes questionnés est le secondaire à 31%, suivie de près du niveau moyen et universitaire avec des pourcentages respectives de 20 et 21%.

Aussi, la majorité des herboristes (73%) acquièrent leurs connaissances à travers le savoir-faire empirique et la tradition familiale, seulement 18% de l'échantillon à une formation académique et 10% consultent des livres spécialisés.

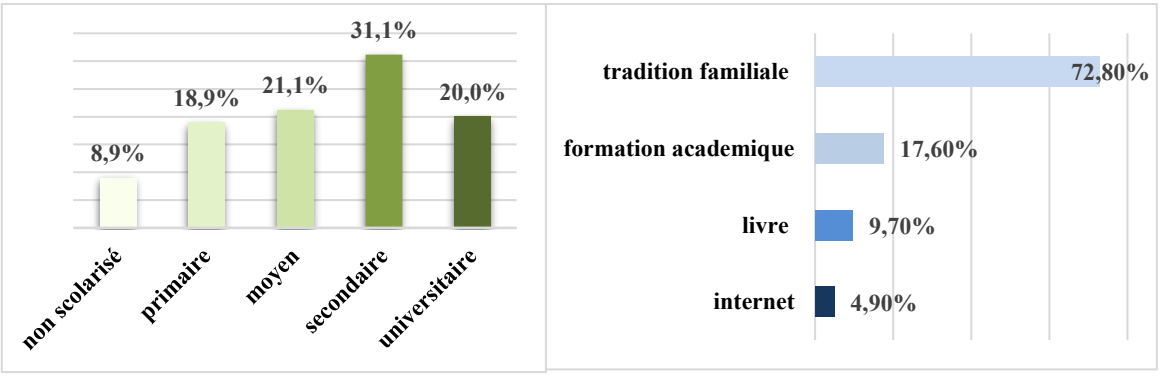


Figure 73: Répartition des herboristes selon leur niveau d'étude et la nature de la formation en plantes médicinales

2.4. Répartition des résultats obtenus sur l'*Atriplex halimus* :

2.4.1 Connaissance et disponibilité de la plante :

Selon les résultats de notre enquête, 98% des herboristes connaissent la plante et elle est disponible au niveau de leur herboristerie.

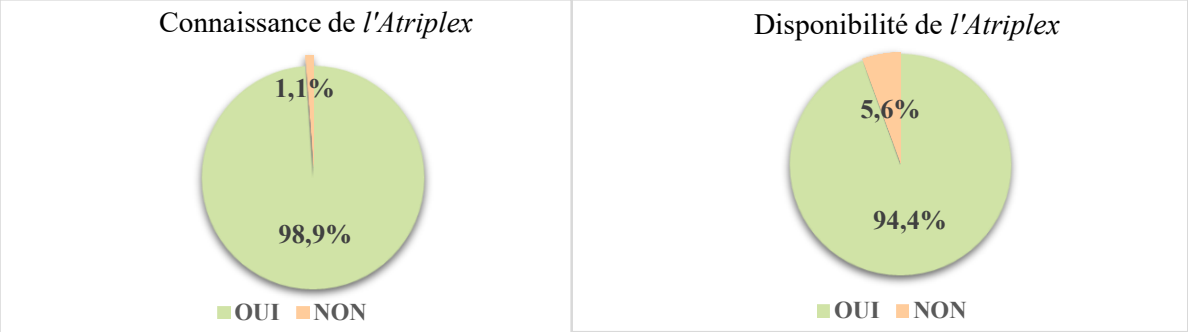


Figure 74: Connaissance et disponibilité de *l'Atriplex halimus* chez les herboristes

2.4.2 Source et lieu de récolte de la plante :

Selon notre enquête, les herboristes vendent la plante sauvage d'*Atriplex* à 96% et ils se la procurent localement principalement des régions steppiques et saharienne (tab 14) ; ils peuvent aussi s'approvisionner de plusieurs pays étrangers surtout ceux du Maghreb (Tunisie).

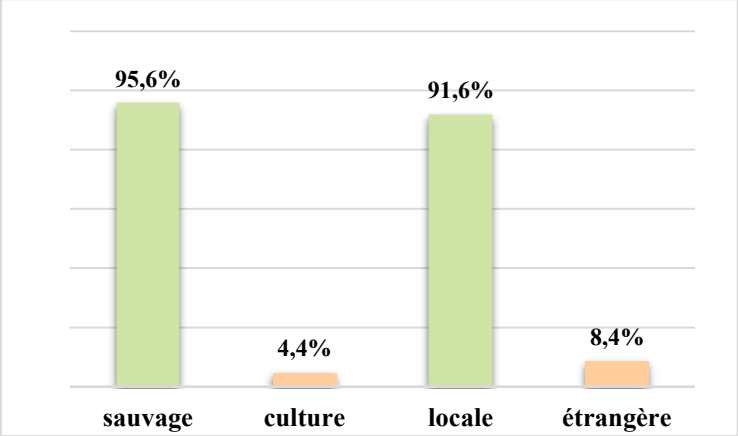


Figure 75: Source de la plante chez les herboristes

Tableau 14: Lieu d'approvisionnement de la plante

Source	Lieu de récolte	Nombre de citation	FC (%)
Plante locale	Sahara	50	56
	M'sila	25	28
	El Oued	18	20
	Tébessa	18	20
	Djelfa	14	16
	Biskra	12	13
	Laghouat	10	11
	Bechar	4	4
	Naama	2	2
	Boussaâda	1	1
	Batna	1	1
	Sétif	1	1

Tableau 14 (suite): Lieu d'approvisionnement de la plante

Source	Lieu de récolte	Nombre de citation	FC (%)
Plante étrangère	Tunis	6	7
	Egypte	3	3
	Maroc	2	2
	Jordanie	1	1
	Lybie	1	1
	Inde	1	1

2.4.3. Partie utilisée de la plante :

Selon les fréquences de citation d'organe (FCO), les parties de la plante qui sont principalement utilisées dans les préparations médicinales sont les feuilles à 81%, suivis des parties aériennes (tige et feuilles) à 24,5%, les autres parties ont une utilisation marginale.

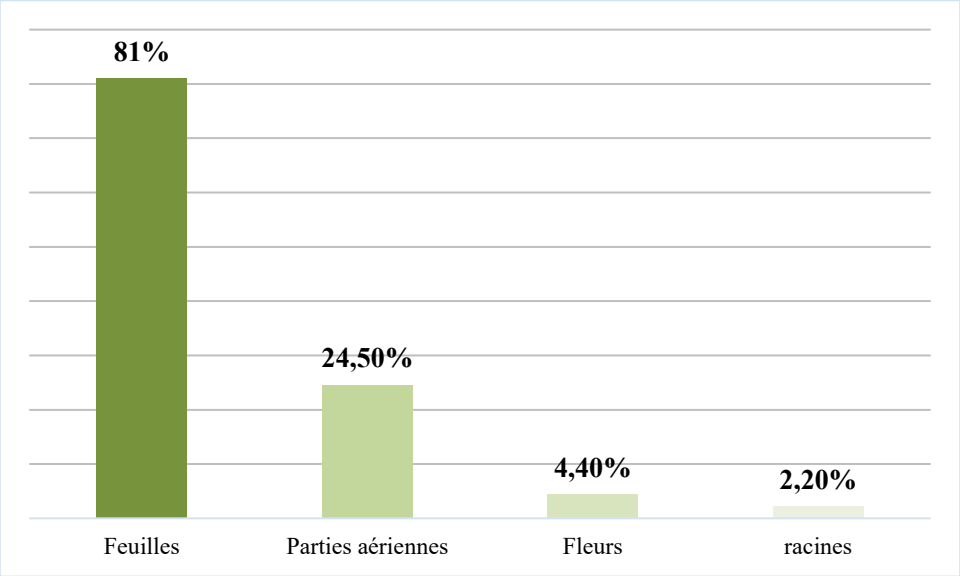


Figure 76: Partie utilisée de la plante citée par les herboristes exprimée en FCO

2.4.4. Les pathologies traitées

Selon les résultats de notre enquête, le domaine d'emplois de la plante est principalement thérapeutique à 99%, un emploi cosmétologique a été cité par un herboriste de la région de Skikda, par contre l'emploi alimentaire n'a pas été mentionné par les herboristes.

Aussi, le nombre total de citation d'usage est de 172 citations pour *l'Atriplex*, cela permet de déterminer la valeur d'usage (UV) qui est égale à 1,91.

Les maladies principalement traitées par *l'Atriplex* appartiennent à la catégorie des pathologies endocriniennes, plus spécifiquement les kystes ovariens (FC de 83%) et secondairement les nodules thyroïdiens (FC de 17%).

L'ensemble des maladies citées par les herboristes interrogés sont regroupées au niveau du tableau 15, ces maladies ont été traduites et classées selon l'appellation de la CIM-11[199].

Tableau 15: : Répartition des résultats selon les maladies traitées par l'A.*halimus* L. citées par les herboristes

Classification de la maladie selon CIM-11	NC	Maladies	Code CMI-11	NC	FC/FL (%)
Maladies endocriniennes, nutritionnelles ou métaboliques	112	Kyste ovarien	GA10	74	83
		Nodules thyroïdiens	5A01.1	15	17
		Goitre	5A01	11	12
		diabète	5A14	11	12
		hypercholestérolémie	5C80.0	1	1
Maladie de l'appareil génital-urinaire	39	Trouble du cycle menstruel	SB8Z	18	22
		Infertilité féminine	GA31	13	15
		Infection urinaire	GC08	8	9
Tumeurs	10	Cancer du sein	2C6Z	10	11
Maladie du sang ou des organes hématopoïétiques	4	Anémie	3A9Z	4	4
Maladie de l'appareil digestif	3	Côlon irritable	DD91.Z	3	3
Maladie infectieuse ou parasitaire	3	infection	1H0Z	3	3
Maladie du système nerveux	1	épilepsie	8A6Z	1	1

NC : nombre de citation ; FC : fréquence de citation

Remarque : Le facteur de citation (FC) a été calculé par rapport à tous les informateurs (N = 90) et le niveau de fidélité (FL) a été calculé uniquement sur la base des informateurs ayant déclaré connaître la plante (N = 89)

2.4.5. Mode de préparation et association avec d'autres plantes :

Selon les herboristes, le mode de préparation conseillé pour *A.halimus* L. est l'infusion à 53% suivie de la décoction à 31%, la plante est préparée majoritairement seule à 77% et en cas d'association, la plante spécifiquement citée est la marjolaine (avec un FL de 71%).

Les différentes associations citées sont présentées dans le tableau 16.

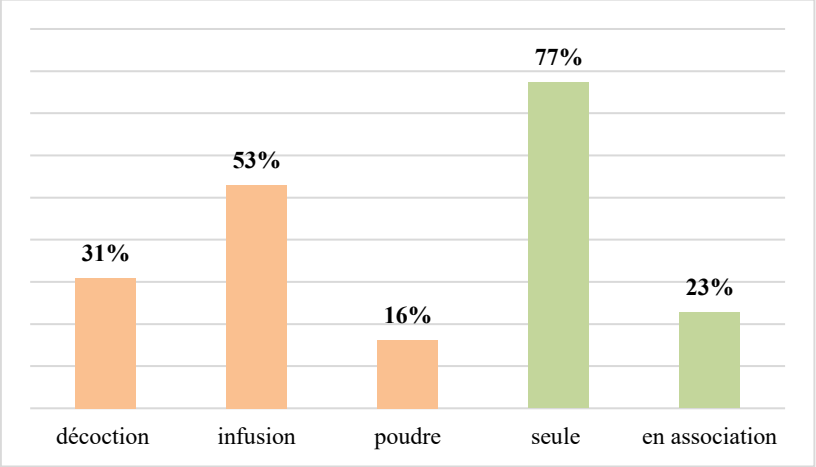


Figure 77: Mode de préparation de la plante selon les herboristes

Tableau 16: Les associations avec *l'A,halimus* L. citées par les herboristes

Nom arabe	Nom français	Nom scientifique	NC	FC (%)	FL (%)
مردقوش	marjolaine	*Origanum majorana*	5	6	71
القسط الهند	Costus indien	*Saussurea costus*	4	4	57
عسل	miel	//////////////////////////	4	4	57
المريمية	Sauge officinale	*Salvia officinalis*	3	3	43
//////////////////////	Yaourt	//////////////////////////	2	2	28
زيت الحبة السوداء	Huile de nigelle	*Nigella sativa*	1	1	14

2.4.6. Durée de traitement et posologie

Selon les résultats de notre enquête, les herboristes préconisent un traitement de 1mois avec une prise de 2 fois/jr.

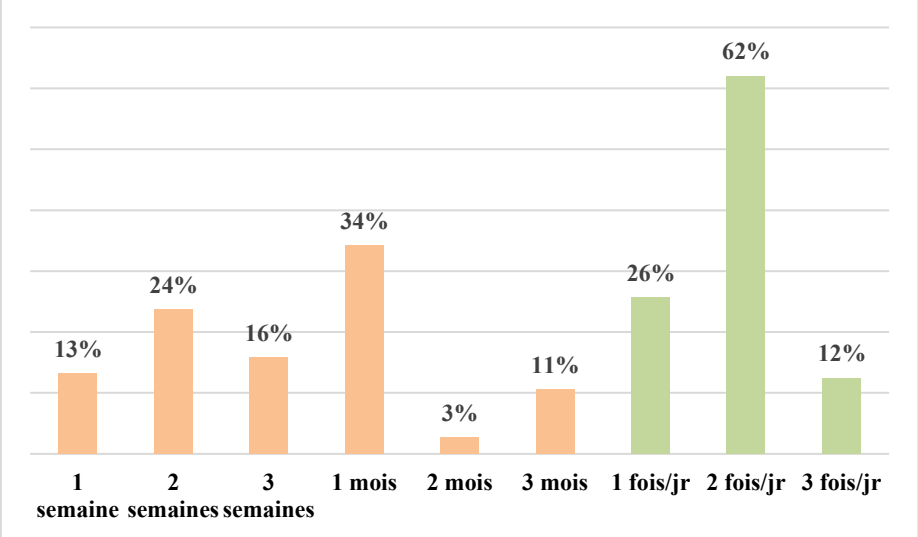


Figure 78 : Durée et posologie préconisées par les herboristes

2.4.7. Effets indésirables attribués à la plante

Selon notre enquête, les herboristes attribuent à la plante des effets indésirables à 29% et l'effet indésirable spécifique est HTA à 77% selon le niveau de fidélité, d'autres effets indésirables ont été cités et résumés dans le tableau 17.

Aussi, selon la déclaration de certains herboristes ; la plante est contre indiquée chez les femmes enceintes, les enfants de moins de 10ans, et les hypertendus.

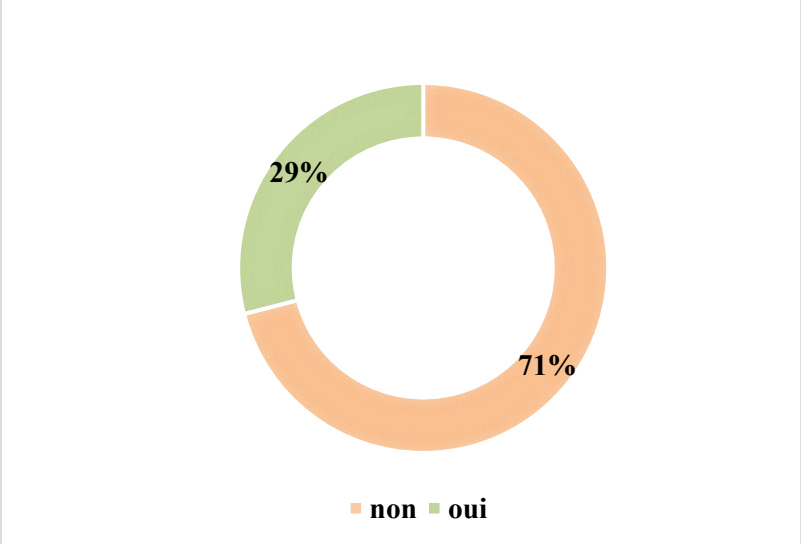


Figure 79 : Les effets indésirables de *l'Atriplex* selon FC des herboristes

Tableau 17 : Les effets indésirables attribués à *l'A.halimus* L. cités par les herboristes

Effets indésirables	NC	FC (%)	FL (%)
HTA	20	22	77
Soif	9	10	35
Vomissement	6	6	23
Diarrhée	6	6	23
Douleur abdominale	2	2	8
Prurit	1	1	4

2.4.8. Prix de vente de la plante :

Le graphique en boite à moustache (figure 80) illustre la dispersion des prix de vente *d'Atriplex halimus* L. rapportés par les herboristes interrogés. Les données révèlent un prix minimum de 80 DA et maximum de 400 DA. Tandis que la moitié des prix se situent entre 100 DA (1er

quartile) et 250 DA (3e quartile) avec une médiane à 200 DA, ce qui signifie que 50 % des valeurs sont en dessous ou égales à ce prix.

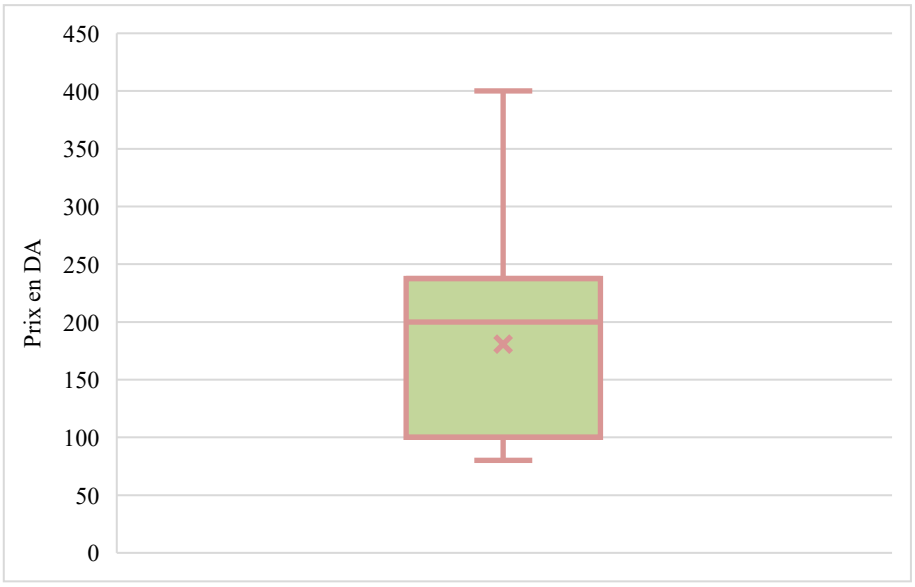


Figure 80: Prix de 100gr d'*Atriplex halimus* au niveau des herboristerie

Les recettes des enquêtes ethnobotaniques sont décrites au niveau de l'annexe II.

III.3. Etude phytochimique :

3. 1. Optimisation des procédés d'extraction pour l'extraction des polyphénols

3.1.1. La matrice générée par le logiciel :

La matrice générée par le logiciel comporte 18 expériences réparties en 2 blocs et les réponses obtenues par les différentes expériences (rendements et teneurs en polyphénols) sont reportées dans le tableau 18 :

Tableau 18: Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la détermination des conditions opératoires optimales de l'extraction des polyphénols

N° Essai	Bloc	Température (°C)	pH	% Ethanol	Granulométrie (µm)	Rendement (%)	Teneur en polyphénols (mg eq AG/g d'extrait)
1	1	50	7	60	180	32,2	82,31143199
2	1	35	5,5	70	340	34,8	77,77636687
3	1	20	4	80	500	33,6	57,82208033
4	1	50	4	70	500	33,8	71,88078221
5	1	20	7	70	180	27,4	83,67195153
6	1	35	7	80	500	31,2	62,81065196
7	1	50	7	60	500	41,2	72,33428872
8	1	20	4	80	180	42,4	67,34571708
9	1	35	4	60	180	36,2	79,13688641
10	2	50	7	80	180	34	80,49740594
11	2	20	7	80	340	32	67,34571708
12	2	35	5,5	70	340	33,6	67,34571708
13	2	50	4	60	340	32	70,97376918
14	2	20	4	60	500	38,2	62,81065196
15	2	20	5,5	60	180	35,2	66,43870406
16	2	20	7	60	500	33,4	67,7992236
17	2	50	5,5	80	500	32,4	70,06675616
18	2	50	4	80	180	35,6	75,05532779
+1		50°C	7	80%	180 µm		
0		35°C	5,5	70%	340 µm		
-1		20°C	4	60%	500µm		

3.1.2 Analyse des résultats du plan de criblage définitif

A. Ajustement du criblage définitif pour le rendement

Selon les résultats obtenus par le logiciel JMP Pro 18.0.0, le pH est le paramètre le plus influent sur le rendement (tab 19 et 20)

Tableau 19: Estimations des paramètres du modèle combiné pour le rendement

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > |t|
Constante	34	1,7417	19,521	<,0001*
pH	-1,457	0,931	-1,565	0,1384
pH*pH	0,5143	1,9749	0,2604	0,7981
Statistique		**Valeur**		
Ecart-type résiduel (RMSE)		3,4834		
Degrés de liberté		15		

Tableau 20: Résumé des différents effets pour le rendement

Source	Log Worth	P-value
pH (4,6)	0,397	0,40059
% Ethanol (60,80)	0,194	0,64033
Bloc	0,125	0,74905
pH*pH	0,046	0,89847
Température (20,50)	0,023	0,94800
Granulométrie	0,018	0,95838

Le graphique des résidus des effets principaux pour le rendement est représenté par la figure 81.

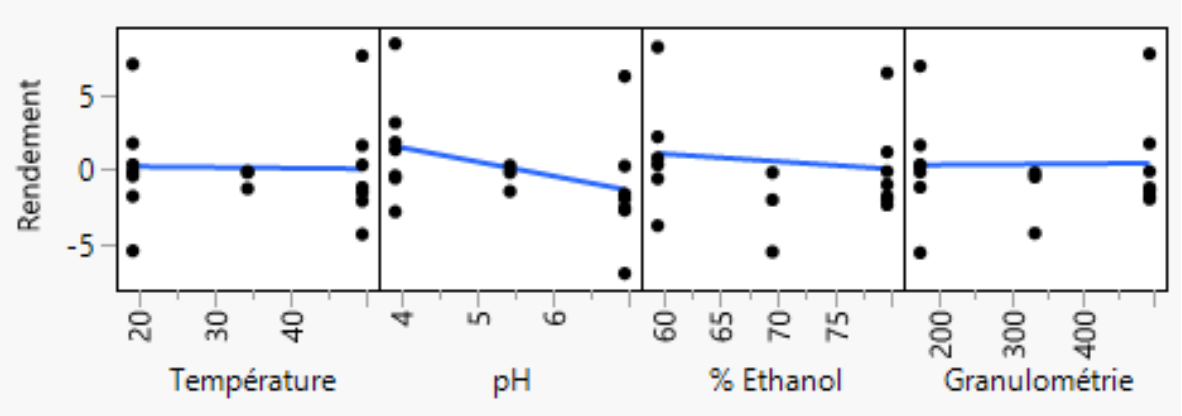


Figure 81: Graphiques des résidus des effets principaux pour le rendement

B. Ajustement du criblage définitif pour la teneur en polyphénols

Selon les résultats obtenus par le logiciel JMP Pro 18.0.0, la granulométrie est le paramètre le plus influent sur la teneur en polyphénols, il a un effet hautement significatif sur cette réponse, vue que p≤ 0,01 (tab 21 et 22).

Tableau 21: Estimations des paramètres du modèle combiné pour la teneur en polyphénols

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > |t|
Constante	71,301	1,3801	51,662	<,0001*
Granulométrie	-4,924	1,5649	-3,146	0,0062*
		Valeur		
Ecart-type résiduel (RMSE)		5,8555		
Degrés de liberté		16		

Tableau 22: Résumé des différents effets pour la teneur en polyphénols

Source	Log worth	P-value
Granulométrie	2,930	0,00117
Température (20,50)	2,003	0,00992
pH (4,6)	1,123	0,07539
Bloc	0,761	0,17354
% Ethanol (60,80)	0,648	0,22503

Le graphique des résidus des effets principaux pour la teneur en polyphénols est représenté par la figure 82.

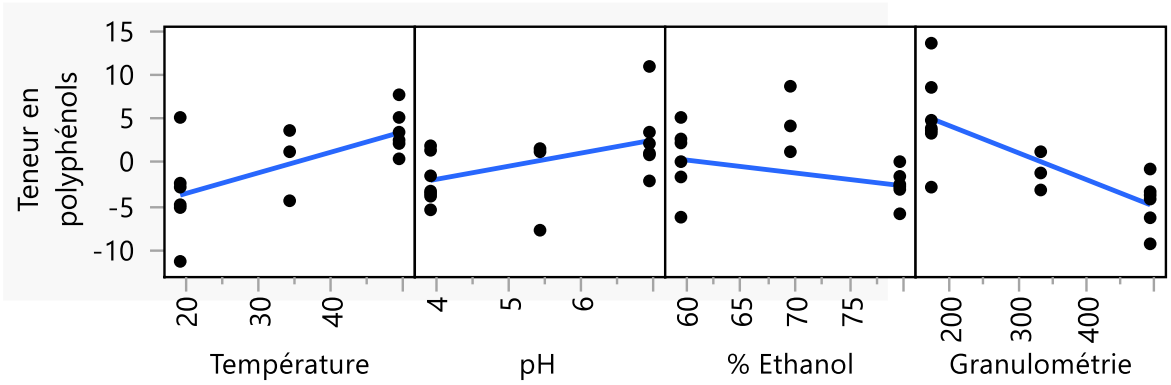


Figure 82: Graphiques des résidus des effets principaux pour la teneur en polyphénols

Le niveau des paramètres optimisés pour les deux réponses (rendement et teneur en polyphénols) est représenté par les figures 83 et 84.

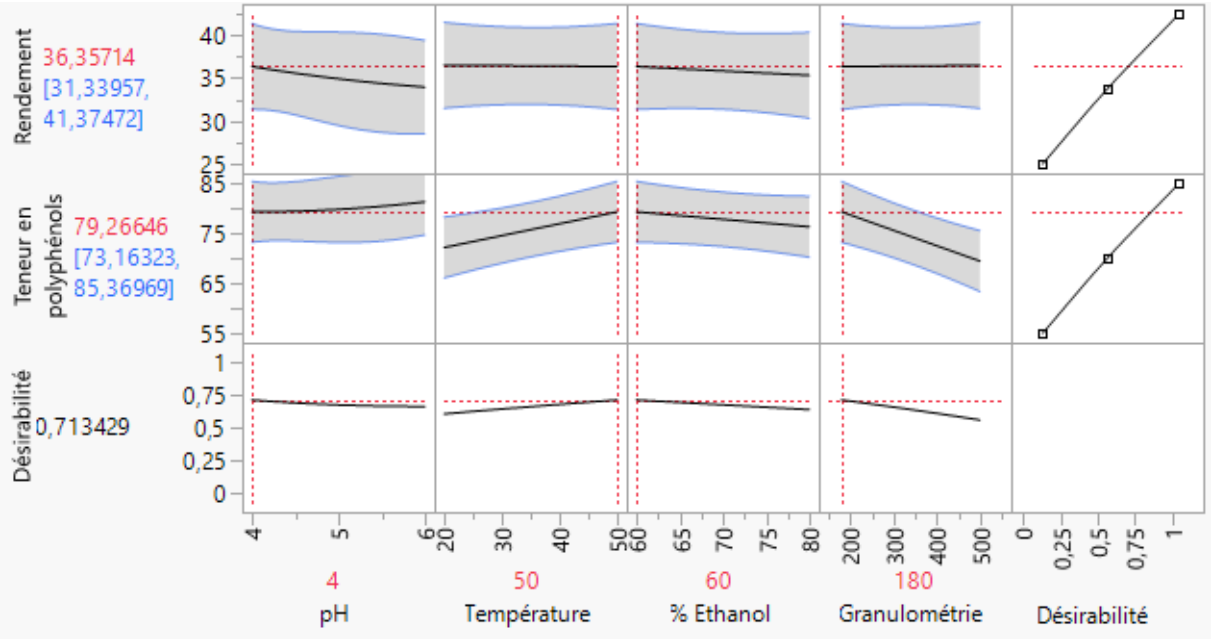


Figure 83: Profiler de prévision de l'extraction des polyphénols

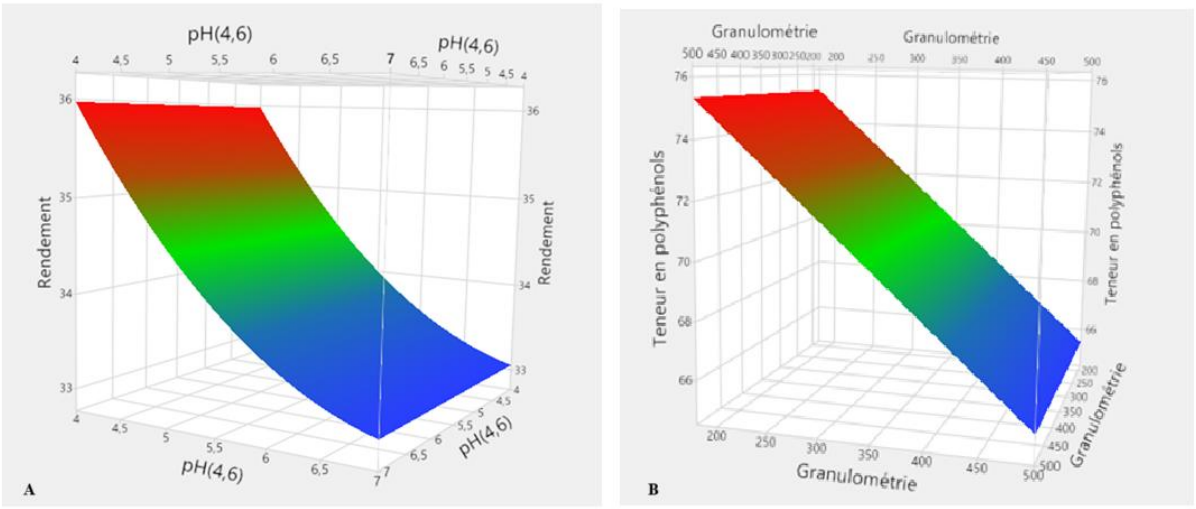


Figure 84: Profileur de surface de l'extraction des polyphénols

A : profiler de surface selon le pH ; **B** : profiler de surface selon la granulométrie

Ainsi, les conditions optimales retenues à l'issue du plan d'expériences correspondent à un pH de 4, une granulométrie comprise entre 180 et 250 µm, une température d'extraction de 50 °C et un mélange éthanol/eau à 60/40 (V/V). Ces paramètres permettent d'obtenir simultanément un rendement d'extraction maximal et une teneur élevée en composés phénoliques totaux à partir des feuilles d'*Atriplex halimus* L.

3. 2. Optimisation des procédés d'extraction pour l'extraction des alcaloïdes

3.2 .1. La matrice générée par le logiciel :

La matrice générée par le logiciel comporte 14 expériences réparties en 2 blocs et les résultats obtenus pour chaque expérience sont reportés au niveau du tableau 23.

Tableau 23: Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la détermination des conditions opératoires optimales de l'extraction des alcaloïdes

N° Essai	Bloc	Température (°C)	Temps d'extraction (h)	Nature de l'acide	Rendement
1	1	20	4	HCl	0,138
2	1	20	2	HCl	0,086
3	1	60	4	H_3PO_4	0,164
4	1	40	3	H_3PO_4	0,01
5	1	40	4	H_3PO_4	0,132
6	1	60	2	H_3PO_4	0,144
7	1	40	2	HCl	0,056
8	1	40	3	HCl	0,074
9	1	20	3	H_3PO_4	0,246
10	2	20	4	HCl	0,07
11	2	60	4	HCl	0,05
12	2	60	2	H_3PO_4	0,132
13	2	20	2	H_3PO_4	0,024
14	2	60	3	HCl	0,136
+1		60°C	2		
0		40°C	3		
-1		20°C	4		

3.2.2. Analyse des résultats du plan de criblage définitif

Selon les résultats obtenus par le logiciel JMP Pro 18.0.0, la nature de l'acide est le paramètre le plus influent sur le rendement en alcaloïdes suivie par le temps d'extraction (tab 24 et 25).

Tableau 24 : Estimations des paramètres du modèle combiné pour le rendement en alcaloïdes

Terme	**Estimation**	**Erreur standard**	**t ratio**	**Prob. > |t|**
Constante	0,1044	0,018	5,7929	0,0002*
Température	0,0024	0,0217	0,11	0,9146
Temps d'extraction	0,015	0,0217	0,6937	0,5037
Nature de l'acide	-0,019	0,0186	-1,028	0,3280
Statistique		**Valeur**		
Ecart-type résiduel (RMSE)		0,0675		
Degrés de liberté		10		

Tableau 25: Résumé des effets pour le rendement en alcaloïdes

Source	Log worth		P-value
Nature de l'acide	0,484		0,32803
Temps d'extraction (2,4)	0,298		0,50369
Température (20,60)	0,039		0,91458

Le graphique des résidus des effets principaux pour le rendement est représenté par la figure 85.

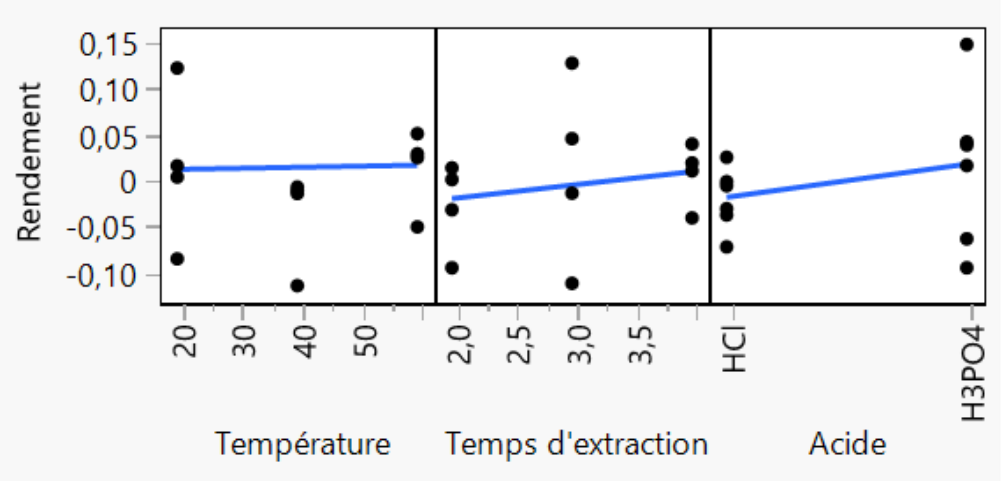


Figure 85: Graphique des résidus des effets principaux pour le rendement en alcaloïdes

Le niveau des paramètres optimisés pour l'extraction des alcaloïdes est représenté dans les figures 86 et 87.

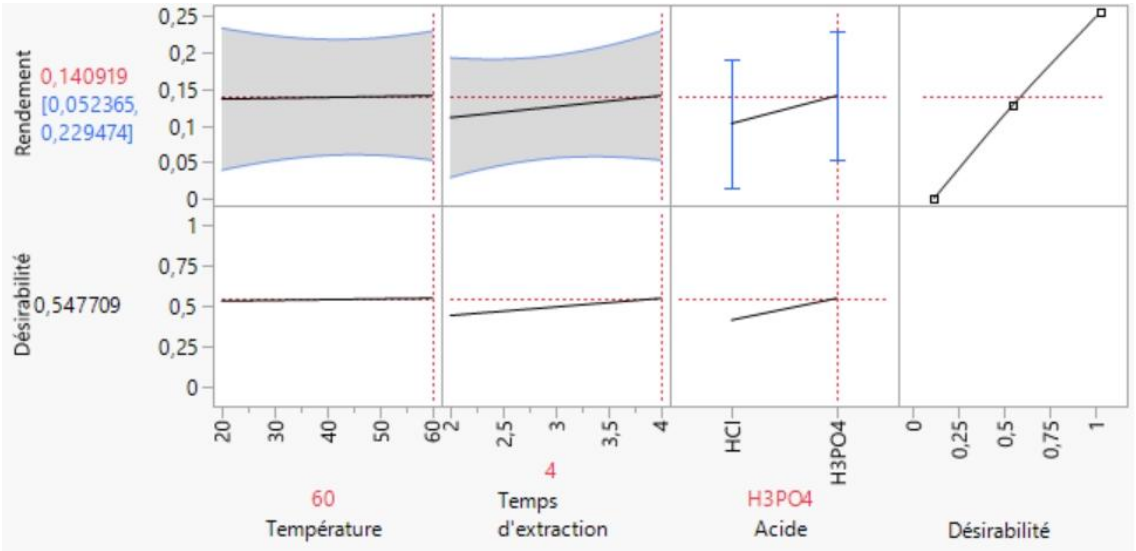


Figure 86: Profileur de prévision de l'extraction des alcaloïdes

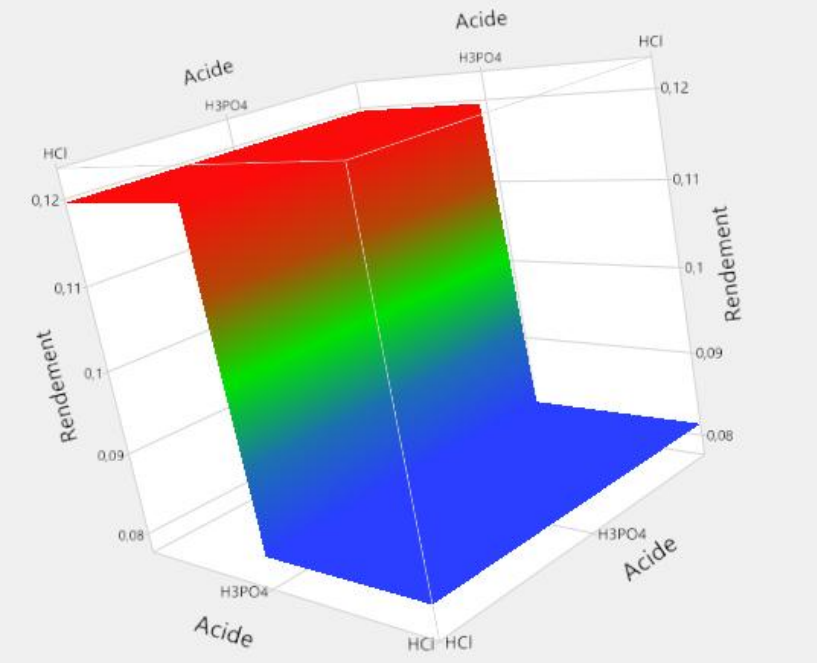


Figure 87: Profileur de surface de l'extraction des alcaloïdes selon la nature de l'acide

Ainsi, les conditions optimales retenues à l'issue du plan d'expériences correspondent à un temps d'extraction de 4h, une acidification du solvant d'extraction avec l'acide phosphorique et une température d'extraction de 60 °C. Ces paramètres permettent d'obtenir un rendement d'extraction maximal en alcaloïdes totaux à partir des feuilles d'*Atriplex halimus* L.

3.3. Analyse qualitative

3.3.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des trois familles de métabolites secondaires au niveau des feuilles *d'Atriplex halimus* L. de la région de M'sila. Dans la famille des composés phénoliques, nous avons identifié les tanins condensés et hydrolysables, les flavonoïdes avec une prédominance du noyau flavonol, les coumarines probablement hydroxylées, par contre on note l'absence des anthocyanosides et des anthracénosides dans notre échantillon.

Concernant la famille des terpénoides, on observe une forte positivité pour les phytostérols, les triterpènes et les saponosides, les iridoïdes ont été également identifiés mais pour les huiles essentielles le résultat est douteux et négatif pour les hétérosides cardiotoniques.

On note la présence des alcaloïdes ainsi que des mucilages.

Le tableau 26 résume les résultats du screening phytochimique sur les feuilles *d'Atriplex halimus* L. de M'sila, les photos des résultats du screening phytochimiques sont rapportées dans l'Annexe IV.

Tableau 26: Résultats du screening phytochimique des feuilles *d'Atriplex halimus* L

Métabolites secondaires	Réactions	Résultats
Les alcaloïdes	Meyer	++
	Dragendorff	++
	Wagner	++
Les composés phénoliques	$FeCl_3$	+++
Les Tanins condensés	Stiasny	+++
	Bath Smith	+++
Les tanins hydrolysables	$FeCl_3$	+
Les coumarines	NH_4OH	++
Les flavonoïdes	NH_4OH	++
	$AlCl_3$	++
	Cyanidine	++
Les anthocyanosides	HCl/NaOH	–
Les anthracénosides	Borntrager sans hydrolyse	–
	Borntrager avec hydrolyse	–
Les huiles essentielles	hydrodistillation	±
Les iridoïdes	HCl	+
Les phytostérols	Libermann-Burchard	+++
Les triterpènes	Salkowski	+++
Les saponoides	Indice de mousse	+++
Les hétérosides cardiotoniques	Keller-Kiliani	+
	Baljet	–
	Kedde	–
Les mucilages		++

3.3.2. Analyse qualitative des extraits par chromatographie :

Tous les extraits ont été analysés par méthodes chromatographiques, les extraits hexanes ont été analysés par chromatographie phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse, et les autres extraits par chromatographie liquide ultra haute performance couplée à la spectroscopie de masse.

Pour l'identification des alcaloïdes dans les extraits optimisés, une analyse chromatographique par HPLC-DAD a été effectuée en présence d'étalons alcaloïdiques type : berbérine, palmatine et pipérine.

A. Les extraits optimisés

A.1. Extrait hydro-éthanolique optimisé (EHEO) :

Au niveau de l'extrait HEO (fig 88 et tab 27), parmi les 31 pics observés sur le chromatogramme ; les composés majoritaires sont représentés par les flavonoïdes, tels que la **glabranine** à 11%, suivie des dérivés de l'acide caféique, tels que **l'acide caféoylglucarique** à 10,5%.

Aussi, nous avons identifié un alcaloïde par HPLC-DAD (fig 89 et tab 28), l'alcaloïde est la **berbérine** avec un taux de 1,84 %.

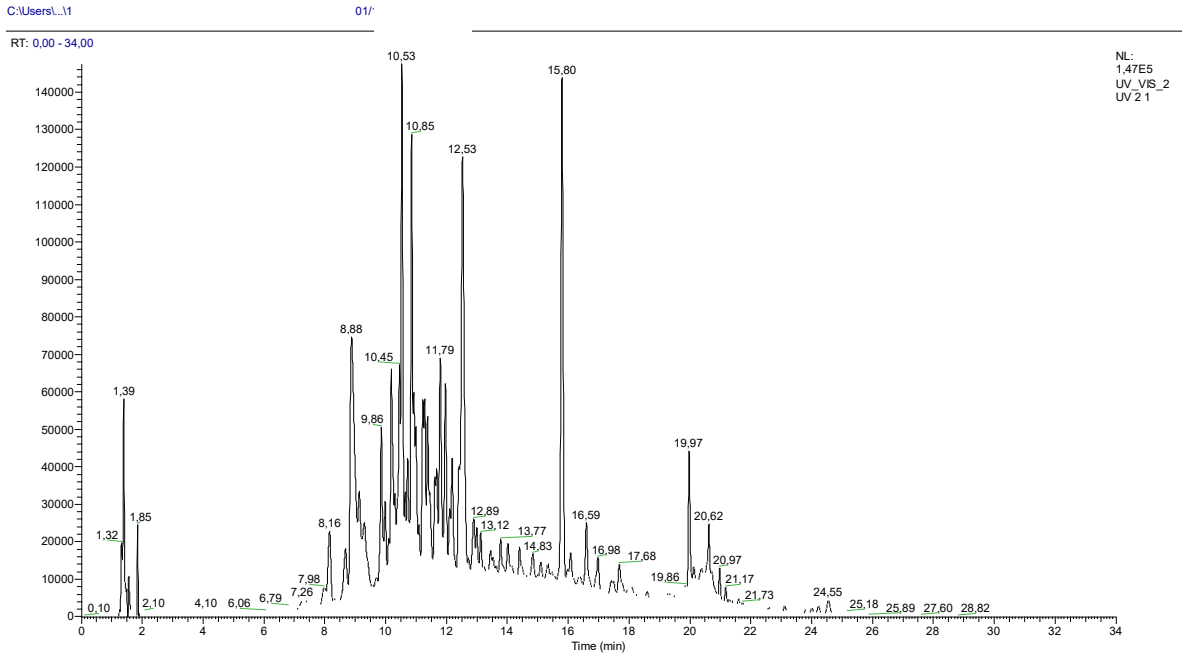


Figure 88: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait hydro-éthanolique optimisé des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 27: Composition de l'extrait HEO des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par UHPLC-MS

N	Rt (mn)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	1.32	211, 227	263	219, 179, 153	Acide Abscisique	0.93
2	1.39	218,270,327	269	225, 151	Apigenine	3.21
3	1.49	192, 262	209	194, 191, 153	Sinapyl alcohol	0.10
4	1.55	215, 280	191	173, 85	Acide Isocitrique	0.74
5	1.85	192, 263	289	245, 205, 179	Catechine	0.72
6	8.16	192, 274, 318	425	382, 338, 299, 181, 117	Hispidulin derivative	2.09
7	8.68	202, 314	467	364, 361, 254	Flavanone derivative like dichamanetin	1.66
8	**8.88**	192,267,307	323	220, 255, 192, 151	**Glabranine**	11.00
9	9.13	200,210,299	259	-	Non identifié	2.98
10	9.86	202,256,350	467	452, 449, 381, 295	Isoflavone derivative like alpinumisoflavone or parvisoflavone B	2.97
11	9.98	198,212,268	469	455, 411, 191	Limonine	1.30
12	10.19	202,256,354	307	263, 245, 203	Acide Fluvique	3.86
13	10.45	202,254,354	467	452, 449, 381, 295	Isoflavone derivative like alpinumisoflavone or parvisoflavone B	3.63
14	10.53	202,255,353	467	452, 381, 295	Isoflavone derivative like alpinumisoflavone or parvisoflavone B	8.02
15	10.72	202,253,351	363	348, 333, 280, 232	Flavone derivative like karanjachromene, but with an extra OMe	1.40
16	10.85	202,280,354	345	330, 315, 182, 154	Limocitrine	6.02
17	10.93	197,215,271,355	315	301, 271, 255	Quercetin 3-methyl ether	1.88
18	10.99	198,216,271, 330	563	545, 430, 269	Apiin	1.58
19	11.22	198,252,351	463	445, 301	Quercetin 3-*O*-glucoside	2.13
20	11.29	202,255,330	443	425, 267, 235, 193	1,3-O-Diferuloylglycerol	1.67
21	11.38	197,268,332	335	291, 229, 193, 179	6-Hydroxyampelopsin	1.65
22	11.62	202,226,25,351	453	435, 367, 218, 190	Flavone derivative like artonin E, could be oxydhydroartonin E, isomer 1	1.13
23	11.68	200,226,274, 331	493	359, 295	Acide Salvianolique A	1.52
24	11.79	204,224,270,350	453	435, 218, 190	Flavone derivative like artonin E, could be oxydhydroartonin E, isomer 2	4.27
25	11.96	192,228,270, 313	453	435, 317, 302, 299	Dérivés Flavanoniques tels que kushenol I or N	3.46
26	12.10	193,230,287, 342	337	191, 163, 155	Acide *p*-Coumaroylquinique	0.82
27	12.18	228,254,265, 318	469	451, 454, 383, 297	Dérivé Isoflavanone from alpinumisoflavone or parvisoflavone B	2.02
28	**12.53**	195,215,231, 327	315	179, 135	**Dérivés de l'acide caféique**	11.71
29	**15.80**	192,230,292, 317	371	209, 179	**Acide caféoylglucarique**	10.50
30	19.97	239,286,317	953	935, 851, 698, 503	Non identifié	2.15
31	20.62	246,291,310	595	577, 433, 287	Neoeriocitrine	0.82

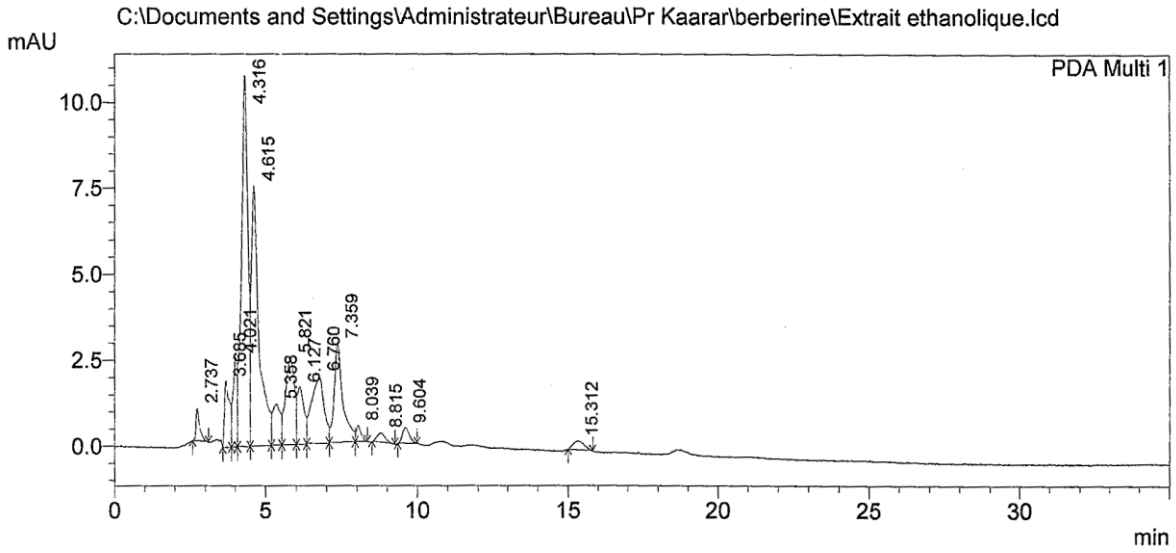


Figure 89: Chromatogramme HPLC-DAD de l'extrait hydro-éthanolique optimisé des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 28: Composition en alcaloïde de l'extrait HEO des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par HPLC-DAD

N	Rt (min)	λ(nm)	Compounds	Area	%
1	2.93	340	Berbérine	10884	1.84

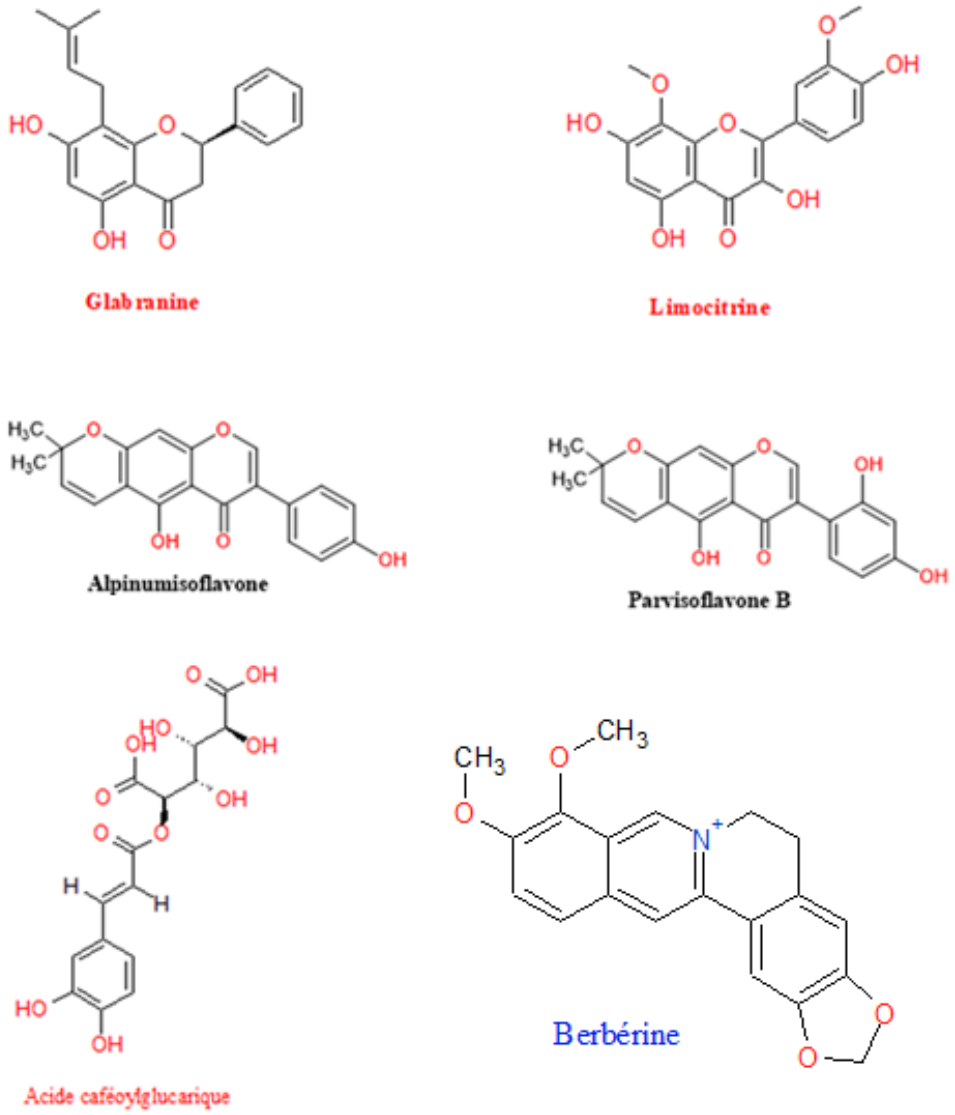


Figure 90: Structure des principaux composés identifiés dans l'extrait HEO *d'A.halimus* L. (ChemSketch)

A.2. Extrait alcaloïdique optimisé (EAO) :

Au niveau de l'extrait EAO (fig. 91 et tab. 29), parmi les 17 pics observés sur le chromatogramme, les composés majoritaires identifiés sont deux flavonols glycosidiques : **l'Atrisemibaccatoside A** (15,78 %) et la **Limocitrine-O-glucosyl-6''-acétate** (16,58 %).

Par ailleurs, deux alcaloïdes ont été identifiés par HPLC-DAD (fig. 92 et tab. 30) : la **berbérine**, alcaloïde majoritaire (4,52 %), et la palmatine (1,53 %).

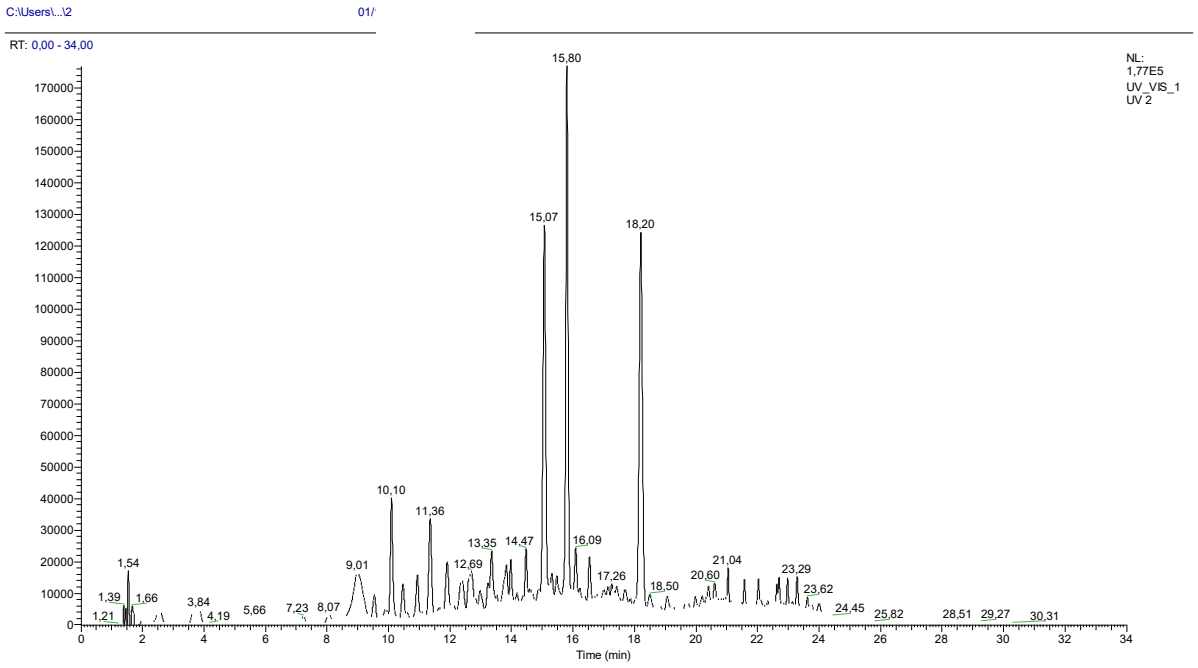


Figure 91: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait alcaloïdique optimisé des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 29: Composition de l'EAO des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	9.01	232, 290	494	-	Non identifié	7.83
2	10.10	227, 298	937	919, 775	Non identifié	4.20
3	10.47	233, 278, 328	563	545, 430, 269	Apiin	1.53
4	**10.94**	232, 262, 351	755	607, 477, 315, 299, 152	**Atrisemibaccatoside A**	**15.78**
5	11.36	232, 279, 308	525	-	Non identifié	3.85
6	11.91	231, 367	301	179, 151	Quercetine	2.29
7	12.40	236, 301	523		Non identifié	1.76
8	12.69	235, 282	419	313, 193	Dérivé de l'acide férulique	2.67
9	13.35	195, 225, 276	407	-	Non identifié	2.04
10	13.83	241, 295	597	-	Non identifié	1.72
11	13.98	240, 306	677	-	Non identifié	1.09
12	14.47	235, 301	507	492, 489, 477, 345, 182	Limocitrine-O-glucoside	1.25
13	15.07	220, 274	805	787, 703, 643	Non identifié	14.06
14	15.80	228, 292, 317	629	-	Non identifié	17.02
15	16.09	238, 286, 315	1031	-	Non identifié	1.81
16	16.54	206, 236, 272	971	-	Non identifié	1.29
17	**18.20**	201, 228, 276	549	507, 344, 329, 314	**Limocitrine-O-glucosyl-6"-acétate**	**16.58**

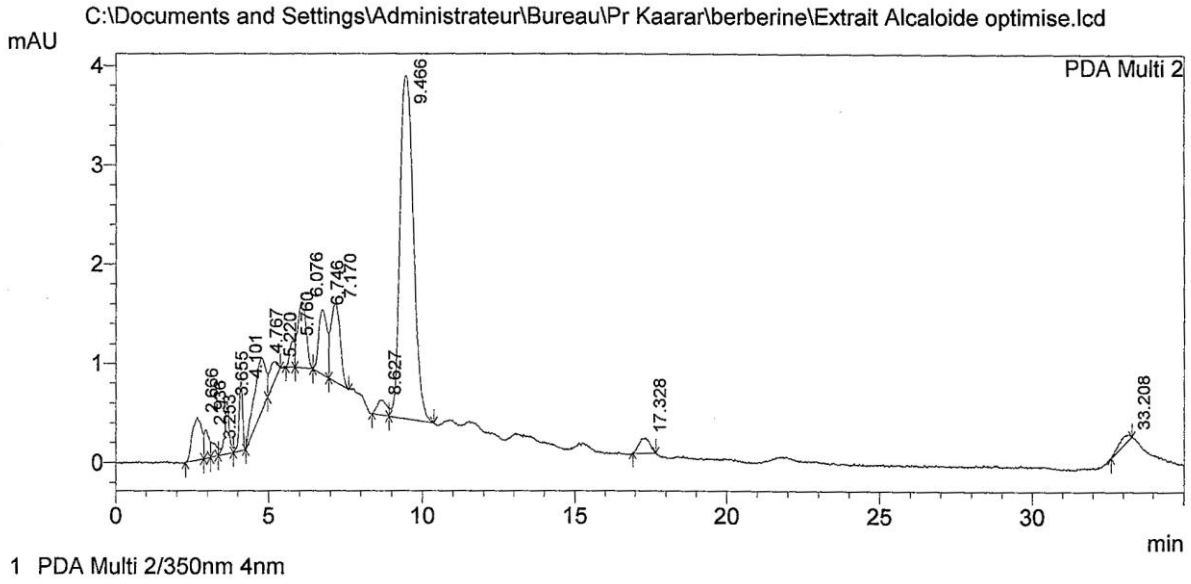


Figure 92: Chromatogramme HPLC-DAD de l'extrait alcaloïdique optimisé des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 30: Composition en alcaloïdes de l'extrait AO des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par HPLC-DAD

N	Rt (min)	λ(nm)	Compounds	Area	%
1	2.93	350	Berberine	9261	4.52
2	3.25	350	Palmatine	3139	1.53

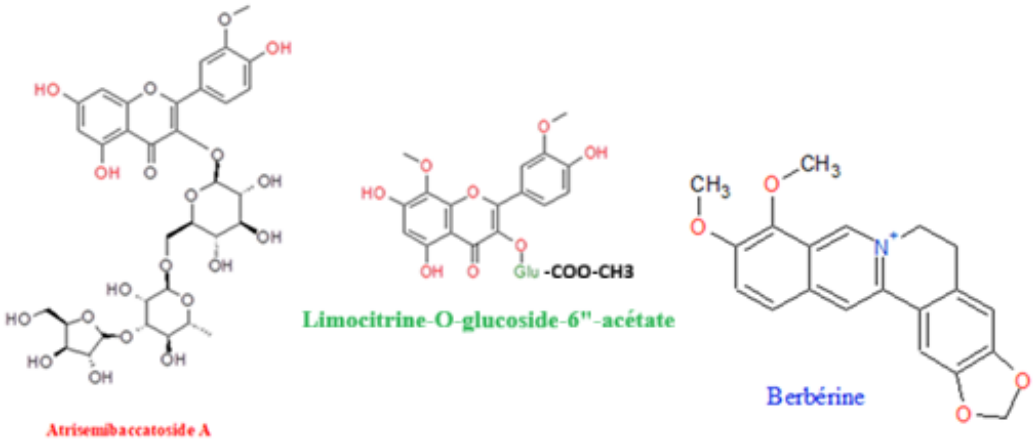


Figure 93*:* Structure des composés majoritaires identifiés dans EAO (ChemSketch)

Atrisemibaccatoside A : 3`-méthyléther quercetin-3-O-[β-D- xylopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl]-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] [200]

B. Les extraits en série à chaud (par Soxhlet) :

B.1. Extrait hexane : Au niveau de l'extrait hexane (fig 94 et tab 31), nous avons identifié 28 composés, le composé majoritaire est un alcool aliphatique, **octacosan-1-ol** à 17,5% suivie de son acide correspondant, **l'acide octacosanoique** à 12,12%.

On note la présence de composés terpéniques, à savoir les phytostérols représentés par stigmastérol (1.65%) et β-sitostérol (2.83%) ; ainsi que les triterpènes pentacycliques représentés par β-amyrine (3.61%) et lupeol (2.59%).

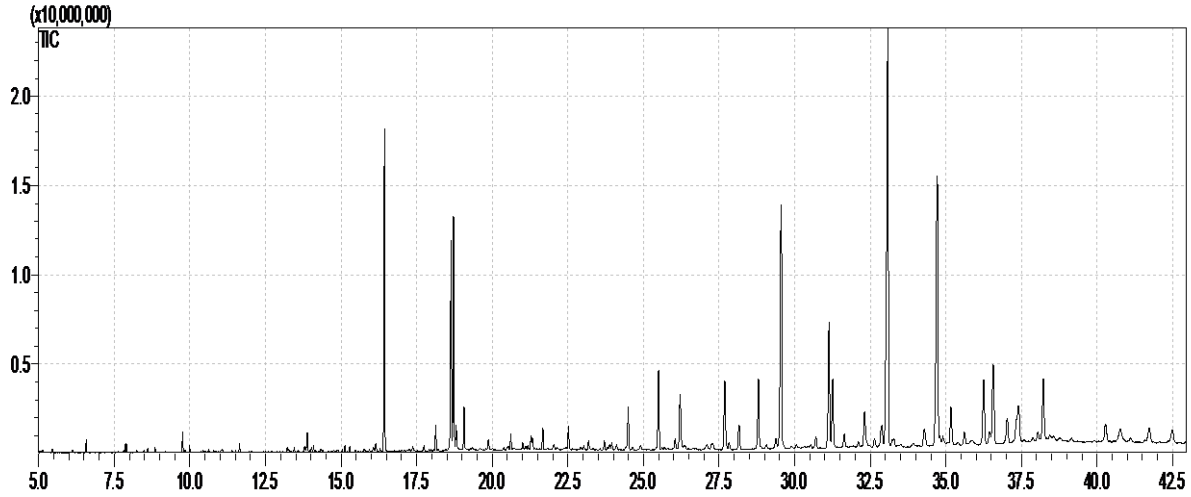


Figure 94: Chromatogramme GC-MS de l'extrait hexane des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 31: Composition de l'extrait hexane des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par GC-MS

N	Rt (min)	Compounds	%
1	13.88	Myristic acid	0.33
2	16.43	Palmitic acid	6.82
3	18.13	Phytol	0.52
4	18.64	Linoleic acid	4.66
5	18.72	Oleic acid	4.99
6	19.07	Stearic acid	0.87
7	20.61	Oleamide	0.34
8	21.67	Arachidic acid	0.52
9	22.52	Eicosane	0.52
10	24.49	Behenic acid	1.11
11	25.50	Octacosane	2.30
12	26.20	Tricosan1-ol	1.85
13	27.68	Lignoceric acid	2.43
14	28.16	Nonacosane	0.86
15	28.80	Tetratetracontane	2.28
16	29.54	Pentacosan-1-ol	9.18

Tableau 31 (suite) : Composition de l'extrait hexane des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par GC-MS

N	Rt (min)	Compounds	%
17	31.12	Hexacosanoic acid	4.66
18	31.25	Hexacosan-1-ol	2.50
19	32.31	Pentatriacontane	1.39
20	**33.06**	**Octacosan-1-ol**	**17.50**
21	**34.69**	**Octacosanoic acid**	**12.12**
22	35.16	Stigmasterol	1.65
23	36.24	β-Sitosterol	2.83
24	36.56	β-Amyrin	3.61
25	37.40	Lupeol	2.59
26	38.23	Triacontanoic acid	2.65
27	40.28	Hentriacontan-1-ol	0.88

B.2. Extrait dichlorométhane :

Au niveau de l'extrait dichlorométhane (fig 95 et tab 32), nous avons identifié 5 composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes.

La **catéchine** est présente avec un taux de 14,10% et les esters de l'acide caféique représentés par l'**acide dicaféoylquinique**, avec un taux de 9,42%.

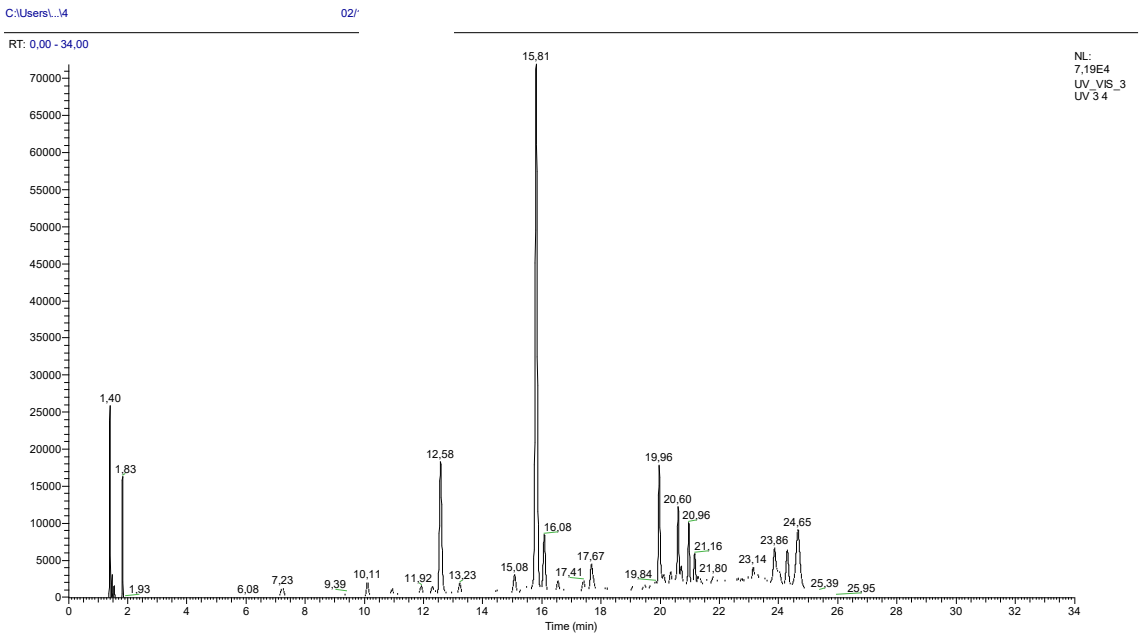


Figure 95 : Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait dichlorométhane des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 32: Composition de l'extrait dichlorométhane des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	**12.58**	242, 322	289	245, 205, 179	**Catechine**	**14.10**
2	15.81	231, 292, 317	412	-	Non identifié	51.50
3	16.08	241, 288, 357	329	314, 301, 299	Quercetin dimethyl ether	5.52
4	17.67	245, 281, 321	979	961, 935, 800, 621, 477, 315	Flavonoid derivtive	4.12
5	**19.96**	242, 288, 317	515	353, 335, 191, 179	**Dicaffeoyl quinic acid**	**9.42**
6	20.60	250, 312	729	-	Non identifié	6.01
7	20.96	251, 285, 317	603	-	Non identifié	3.69
8	21.16	261, 278, 321	695	677, 652, 609, 533, 430, 285	Hydroxygenistein diglucoside malonylated	2.08

B.3. Extrait acétate d'éthyle :

Au niveau de l'extrait acétate d'éthyle (fig 96 et tab 33), nous avons identifié 15 composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes, spécifiquement des dérivés flavanones tels que : la néoériocitrine (15,57%) et la glabranine (6%).

Dans la famille des acides phénoliques, les esters de l'acide caféique sont représentés par 1,3-O-diferuloylglycerol avec un taux de 8,21%.

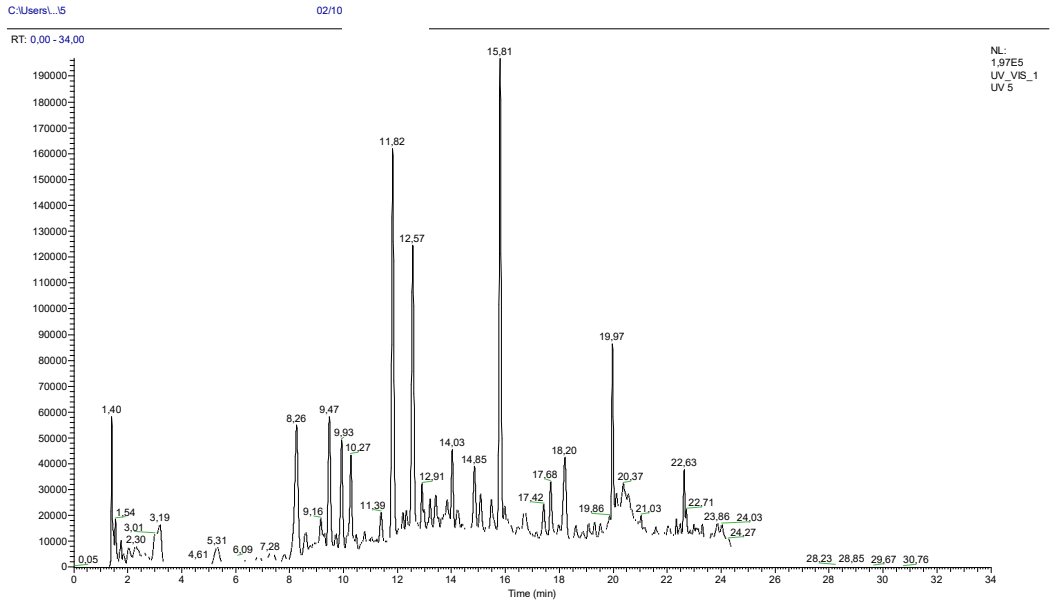


Figure 96: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 33: Composition de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	1.54	255	209	194, 191, 153	Sinapyl alcohol	1.26
2	8.26	194, 255, 329	443	425, 267, 235, 193	**1,3-O-Diferuloylglycerol**	**8.21**
3	9.47	218, 260, 301	323	220, 255, 192, 151	Glabranine	6.02
4	9.93	218, 274	387	369, 297, 225, 181	Dihydrosinapoyl-*O*-glucoside	4.35
5	10.27	202, 279	375	360, 345	Limocitrol	3.54
6	11.39	232, 277, 331	335	291, 229, 193, 179	6-Hydroxyampelopsin	1.34
7	11.82	228, 309	321	-	Non identifié	14.47
8	12.57	234, 320	257	-	Non identifié	11.32
9	12.91	234, 286, 315	569		Non identifié	1.54
10	13.21	237, 284, 301	653		Non identifié	1.02
11	13.42	196, 235, 279	305	219, 165, 137, 125	Epigallocatechin	1.63
12	14.03	236, 284, 317	677		Non identifié	2.67
13	14.22	281	287	151, 135, 107	Eriodictyol	0.91
14	14.85	202, 236, 340	307	263, 245, 203	Fluvic acid	2.76
15	15.08	235, 276	343	181, 163, 137	Dihydrocaffeoyl-*O*-glucoside	1.51
16	15.48	238, 284	521	503, 342	Non identifié	1.40
17	15.81	227, 292, 317	595	577, 433, 287	**Neoeriocitrin**	**15.57**
18	15.97	241, 284	312	-	Non identifié	0.59
19	16.73	254, 364	447	429, 357, 327, 297	Isoorientin	2.05
20	17.42	241, 282, 329	621	603, 559, 519, 477, 315	Isorhamnetin-3-*O*-[6''-HMG]-glucoside	1.63
21	17.68	239, 285, 320	623	315	Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside	2.60
22	18.20	197, 231, 276	639	621, 549, 537, 460	Non identifié	4.35
23	19.97	236, 286, 317	623	605, 533, 503, 413, 383	Lucenin-2 4'-methyl ether	4.33

HMG = 3-hydroxy-3-méthylglutaryl

B.4. Extrait acétonique :

Au niveau de l'extrait acétonique (fig 97), les composés n'ont pas pu être identifiés en raison de la dérive important de la ligne de base.

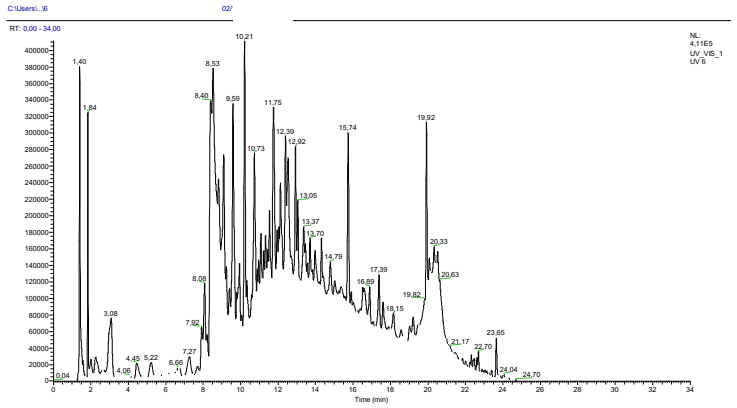


Figure 97: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétonique des feuilles *d'A.halimus* L.

B.5. Extrait méthanolique :

Au niveau de l'extrait méthanolique (fig 98 et tab 34), nous avons identifié 11 composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes, principalement des hétérosides de flavonols représentés par des glycosides de 3'-Méthoxyquercetine (**15.95**%), d'isorhamnétine (8.19%) et de quercétine (4.29%) et de génine type kaempférol (**7.63%)**, suivie de la famille des acides phénoliques, les esters de l'acide caféique qui sont majoritairement représentés par l'acide caféoylglucarique à **9.73**%.

Les isoflavones ont été également identifiés, des dérivés de l'alpinumisoflavone ou parvisoflavone B (6.75 % et 3.87%).

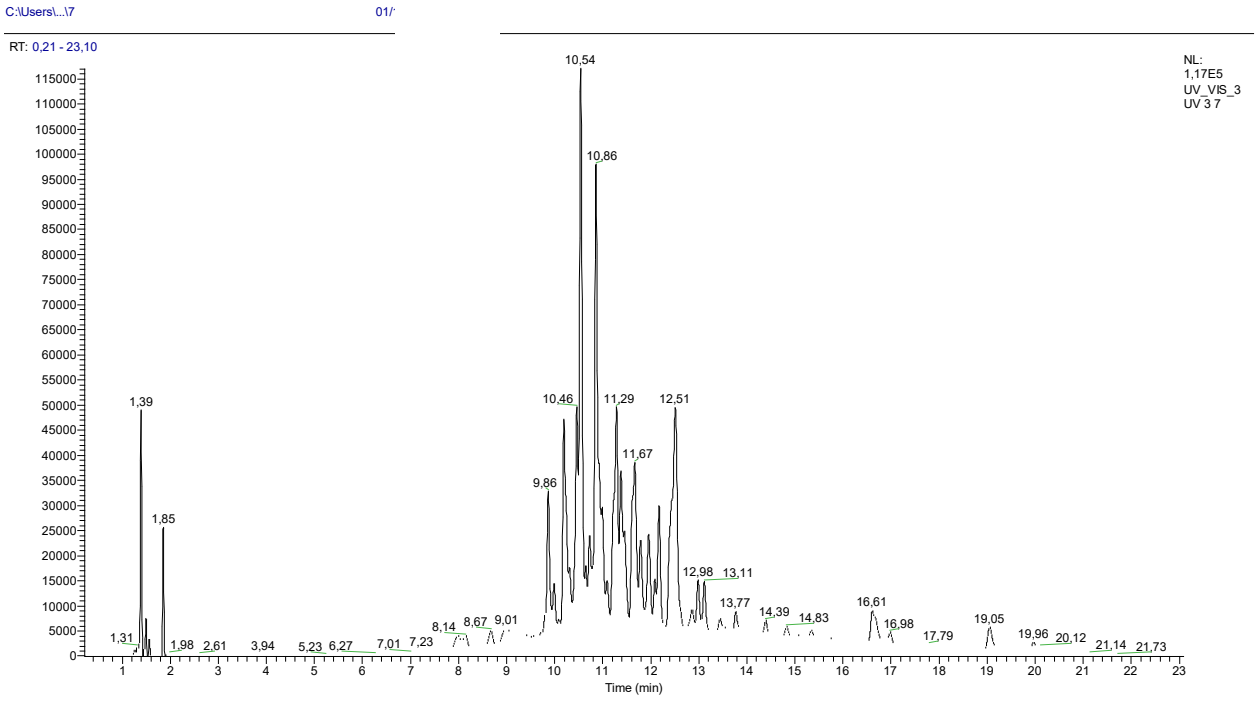


Figure 98: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait méthanolique des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 34: Composition de l'extrait méthanolique des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ (nm)	[M-H]⁻ (*m/z*)	MS² (*m/z*)	Identification	%
1	9.86	203, 256, 352	1035	771, 755, 622, 315, 179, 163	Quercetin-7-O-fucopyranosyl-(1-3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl-(1-4)-xylopyranoside derivative with caffeic acid	4.29
2	9.99	229, 267, 336	1005	-	Non identifié	1.55
3	10.19	202, 257, 350	285	162, 152, 124	Kaempferol	7.63
4	10.46	203, 254, 354	467	452, 449, 381, 295	Isoflavone derivative like alpinumisoflavone or parvisoflavone B	6.75
5	**10.54**	**203, 255, 354**	**1049**	**887, 785, 769, 315, 179, 163**	**3'-Methoxyquercetin-7-O-fucopyranosyl-(1-3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl-(1-4)-xylopyranoside derivative with caffeic acid**	**15.95**
6	10.73	203, 229, 252, 352	1019	1001, 929, 917, 840, 661	Flavonoid derivative	2.92
7	**10.86**	**202, 254, 354**	**873**	**855, 694, 515**	**Flavonoid derivative**	**15.07**
8	11.29	202, 255, 332	443	425, 267, 235, 193	1,3-O-Diferuloylglycerol	9.73
9	11.38	229, 267, 346	755	607, 477, 315, 299, 152	Atrisemibaccatoside A derivative 1	4.82
10	11.67	202, 254, 322	623	315	Isorhamnetine-3-*O*-rutinoside	8.19
11	11.96	233, 315	769	623, 477, 315, 299, 166	7-Methylquercetine-3-galactoside-6"-rhamnoside-3"'-rhamnoside	3.69
12	12.17	254, 352	469	451, 454, 383, 297	Isoflavanone derivative from alpinumisoflavone or parvisoflavone B	3.87
13	12.51	239, 329	785	-	Non identifié	12.65

B.6. Extrait aqueux :

Au niveau de l'extrait aqueux (fig 99), les composés n'ont pas pu être identifiés en raison de la dérive important de la ligne de base.

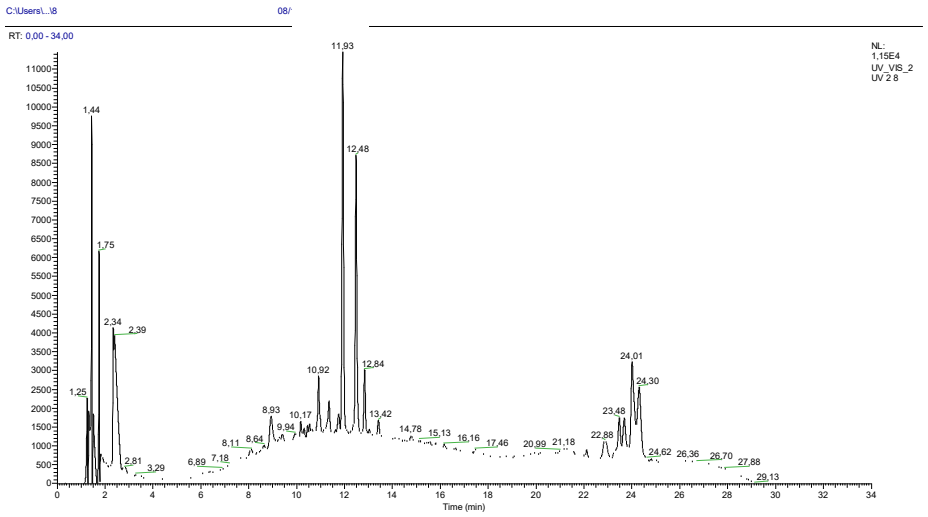


Figure 99: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait aqueux des feuilles *d'A.halimus* L.

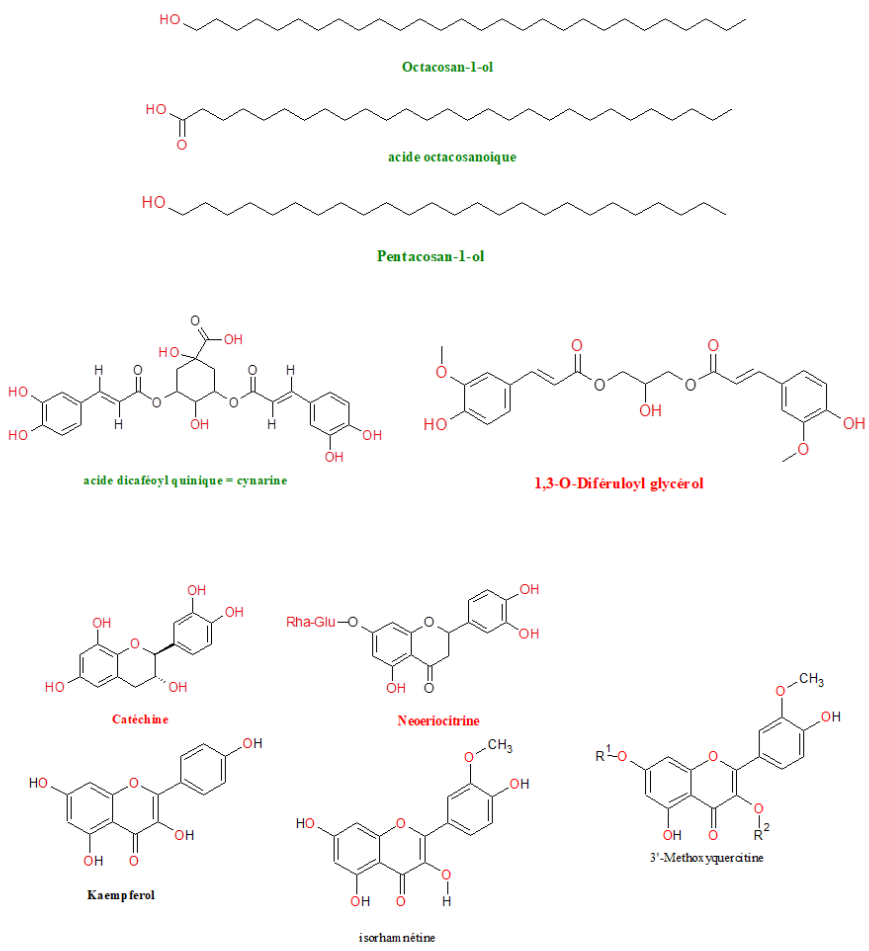


Figure 100: Structure des composés majoritaires identifiés dans les extraits obtenus par Soxhlet (ChemSketch)

R_1 : β-D-fucopyranosyl-(1→3)-β-D-glucopyranosyl ; **R_2** : β-xylopyranosyl-(1→4)-β-xylopyranoside

C. Les extraits en série à froid (par macération) :

C.1. Extrait hexane :

Au niveau de l'extrait hexane (fig 101 et tab 35), l'analyse par GC-MS a permis d'identifier 27 composés. Les composés majoritaires sont représentés par les acides gras (acide palmatique, oléique et linoléique), suivie par un alcool aliphatique, octacosan-1-ol à 10,12%.

On note la présence de composés terpéniques, à savoir les phytostérols représentés par stigmastérol (2.24%) et β-sitostérol (4.51%) ; et les triterpènes pentacycliques représentés par β-amyrine (2.19%) et lupeol (3.38%).

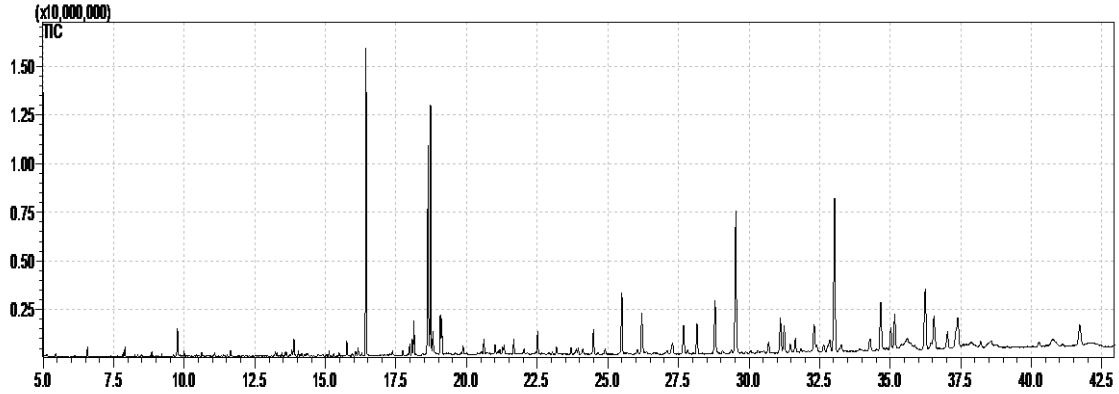


Figure 101 : Chromatogramme GC-MS de l'extrait hexane des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 35: Composition de l'extrait hexane des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par GC-MS

n	Rt (min)	Compounds	%
1	13.88	Myristic acid	0.62
2	15.76	Ethylpalmitate	0.54
3	**16.43**	**Palmitic acid**	**11.03**
4	18.13	Phytol	1.30
5	18.64	Linoleic acid	8.04
6	18.72	Oleic acid	9.13
7	19.07	Stearic acid	1.40
8	19.12	Tributylacetylcitrate	1.30
9	20.61	Oleamide	0.57
10	21.67	Arachidic acid	0.65
11	22.52	Eicosane	0.89
12	24.49	Behenic acid	1.19
13	25.50	Octacosane	3.30
14	26.20	Tricosan1-ol	2.43
15	27.68	Lignoceric acid	1.74
16	28.16	Nonacosane	1.66
17	28.80	Tetratetracontane	3.06
18	29.54	Pentacosan-1-ol	8.56

Tableau 35 (suite) : Composition de l'extrait hexane des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par GC-MS

n	Rt (min)	Compounds	%
19	31.12	Hexacosanoic acid	2.20
21	32.31	Pentatriacontane	1.81
22	**33.06**	**Octacosan-1-ol**	**10.12**
23	34.69	Octacosanoic acid	3.19
24	35.16	Stigmasterol	2.24
25	36.24	β-Sitosterol	4.51
26	36.56	β-Amyrin	2.19
27	37.40	Lupeol	3.38

C.2. Extrait dichlorométhane :

Au niveau de l'extrait dichlorométhane (fig 102 et tab 36), nous avons identifié 9 composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes, principalement des dérivés isoflavanones à 49%, secondairement on retrouve les dérivés flavonols méthoxylés (keampférol méthyl éther et quercétine diméthyl éther), et dans la famille des acides phénoliques les esters de l'acide caféique sont majoritaires (Acide caféoylglucarique, acide salvianolique A et dihydrosinapoyl-*O*-glucoside).

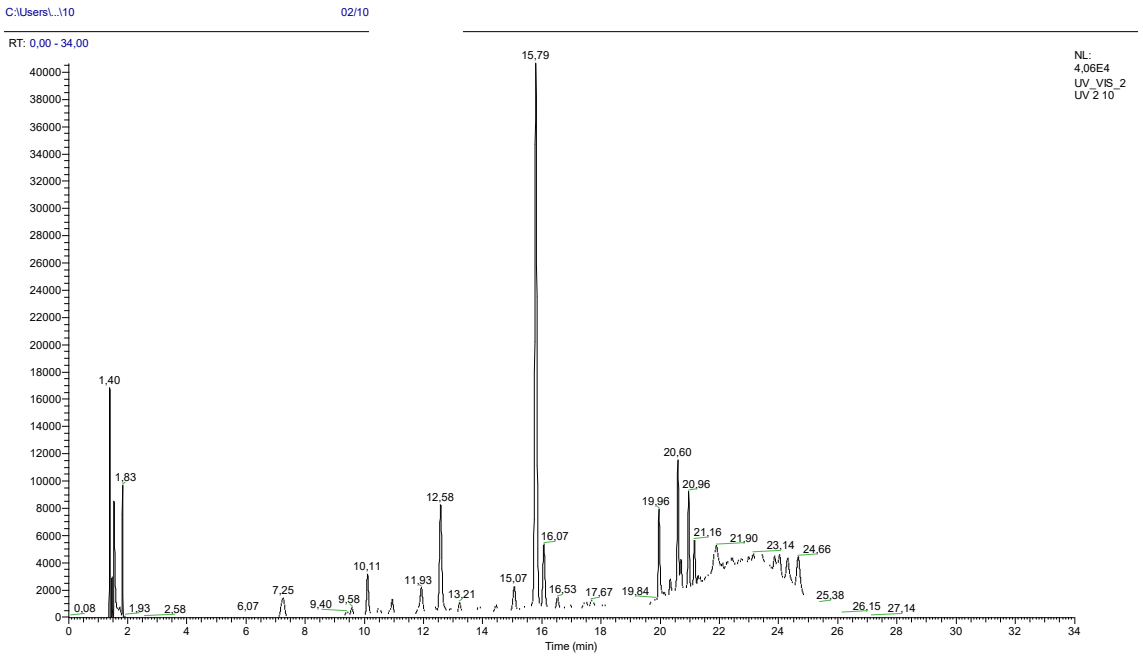


Figure 102 : Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait dichlorométhane des feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Tableau 36: Composition de l'extrait dichlorométhane des feuilles *d'Atriplex halimus* L. par UHPLC-MS

	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	7.25	226, 357	329	314, 301, 299	Quercetine dimethyl ether	2.89
2	10.11	300	387	225, 181	Dihydrosinapoyl-*O*-glucoside	3.46
3	11.93	307	367	193, 173	Acide Feruloyl quinique	1.34
4	**12.58**	**244, 297, 341**	**329**	**299**	**Kaempferol methoxy-methyl ether**	**10.11**
5	15.07	248, 276, 335	289	245, 205, 179	Catechine	2.41
6	**15.79**	**240, 293, 317**	**469**	**451, 454, 383, 297**	**Isoflavanone derivative from alpinumisoflavone or parvisoflavone B**	**49.01**
7	16.07	245, 287, 317	371	209, 179	Acide Caféoylglucarique	6.37
8	19.96	246, 284, 319	367	353, 311, 269	Flavonoid derivative	6.78
9	20.60	250, 313	361	343, 325, 181	Non identifié	8.35
10	20.96	252, 284, 316	493	359, 295	Acide Salvianolique A	5.66

C.3 Extrait acétate d'éthyle :

Au niveau de l'extrait acétate d'éthyle (fig 103 et tab 37), nous avons identifié 7composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes, les dérivés flavonols méthoxylés sont prédominant, représentés par la quercétine diméthyle éther et keampférol méthyl éther à 17,57 et 11,49% respectivement, secondairement des dérivés flavones à 19,12% et la 4'-méthylether lucénine 2 à 5.28%.

Dans la famille des acides phénoliques, les esters de l'acide caféique sont représentés par le dihydrosinapoyl-*O*-glucoside à 8,10%.

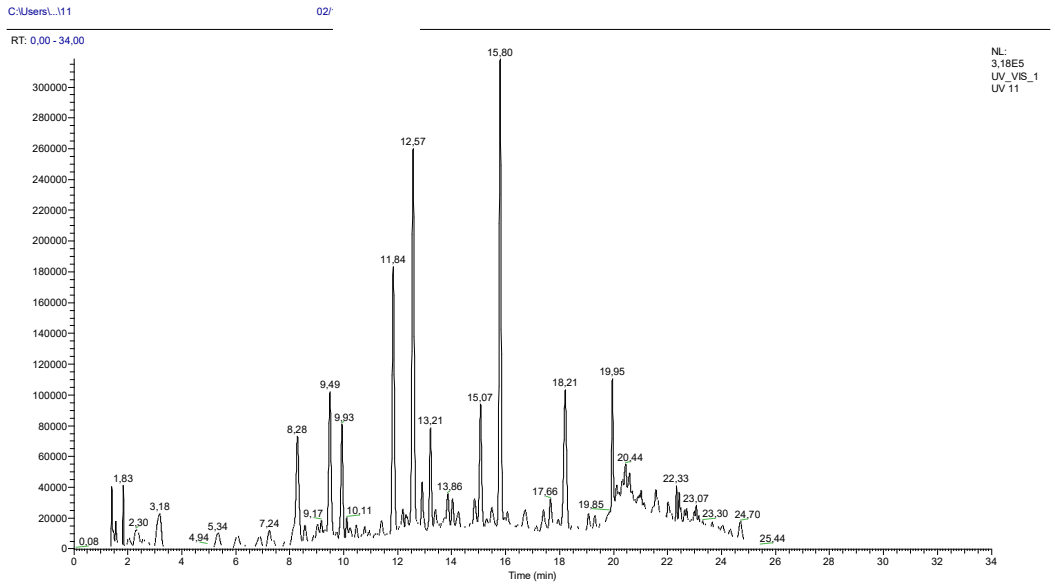


Figure 103: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles *d'A.halimus* L.

Tableau 37: Composition de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles *d'A.halimus* L. par UHPLC-MS

	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	3.18	196, 268	485	-	Non identifié	3.32
2	8.28	194, 275	387	225, 181	Dihydrosinapoyl-*O*-glucoside	8.10
3	9.49	218, 260, 357	329	314, 301, 299	Quercetin dimethyl ether	8.05
4	9.93	218, 274, 344	409		Non identifié	5.63
5	**11.84**	**227, 342**	**329**	**299**	**Kaempferol methoxy-methyl ether**	**11.49**
6	**12.57**	**219, 263, 359**	**329**	**314, 301, 299**	**Quercetin dimethyl ether**	**17.57**
7	12.90	232, 291, 316	279	-	Non identifié	1.97
8	13.21	284, 328	287	151, 135, 107	Eriodictyol	4.51
9	15.07	192, 224, 274	347	-	Non identifié	6.43
10	**15.80**	**225, 292, 317**	**389**	**212, 206, 184**	**Flavone derivative**	**19.12**
11	18.21	199, 229, 275	691	673, 600, 589, 531	Non identifié	0.92
12	19.95	233, 286, 317	623	605, 533, 503, 413, 383	Lucenin-2 4'-methyl ether	5.28

C.4. Extrait acétonique :

Au niveau de l'extrait acétonique (fig 104 et tab 38), nous avons identifié 10 composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes, principalement des glycosides de flavonols représentés par l'Atrisemibaccatoside A à 16.34%, suivie d'un dérivé hydroxyflavanone prénylé représenté par la glabranine à 15.53%, et enfin des C-glucosides de flavones (4'-méthyléther lucénine-2 et Diosmetine-8-*C*-glucoside).

Dans la famille des acides phénoliques, ce sont les esters de l'acide caféique qui sont majoritairement représentés par l'acide caféoylglucarique à 12.83%.

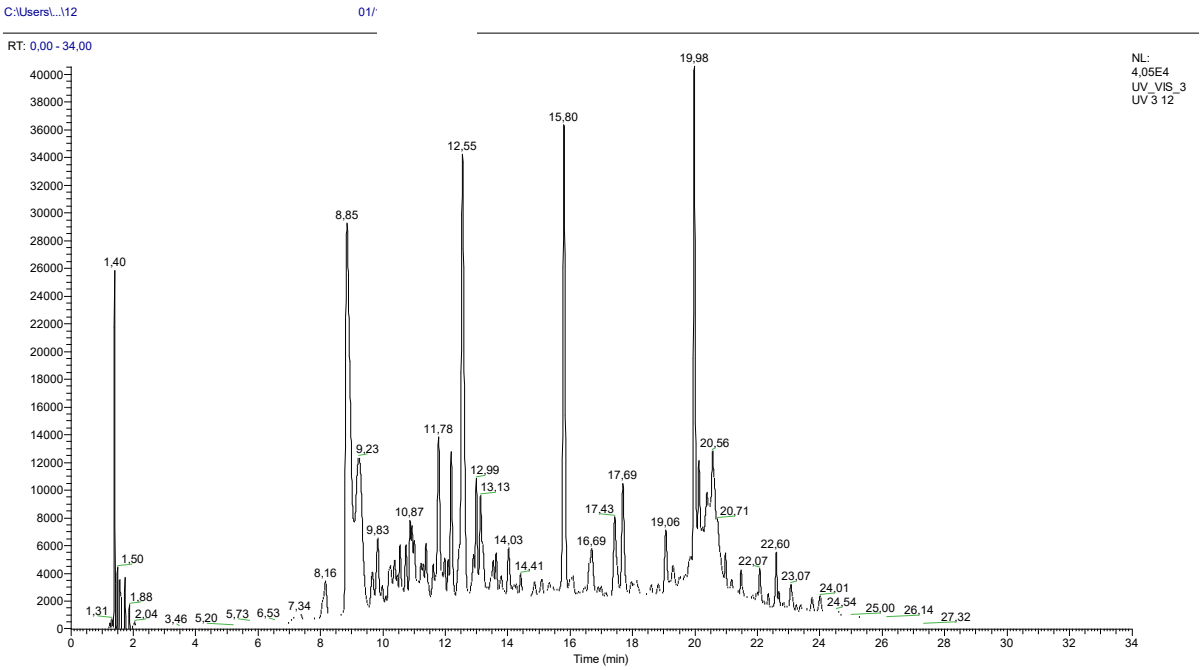


Figure 104: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait acétonique des feuilles *d'A.halimus* L.

Tableau 38: Composition de l'extrait acétonique des feuilles d'A.*halimus* L. par UHPLC-MS

	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	**8.85**	**209, 264, 308**	**323**	**255, 220, 192, 151**	**Glabranine**	**15.53**
2	9.23	206, 293	259	-	Non identifié	12.66
3	9.83	207	423	-	Non identifié	1.77
4	11.78	208, 309	321	-	Non identifié	4.44
5	12.19	208, 286, 325	609	459, 325, 301	Hesperidin	3.21
6	**12.55**	**208, 264, 353**	**755**	**607, 477, 315, 299, 152**	**Atrisemibaccatoside A**	**16.34**
7	12.99	208, 256, 357	215	-	Non identifié	2.33
8	13.13	208, 256, 326	623	315	Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside	3.17
9	**15.80**	**192, 217, 293, 318**	**371**	**209, 179**	**Caffeoylglucaric acid**	**12.83**
10	16.69	215, 369	619	601, 537, 375	Limocitrol derivative	1.65
11	17.43	193, 218, 344	621	603, 559, 519, 477, 315	Isorhamnetin-3-*O*-[6''-HMG]-glucoside	2.92
12	17.69	218, 292, 329,	461	443, 371, 341, 299	Diosmetin-8-*C*-glucoside	3.63
13	19.06	370	333	-	Non identifié	1.81
14	**19.98**	**228, 288, 319**	**623**	**605, 533, 503, 413, 383**	**Lucenin-2 4'-methyl ether**	**10.69**

HMG = 3-hydroxy-3-méthylglutaryl

C.5. Extrait méthanolique :

Au niveau de l'extrait méthanolique (fig 105 et tab 39), nous avons identifié 14 composés, ces composés appartiennent majoritairement à la classe des flavonoïdes, principalement des dérivés de flavonols représentés par des glycosides de 3'-Méthoxyquercétine (10.62%) et de quercétine (6.84%) et juglanine (3-arabinofuranoside kaempférol), suivie d'un dérivé flavanone représenté par la glabranine à 7.32%.

Dans la famille des acides phénoliques, ce sont les esters de l'acide caféique qui sont représentés par le 1,3-O-diféruloylglycérol à 5.19%.

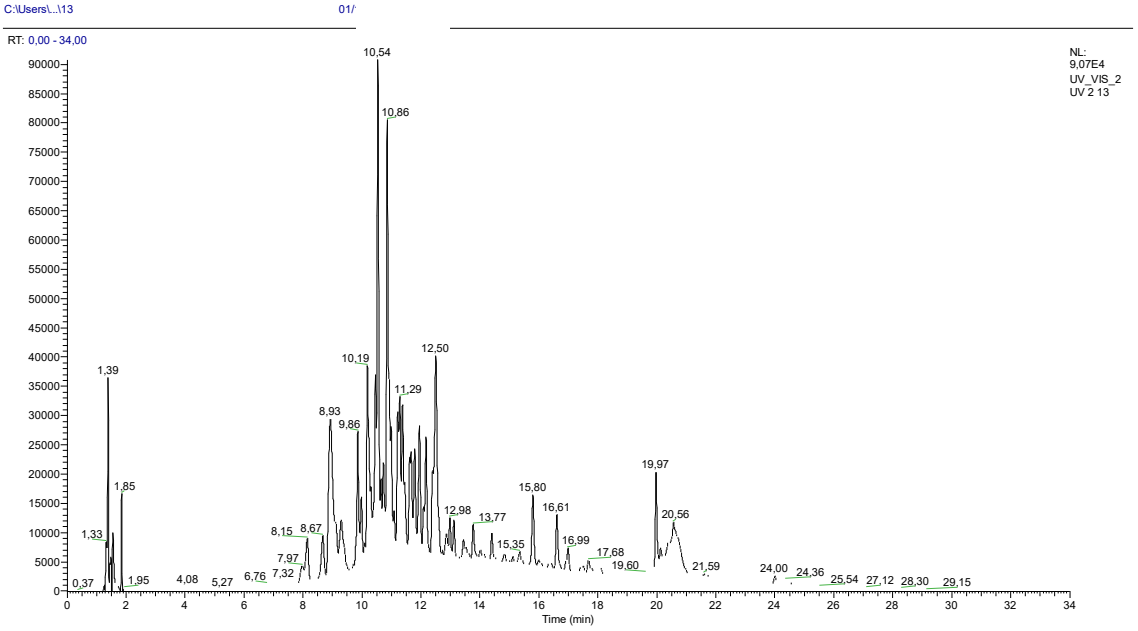


Figure 105: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.*halimus* L.

Tableau 39: Composition de l'extrait méthanolique des feuilles *d'A.halimus* par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	8.15	205, 319	425	382, 338, 299, 181, 117	Hispidulin derivative	3.56
2	8.67	203, 355	417	400, 387, 285, 269, 152, 124	Juglanin	3.27
3	8.93	206, 265, 308	323	255, 220, 192, 151	Glabranine	7.32
4	9.30	205, 294	259	-	Non identifié	6.60
5	9.86	204, 256, 354	1035	771, 755, 622, 315, 179, 163	Quercetin-7-O-fucopyranosyl-(1-3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl-(1-4)-xylopyranoside derivative with caffeic acid	6.84

Tableau 39 (suite) : Composition de l'extrait méthanolique des feuilles *d'A.halimus* L. par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ (nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
6	9.98	203, 267, 338	1005	-	Non identifié	0.11
7	10.19	202, 256, 354	307	263, 245, 203	Fluvic acid	0.68
8	10.46	204, 254, 355	467	452, 381, 295	Isoflavone derivative like alpinumisoflavone or parvisoflavone B	0.65
9	**10.54**	**203, 255, 354**	**1049**	**887, 785, 769, 315, 179, 163**	**3'-Methoxyquercetin-7-O-fucopyranosyl-(1-3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl-(1-4)-xylopyranoside derivative with caffeic acid**	**10.62**
10	10.86	202, 255, 354	653		Non identifié	7.29
11	11.22	205, 264, 345	755	607, 477, 315, 299, 152	Atrisemibaccatoside A derivative 1	0.53
12	11.29	204, 255, 333	443	425, 267, 235, 193	1,3-O-Diferuloylglycerol	5.19
13	11.37	203, 267, 347	755	607, 477, 315, 152	Atrisemibaccatoside A derivative 2	3.23
14	11.67	204, 254, 325	623	315	Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside	2.07
15	11.79	205, 253, 359	887	623, 608, 579, 460, 432, 314, 298	3'-Methoxyquercetin-7-*O*-fucopyranosyl-(1-3)-glucopyranosyl-3-*O*-xylopyranosyl-(1-4)-xylopyranoside	1.09
16	11.95	204, 267, 316	785	-	Non identifié	1.69
17	12.17	203, 254, 353	609	463, 447, 301	Quercetin-3-*O*-rutinoside	1.31
18	12.50	205, 329	785	-	Non identifié	10.09

C.6. Extrait aqueux :

Au niveau de l'extrait aqueux (fig 106 et tab 40), on observe une composition particulière, nous avons identifié 2 composés majoritaires, ces composés appartiennent à la classe des flavonoïdes, spécifiquement des dérivés isoflavonoides représentés par **l'équol** un hydroxyisoflavane à 20.43%, et par la **genisteine-4',7-*O*-diglucoside dimalonylate** à 12.3%, les autres composés n'ont pas pu être identifiés.

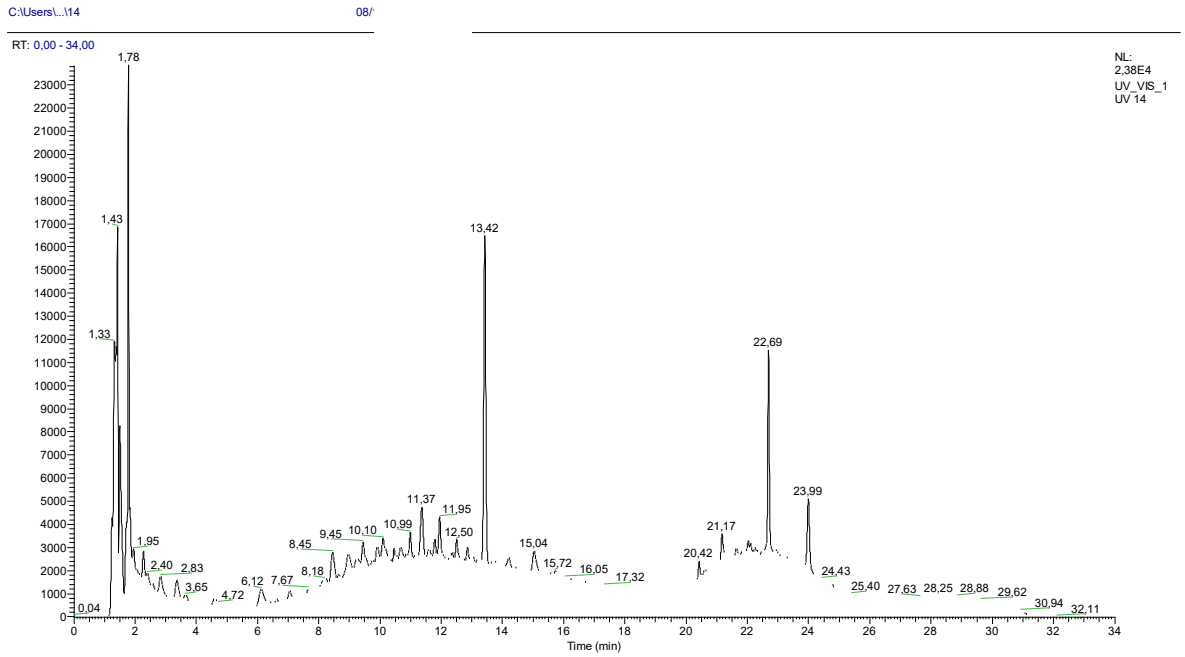


Figure 106: Chromatogramme UHPLC-MS de l'extrait aqueux des feuilles *d'A.halimus* L.

Tableau 40: Composition de l'extrait aqueux des feuilles *d'Atriplex halimus* par UHPLC-MS

N	Rt (min)	λ(nm)	$[M-H]^-$ (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identification	%
1	1.78	205, 262	217	-	Non identifié	28,27
2	**13.42**	**209, 286**	**241**	**135, 121, 119, 93**	**Equol**	**20,43**
3	**22.69**	**278, 310**	**765**	**473, 431, 269**	**Genistein 4',7-*O*-diglucoside dimalonylated**	**12,30**
4	23.99	290, 384	1001	983, 899, 839	Non identifié	8,97

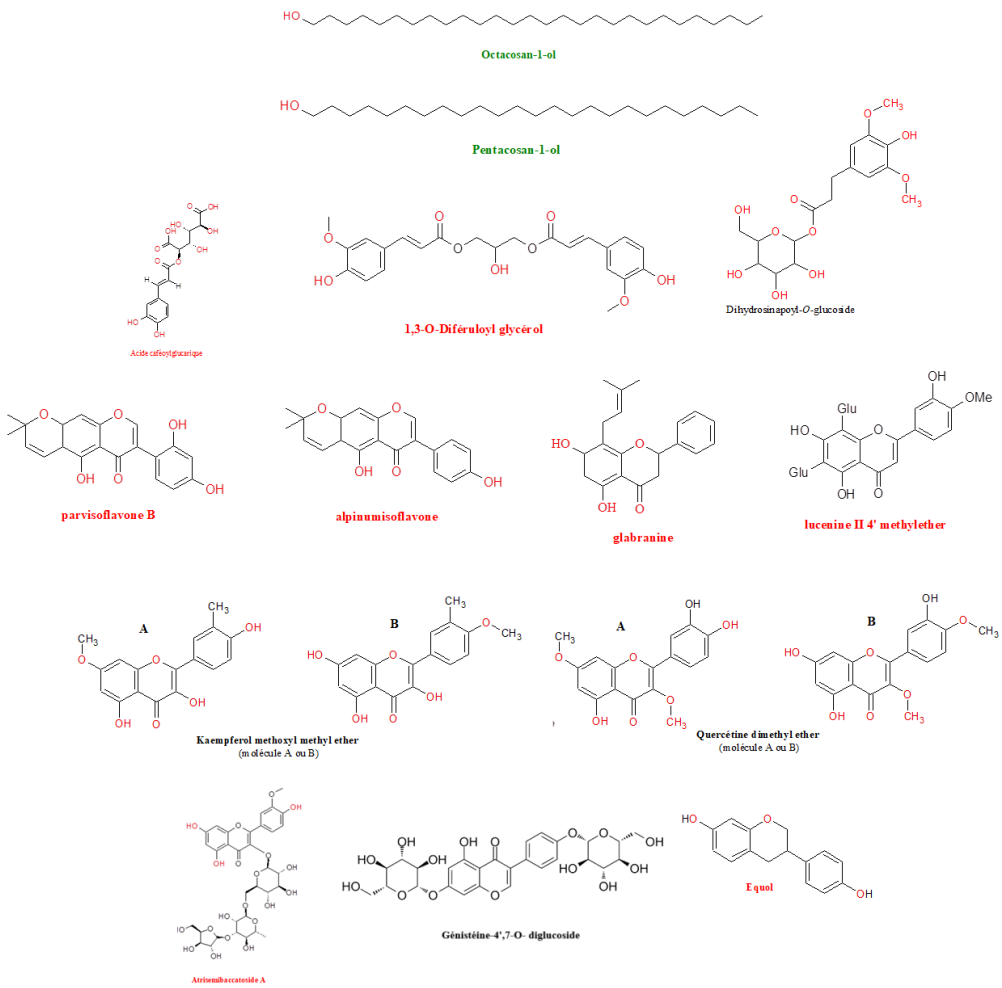


Figure 107: Structure des composés majoritaires identifiés dans l'extraction en série par macération (ChemSketch)

3.4. Analyses quantitatives :

La détermination de la teneur en eau et la teneur en cendre totale des feuilles *d'Atriplex halimus* L. récoltées sont des paramètres de contrôles physico-chimiques essentiels qui caractérisent la plante étudiée, les résultats sont présentés dans le tableau 41.

Tableau 41: Résultats de la teneur en eau et en cendre totale des différentes récoltes des feuilles d'*A.halimus* L.

Echantillon	2021	2022	2023	Moyenne
Teneur Eau %	8,42	8,9	9,9	9,07±0,75
Cendre Totale%	25	25,4	29,03	26,47±2,21

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tanins condensés et de la berbérine sont calculées à partir des équations de régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage (annexe VI) exprimées respectivement en mg équivalent d'acide gallique, mg équivalent quercétine, mg équivalent catéchine/g et mg équivalent de berbérine/g de d'extrait sec.

Les résultats des rendements et teneurs en composés bioactifs obtenus lors des extractions optimisées sont exposés au niveau du tableau 42.

Nous observons des teneurs nettement supérieures en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés dans l'extrait hydro-éthanolique optimisés par rapport à l'extrait alcaloïde optimisé. En revanche, la teneur en berbérine de l'extrait alcaloïde optimisé est supérieure de 10 fois à celle de l'extrait hydro-éthanolique optimisé.

Tableau 42: Teneurs en composés bioactifs des extraits optimisés d'*A.halimus* L.

Extrait	R %	Polyphénols mg EAG/g	Flavonoïdes mg EQ/g	TC mg EC/g	Berbérine mg EB/g
Extrait HEO	39,63	65,57 ± 3,05	41,78 ± 0,13	2,445 ± 0,73	2,5 ± 0,11
EAO	0,066	4,2 ± 0,37	0,11 ± 0,02	0,84 ± 0,15	26,93 ± 1,47

HEO : hydro-éthanolique optimisé ; EAO : extrait alcaloïde optimisé ; R : rendement ; TC : tanins condensés

n = 3 (nombre de mesures expérimentales)

Concernant les teneurs en composés phénoliques bioactives pour les extractions en série, les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés sont supérieurs au niveau des extraits obtenus par Soxhlet pour les différents solvants (tableau 43).

Nous constatons aussi, au niveau de l'extraction à chaud par Soxhlet, l'extrait acétonique est la fraction la plus riche en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) par rapport aux autres extraits de la série.

Par contre, au niveau de l'extraction à froid par macération, c'est l'extrait acétate d'éthyle qui est le plus riche en composés phénoliques par rapport aux autres extraits de la série.

Tableau 43: Teneurs en composés phénoliques de l'extraction en série d'A.*halimus* L.

Extrait		R %	Polyphénols mg EAG/g	Flavonoïdes mg EQ/g	TC mg EC/g
Extraction à chaud	Extrait hexane	2,04	30,57 ± 0,09	32,17 ± 0,32	5,88 ± 0,32
	Extrait dichlorométhane	1,12	39,047 ± 2,34	35,6 ± 0,17	5,66 ± 0,8
	Extrait acétate d'éthyle	0,29	79,89 ± 0,53	55,21 ± 0,46	17,06 ± 1,76
	Extrait acétone	0,61	127,61 ± 1,1	79,87 ± 0,5	24,83 ±1,89
	Extrait méthanolique	10	21,43 ± 0,09	10,6 ± 0,1	3,8 ±0,007
	Extrait aqueux	14,49	13,81 ± 0,24	9,58 ± 0,05	6,57 ± 0,02
Extraction à froid	Extrait hexane	5,35	9,65 ± 0,49	7,4 ± 0,02	4,47 ± 0,59
	Extrait dichlorométhane	1,49	26,7 ± 3,78	14,18 ± 0,92	4,94 ± 0,34
	Extrait acétate d'éthyle	1,06	61,75 ± 0,81	50,93 ± 0,99	8,64 ± 1,94
	Extrait acétone	18,13	55,99 ± 0,27	31,08 ± 0,007	9,24 ± 0,14
	Extrait méthanolique	14,59	10,13 ± 0,91	5,2 ± 0,04	1,15 ± 0,06
	Extrait aqueux	5,35	9,65 ± 0,49	7,4 ± 0,02	2,47 ± 0,59

R : rendement ; TC : : tanins condensés ; n = 3 (nombre de mesures expérimentales)

III.4. Evaluation *in silico* :

Les substances naturelles sélectionnées pour l'étude *in silico*, ont été choisies par rapport à leur abondance dans les différents extraits (un taux > 10%).

Les composés les plus concentrés sont susceptibles de contribuer significativement aux activités biologiques et pharmacologiques observées des extraits de plantes.

Aussi, une sélection qualitative de certains composés mineurs qui nous ont paru pertinents vu leurs structures particulières, pouvant également expliquer le potentiel pharmacologique des extraits de la plante.

Par conséquent, les composés retenus pour l'étude *in silico* sont représentés dans le tableau 44 ; la structure et les SMILES des molécules sont générés par Pubchem pour les molécules déjà décrites dans la littérature, les molécules non décrites dans Pubchem sont dessinées et leur smiles générés par SwissDrugDesign.

Tableau 44: Structures et SMILES des molécules évaluées *in silico d'Atriplex halimus L.*

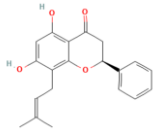
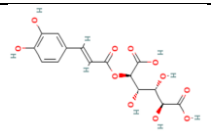
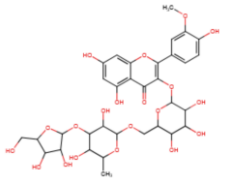
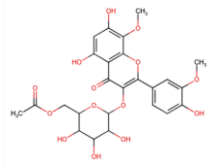
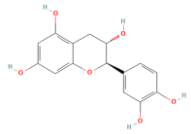
Nom de la molécule	Structure	SMILES
1 : Glabranine		CC(=CCC1=C2C(=C(C=C1O)O)C(=O)C[C@H](O2)C3=CC=CC=C3)C
2 : Acide caféoylglucarique		C1=CC(=C(C=C1/C=C/C(=O)O[C@H]([C@H]([C@@H]([C@@H](C(=O)O)O)O)O)O)C(=O)O)O)O
3 : Atrisembaccatoside A		COC1=CC(=CC=C1O)C1=C(OC2OC(COC3OC(C)C(O)C(OC4OC(CO)C(O)C4O)C3O)C(O)C(O)C2O)C(=O)C2=C(O)C=C(O)C=C2O1
4 : Limicitrine-3-O-glucosiyl 6''-acétate		COc1cc(ccc1O)c1oc2c(OC)c(O)cc(c2c(=O)c1OC1OC(COC(=O)C)C(C(C1O)O)O)O
5 : Catéchine		C1[C@@H]([C@H](OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O

Tableau 44 (suite) : Structures et SMILES des molécules évaluées *in silico d'Atriplex halimus L.*

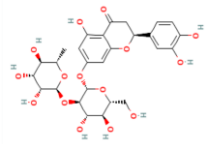
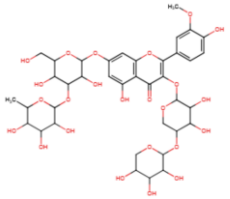
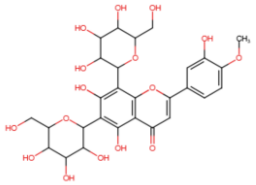
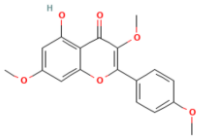
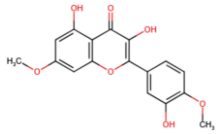
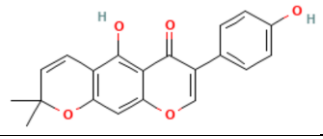
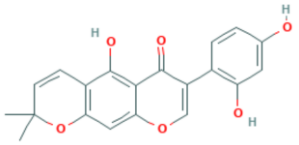
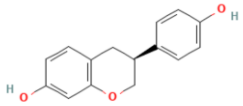
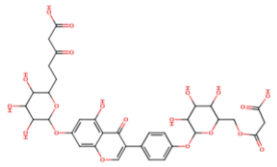
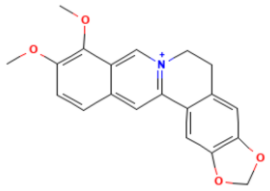
Nom de la molécule	Structure	SMILES
6 : Néoeriocitrine		C[C@H]1[C@@H]([C@H]([C@H]([C@@H](O1)O[C@@H]2[C@H]([C@@H]([C@H](O[C@H]2OC3=CC(=C4C(=O)C[C@H](OC4=C3)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)CO)O)O)O)O)O
7: 3'-Méthoxyquercetine-7-O fucopyranosyl-(1→3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl-(1→4)-xylopyranoside		COC1=CC(=CC=C1O)C1=C(OC2OCC(OC3OCC(O)C(O)C3O)C(O)C2O)C(=O)C2=C(O1)C=C(OC1OC(CO)C(O)C(OC3OC(C)C(O)C(O)C3O)C1O)C=C2O
8: Lucénine 2-4'-méthyléther		COC1=CC=C(C=C1O)C1=CC(=O)C2=C(O1)C(C1OC(CO)C(O)C(O)C1O)=C(O)C(C1OC(CO)C(O)C(O)C1O)=C2O
9: Kaempferol-3,7,4'- triméthyléther		COC1=CC=C(C=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)OC)O)OC
10: Quercétine-4',7-diméthyléther		COC1=CC2=C(C(O)=C1)C(=O)C(O)=C(O2)C1=CC(O)=C(OC)C=C1

Tableau 44 (suite) : Structures et SMILES des molécules évaluées *in silico d'Atriplex halimus L.*

Nom de la molécule	Structure	SMILES
11: Alpinumisoflavone		CC1(C=CC2=C(O1)C=C3C(=C2O)C(=O)C(=CO3)C4=CC=C(C=C4)O)C
12: Parvisoflavone B		CC1(C=CC2=C(O1)C=C3C(=C2O)C(=O)C(=CO3)C4=C(C=C(C=C4)O)O)C
13: Equol		C1[C@H](COC2=C1C=CC(=C2)O)C3=CC=C(C=C3)O
14 : Genisteine-4',7-O-diglucoside dimalonylate		OC1C(O)C(CCC(=O)CC(O)=O)OC(OC2=CC(O)=C3C(OC=C(C3=O)C3=CC=C(OC4OC(COC(=O)CC(O)=O)C(O)C(O)C4O)C=C3)=C2)C1O
15 : Berbérine		COC1=C(C2=C[N+]3=C(C=C2C=C1)C4=CC5=C(C=C4CC3)OCO5)OC

4.1. Prédiction des cibles :

Afin d'explorer les mécanismes d'action potentiels des composés naturels de *l'Atriplex halimus* L., une prédiction des cibles protéiques à l'aide de plusieurs serveurs *in silico* (Netinfer, SwissTargetPrediction et pharmacologybrowser2) a été réalisée.

Les résultats obtenus sont synthétisés au niveau du tableau 45, ils regroupent les principales cibles prédites avec les scores d'affinités et les probabilités associées les plus élevés.

Parmi les cibles prédites, trois cibles nous paraissent pertinentes vu leurs implications dans les maladies endocriniennes et hormonodépendantes, à savoir : **les récepteurs aux estrogènes** (ESR 1et 2) et **l'aromatase** (CYP19A1).

L'ensemble des molécules sélectionnées, parmi les composés phénoliques, ont des probabilités de prédiction plus ou moins élevés vis-à-vis de ces cibles, principalement : la glabranine, néoériocitrine, kaempferol-3,7,4'- triméthyléther, quercétine-4',7-diméthyléther et équol.

Tableau 45: Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'Atriplex halimus* L.

Glabranine			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Estrogen receptor	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,068
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,064
Amine oxidase [flavin-containing] B	MAOB	Flavin monoamine oxidase family	0,054
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450 family	0,05
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0.58
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0.56
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0.54
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	Nuclear receptor	0.36
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Primary active transporter	0.31
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	Enzyme	0.23
Testis-specific androgen-binding protein	SHBG	Secreted protein	0.18
Carboxylesterase 2	CES2	Enzyme	0.16
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	0.14
Monoamine oxidase B	MAOB	Oxidoreductase	0.14
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	1
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	2
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	3
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Primary active transporter	4
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTP1B	phosphatase	5
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	Nuclear receptor	6
Monoamine oxidase B	MAOB	Oxidoreductase	7
Peroxisome proliferator-activated receptor alpha	PPARA	Nuclear receptor	8
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	9
Butyrylcholinesterase	BCHE	Hydrolase	10

Tableau 45(suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

Acide caféoylglucarique			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Aminopeptidase B	RNPEP	Peptidase M1 family	4.045
G-protein coupled receptor member X2	MRGPRX2	G-protein coupled receptor 1 family	3.36
Mu-type opioid receptor	OPRM1	G-protein coupled receptor 1 family	2.895
Leukotriene B4 receptor 1	LTB4R	G-protein coupled receptor 1 family	2.384
Delta-type opioid receptor	OPRD1	G-protein coupled receptor 1 family	2.282
Glutamate carboxypeptidase 2	FOLH1	Peptidase M28 family	1.998
Glycogen phosphorylase	PYGL	Glycogen phosphorylase family	1.618
Histone deacetylase 1	HDAC1	Histone deacetylase family	1.612
Cannabinoid receptor 2	CNR2	G-protein coupled receptor 1 family	1.589
Squalene synthase	FDFT1	Phytoene/squalene synthase family	1.568
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Beta amyloid A4 protein	APP	Membrane receptor	0.166
Matrix metalloproteinase 13	MMP13	Protease	0.149
Matrix metalloproteinase 12	MMP12	Protease	0.149
Liver glycogen phosphorylase	PYGL	Enzyme	0.117
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	0.109
Aldo-keto reductase family 1 member B10	AKR1B10	Enzyme	0.109
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	Protease	0.109
Glucose-6-phosphate translocase	SLC37A4	Electrochemical transporter	0.109
Leukocyte elastase	ELANE	Protease	0.109
Protein kinase C delta (by homology)	PRKCD	Kinase	0.109
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	1
Carbonic anhydrase I	CA1	Lyase	2
Carbonic anhydrase IX	CA9	Lyase	3
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	4
Carbonic anhydrase XIV	CA14	Lyase	5
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	6
Aldo-keto reductase family 1 member B10	AKR1B10	Enzyme	7
Acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase	ACAT	Hydrolase	8
Coagulation factor X	CF10	Protease	9
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	10

Atrisembaccatoside A			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase family	0,083
Adenosine receptor A3	ADORA3	G-protein coupled receptor 1 family	0,078
Carbonic anhydrase 12	CA12	Alpha-carbonic anhydrase family	0,051
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,048
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,045
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0,033
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Neuromedin-U receptor 2	NMUR2	Family A G protein-coupled receptor	0.51
Alpha-2a adrenergic receptor	ADRA2A	Family A G protein-coupled receptor	0.51
Adrenergic receptor alpha-2	ADRA2C	Family A G protein-coupled receptor	0.51
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	0.51
Aldose reductase (by homology)	AKR1B1	Enzyme	0.28
NADPH oxidase 4	NOX4	Enzyme	0.15
Quinone reductase 2	NQO2	Enzyme	0.10
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	0.07
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	0.07
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	0.07
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Aldose reductase	AKR1B1	Oxydoreductase	1
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	2
Ribosomal protein S6 kinase alpha 3	ISPK-1	Kinase	3
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	4
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	5
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	6
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxydoreductase	7
Carbonic anhydrase I	CA1	Lyase	8
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	9
Carbonic anhydrase IX	CA9	Lyase	10

Tableau 45 (suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

Limocitrine 3 glucosyl acétate			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase	0,067
Adenosine receptor A3	ADORA3	G-protein coupled receptor 1	0,061
Carbonic anhydrase 12	CA12	Alpha-carbonic anhydrase	0,046
Carbonic anhydrase 2	CA2	Alpha-carbonic anhydrase	0,045
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,037
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,034
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450 family	0,028
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	0.31
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	0.31
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	0.31
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	0.31
Ribosomal protein S6 kinase alpha 3	RPS6KA3	Kinase	0.22
Neuromedin-U receptor 2	NMUR2	Family A G protein-coupled receptor	0.20
Alpha-2a adrenergic receptor	ADRA2A	Family A G protein-coupled receptor	0.20
Adrenergic receptor alpha-2	ADRA2C	Family A G protein-coupled receptor	0.20
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	0.20
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	0.13
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Aldose reductase	AKR1B1	Oxydoreductase	1
Ribosomal protein S6 kinase alpha 3	RPS6KA3	Kinase	2
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	3
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	4
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	5
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	6
Phosphodiesterase 5A	PDE5A	Phosphodiesterase	7
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	Oxydoreductase	8
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxydoreductase	9
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	10

Catéchine			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Carbonic anhydrase II	CA2	Alpha-carbonic anhydrase	0,32
Carbonic anhydrase XII	CA12	Alpha-carbonic anhydrase	0,29
Carbonic anhydrase IX	CA9	Alpha-carbonic anhydrase	0,29
Carbonic anhydrase I	CA1	Alpha-carbonic anhydrase	0,25
Carbonic anhydrase VII	CA7	Alpha-carbonic anhydrase	0,24
Carbonic anhydrase IV	CA4	Alpha-carbonic anhydrase	0,23
Carbonic anhydrase VI	CA6	Alpha-carbonic anhydrase	0,23
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,069
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,061
3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	HSD17B10	Short-chain dehydrogenases/reductases	0,036
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0,034
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
No similar actives found. No target predicted.			
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	1
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	2
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	3
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	4
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	5
Cyclooxygenase-1	COX1	Oxidoreductase	6
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	7
Carbonic anhydrase I	CA1	Lyase	8
Dopamine D2 receptor	DRD2	Membrane receptor	9
Dopamine D1 receptor	DRD1	Membrane receptor	10

Tableau 45 (suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

Neoeriocitrine			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450 family	0,081
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase	0,065
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,064
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,059
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0.85
Steroid 5-alpha-reductase 1	SRD5A1	Oxidoreductase	0.08
Sodium/glucose cotransporter 1	SLC5A1	Electrochemical transporter	0.08
Low affinity sodium-glucose cotransporter	SLC5A4	Electrochemical transporter	0.08
Sodium/glucose cotransporter 2	SLC5A2	Electrochemical transporter	0.08
Matrix metalloproteinase 13	MMP13	Protease	0.08
Matrix metalloproteinase 12	MMP12	Protease	0.08
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	0.08
Carbonic anhydrase I	CA1	Lyase	0.08
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	0.08
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	1
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	2
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	3
Carbonic anhydrase I	CA1	Lyase	4
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	5
Carbonic anhydrase IX	CA9	Lyase	6
Aldose reductase	AKR1B1	Oxidoreductase	7
Matrix metalloproteinase-2	CLG4A	Protease	8
Galectin-3	Gal-3	Other cytosolic protein	9
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	10

3'-méthoxyquercétine glycoside			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase	0,084
Adenosine receptor A3	ADORA3	G-protein coupled receptor 1	0,08
Pyruvate kinase PKM	PKM	Pyruvate kinase family	0,051
Carbonic anhydrase 12	CA12	Alpha-carbonic anhydrase	0,045
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,036
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0,033
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,033
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Neuromedin-U receptor 2	NMUR2	Family A G protein-coupled receptor	0.18
Alpha-2a adrenergic receptor	ADRA2A	Family A G protein-coupled receptor	0.18
Adrenergic receptor alpha-2	ADRA2C	Family A G protein-coupled receptor	0.18
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	0.18
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	0.16
NADPH oxidase 4	NOX4	Enzyme	0.14
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	0.14
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	0.14
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	0.14
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	0.14
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Aldose reductase	AKR1B1	Oxidoreductase	1
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	2
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	3
Ribosomal protein S6 kinase alpha 3	ISPK-1	Kinase	4
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	5
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	6
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxidoreductase	7
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	8
Interleukin-2	IL2	Secreted protein	9
Matrix metalloproteinase-2	MMP2	Protease	10

Tableau 45(suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

Lucenine 2-4'-méthyléther			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase family	0,055
Carbonic anhydrase 12	CA12	Alpha-carbonic anhydrase family	0,05
Adenosine receptor A3	ADORA3	G-protein coupled receptor 1 family	0,05
Sodium/glucose cotransporter 1	SLC5A1	Sodium:solute symporter	0,048
Sodium/glucose cotransporter 2	SLC5A2	Sodium:solute symporter	0,048
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450 family	0,034
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	Short-chain dehydrogenases/reductases	0,033
Estrogen receptor alpha	POLK	Nuclear hormone receptor	0,03
Estrogen receptor beta	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,03
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	ESR2	Short-chain dehydrogenases/reductases	0,028
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	0.13
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	0.07
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	0.07
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Aldose reductase	AKR1B1	Oxidoreductase	1
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	2
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	3
Sodium/glucose cotransporter 2	SLC5A1	Transporter	4
Telomerase reverse transcriptase	EST2	Transferase	5
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	6
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	Oxidoreductase	7
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	8
Sodium/glucose cotransporter 1	SLC5A1	Transporter	9
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxidoreductase	10

kaempférol-3,7,4'-triméthyléther			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Adenosine receptor A3	ADORA3	G-protein coupled receptor 1	0,036
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase	0,029
Estrogen receptor α	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,028
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450 family	0,027
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,027
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Adenosine A2a receptor	ADORA2A	A G protein-coupled receptor	0.54
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Primary active transporter	0.21
NADPH oxidase 4	NOX4	Enzyme	0.18
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	HSD17B2	Enzyme	0.11
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	Enzyme	0.11
Estrogen-related receptor alpha	ESRRA	Nuclear receptor	0.11
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	Kinase	0.10
Insulin receptor	INSR	Kinase	0.10
aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0.10
Androgen Receptor	AR	Nuclear receptor	0.10
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Primary active transporter	1
Adenosine A3 receptor	ADORA3	Membrane receptor	2
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	Kinase	3
Monoamine oxidase B	MAOB	Oxidoreductase	4
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	5
Sentrin-specific protease 7	SENP7	Protease	6
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	7
Beta amyloid A4 protein	ABPP	Membrane receptor	8
Cyclooxygenase-2	COX2	Oxidoreductase	9
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	10

Tableau 45(suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

quercétine-7,4'-diméthyléther			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Aurora kinase B	AURKB	kinase	0,049
Mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	kinase	0,042
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450 family	0,037
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	Short-chain dehydrogenases/reductases	0,033
Estrogen receptor alpha	POLK	Nuclear hormone receptor	0,03
Estrogen receptor beta	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,03
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	ESR2	Short-chain dehydrogenases/reductases	0,03
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	0.59
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxidoreductase	0.36
NADPH oxidase 4	NOX4	Enzyme	0.35
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	HSD17B2	Enzyme	0.14
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	Kinase	0.12
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0.11
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	Enzyme	0.11
Insulin receptor	INSR	Kinase	0.11
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear receptor	0.11
Estrogen-related receptor alpha	ESRRA	Nuclear receptor	0.10
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Primary active transporter	1
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	2
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	Oxidoreductase	3
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxidoreductase	4
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	5
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	6
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear receptor	7
Dopamine transporter	DAT	transporter	8
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	9
NADPH oxidase 4	NOX4	Oxidoreductase	10

Alpinumisoflavone			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,042
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,04
Epidermal growth factor receptor	EHMT2	Protein kinase	0,04
Aromatase	CYP 19A1	Cytochrome P450	0,028
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	0.097
Carbonic anhydrase XIII	CA13	Lyase	0.097
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	Phosphatase	0.097
Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	Oxidoreductase	0.097
Retinoic acid receptor alpha	RARA	Nuclear receptor	0.097
Phosphodiesterase 4D	PDE4D	Phosphodiesterase	0.097
Cytochrome P450 1A1	CYP1A1	Cytochrome P450	0.097
Serine/threonine-protein kinase AKT	AKT1	Kinase	0.097
Cyclooxygenase-1	PTGS1	Oxidoreductase	0.097
Norepinephrine transporter	SLC6A2	Electrochemical transporter	0.097
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	Oxidoreductase	1
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	2
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	3
Adenosine A2a receptor	ADORA2	Membrane receptor	4
Adenosine A1 receptor	ADORA1	Membrane receptor	5
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	6
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGRF	kinase	7
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Transporter	8
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTP1B	Phosphatase	9
Aromatase	CYP 19A1	Cytochrome P450	10

Tableau 45 (suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

Parvisoflavone			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Estrogen receptor beta	KCNH2	Nuclear hormone receptor	0,049
Estrogen receptor alpha	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,045
Epidermal growth factor receptor	ESR1	kinase	0,043
Aromatase	CNR1	Cytochrome P450	0,029
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Carbonic anhydrase VII	CA7	Lyase	0.1
Carbonic anhydrase XIII	CA13	Lyase	0.1
Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	Oxidoreductase	0.1
Retinoic acid receptor alpha	RARA	Nuclear receptor	0.1
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	0.1
Serine/threonine-protein kinase AKT	AKT1	Kinase	0.1
Phosphodiesterase 4D	PDE4D	Phosphodiesterase	0.1
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	Phosphatase	0.1
Thrombin and coagulation factor X	F10	Protease	0.1
Cyclooxygenase-2	PTGS2	Oxidoreductase	0.1
pharmacologybrowser 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	1
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	2
Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	Oxidoreductase	3
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	4
Monoamine oxidase A	ADORA1	Membrane receptor	5
Retinoic acid receptor alpha	RARA	Nuclear receptor	6
Dual-specificity tyrosine-phosphorylation regulated kinase 1A	DYRK	kinase	7
Monoamine oxidase B	MAOB	Oxidoreductase	8
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	9
Androgen Receptor	AR	Nuclear receptor	10

Equol			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,049
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,045
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0,029
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Arachidonate 15-lipoxygenase	ALOX15	Enzyme	0.22
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0.053
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear receptor	0.053
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear receptor	0.053
Estrogen-related receptor alpha	ESRRA	Nuclear receptor	0.053
Estrogen-related receptor beta	ESRRB	Nuclear receptor	0.053
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	HSD17B2	Enzyme	0.053
Glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B	Kinase	0.053
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	Kinase	0.053
Insulin receptor	INSR	Kinase	0.053
Glucagon receptor	GCGR	Family B G protein-coupled receptor	0.053
17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 14	HSD17B14	Enzyme	0.053
Pharmacology browse 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	1
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	2
Arachidonate 15-lipoxygenase	ALOX15	Oxidoreductase	3
Dopamine D2 receptor	DRD2	Membrane receptor	4
Dopamine D3 receptor	DRD3	Membrane receptor	5
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	6
Monoamine oxidase B	MAOB	Oxidoreductase	7
Dopamine D1 receptor	DRD1	Membrane receptor	8
Dopamine D5 receptor	DRD5	Membrane receptor	9
Cannabinoid CB2 receptor	CB-2	Membrane receptor	10

Tableau 45 (suite) : Liste des cibles prédites pour les molécules sélectionnées *d'A,halimus* L.

Génistéine-7,4'-diglucoside dimalonylate			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Macrophage metalloelastase	SLC6A3	Peptidase	0,079
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	MMP12	Tyrosyl-DNA phosphodiesterase	0,062
Epidermal growth factor receptor	EGFR	Kinase	0,042
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear hormone receptor	0,037
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear hormone receptor	0,036
Aromatase	CYP19A1	Cytochrome P450	0,033
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Interleukin-2	IL2	Secreted protein	0.052
Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	Oxidoreductase	0.052
TNF-alpha	TNF	Secreted protein	0.042
Aldose reductase	AKR1B1	Enzyme	0.042
Adenosine A1 receptor	ADORA1	Family A G protein-coupled receptor	0.042
Xanthine dehydrogenase	XDH	Oxidoreductase	0.042
Pharmacology browse 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
Interleukin-2	IL2	Secreted protein	1
Carbonic anhydrase XII	CA12	Lyase	2
Aldose reductase	AKR1B1	Oxidoreductase	3
Carbonic anhydrase VII	CA12	Lyase	4
Carbonic anhydrase IV	CA4	Lyase	5
Carbonic anhydrase II	CA2	Lyase	6
TNF-alpha	ICD1	Secreted protein	7
Ribosomal protein S6 kinase alpha 3	ISPK1	Kinase	8
Phosphodiesterase 5A	PDE5A	Enzyme	9
Carbonic anhydrase IX	CA9	Lyase	10

Berbérine			
Netinfer			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**score**
Acetylcholinesterase	ACHE	Type-B carboxylesterase/lipase	0,28
DNA repair protein RAD52 homolog	RAD52	RAD52	0,23
Cholinesterase	BCHE	Type-B carboxylesterase/lipase	0,21
5-hydroxytryptamine receptor 2B	HTR2B	G-protein coupled receptor 1	0,16
Alpha-2B adrenergic receptor	ADRA2B	G-protein coupled receptor 1	0,16
Alpha-2C adrenergic receptor	ADRA2C	G-protein coupled receptor 1	0,14
Muscarinic acetylcholine receptor M1	CHRM1	G-protein coupled receptor 1	0,13
Sigma non-opioid intracellular receptor 1	SIGMAR1	ERG2	0,13
5-hydroxytryptamine receptor 2A	HTR2A	G-protein coupled receptor 1	0,12
Sentrin-specific protease 8	SENP8	Peptidase C48 f	0,12
swiss targetprediction			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**Probabilité**
Acetylcholinesterase	ACHE	Hydrolase	0.77
Serotonin 2b (5-HT2b) receptor	HTR2B	Family A G protein-coupled receptor	0.75
Butyrylcholinesterase	BCHE	Hydrolase	0.75
Adrenergic receptor alpha-2	ADRA2C	Family A G protein-coupled receptor	0.75
Alpha-2b adrenergic receptor	ADRA2B	Family A G protein-coupled receptor	0.75
Muscarinic acetylcholine receptor M1	CHRM1	Family A G protein-coupled receptor	0.75
Sigma opioid receptor	SIGMAR1	Membrane receptor	0.75
Cytochrome P450 2D6	CYP2D6	Cytochrome P450	0.75
SUMO-activating enzyme	SAE1 UBA2	Enzyme	0.71
Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1	RAC1	Unclassified protein	0.10
Pharmacology browse 2			
cible	**symbole**	**Type de cible**	**classement**
P2X purinoceptor 7	P2RX7	P2X receptor	1
Acetylcholinesterase	AChE	Hydrolase	2
Cytochrome P450 3A4	CYP 3A4	Cytochrome P450	3
Cytochrome P450 2D6	CYP2D6	Cytochrome P450	4
Serotonin 2b (5-HT2b) receptor	HTR2B	Membrane receptor	5
Phosphodiesterase 10A	PDE10A	Enzyme	6
Alpha-2c adrenergic receptor	ADRA2C	Membrane receptor	7
Butyrylcholinesterase	BCHE	Hydrolase	8
Muscarinic acetylcholine receptor M1	CHRM1	Membrane receptor	9
Arachidonate 5-lipoxygenase	5-LO	Oxidoreductase	10

4.2. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques :

Les prédictions des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des molécules naturelles en employant différents serveurs, permet de prédire le comportement de ces molécules dans l'organisme en termes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination, tout en évaluant leur profil toxicologique.

L'analyse pharmacocinétique *in silico,* réalisée à l'aide du modèle **Boiled-Egg** (fig 110), a permis d'évaluer le potentiel d'absorption intestinale et de pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) des molécules sélectionnées de *l'Atriplex halimus*.

La catéchine (5), la quercétine-4′,7-diméthyléther (10), l'alpinumisoflavone (11) et la parvisoflavone (12), localisées dans la zone blanche, sont prédites comme bien absorbées par voie orale, mais sans passage à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE). Par ailleurs, ces composés ne sont pas reconnus comme substrats de la glycoprotéine-P (P-gp), à l'exception de la catéchine (molécule 5). Cette interaction avec la P-gp pourrait réduire sa biodisponibilité orale.

En revanche, la glabranine (1), le kaempférol-3,7,4′-triméthyléther (9), l'equol (13) et la bérbérine (15) sont localisées dans la zone jaune du modèle, ce qui reflète une bonne absorption digestive et une pénétration possible au niveau du système nerveux central (SNC). Parmi elles, la glabranine et le kaempférol triméthyléther ne sont pas reconnus comme substrats de la P-gp, suggérant une meilleure rétention intracérébrale, contrairement à l'équol et à la bérbérine qui sont éliminés activement du SNC par cette pompe d'efflux.

Enfin, l'acide caféoylglucarique (2), l'atrisembaccatoside A (3), la néoériocitrine (6), le 3′-méthoxyquercétine glycoside (7), le 4′-méthyléther lucénine 2 (8) et la génistéine diglucoside malonylate (14) n'apparaissent pas sur le modèle Boiled-Egg, ce qui suggère que leurs propriétés physicochimiques extrêmes (forte polarité ou lipophilie) les excluent de ce modèle prédictif.

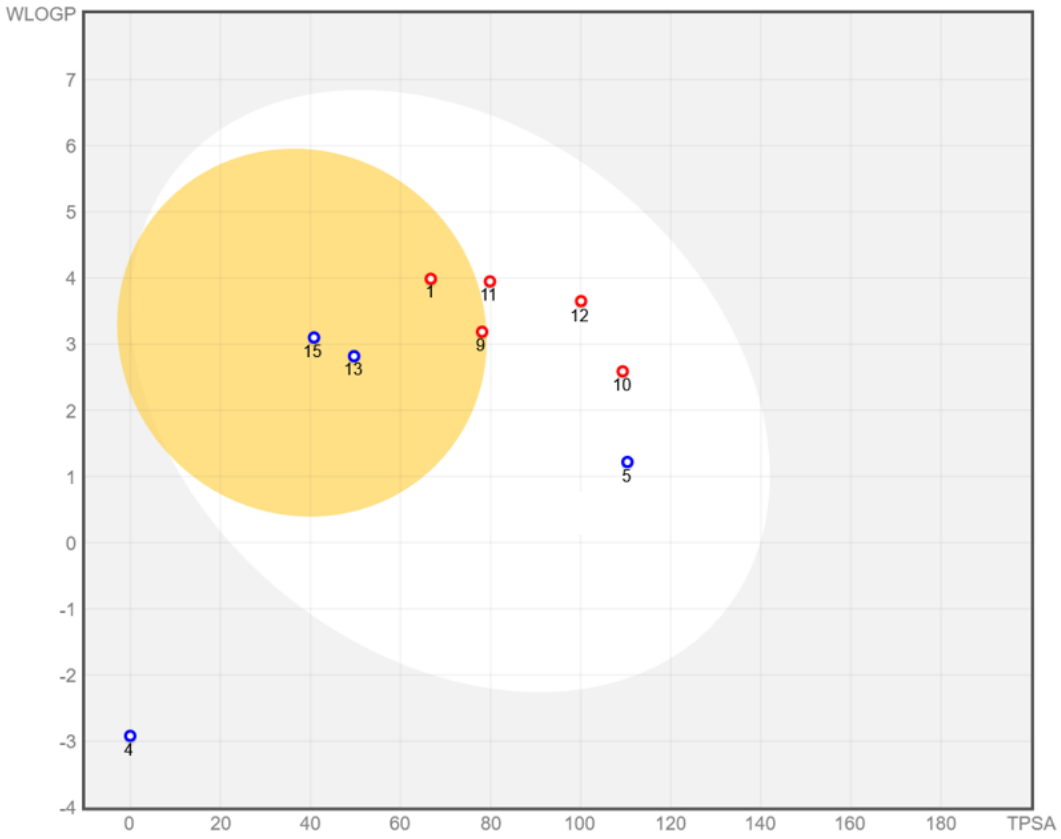


Figure 108: Prédiction de l'absorption gastro-intestinale et de la perméabilité hémato-encéphalique par le modèle Boiled-Egg de SwissADME des molécules sélectionnées *d'Atriplex halimus* L.

Aussi, L'analyse des radars bio-pharmacologiques générés par l'outil SwissADME (fig 109) permet d'évaluer le profil de biodisponibilité oral des molécules à travers six propriétés clés qui conditionnent la drug-likeness d'un composé tel que : lipophilie (**LIPO**), taille moléculaire (**SIZE**), polarité (**POLAR**), solubilité (**INSOLU**), flexibilité (**FLEX**) et enfin saturation (**INSATU**).

Les radars obtenus permettent une évaluation visuelle rapide de la compatibilité des molécules avec les normes pharmacocinétiques optimales pour une administration orale.

Les formes aglycones présentent un profil pharmacocinétique favorable, caractérisé par un radar bien centré, tandis que les formes hétérosidiques montrent une extension vers les zones **POLAR** et **SIZE**, traduisant une polarité accrue et une lipophilie réduite.

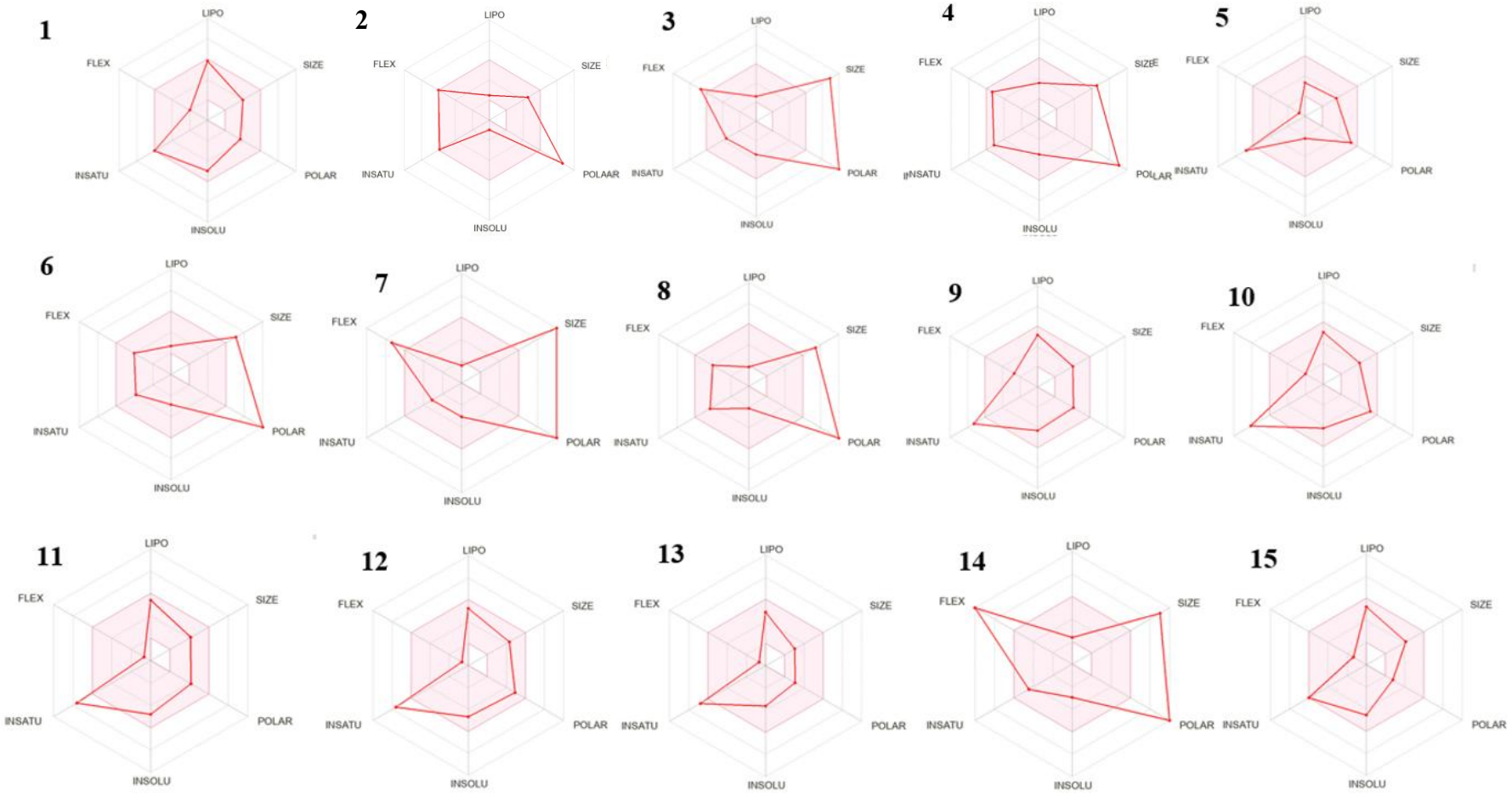


Figure 109: Radar de visualisation des propriétés ADME générées par Swiss-ADME des molécules sélectionnées d'A.*halimus* L.

Le tableau 46 présente les principales propriétés physico-chimiques de 15 molécules sélectionnées d'*A.halimus* L, notamment leur formule chimique, poids moléculaire (PM), nombre de liaisons rotatives (RB), nombre de donneurs (H-BD) et accepteurs (H-BA) de liaisons hydrogène, surface polaire topologique (TPSA), log P (coefficient de partage octanol/eau) et leurs hydrosolubilités. On note une grande diversité de structures et de propriétés, avec des profils de solubilité allant de très hydrosoluble à modérément soluble.

Tableau 46: Propriétés physico-chimiques des molécules sélectionnées *d'A.halimus* L. générées par Swiss-ADME

N	Molécule	Formule	PM	RB	H-BA	H-BD	TPSA	Log P	Hydrosolubilité
1	Glabranine	$C_{20}H_{20}O_4$	324.37	3	4	2	66.76	3.67	Modérée
2	Acide caféoyleglucarique	$C_{15}H_{16}O_{11}$	372.28	9	11	7	202.05	-1.05	Soluble
3	Atrisembaccatoside A	$C_{33}H_{40}O_{20}$	756.66	10	20	11	317.35	-2.33	Soluble
4	Limocitrine 3 O glucosyl 6" acétale	$C_{25}H_{26}O_{14}$	550.47	8	14	6	214.81	0.42	Soluble
5	Catéchine	$C_{15}H_{14}O_6$	290.27	1	6	5	110.38	0.83	Soluble
6	Neoeriocitrine	$C_{27}H_{32}O_{15}$	596.53	6	15	9	245.29	-1.20	Soluble
7	3'-méthoxyquercétine glycoside	$C_{38}H_{48}O_{24}$	888.77	11	24	13	376.27	-3.20	Soluble
8	4'-méthyléther lucénine 2	$C_{28}H_{32}O_{16}$	624.54	6	16	11	280.43	-2.15	Soluble
9	Kaempférol- 3,7,4'-triméthyléther	$C_{18}H_{16}O_6$	328.32	4	6	1	78.13	2.89	Modérée
10	Quercétine-7,4'-diméthyléther	$C_{17}H_{14}O_7$	330.29	3	7	3	109.36	2.25	Modérée
11	Alpinumisoflavone	$C_{20}H_{16}O_5$	336.34	1	5	2	79.90	3.18	Modérée
12	Parvisoflavone B	$C_{20}H_{16}O_6$	352.34	1	6	3	100.13	2.93	Modérée
13	Equol	$C_{15}H_{14}O_3$	242.27	1	3	2	49.69	2.58	Soluble
14	Génistéine diglucoside dimalonylate	$C_{34}H_{36}O_{20}$	764.64	15	20	9	326.71	-1.07	Soluble
15	Berbérine	$C_{20}H_{18}NO_4^+$	336.36	2	4	0	40.80	2.53	Modérée

PM : poids moléculaire ; RB : rotation bonde ; H-BA : groupement accepteur d'hydrogène, H-BD : groupement donneur d'hydrogène ; TPSA : topologique surface polaire ; Log P : indicateur de lipophilie

Le tableau 47 résume les paramètres pharmacocinétiques prédits pour les mêmes molécules, incluant leur absorption gastro-intestinale (GIA), pourcentage d'absorption intestinale (%AI), perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (PBHE), interactions potentielles avec les transporteurs (Pgp S), les inhibiteurs des principales isoformes du cytochrome P450, la clairance totale (CT) ainsi que leur perméabilité cutanée. Ces données permettent d'anticiper le comportement *in vivo* des composés et d'identifier les candidats présentant le meilleur potentiel pharmacologique.

Tableau 47: Propriétés pharmacocinétiques prédites par Swiss-ADME et pkCSM des molécules sélectionnées *d'A.halimus L.*

N	molécule	GIA	% AI	P BHE	Pgp S	CYP1A2 I	CYP2C19 I	CYP2C9 I	CYP2D6 I	CYP3A4 I	CT	log Kp(cm/s)
1	glabranine	élevée	92	oui	No	oui	oui	oui	oui	oui	0,179	-4.96
2	acide caféoyleglucarique	faible	2.01	No	No	No	No	No	No	No	0.337	-2.73
3	atrisembaccatoside A	faible	3.10	No	oui	No	No	No	No	No	0,011	-11.61
4	limocitrine-3-O-glycosideacétate	faible	47.57	No	oui	No	No	No	No	No	0,685	-9.18
5	catéchine	élevée	68.82	No	oui	No	No	No	No	No	0,183	-7.82
6	neoeriocitrine	faible	16.14	No	oui	No	No	No	No	No	0,125	-10.51
7	3'-méthoxyquercétine glycoside	faible	0	No	oui	No	No	No	No	No	0,367	-13.65
8	4'-méthyléther lucénine 2	faible	0.31	No	No	No	No	No	No	No	-0,274	-11.73
9	kaempférol- 3,7,4'-triméthyléther	élevée	95.35	oui	No	oui	No	oui	oui	oui	0,725	-5.82
10	quercétine-7,4'-diméthyléther	élevée	85.35	No	No	oui	No	oui	oui	oui	0,751	-5.99
11	alpinumisoflavone	élevée	94.52	No	No	oui	No	oui	No	oui	0,202	-5.55
12	parvisoflavone B	élevée	89.87	No	No	oui	No	oui	oui	oui	0,554	-5.90
13	equol	élevée	94.18	oui	oui	oui	No	No	oui	No	0,154	-5.67
14	génistéine diglucosidedimalonylate	faible	0	No	oui	No	No	No	No	No	-0,008	-11.94
15	berbérine	élevée	97.14	oui	oui	oui	No	No	oui	oui	1,27	-5.78

Pgp S : substrat glycoprotéine P ; Log Kp : coefficient de perméabilité cutanée (faible perméabilité si ≤ -6)

L'évaluation des propriétés **Drug-Likness** des molécules sélectionnées de *l'A.halimus* L. à l'aide de l'outil SwissADME s'appuyant sur les règles de Lipinski, Ghose et Veber, sont exposés au niveau du tableau 48. Ces règles prennent en compte plusieurs propriétés physico-chimiques clés des molécules, tel que : la masse molaire, log P, nombre de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogènes…

Parmi le panel testé, sept de ces molécules violent plusieurs règles de Lipinski et Ghose, ces molécules sont représentées par les hétérosides avec une masse molaire élevée (supérieurs à 500g/mol) et un nombre H-BA et H-BD supérieure à 5, les rendant inéligibles pour une administration orale selon les critères classiques de drug-likeness.

Par contre le tableau 49 présente les résultats de l'analyse toxicologique prédictive par pkCSM et Pro-Tox des quinze molécules d'intérêt, mettant en avant leurs profils de mutagénicité, cardiotoxicité (inhibition des canaux hERG), leurs toxicités potentielles sur différents organes cibles ainsi que leur classification selon la DL50.

La majorité des composés sont classés comme **faiblement toxiques**, avec des DL_{50} supérieures à 5000 mg/kg. La **berbérine** se distingue par une toxicité plus marquée, avec une DL_{50} de 200 mg/kg.

Tableau 48: Les règles de Drug-Likness des molécules sélectionnées d'*A.halimus* L. par Swiss-ADME

N	molécule	Lipinski V	Ghose V	Veber V	S A score
1	glabranine	0	0	0	3.63
2	acide caféoyleglucarique	2	1	1	4.12
3	atrisembaccatoside A	3	4	1	7.53
4	limocitrine-3-O-glycosideacétate	3	2	1	5.80
5	catéchine	0	0	0	3.50
6	neoeriocitrine	3	4	1	6.23
7	3'-méthoxyquercétine glycoside	3	4	2	8.46
8	4'-méthyléther lucénine 2	3	4	1	6.53
9	kaempférol- 3,7,4'-triméthyléther	0	0	0	3.45
10	quercétine-7,4'-diméthyléther	0	0	0	3.41
11	alpinumisoflavone	0	0	0	3.68
12	parvisoflavone B	0	0	0	3.73
13	equol	0	0	0	2.94
14	génistéine diglucosidedimalonylate	3	4	2	7.04
15	berbérine	0	0	0	3.14

V : violation ; SA score : score d'accessibilité à la synthèse (plus il est faible, plus la synthèse est facile)

Tableau 49: Propriétés toxicologiques prédites par pkCSM et Pro-Tox des molécules sélectionnées d'*A.halimus* L.

N	Molécule	Mutagénéicité	I hERG I	I hERG II	Hépatotoxicité	Neurotoxicité	Néphrotoxicité	DL50 mg/kg	Toxicityclass
1	glabranine	NO	NO	**OUI**	NO	NO	**OUI**	2000	4
2	acide caféoylglucarique	NO	NO	NO	NO	NO	**OUI**	5000	5
3	atrisembaccatoside A	NO	NO	**OUI**	NO	NO	**OUI**	5000	5
4	limocitrine 3 O glucosyl 6" acétale	NO	NO	**OUI**	NO	NO	**OUI**	5000	5
5	catéchine	NO	NO	NO	NO	NO	NO	10000	6
6	neoeriocitrine	NO	NO	**OUI**	NO	NO	**OUI**	12000	6
7	3'-méthoxyquercétine glycoside	NO	NO	**OUI**	NO	NO	**OUI**	1000	4
8	4'-méthyléther lucénine 2	NO	NO	**OUI**	NO	NO	**OUI**	1213	4
9	kaempférol- 3,7,4'-triméthyléther	NO	NO	NO	NO	NO	NO	3919	5
10	quercétine-7,4'-diméthyléther	NO	NO	NO	NO	NO	NO	5000	5
11	alpinumisoflavone	NO	NO	**OUI**	**OUI**	NO	NO	3850	5
12	parvisoflavone B	NO	NO	**OUI**	NO	NO	NO	3850	5
13	equol	NO	NO	NO	NO	NO	NO	500	4
14	génistéine diglucoside dimalonylate	NO	NO	NO	NO	NO	**OUI**	5000	5
15	berbérine	**OUI**	NO	NO	**OUI**	**OUI**	NO	200	3

I hERG : Inhibiteur human ether related gene

III.5. Evaluation biologique et pharmacologique :

Selon nos résultats quali-quantitatifs, nous avons sélectionnés l'extrait hydro-éthanolique optimisé, vu sa richesse et sa diversité en composés bioactifs, pour évaluer ces propriétés biologiques et pharmacologiques.

Aussi nous avons voulu le comparé à l'extrait aqueux, qui est le mode d'utilisation traditionnelle de *l'Atriplex* par la population.

5.1. Evaluation biologique (*in vitro*) :

L'évaluation de **l'activité antioxydante** des extraits aqueux et hydro-éthanolique *d'Atriplex halimus* L. a été réalisée à l'aide de deux méthodes complémentaires : la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), exprimé en IC_{50} (mg/mL), et le test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), exprimé en équivalents d'acide ascorbique par g d'extrait (mg EAA/g d'extrait).

Les valeurs ont été déterminées en utilisant les courbes de régressions linéaires pour chaque extrait (annexe VII) et les résultats sont présentés dans le tableau 50.

Selon l'essai DPPH, l'extrait hydro-éthanolique (HEO) a montré une activité antioxydante nettement plus élevée que l'extrait aqueux, avec une valeur d'IC_{50} de 0,326 mg/mL, contre 5,714 mg/mL pour l'extrait aqueux. Ces valeurs indiquent une meilleure capacité de neutralisation des radicaux libres pour l'extrait HEO, plus proche de celle de l'acide ascorbique (IC_{50} = 0,018 mg/mL), utilisé comme standard de référence.

En ce qui concerne le pouvoir réducteur mesuré par la méthode FRAP, l'extrait hydro-éthanolique a également montré une activité plus importante que l'extrait aqueux, avec une valeur de 36,69 ± 4,61 mg EAA/g d'extrait, contre 23,49 ± 0,82 mg EAA/**g** pour l'extrait aqueux.

Ces résultats indiquent que l'extrait hydro-éthanolique *d'Atriplex halimus* L. présente une teneur plus élevée en composés antioxydants et une capacité réductrice plus marquée que l'extrait aqueux.

L'évaluation de **l'activité anti-inflammatoire** des extraits *d'Atriplex halimus* L. a été réalisée selon deux méthodes, l'inhibition de la dénaturation des protéines et l'activité anti-hémolytique.

Les résultats obtenus sont exposés au niveau du tableau 50, ils sont exprimés en IC_{50} et le diclofénac sodique représente le control positif. Ces valeurs ont été déterminés en utilisant les courbes de régressions linéaires pour chaque extrait (annexe VII).

L'extrait hydro-éthanolique optimisé et l'extrait aqueux montrent tous deux une capacité à inhiber la dénaturation des protéines avec des valeurs respectives de 1,51 et 1,75 mg/mL, mais leur efficacité est nettement inférieure à celle du diclofénac sodique.

Cependant, l'extrait HEO présente une légère supériorité par rapport à l'extrait aqueux (IC_{50} extrait HEO plus faible que l'extrait aqueux).

En ce qui concerne **l'activité anti-hémolytique**, les deux extraits (HEO et aqueux) possèdent des IC_{50} nettement plus élevés que le diclofénac sodique. Cela traduit une activité protectrice contre l'hémolyse des deux extraits, mais à des concentrations beaucoup plus importantes que le contrôle positif (diclofénac).

Aussi, l'extrait HEO est légèrement plus actif que l'extrait aqueux sur ce paramètre (IC_{50} extrait HEO plus faible que l'extrait aqueux).

Tableau 50: Résultats des activités biologiques des extraits *d'Atriplex halimus* L.

Méthode	Extrait HEO	Extrait aqueux	Acide ascorbique	Diclofénac sodique
DPPH (IC_{50}, mg/mL)	0,326	5,71	0,018	/
FRAP (mg EAA/g extrait)	36,69±4,61	23,49±0,82	/	/
Dénaturation des protéines (IC_{50}, mg/mL)	1,51	1,75	/	0,103
Anti-hémolytique (IC_{50}, mg/mL)	8,01	9,13	/	0,248

5.2. Evaluation pharmacologique (*in vivo*) :

Les résultats des paramètres physiologiques, biochimiques et hormonaux chez un modèle murin femelle exposé à un perturbateur endocrinien type phtalate (DINP) et aux extraits *d'Atriplex halimus* L (extrait aqueux et hydro-éthanolique optimisé) sont représentés en deux groupes :

- Le groupe A : représente les lots traités avec l'extrait aqueux.

- Le groupe B : représente les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique optimisé.

Le lot C : représente le Contrôle, le lot AE : administration de l'extrait aqueux à 200 mg/kg/jour ; le lot PT: administration du DINP à 200 mg/kg/jour ; le lot PTAE : Co-administration de DINP et extrait aqueux à 200mg/kg/jour respectivement, le lot HE : administration extrait hydro-éthanolique optimisé à 200 mg/kg/jour ; le lot PTAE : Co-administration de DINP et extrait hydro-éthanolique optimisé à 200mg/kg/jour respectivement.

Les résultats ont été analysés à l'aide d'une **ANOVA à un facteur**, suivie du **test post-hoc de Tukey** pour comparer les moyennes entre les différents groupes expérimentaux et les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart-type. Les différences ont été considérées comme significatives pour $p < 0,05$.

Ce test a été appliqué à l'ensemble des paramètres quantitatifs (poids, paramètres hormonaux et biochimiques). Les données histologiques, de nature qualitative, ont été analysées de manière descriptive et comparative entre les lots.

5.2.1. Variation du poids corporel :

Selon les résultats de notre expérimentation (fig 110), nous observons que tous les lots présentent un gain de poids corporel important, et lot toxique (PT) a marqué la prise de poids la plus élevée de l'ordre de **34,5g** par rapport aux autres lots.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) nous avons observé ce qui suit :

- Le lot AE a présenté un gain de poids de 31,2g, un gain de poids moins marqué que le groupe PT mais plus élevée que celui du groupe C (29,3g).
- Le lot PTAE, a présenté un gain de poids de 30,5g, une valeur inférieure à celle du lot PT mais supérieure à celle du lot C.

Dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) nous avons observé ce qui suit :

- Le lot HE a présenté le gain de poids le moins marqué par rapport aux autres lots, de l'ordre de 25,4g.
- Le lot PTHE a présenté un gain de poids de 29,5g, une valeur inférieure à celle du lot PT et similaire à celle du lot C.

Par contre, l'analyse statistique de ces variations de poids ne montre aucune variation statistiquement significative par rapport au lot C (fig 111).

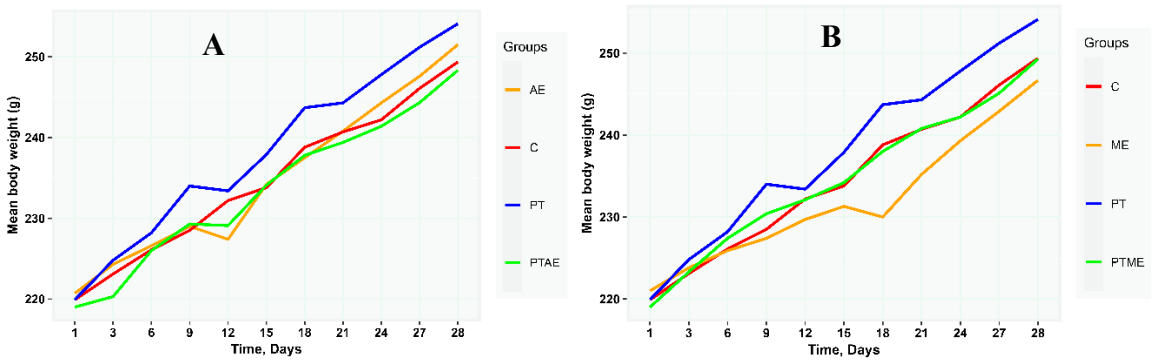


Figure 110: Variation du poids corporel chez les différents lots
A : groupes traités avec l'extrait aqueux ; **B** : groupes traités avec l'extrait hydro-éthanolique

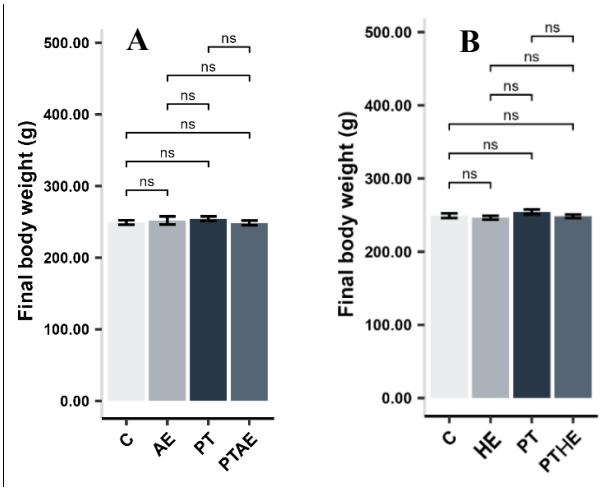


Figure 111 : Le poids corporel final chez les différents lots

5.2.2. Variation de la consommation en eau et en nourriture :

Les résultats obtenus pour le suivi quotidien de la consommation d'aliment et de l'eau de boisson chez les différents lots de rats, sont représentés au niveau des figures 112 et 113.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) :

- La consommation en eau (mL/jour) et en aliment (g/jour) a été abaissée dans les différents lots par rapport à celle du lot C, cette baisse est statistiquement très hautement significative pour le lot PT et PTAE ($p \leq 0,0001$).
- De plus, la comparaison entre le groupe AE et le groupe contrôle (C) montre une baisse hautement significative ($p < 0,01$) pour la consommation en eau, bien que moins marquée que celle observée dans les lots PT et PTAE.

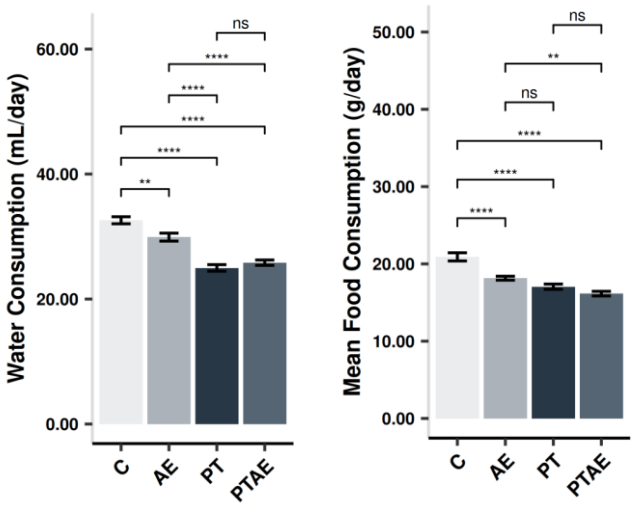


Figure 112: Variation de la consommation hydrique et alimentaires chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)

Dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) :

- La consommation en eau et en aliment a été également abaissée dans les différents lots par rapport à celle du lot C, cette baisse est statistiquement très hautement significative pour le lot HE, PT et PTHE ($p \leq 0{,}0001$) par rapport au lot C.

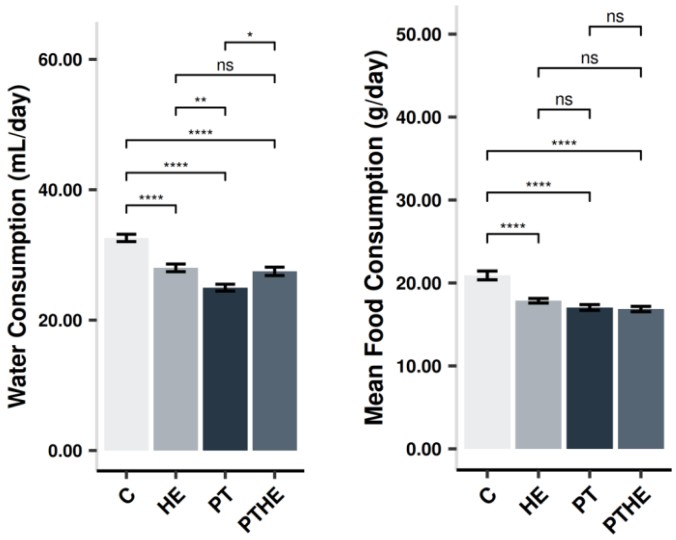


Figure 113: Variation de la consommation hydrique et alimentaire chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

5.2.3. Variation du poids absolu des organes prélevés

A) Le foie :

Les variations du poids absolu du foie des différents lots sont représentées dans la figure 114.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A), nous avons observé ce qui suit :

- Les poids du foie sont similaires entre le groupe C et le groupe ayant reçu l'extrait AE, sans différence statistiquement significative entre ces deux groupes.
- Par contre, le lot toxique PT présente une élévation du poids absolu hépatique hautement significative par rapport au lot C ($p \leq 0,01$).
- Pour le lot PTAE, une légère augmentation du poids absolu hépatique par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- En revanche, une baisse du poids absolu hépatique entre le lot PTAE et le lot PT et cela est statistiquement significative ($p \leq 0,05$).

Dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) :

- Les poids du foie sont similaires entre le groupe C et le groupe ayant reçu l'extrait HE, sans différence statistiquement significative entre ces deux groupes.
- Pour le lot PTHE, une légère augmentation du poids absolu hépatique par rapport au lot C mais cela reste statistiquement non significative.
- En revanche, une baisse du poids absolu hépatique entre le lot PTHE et le lot PT et cela est statistiquement significative ($p \leq 0,05$).

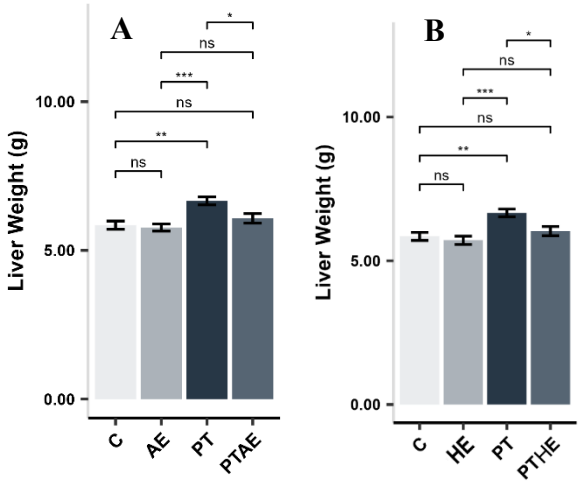


Figure 114: Variation du poids absolu du foie chez les rats des différents lots

B) Les reins :

Les variations du poids absolu des reins des différents lots sont représentées dans les figures 115 et 116.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A), nous avons observé ce qui suit :

- Les poids absolus du rein droit ou gauche, sont similaires entre le lot C et celui traité par l'extrait AE, sans différence statistiquement significative entre ces deux lots.
- Par contre, le lot toxique PT présente une élévation du poids absolu rénal statistiquement très hautement significative par rapport au lot C ($p \leq 0{,}001$).
- Pour le lot PTAE, une augmentation du poids absolu rénal par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- En revanche, une baisse du poids absolu rénal est observée entre le lot PTAE et le lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.

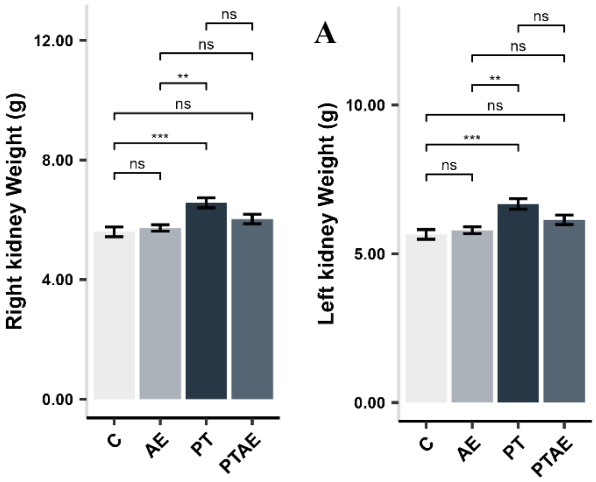


Figure 115: Variation du poids absolu du rein droit et gauche chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)

Dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) :

- Les poids absolus du rein droit ou gauche, sont similaires entre le lot C et celui traité par l'extrait HE.
- Pour le lot PTHE, on observe une augmentation du poids absolu rénal par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- Par contre, une baisse du poids absolu rénal entre le lot PTHE et le lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.

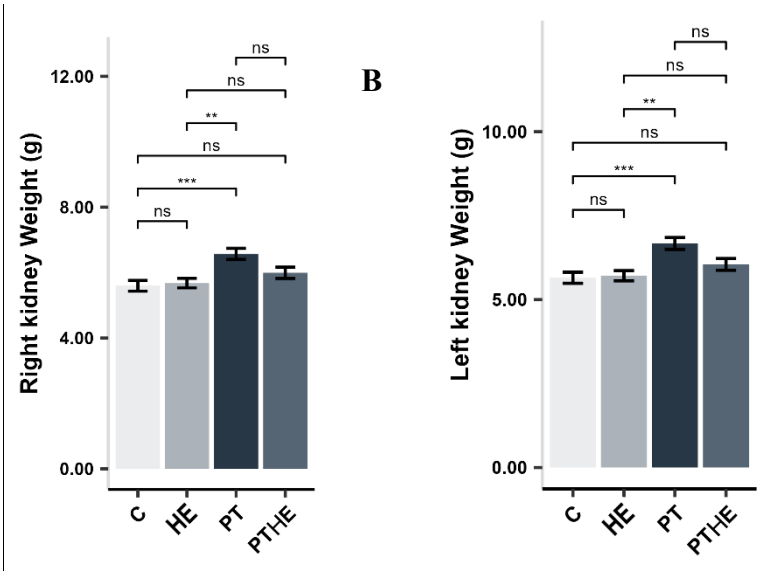


Figure 116: Variation du poids absolu du rein droit et gauche chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

C) Les ovaires :

Les variations du poids absolu des ovaires des différents lots sont représentées dans les figures 117 et 118.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A), nous avons observé ce qui suit :

- Les poids absolus de l'ovaire droit ou gauche, sont similaires entre le lot C et celui traité par l'extrait AE.
- En revanche, on observe que le lot toxique PT présente une élévation du poids absolu des ovaires statistiquement hautement significative par rapport au lot C ($p \leq 0,01$).
- Pour le lot PTAE, on observe une augmentation du poids absolu des ovaires par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- Par contre, une baisse du poids absolu des ovaires est observée entre le lot PTAE et le lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.

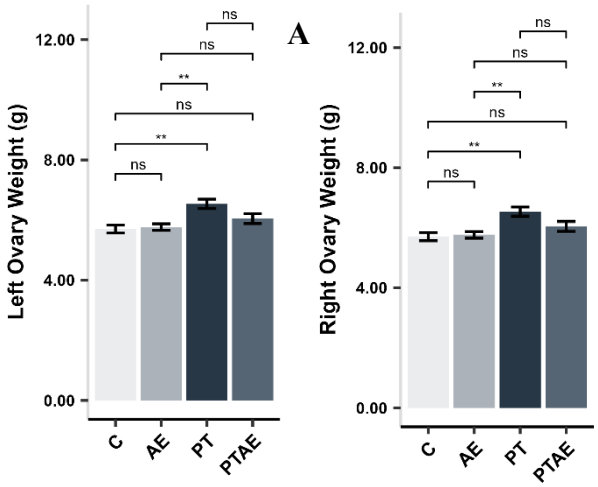


Figure 117: Variation du poids absolu des ovaires droits et gauches chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)

Dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) :

- Les poids absolus de l'ovaire droit ou gauche, sont similaires entre le lot C et celui traité par l'extrait HE.
- Pour le lot PTHE, on observe une augmentation du poids absolu des ovaires par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- Par contre, une baisse du poids absolu des ovaires est observée entre le lot PTHE et le lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.

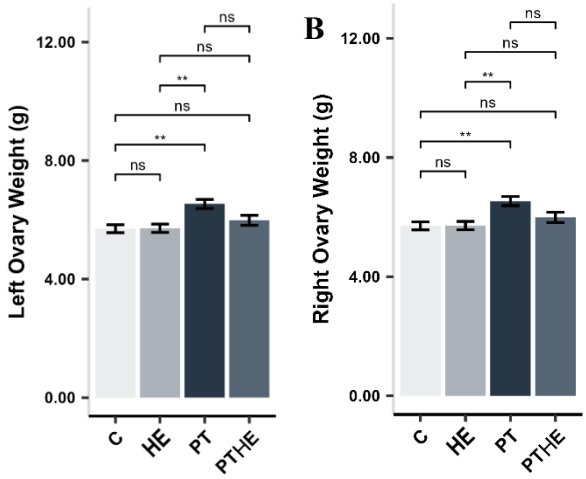


Figure 118: Variation du poids absolu des ovaires droits et gauches chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

D) L'utérus :

Les variations du poids absolu de l'utérus des différents lots sont représentées dans la figure 119.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A), nous avons observez ce qui suit :

- Une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) du poids de l'utérus du lot AE par rapport au lot C.
- Aussi, une élévation importante du poids absolu de l'utérus du lot toxique PT par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$).
- Pour le lot PTAE, on observe une légère élévation du poids absolu utérin par rapport au lot C et cette augmentation est statistiquement non significative.
- En revanche, une baisse importante du poids absolu de l'utérus est observée entre le lot PTAE et le lot PT et cela est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,001$).

Dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) :

- Une légère élévation du poids de l'utérus du lot HE par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative.
- En revanche, une baisse du poids absolu utérin du lot PTHE par rapport au lot C mais cette baisse est statistiquement non significative.
- Par contre, la baisse importante du poids absolu utérin du lot PTHE par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$).

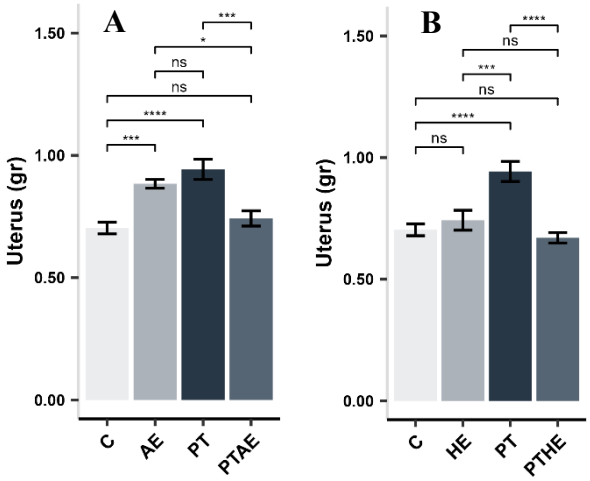


Figure 119: Variation du poids absolu de l'utérus chez les rats des différents lots

E) Le cerveau :

Les variations du poids absolu du cerveau des différents lots sont représentées dans la figure 120.

Dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) et les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) :

- Le poids absolu du cerveau est similaire entre le lot C et celui traité par l'extrait AE et l'extrait HE.
- En revanche, on observe que le lot toxique PT présente une élévation du poids absolu du cerveau statistiquement hautement significative par rapport au lot C ($p \leq 0,01$).
- Pour le lot PTAE, on observe une augmentation du poids absolu du cerveau par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- Par contre, une baisse du poids absolu du cerveau est observée entre le lot PTAE et le lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.
- Pour le lot PTHE, on observe également une augmentation du poids absolu du cerveau par rapport au lot C mais cela est statistiquement non significative.
- Par contre, une baisse du poids absolu du cerveau est constatée entre le lot PTHE et le lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.

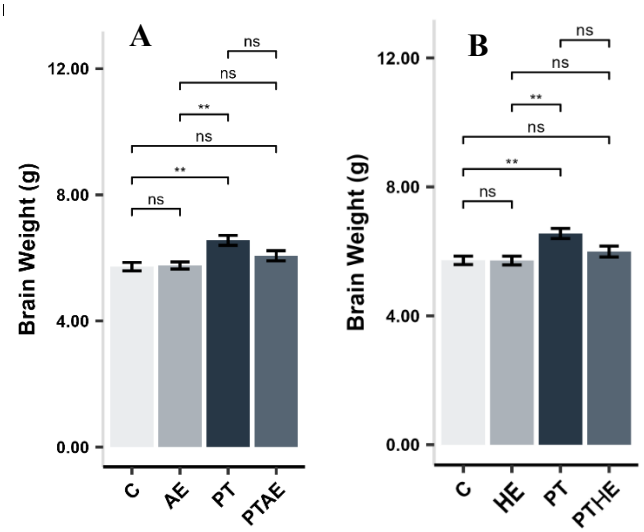


Figure 120 : Variation du poids absolu du cerveau chez les différents lots

D) Synthèse générale des variations organiques observées :

le tableau 51 résume les principales variations du poids absolu des organes cibles observées chez les différents lots expérimentaux. Il met en évidence les tendances significatives ainsi que

les effets correcteurs ou protecteurs des extraits d'*Atriplex halimus L.* sur les perturbations induites par le phtalate.

Tableau 51: Synthèse générale des variations du poids absolu des organes observés chez les différents lots expérimentaux

Paramètre observé	Groupe / Lot	Résultat principal	Signification statistique	Interprétation générale
Foie	AE, HE	≈ C	NS	Poids normal
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,01$	Effet hépatotoxique
	PTAE, PTHE	↓ vs PT	$p \leq 0,05$	Effet protecteur des extraits
Reins	AE, HE	≈ C	NS	Normaux
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,001$	Effet néphrotoxique significatif
	PTAE, PTHE	↓ vs PT	NS	Effet correcteur modéré
Ovaires	AE, HE	≈ C	NS	Poids stable
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,01$	Hypertrophie ovarienne induite
	PTAE, PTHE	↓ vs PT	NS	Effet correcteur modéré
Utérus	AE	↑ vs C	$p \leq 0,001$	Effet œstrogénique possible
	HE	≈ C	NS	Poids stable
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,0001$	Hypertrophie toxique
	PTAE PTHE	↓ vs PT	$p \leq 0,001$ $p \leq 0,0001$	Effet protecteur significatif
Cerveau	AE, HE	≈ C	NS	Poids stable
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,01$	Légère hypertrophie toxique
	PTAE, PTHE	↓ vs PT	NS	Effet protecteur léger

NS : non significatif

5.2.4. Effets sur certains paramètres hormonaux :

A) Effets sur les hormones thyroïdiennes :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 121 et 122), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Une élévation des valeurs du FT3 du lot AE (11,04 ng/mL) par rapport au lot C (7,38 ng/mL) et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;

- Une légère élévation (non statistiquement significative) du taux des FT3 du lot PT (7,61 ng/mL) par rapport au lot C (7,38 ng/mL).
- Une légère augmentation (non statistiquement significative) des valeurs de FT3 du lot PTAE (8,30 ng/mL) par rapport au lot C et au lot PT ;

Pour les taux des FT4 :

- Une élévation des valeurs du FT4 du lot AE (80 ng/mL) par rapport au lot C (50 ng/mL) et cette élévation est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;
- Une baisse des taux de FT4 du lot PT (30,74 ng/mL) par rapport au lot C (48,21 ng/mL) et cette baisse est très hautement significative ($p \leq 0,001$) ;
- Une légère baisse (non statistiquement significative) des valeurs du FT4 du lot PTAE (45,30 ng/mL) par rapport au lot C, mais une élévation (Statistiquement hautement significative, $p \leq 0,01$) des FT4 par rapport au lot PT.

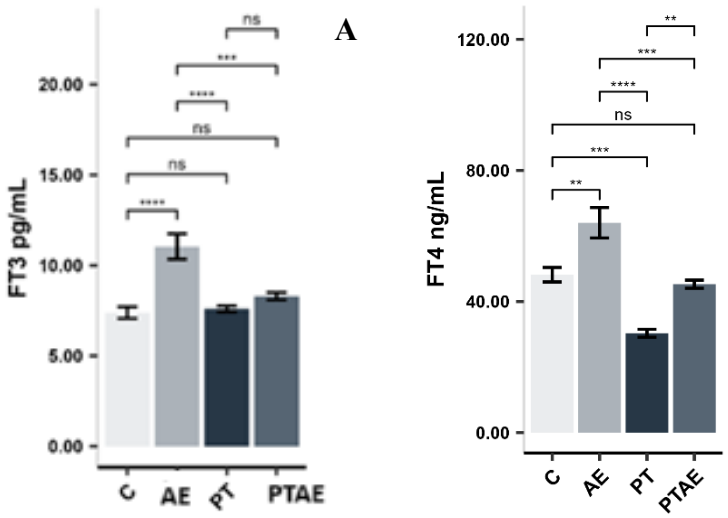


Figure 121: Variation des taux de FT3 et FT4 chez les lots traités par l'extrait aqueux (AE)

Pour les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B), nous avons observé ce qui suit :

- Une légère élévation des valeurs du FT3 du lot HE (7,54 ng/mL) par rapport au lot C (7,38 ng/mL) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation, statistiquement significative ($p \leq 0,05$), du taux des FT3 du lot PTHE (8,35 ng/mL) par rapport au lot C.
- Une légère élévation (non statistiquement significative) des valeurs des FT3 du lot PTHE par rapport au lot PT ;

Pour les taux des FT4 :

- Une élévation des valeurs du FT4 du lot HE (133,68 ng/mL) par rapport au lot C (50 ng/mL) et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse des taux de FT4 du lot PT (30,74 ng/mL) par rapport au lot C (48,21 ng/mL) et cette baisse est significative ($p \leq 0,05$) ;
- Des valeurs similaires du taux des FT4 du lot PTHE (48,16 ng/mL) par rapport au lot C, mais une élévation (Statistiquement significative, $p \leq 0,05$) des FT4 par rapport au lot PT.

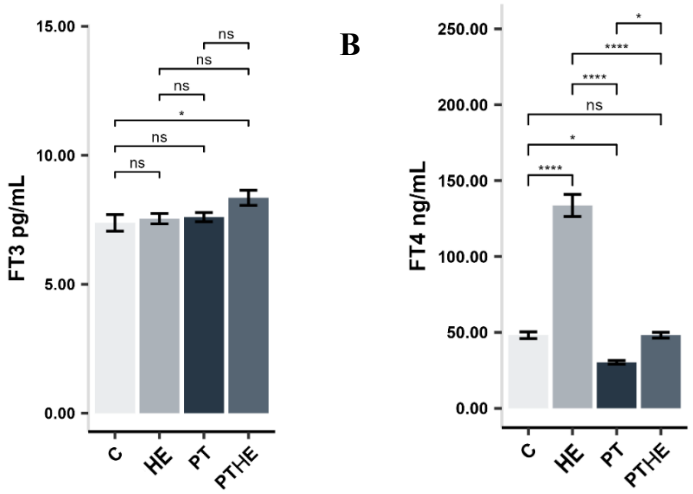


Figure 122: Variation des taux de FT3 et FT4 chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (HE)

B) Effet sur une hormone hypothalamo-hypophysaire (TSH) :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 123), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Une baisse des valeurs du TSH du lot AE (0,89 ng/mL) par rapport au lot C (1,19 ng/mL) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une élévation (non statistiquement significative) du taux de TSH du lot PT (2,12 ng/mL) par rapport au lot C.
- Une baisse (non statistiquement significative) des valeurs de TSH du lot PTAE (1,02 ng/mL) par rapport au lot C et au lot PT ;

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une baisse des valeurs du TSH du lot HE (0,96 ng/mL) par rapport au lot C (1,19 ng/mL) et cette baisse est statistiquement non significative ;

- Une élévation des valeurs de TSH du lot PTHE (3,08 ng/mL), cette élévation est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) par rapport au lot C et non statistiquement significative par rapport au lot PT ;

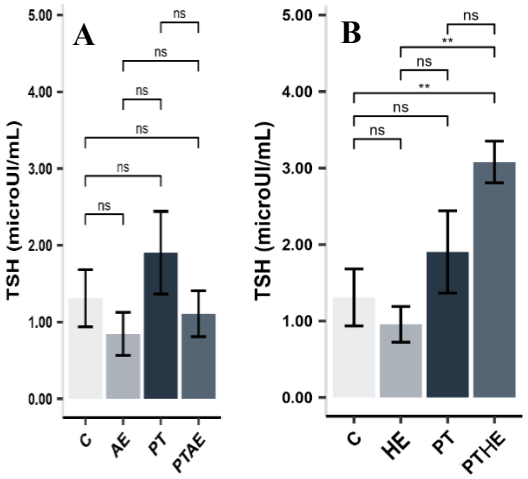


Figure 123: Variation des taux de TSH chez les différents lots

C) Effet sur les hormones ovariennes :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 124), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Une légère baisse des valeurs de l'estradiol du lot AE (59 ng/mL) par rapport au lot C (60,31 ng/mL) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une élévation du taux de l'estradiol du lot PT (67,31 ng/mL) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$).
- Une baisse très importante des valeurs de l'estradiol du lot PTAE (25,12 ng/mL) par rapport au lot C et au lot PT, et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$).

Pour les valeurs de la progestérone :

- Une baisse légère des valeurs de la progestérone du lot AE (15,03 ng/mL) par rapport au lot C (16,31 ng/mL) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante des taux de la progestérone du lot PT (9,32 ng/mL) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$).
- Une baisse légère des taux de la progestérone du lot PTAE (15,12 ng/mL) par rapport au lot C, et cette baisse est statistiquement non significative ($p \leq 0,0001$).

- Une élévation des taux de la progestérone du lot PTAE (15,12 ng/mL) par rapport au lot PT, et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$).

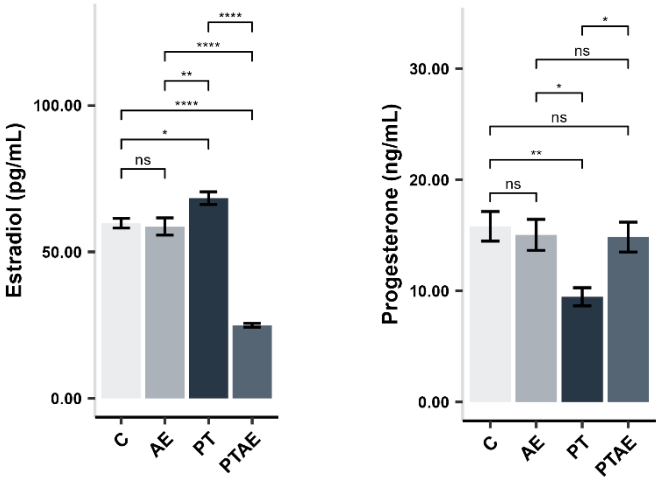


Figure 124: Variation des taux d'estradiol et de progestérone chez les lots traités par l'extrait aqueux (AE)

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 125), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une légère augmentation des valeurs de l'estradiol du lot HE (65 ng/mL) par rapport au lot C (62,7 ng/mL) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation du taux de l'estradiol du lot PT (65 ng/mL) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ($p \leq 0,05$).
- Une baisse très importante des valeurs de l'estradiol du lot PTHE (40,5 ng/mL) par rapport au lot C et au lot PT, et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$).

Pour les valeurs de la progestérone :

- Une baisse des valeurs de la progestérone du lot HE (15,16ng/mL) par rapport au lot C (16,31 ng/mL) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse des taux de la progestérone du lot PT (8,92 ng/mL) par rapport au lot C (7,38 ng/mL) et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$).
- Une baisse légère des taux de la progestérone du lot PTHE (15,34 ng/mL) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement non significative ($p \leq 0,0001$).
- Une élévation des taux de la progestérone du lot PTHE (15,34 ng/mL) par rapport au lot PT et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$).

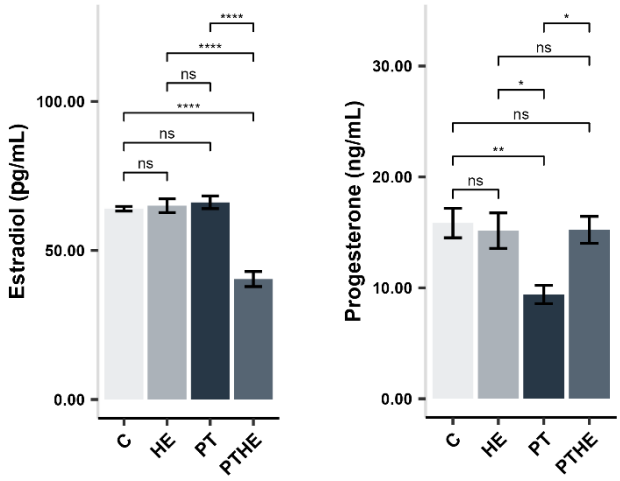


Figure 125: Variation des taux d'estradiol et de progestérone chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (HE)

D) Synthèse générale des paramètres hormonaux observés :

le tableau 52 résume les principales variations hormonales observées chez les différents lots expérimentaux. Il met en évidence les tendances significatives ainsi que les effets correcteurs ou protecteurs des extraits d'*Atriplex halimus L.* sur les perturbations induites par le phtalate.

Tableau 52:Synthèse générale des paramètres hormonaux observés chez les différents lots expérimentaux

Paramètre observé	Groupe / Lot	Résultat principal	Signification statistique	Interprétation générale
FT3	AE	↑ vs C	$p \leq 0,0001$	Stimulation significative
	PT	↑ légère vs C	NS	Effet discret du phtalate
	PTAE	↑ légère vs PT	NS	Tendance à la normalisation
	HE	↑ légère vs C	NS	Effet modéré
	PTHE	↑ vs C	$p \leq 0,05$	Rétablissement partiel
FT4	AE HE	↑ vs C	$p \leq 0,01$ $p \leq 0,0001$	Effet stimulant
	PT	↓ marquée vs C	$p \leq 0,001$	Dépression thyroïdienne
	PTAE	↓ légère vs C, ↑ vs PT	$p \leq 0,01$	Correction partielle
	PTHE	≈ C, ↑ vs PT	$p \leq 0,05$	Normalisation des taux
TSH	AE et HE	↓ vs C	NS	Effet modéré sur l'axe hypophysaire
	PT	↑ vs C	NS	Réponse compensatoire à l'hypothyroïdie
	PTAE	↓ vs C et PT	NS	Régulation débutante
	PTHE	↑ marquée vs C ↑ marquée vs PT	$p \leq 0,01$	Hyperstimulation hypophysaire

Tableau 52 (suite): Synthèse générale des paramètres hormonaux observés chez les différents lots expérimentaux

Paramètre observé	Groupe / Lot	Résultat principal	Signification statistique	Interprétation générale
Estradiol	AE	↓ légère vs C	NS	Effet neutre sur la sécrétion ovarienne
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,05$	Hyperoestrogénie modérée
	PTAE	↓ forte vs C et PT	$p \leq 0,0001$	Inhibition ovarienne marquée
	HE	↑ légère vs C	NS	Effet limité
	PTHE	↓ marquée vs C et PT	$p \leq 0,0001$	Réduction importante de la stimulation estrogénique
Progestérone	AE	↓ légère vs C	NS	Effet discret sur la fonction lutéale
	PT	↓ marquée vs C	$p \leq 0,01$	Dépression de la sécrétion progestative
	PTAE	↓ légère vs C, ↑ vs PT	$p \leq 0,05$	Amélioration relative
	HE	↓ légère vs C	NS	Effet modéré sur la progestérone
	PTHE	↓ légère vs C, ↑ vs PT	$p \leq 0,05$	Tendance à la normalisation hormonale

NS : non significatif

5.2.5. Effets sur certains paramètres biochimiques :

A) La glycémie :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 126), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Des valeurs similaires de la glycémie entre le lot AE (0,85 g/L) et le lot C (0,86 g/L) ;
- Une élévation de la glycémie du lot PT (0,99 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;
- Une très légère baisse de la glycémie du lot PTAE (0,84 g/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse de la glycémie du lot PTAE (0,84 g/L) par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,001$) ;

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Des valeurs similaires de la glycémie entre le lot HE (0,85 g/L) et le lot C (0,86 g/L) ;
- Une élévation de la glycémie du lot PTHE (0,91 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;

- Une baisse de la glycémie du lot PTHE (0,91 g/L) par rapport au lot PT (0,99 g/L) et cette baisse est statistiquement non significative.

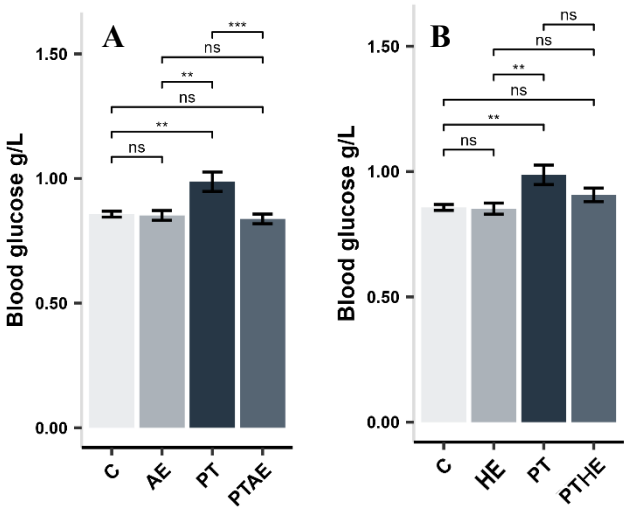


Figure 126 : Variation de la glycémie chez les différents lots

B) Les paramètres du bilan lipidique :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 127 et 128), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Une élévation du taux des triglycérides du lot AE (0,73 g/L) par rapport au lot C (0,67 g/L) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation importante du taux des triglycérides du lot PT (1,06 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une élévation du taux des triglycérides du lot PTAE (0,81 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;
- Une baisse du taux des triglycérides du lot PTAE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;

Pour les taux de cholestérol total :

- Des valeurs similaires du cholestérol total entre le lot AE (0,72 g/L) et le lot C (0,71 g/L) ;
- Une élévation des valeurs du cholestérol total du lot PT (0,81 g/L) par rapport au lot C mais cette élévation est statistiquement non significative ;
- Des valeurs presque similaires du cholestérol total entre le lot PTAE (0,7 g/L) et le lot C ;
- Une baisse des valeurs du cholestérol total du lot PTAE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;

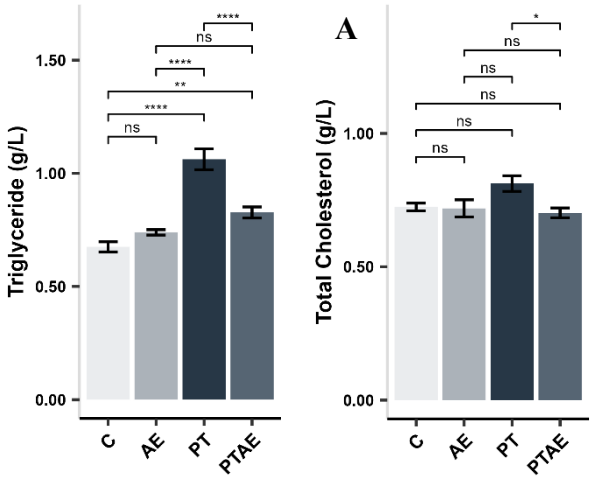


Figure 127: Variation des taux de triglycérides et de cholestérol total chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une élévation du taux des triglycérides du lot HE (0,89 g/L) par rapport au lot C (0,68 g/L) et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,001$) ;
- Une élévation importante du taux des triglycérides du lot PT (1,06 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une élévation du taux des triglycérides du lot PTHE (0,82 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;
- Une baisse du taux des triglycérides du lot PTHE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;

Pour les taux de cholestérol total :

- Une légère élévation des valeurs du cholestérol total du lot HE (0,79 g/L) par rapport au lot C mais cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation des valeurs du cholestérol total du lot PT par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;
- Des valeurs presque similaires du cholestérol total entre le lot PTHE (0,71 g/L) et le lot C;
- Une baisse des valeurs du cholestérol total du lot PTHE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$).

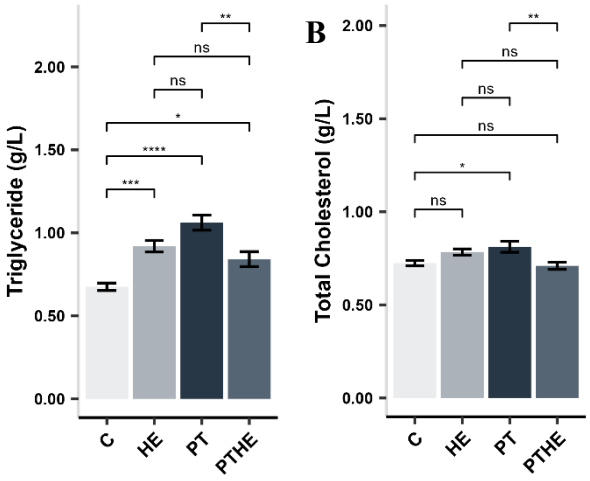


Figure 128: Variation des taux de triglycérides et de cholestérol total chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

C) Marqueur de l'inflammation (CRP)

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 129), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Des valeurs similaires de la CRP entre le lot AE (0,62 mg/L) et le lot C (0,63 mg/L) ;
- Une élévation de la CRP du lot PT (1,61 mg/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,001$) ;
- Une légère élévation de la CRP du lot PTAE (0,82 mg/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante de la CRP du lot PTAE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une élévation de la CRP du lot HE (1,49 mg/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;
- Une élévation de la CRP du lot PT par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;
- Une élévation de la CRP du lot PTHE (1,23 mg/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une baisse de la CRP du lot PTHE par rapport au lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative.

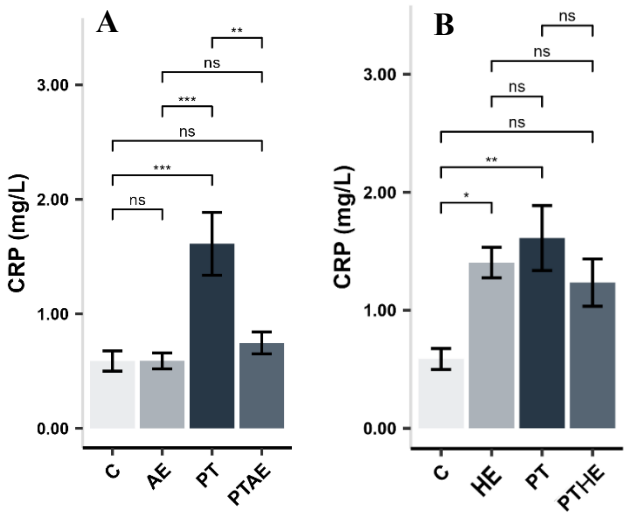


Figure 129: Variation des taux de CRP chez les différents lots

D) Exploration de la fonction hépatique :

Alanine Aminotransférase (ALT) et Aspartate aminotransférase (AST) :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 130 et 131), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Une légère élévation des valeurs de l'ALT du lot AE (69 UI/L) par rapport au lot C (67,5 UI/L) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante des valeurs de l'ALT du lot PT (49,41 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse importante des valeurs de l'ALT du lot PTAE (49,53 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Des valeurs similaires de l'ALT entre les lots PTAE et PT ;

Pour les taux des AST :

- Une légère baisse des valeurs de l'AST du lot AE (191,4 UI/L) par rapport au lot C (193UI/L) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une élévation des valeurs de l'AST du lot PT (207,35 UI/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une légère baisse des valeurs de l'AST du lot PTAE (192,9 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse des valeurs de l'AST du lot PTAE (192,9 UI/L) par rapport au lot PT mais cette baisse reste statistiquement non significative ;

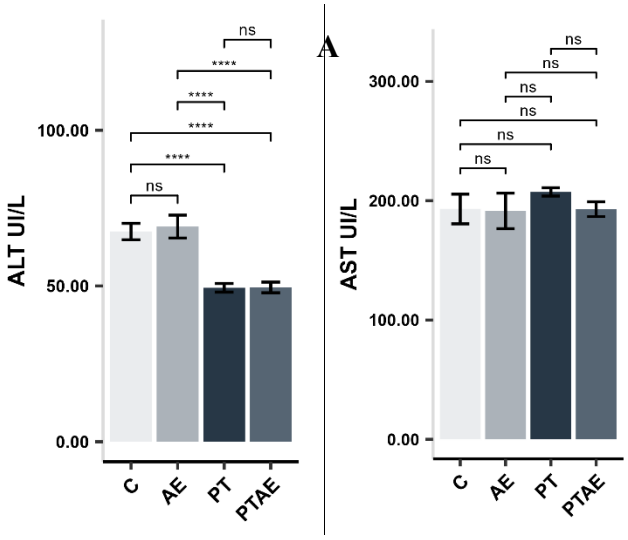


Figure 130: Variation des taux d'Alanine Aminotransférase (ALT) et d'Aspartate aminotransférase (AST) chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe B)

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une baisse des valeurs de l'ALT du lot HE (59,8 UI/L) par rapport au lot C (67,5 UI/L) et cette baisse est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;
- Une baisse importante des valeurs de l'ALT du lot PT (49,41 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse importante des valeurs de l'ALT du lot PTHE (52,4 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une élévation des valeurs de l'ALT du lots PTHE (52,4 UI/L) par rapport au lot PT (49,41 UI/L) mais cette élévation est statistiquement non significative ;

Pour les taux des AST :

- Une baisse des valeurs de l'AST du lot HE (170,4 UI/L) par rapport au lot C (193UI/L) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une élévation des valeurs de l'AST du lot PT (207,35 UI/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une légère baisse des valeurs de l'AST du lot PTHE (183,8 UI/L) par rapport au lot C mais cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse des valeurs de l'AST du lot PTHE (183,8 UI/L) par rapport au lot PT (207,35 UI/L) mais cette baisse reste statistiquement non significative ;

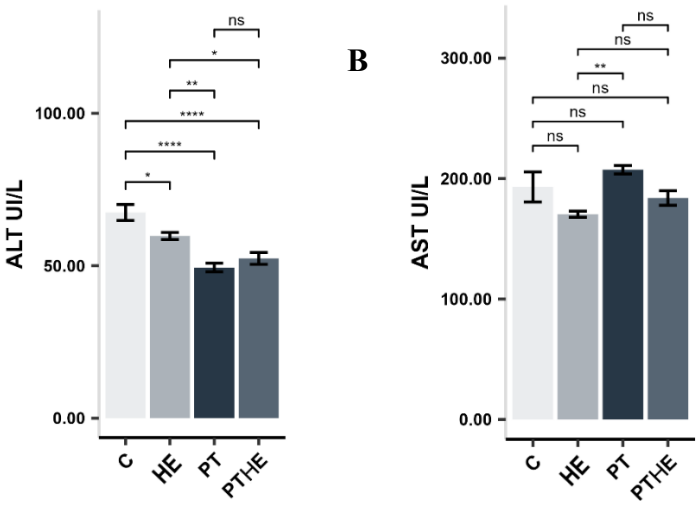


Figure 131 : Variation des taux d'Alanine Aminotransférase (ALT) et d'Aspartate aminotransférase (AST) chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

Phosphatase alcaline (PAL), Gamma glutamyl transférase (γGT) et bilirubine totale :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 132 et 133), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

Pour les taux de PAL :

- Une légère baisse des valeurs de PAL du lot AE (126,4 UI/L) par rapport au lot C (132,3 UI/L) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante des valeurs de PAL du lot PT (78,23 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse importante des valeurs de PAL du lot PTAE (72,3 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une légère baisse des valeurs de PAL du lot PTAE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement non significative ;

Pour les taux de γGT :

- Une augmentation des valeurs de γGT du lot AE (3,67 UI/L) par rapport au lot C (3,45 UI/L) et cette augmentation est statistiquement non significative ;
- Une élévation des valeurs de γGT du lot PT (3,98 UI/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une baisse des valeurs de γGT du lot PTAE (3,23 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement non significative ;

- Une baisse des valeurs de γGT du lot PTAE par rapport au lot PT mais cette baisse reste statistiquement non significative ;

Pour les taux de bilirubine totale :

- Des valeurs similaires de la bilirubine totale entre le lot AE (0,97 mg/L) et le lot C (0,98 mg/L) ;
- Une élévation de la bilirubine totale du lot PT (1,16 mg/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,001$) ;
- Une baisse de la bilirubine totale du lot PTAE (0,83 mg/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante de la bilirubine totale du lot PTAE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;

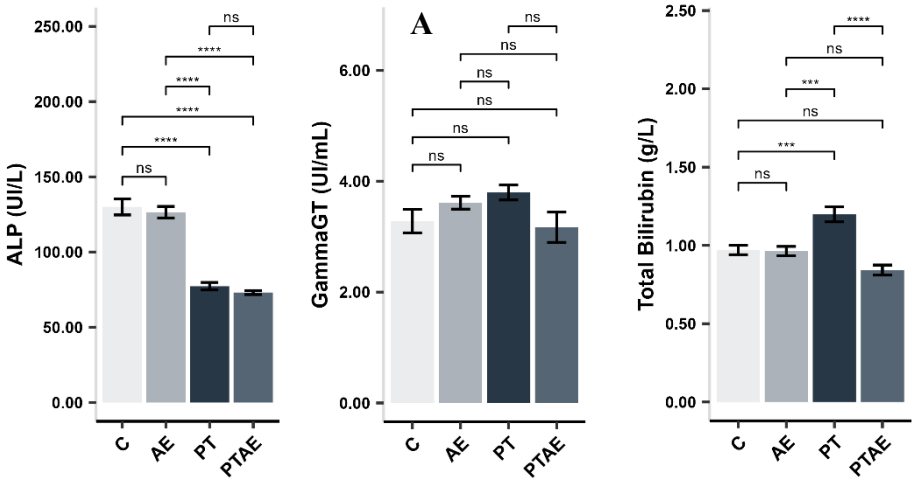


Figure 132: Variation du taux de phosphatase alcaline (PAL), Gamma glutamyl transférase (γGT) et de bilirubine totale chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

Pour les taux de PAL :

- Une baisse des valeurs de PAL du lot HE (111,6 UI/L) par rapport au lot C (132,3 UI/L) et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante des valeurs de PAL du lot PT (78,23 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse importante des valeurs de PAL du lot PTHE (62,29 UI/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;

- Une baisse des valeurs de PAL du lot PTHE par rapport au lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative ;

Pour les taux des γGT :

- Une élévation des valeurs de γGT du lot HE (3,72 UI/L) par rapport au lot C (3,45 UI/L) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation des valeurs de γGT du lot PT (3,98 UI/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une baisse des valeurs de γGT du lot PTHE (3,05 UI/L) par rapport au lot C mais cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse des valeurs de γGT du lot PTHE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;

Pour le taux de Bilirubine totale :

- Une élévation de la bilirubine totale du lot HE (1,05 mg/L) par rapport au lot C (0,86 mg/L) mais cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation de la bilirubine totale du lot PT par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;
- Une légère baisse de la bilirubine totale du lot PTHE (0,96 mg/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante de la bilirubine totale du lot PTHE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$).

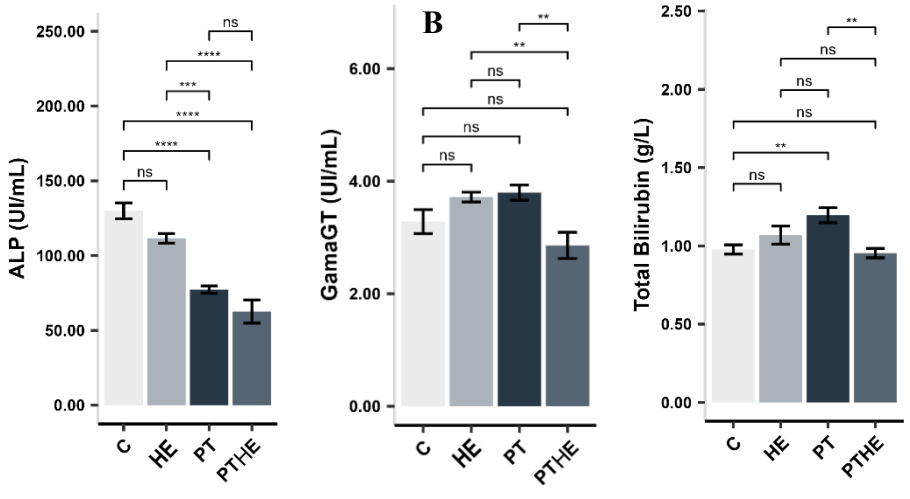


Figure 133: Variation du taux de phosphatase alcaline (PAL), Gamma glutamyl transférase (γGT) et de bilirubine totale chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

E) Exploration de la fonction rénale :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 134 et 135), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Des valeurs similaires de l'urée du lot AE (0, 34 g/L) et du lot C (0,33 g/L) ;
- Une élévation de l'urée du lot PT (0,61 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une élévation de l'urée du lot PTAE (0,58 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse des valeurs de l'urée du lot PTAE par rapport au lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative ;

Pour les taux de créatinine :

- Des valeurs similaires du taux de créatinine entre le lot AE (5,12 g/L) et le lot C (4,98 g/L) ;
- Une élévation des valeurs de la créatinine du lot PT (6,07 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;
- Des valeurs similaires de la créatinine entre le lot PTAE (5,1 g/L) et le lot C ;
- Une baisse des valeurs de la créatinine du lot PTAE par rapport au lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative ;

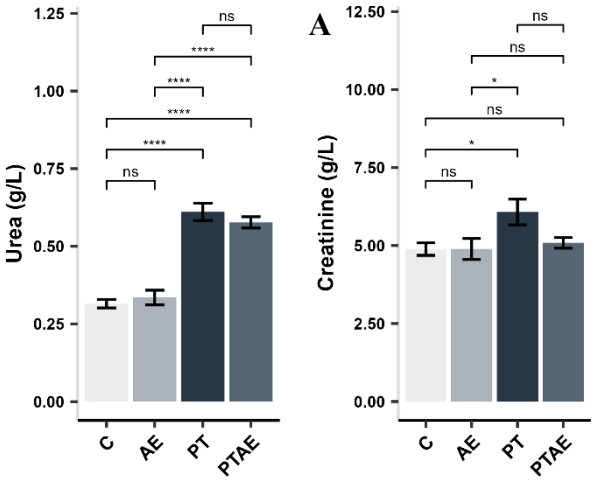


Figure 134:Variation du taux d'urée et de créatinine chez les lots traités par l'extrait aqueux (groupe A)

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une légère élévation de l'urée du lot HE (0,36 g/L) par rapport au lot C (0,33 g/L) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation importante des valeurs de l'urée du lot PT (0,6 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative (p≤ 0,0001) ;
- Une élévation des valeurs de l'urée du lot PTHE (0,55 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement très hautement significative (p≤ 0,0001);
- Une baisse des valeurs de l'urée du lot PTHE par rapport au lot PT mais cette baisse est statistiquement non significative ;

Pour les taux de créatinine :

- Une légère élévation de la créatinine du lot HE (5,28 g/L) par rapport au lot C (4,98 g/L) et cette élévation est statistiquement non significative ;
- Une élévation des valeurs de la créatinine du lot PT (6,07 g/L) par rapport au lot C et cette élévation est statistiquement hautement significative (p≤ 0,01) ;
- Une baisse des valeurs de la créatinine du lot PTHE (4,51 g/L) par rapport au lot C mais cette baisse est statistiquement non significative ;
- Une baisse importante des valeurs de la créatinine du lot PTHE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement très hautement significative (p≤ 0,001) ;

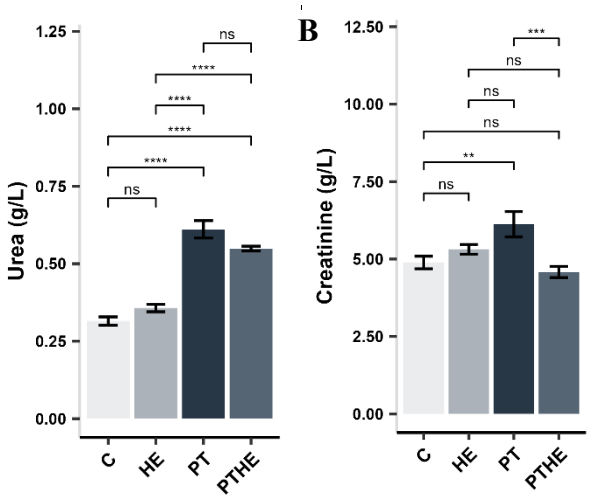


Figure 135: Variation du taux d'urée et de créatinine chez les lots traités par l'extrait hydro-éthanolique (groupe B)

F) Exploration de la fonction corticosurrénalienne (cortisolémie) :

D'après les résultats obtenus lors de notre expérimentation (figure 136), nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait aqueux (groupe A) ce qui suit :

- Une baisse importante de la cortisolémie du lot AE (1,28 µg/L) par rapport au lot C (1,81 µg/L) et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse de la cortisolémie du lot PT (1,42 mg/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement significative ($p \leq 0,05$) ;
- Une baisse importante de la cortisolémie du lot PTAE (1,01 µg/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse importante de la cortisolémie du lot PTAE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,001$) ;

Nous avons observé dans les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique (groupe B) ce qui suit :

- Une baisse importante de la cortisolémie du lot HE (1,08 µg/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse de la cortisolémie du lot PT par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement hautement significative ($p \leq 0,01$) ;
- Une baisse importante de la cortisolémie du lot PTHE (0,76 µg/L) par rapport au lot C et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$) ;
- Une baisse importante de la cortisolémie du lot PTHE par rapport au lot PT et cette baisse est statistiquement très hautement significative ($p \leq 0,0001$).

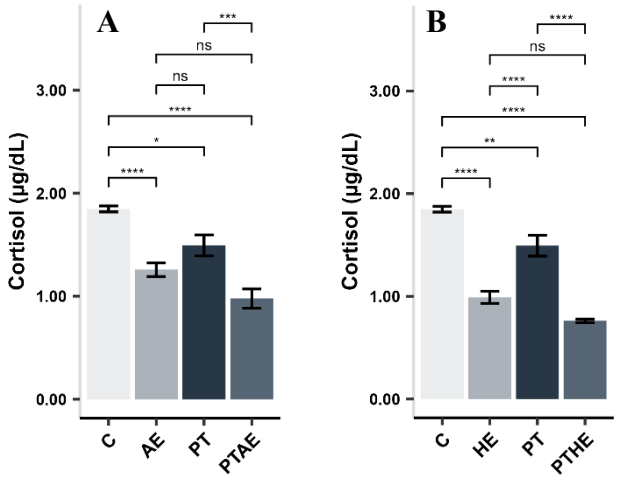


Figure 136: Variation du taux de cortisolémie chez les différents lots

G) Synthèse générale des effets biochimiques observés :

le tableau 53 résume les principales variations des paramètres biochimiques observées chez les différents lots expérimentaux. Il met en évidence les tendances significatives ainsi que les effets correcteurs ou protecteurs des extraits d'*Atriplex halimus L.* sur les perturbations induites par le phtalate.

Tableau 53:Synthèse générale des effets biochimiques observés chez les différents lots expérimentaux

Paramètre observé	Groupe / Lot	Résultat principal	Signification statistique	Interprétation générale
Glycémie	AE et HE	Valeurs similaires vs C	NS	Absence d'effet notable
	PT	↑ vs C	$p \leq 0,01$	Hyperglycémie induite par le phtalate
	PTAE	↓ marquée vs PT	$p \leq 0,001$	Effet correcteur de l'extrait aqueux
	PTHE	↓ modérée vs PT	NS	Tendance corrective non significative
Triglycérides	AE	↑ légère vs C	NS	Absence d'effet notable
	PT	↑ marquée vs C	$p \leq 0,0001$	Hypertriglycéridémie due au phtalate
	PTAE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,0001$	Effet hypolipémiant significatif
	HE	↑ marquée vs C	$p \leq 0,001$	Légère hyperlipidémie induite
	PTHE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,01$	Effet hypolipémiant significatif
Cholestérol total	AE et HE	Valeurs similaires vs C	NS	Absence d'effet notable
	PT	↑ modérée vs C	NS	Hypercholestérolémie modérée
	PTAE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,05$	Effet hypocholestérolémiant significatif
	PTHE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,01$	Effet hypocholestérolémiant marqué
CRP	AE	Valeur similaire vs C	NS	Absence d'effet notable
	PT	↑ marquée vs C	$p \leq 0,001$	Inflammation systémique induite
	PTAE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,01$	Effet anti-inflammatoire
	HE	↑ légère vs C	$p \leq 0,05$	Inflammation induite
	PTHE	↓ modérée vs PT	NS	Tendance anti-inflammatoire

Tableau 53 (suite): Synthèse générale des effets biochimiques observés chez les différents lots expérimentaux

Paramètre observé	Groupe / Lot	Résultat principal	Signification statistique	Interprétation générale
ALT	PT	↓ importante vs C	$p \leq 0,0001$	Diminution des enzymes hépatiques
	PTAE	Valeur similaire vs PT	$p \leq 0,0001$	Maintien de la perturbation hépatique
	PTHE	↑ légère vs PT	NS	Réponse partielle à la toxicité
AST	AE, PTAE, HE, PTHE	Variations faibles vs C	NS	Pas d'altération hépatique significative
PAL	PT	↓ marquée vs C	$p \leq 0,0001$	altération du métabolisme hépatique
	PTAE, PTHE	↓ vs PT	NS	altération maintenue du métabolisme hépatique
γGT	Tous lots	Variations légères	NS à $p \leq 0,01$	Tendance à la régulation hépatique
Bilirubine totale	PT	↑ marquée vs C	$p \leq 0,001$	Souffrance hépatique
	PTAE, PTHE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,0001$ / 0,01	Effet protecteur hépatique marqué
Urée	PT	↑ importante vs C	$p \leq 0,0001$	Atteinte rénale induite par le phtalate
	PTAE, PTHE	↓ légère vs PT	NS	Tendance à la normalisation rénale
Créatinine	PT	↑ modérée vs C	$p \leq 0,01$	Altération de la fonction rénale
	PTAE	↓ légère vs PT	NS	Tendance à la normalisation rénale
	PTHE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,001$	Amélioration rénale significative
Cortisolémie	AE, HE, PTAE, PTHE	↓ marquée vs C	$p \leq 0,0001$	Effet hyposecréteur global sur la fonction corticosurrénalienne
	PTAE, PTHE	↓ nette vs PT	$p \leq 0,001$ et 0,0001	Rôle adaptogène des extraits

NS : non significatif

5.2.6. Etude histologique :

L'étude histologique a été effectuée sur plusieurs organes ; à savoir : la thyroïde, les organes reproducteurs (ovaires et utérus), le foie, le rein et le cerveau.

A) Etude histologique du la thyroïde :

Nous avons observé lors de l'examen histologique de la thyroïde (fig 137) des différents lots ce qui suit :

- **Lot C** : de nombreuses vésicules thyroïdiennes rondes et bien délimitées, contenant une colloïde homogène et abondante. L'épithélium folliculaire est cubique et régulier, sans signes d'altération, traduisant une thyroïde au fonctionnement normal.
- **Lot AE** : des vésicules thyroïdiennes avec une légère variabilité de taille, à colloïde homogène, légèrement vacuolisé en périphérie, traduisant d'une activité sécrétoire modérée de la glande.
- **Lot HE** : des vésicules thyroïdiennes avec une légère variabilité de taille, à colloïde homogène, légèrement vacuolisé en périphérie, traduisant d'une activité sécrétoire modérée de la glande.
- **Lot PT** : de nombreuses vésicules thyroïdiennes kystiques, à lumière ectasique remplie de colloïde, et bordées par un épithélium aplati (flèches rouges). Cet aspect traduit une hyperplasie thyroïdienne.
- **Lot PTAE** : la persistance de vésicules thyroïdiennes kystiques au niveau de la coupe histologique, traduisant une hyperplasie encore présente mais légèrement atténuée.
- **Lot PTHE** : la persistance de vésicules thyroïdiennes kystiques au niveau de la coupe histologique, traduisant une hyperplasie encore présente mais légèrement atténuée.

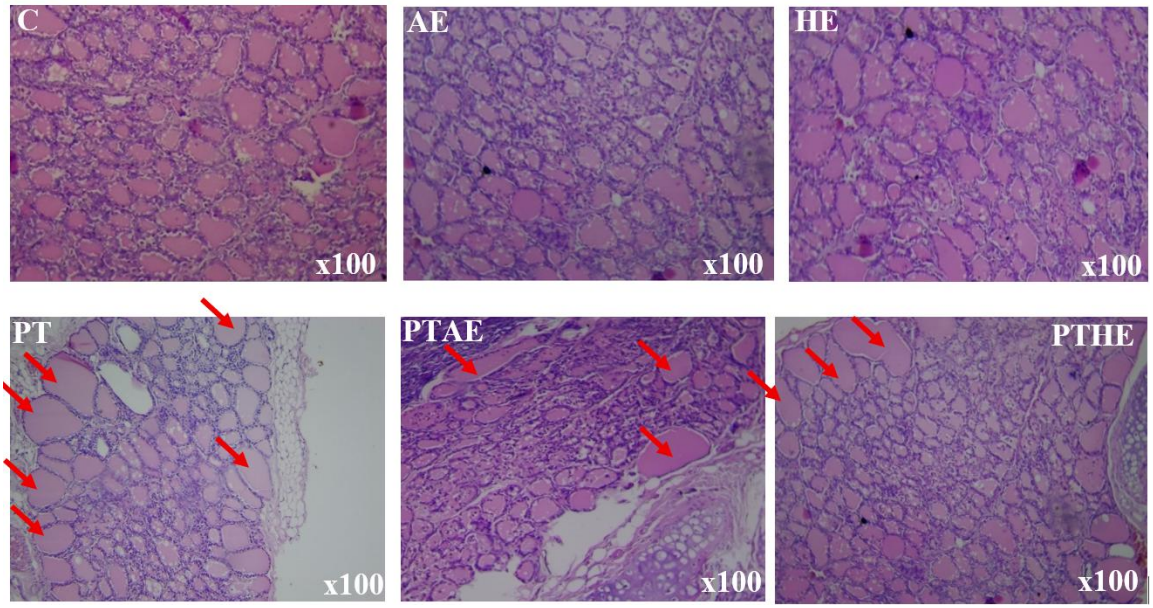


Figure 137:Coupes histologiques de la thyroïde de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×10

B) Etude histologique des ovaires :

Nous avons observé lors de l'examen histologique des ovaires (fig 138) des différents lots ce qui suit :

- **Lot C** : de nombreux follicules à différents stades de développement, un stroma sarcomatoïde bien structuré, sans signes d'atrophie. La présence de corps jaunes confirme une activité ovarienne normale et une ovulation fonctionnelle.
- **Lot AE :** un aspect correspondant à la seconde phase du cycle, marqué par une lutéinisation physiologique. L'architecture ovarienne reste proche de celle du lot témoin, avec la présence de follicules à différents stades de maturation sans anomalie ni signe pathologique notable.
- **Lot HE :** un phénomène de lutéinisation plus prononcé, correspondant à la seconde phase du cycle ovarien. L'architecture ovarienne demeure bien organisée, avec la présence de follicules bien développés à tous les stades de maturation, traduisant une activité fonctionnelle normale.
- **Lot PT** : une dystrophie caractérisée par la présence de nombreux follicules kystiques à parois fines, à aspect histiocytoïde, de forme ovale ou arrondie, et contenant des espaces clairs (flèches blanches). Les follicules normaux sont rares, traduisant une altération de l'activité folliculaire.
- **Lot PTAE** : une réduction partielle du nombre de follicules kystiques par rapport au lot toxique (PT), on note aussi la présence de follicules à différents stades d'évolution (cercle orange). Présence de corps jaunes, signes d'ovulation récente (flèche jaune).
- **Lot PTHE** : la persistance de quelques follicules kystiques (flèche blanche), toutefois en nombre réduit par rapport au lot toxique (PT). On observe également la présence de follicules à différents stades de maturation (cercle orange).

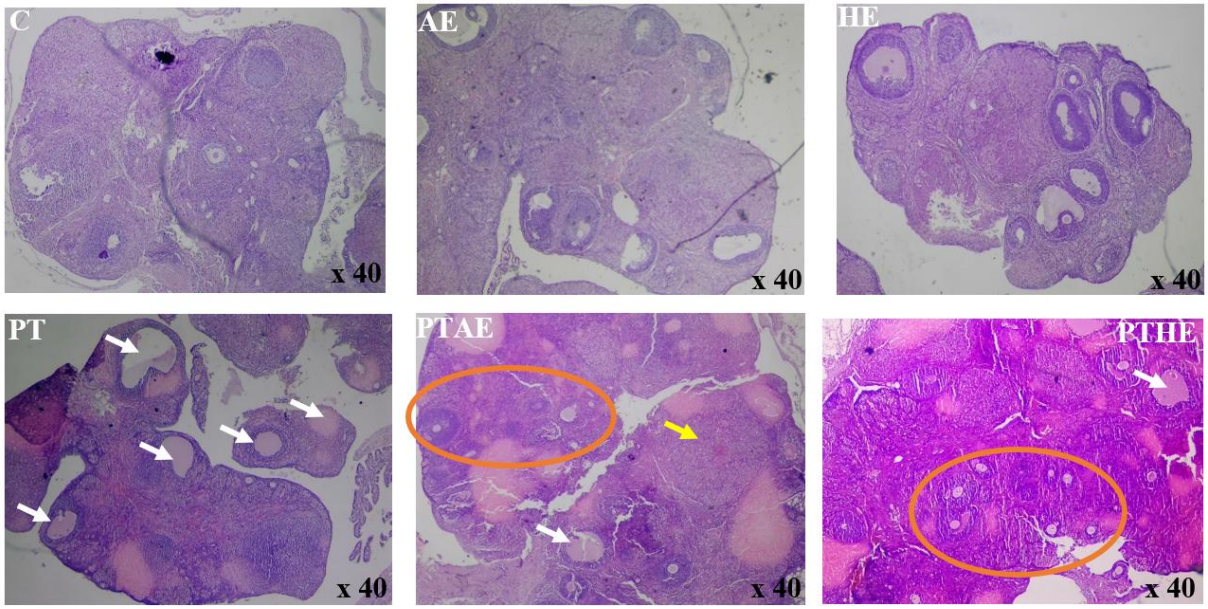


Figure 138:Coupes histologiques d'ovaires de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×4

C) Etude histologique de l'utérus :

Nous avons observé lors de l'examen histologique de l'utérus (fig 139) des différents lots ce qui suit :

- **Lot C** : une structure normale de l'utérus avec ses trois couches bien visibles. L'endomètre est bien développé, contenant plusieurs glandes actives. L'organisation générale est typique d'un utérus fonctionnel, sans aucune anomalie.
- **Lot AE :** une muqueuse utérine normale et fonctionnelle, sans signe d'altération ni d'inflammation.
- **Lot HE** : un utérus avec une structure globalement normale. On note parfois une légère irrégularité de l'épithélium et quelques glandes plus dilatées, traduisant un léger effet stimulant, mais sans signe de toxicité.
- **Lot PT :** une paroi utérine où l'endomètre est aminci, les glandes endométriales sont réduites, un stroma dense et fibreux. Le myomètre est présent, d'épaisseur normale, l'ensemble de la muqueuse montre un état d'atrophie modérée.
- **Lot PTAE :** un endomètre d'épaisseur proche de la normale, renfermant des glandes tubuleuses régulières et bien réparties. Le stroma apparaît modérément vascularisé, sans densification ni fibrose marquée. Le myomètre conserve une structure normale.

- **Lot PTHE :** un endomètre épais, bien structuré, muni de nombreuses glandes tubuleuses, un stroma vascularisé et un myomètre normal. Absence de fibrose, d'infiltration ou d'atrophie.

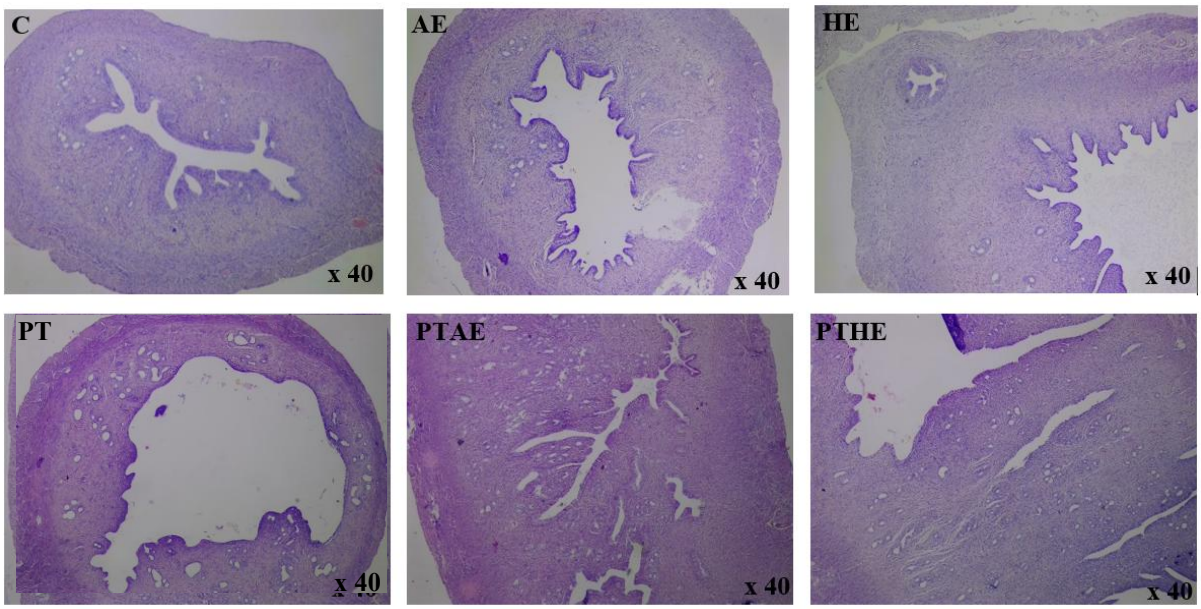


Figure 139:Coupes histologiques d'utérus de rats femelles adultes issues de différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×4

D) Etude histologique du foie :

Nous avons observé lors de l'examen histologique du foie (fig140) des différents lots ce qui suit :

- **Lot C** : la présence d'une architecture lobulaire parfaitement conservée, avec des hépatocytes intègres, des noyaux bien définis, des sinusoïdes réguliers et l'absence de toute anomalie inflammatoire ou vasculaire. Aucun signe de vacuolisation, de stéatose ou de congestion n'a été observé.
- **Lot AE** : le parenchyme hépatique conserve son architecture normale avec des hépatocytes bien alignés et des sinusoïdes régulières. Aucune lésion majeure n'est observée. Une légère hypervascularisation (flèche rouge) ou activité métabolique augmentée peut être notée.
- **Lot HE** : le parenchyme hépatique conserve son architecture normale avec des hépatocytes bien alignés et des sinusoïdes régulières. Aucune lésion majeure n'est observée. Une légère hypervascularisation ou activité métabolique augmentée peut être notée.
- **Lot PT** : des altérations sévères du tissu hépatique avec vacuolisation cytoplasmique, stéatose, ballonisation des hépatocytes, congestion sinusoidale importante, ainsi que des

signes d'inflammation périvasculaire et de désorganisation architecturale. Dans certaines zones, des noyaux pycnotiques et de possibles débuts de nécrose sont observés.

- **Lot PTAE** : Les lésions hépatiques sont nettement atténuées, l'architecture générale du foie est globalement préservée, la congestion est modérée, et les hépatocytes apparaissent moins altérés, avec peu ou pas de vacuolisation. L'absence de foyers nécrotiques et la réduction des signes inflammatoires.
- **Lot PTHE** : Les lésions hépatiques sont nettement atténuées, l'architecture générale du foie est globalement préservée, la congestion est modérée, et les hépatocytes apparaissent moins altérés, avec peu ou pas de vacuolisation. L'absence de foyers nécrotiques et la réduction des signes inflammatoires.

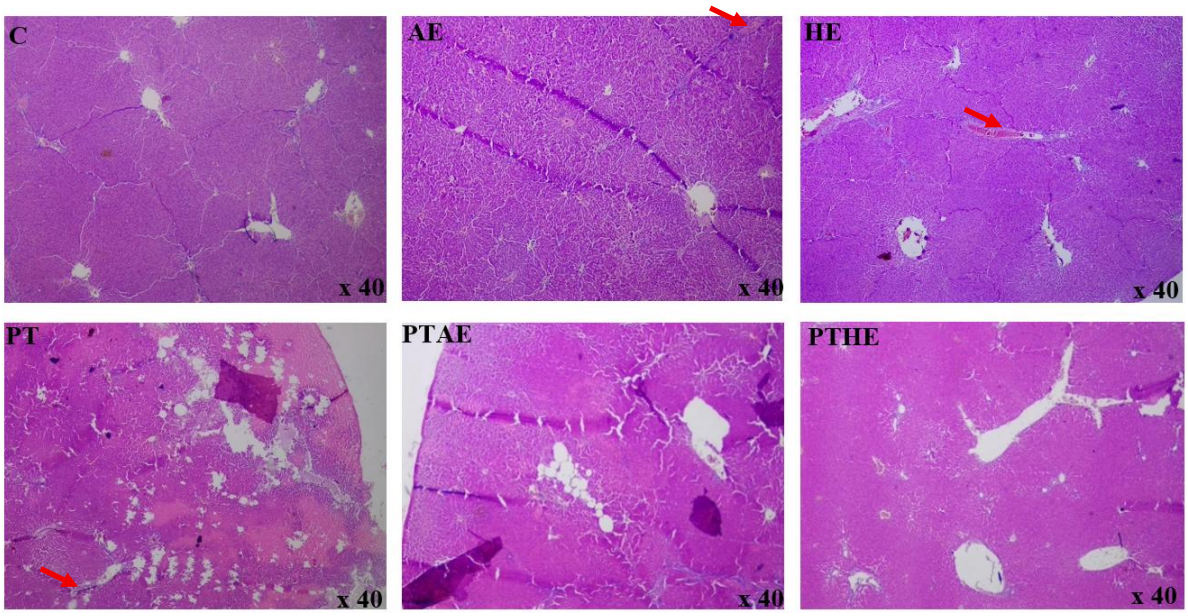


Figure 140:Coupes histologiques de foie de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr 10×4

E) Etude histologique du rein :

Nous avons observé à l'examen histologique du rein (fig141) des différents lots ce qui suit :

- **Lot C** : une organisation nette entre le cortex et la médullaire. Le cortex rénal présente de nombreux glomérules (flèche jaune) bien définis, avec des capillaires denses au centre. On y observe également des tubules contournés proximaux et distaux (flèche orange)**.** La médullaire, située plus en profondeur, contient des tubules droits, des segments de l'anse de Henlé et des canaux collecteurs. Le tissu interstitiel est peu abondant, comme attendu

dans un rein sain, et quelques vaisseaux sanguins sont visibles. L'ensemble témoigne d'une architecture rénale normale, sans signes apparents de pathologie.

- **Lot AE** : le parenchyme rénal conserve son architecture normale avec de nombreux glomérules bien définis entourés de tubes contournés proximaux et distaux, on observe une congestion modérée caractérisée par une dilatation des capillaires et des petits vaisseaux sanguins avec présence d'érythrocytes (flèche rouge), cette congestion est visible dans la région corticale et médullaire. Aucune nécrose tissulaire n'est observée.
- **Lot HE** : le parenchyme rénal conserve son architecture normale, aucune lésion majeure n'est observée. On note une congestion vasculaire légère mais pas d'infiltrat inflammatoire ni de nécrose associée dans cette congestion modérée.
- **Lot PT :** congestion vasculaire importante notamment des veines, artérioles et capillaires, qui apparaissent très dilatés et chargés d'érythrocytes, ainsi que des signes d'inflammation périvasculaire. L'architecture corticale et médullaire est conservée, mais les travées parenchymateuses peuvent être comprimées par la distension vasculaire importante.
- **Lot PTAE** : l'architecture générale du rein est globalement préservée et la congestion vasculaire est modérée. On note l'absence de foyers nécrotiques et la réduction des signes inflammatoires.
- **Lot PTHE** : l'architecture générale du rein est globalement préservée et la congestion vasculaire est modérée. On note l'absence de foyers nécrotiques et la réduction des signes inflammatoires.

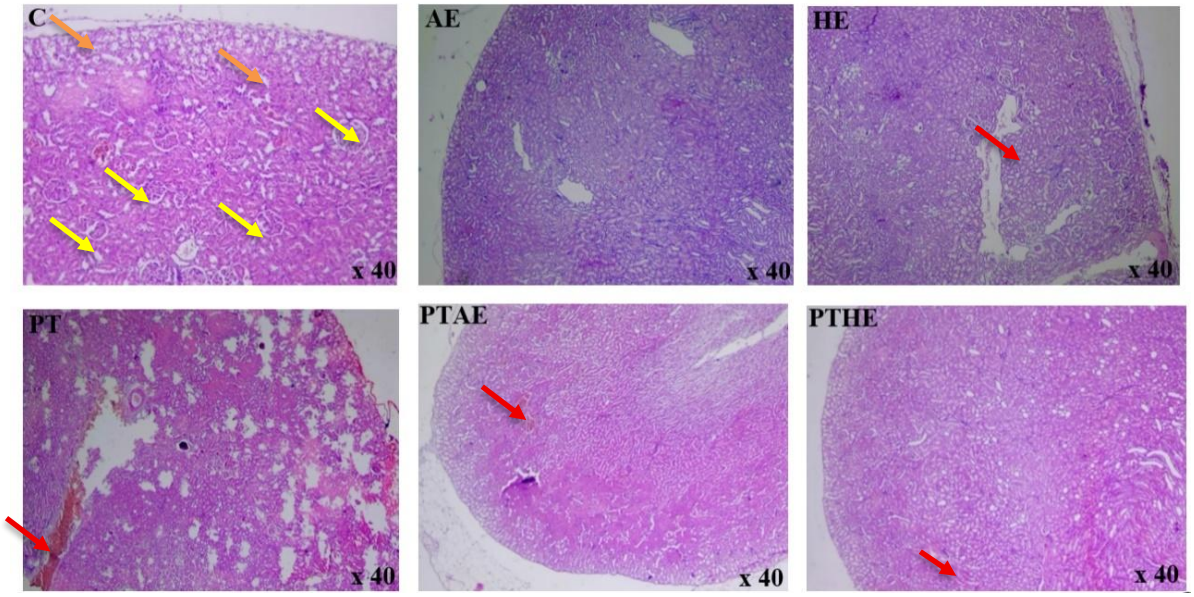


Figure 141:Coupes histologiques du rein de rats femelles adultes issues de différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr10×4

F) Etude histologique du cerveau :

Nous avons observé à l'examen histologique du cerveau (fig142) des différents lots ce qui suit :

- **Lot C** : une organisation homogène du tissu nerveux, caractéristique d'un cerveau sain. On observe une matrice de fond légèrement rosée, correspondant à la substance grise, dans laquelle se dispersent de nombreux petits corps cellulaires neuronaux, visibles sous forme de points ou d'ovales plus foncés. Ces neurones sont entourés par un réseau dense de prolongements gliaux et axonaux, donnant un aspect finement granuleux à l'ensemble du champ. Aucun foyer de vacuolisation, d'hémorragie ou d'infiltrat inflammatoire n'est visible
- **Lot AE** : la coupe histologique cérébrale présente une architecture globale normale, avec des neurones répartis régulièrement dans le parenchyme et un neuropile homogène. Aucun signe de dégénérescence, de vacuolisation massive ou de foyers inflammatoires n'est observé. L'ensemble traduit un tissu cérébral intact, sans altération visible.
- **Lot HE** : la coupe histologique cérébrale révèle un parenchyme globalement homogène, avec une disposition régulière des neurones et une structure neuropile sans vacuolisation ni foyers de nécrose apparente. On n'observe pas d'infiltrat inflammatoire, ni de congestion vasculaire notable. Globalement, cette coupe traduit un état cérébral relativement préservé, sans atteinte morphologique sévère détectable.
- **Lot PT** : la coupe histologique cérébrale montre un parenchyme uniforme avec des noyaux neuronaux répartis régulièrement dans le neuropile. Aucune désorganisation majeure, vacuolisation, ni foyer de nécrose n'est visible. Quelques vaisseaux sanguins sont présents, contenant des globules rouges. L'ensemble traduit une architecture cérébrale conservée.
- **Lot PTAE** : Cette coupe histologique cérébrale montre une organisation homogène, sans remaniement lésionnel majeur, ni perte évidente de densité neuronale ou de signes aigus de souffrance tissulaire. Elle traduit une bonne préservation de l'intégrité cérébrale.
- **Lot PTHE** : Cette coupe histologique cérébrale montre une organisation homogène, sans remaniement lésionnel majeur, ni perte évidente de densité neuronale ou de signes aigus de souffrance tissulaire. Elle traduit une bonne préservation de l'intégrité cérébrale.

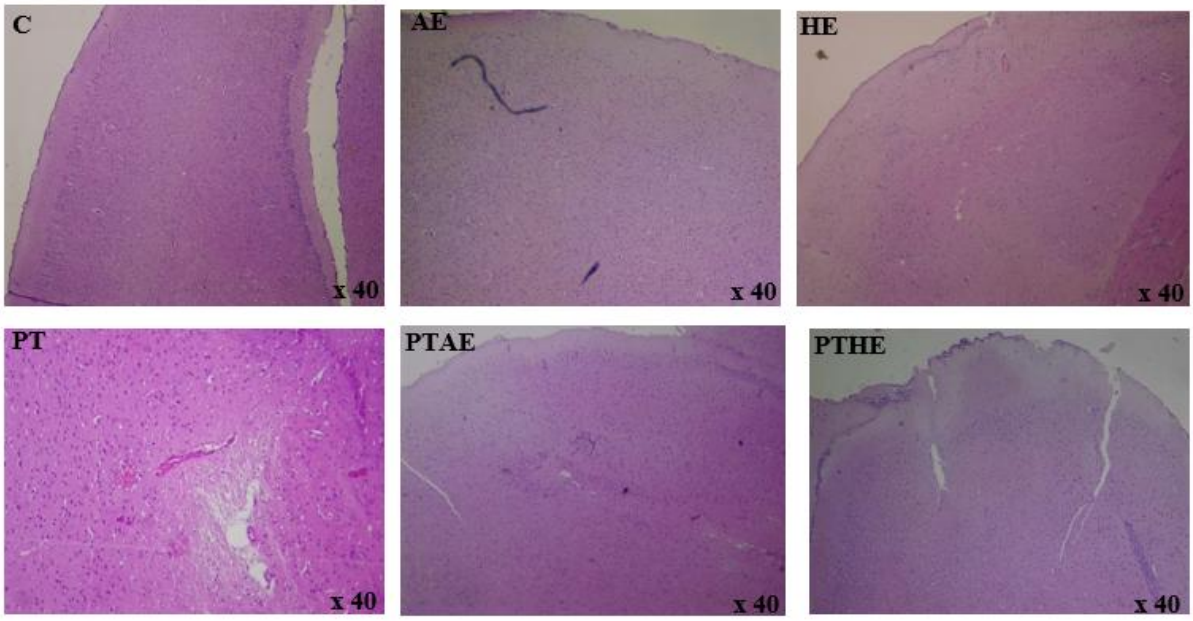


Figure 142:Coupes histologiques du cerveau de rats femelles adultes issues des différents groupes expérimentaux colorées à l'Hématoxyline-Éosine observées au microscope optique Gr10×4

Afin de mettre en évidence les effets essentiels observés au niveau histologique, le tableau 54 résume les principales modifications histologiques observées dans les organes des différents lots expérimentaux.

Tableau 54: Principales modifications histologiques observées chez les lots expérimentaux

Organe	Lot traité au DINP (PT)	Lots co-traités (PTAE/PTHE)	Interprétation générale
Thyroïde	Nombreuses vésicules thyroïdiennes kystiques	Persistance de quelques vésicules kystiques	Hyperplasie encore présente mais atténuée
Ovaires	Nombreux follicules kystiques, absence de corps jaunes.	Réduction du nombre de kystes, retour de corps jaunes.	Restauration fonctionnelle ovarienne.
Utérus	Atrophie endométriale, glandes rares.	Épithélium régénéré, glandes rétablies.	Protection nette de la muqueuse utérine.
Foie	Stéatose, vacuolisation, inflammation.	Lésions atténuées, parenchyme presque normal.	Effet hépatoprotecteur marqué.
Rein	Congestion et inflammation.	Congestion modérée, structure conservée.	Atténuation des lésions rénales.
Cerveau	Congestion vasculaire légère.	Intégrité tissulaire maintenue.	Maintien de l'intégrité cérébrale

DISCUSSION

IV. Discussion :

IV.1 Diagnose botanique :

L'identification botanique de l'espèce a reposé sur l'analyse des caractères morphologiques, macroscopiques et microscopiques, en se référant aux descriptions rapportées par les flores de Quezel et Santa (1962), Maire (1962), Ozenda (2004) et Botineau (2010) [5,6,38,45].

Les observations réalisées (port très rameux, touffes argentées, feuilles simples oblongues, fleurs monoïques jaunâtres organisée en glomérule, fruit en akène entouré de tépales persistants) correspondent parfaitement aux critères diagnostiques *d'Atriplex halimus* L., confirmant ainsi l'identité de l'espèce.

Par ailleurs, notre échantillon a été identifié comme appartenant à la sous-espèce *Atriplex halimus* subsp. ***schweinfurthii***, très répandue dans les zones steppiques. Cette sous-espèce présente un port broussailleux enchevêtré, avec des branches fructifères nues au sommet, fortement lignifiées et pointues. Il convient de noter que *Atriplex halimus* est une espèce hautement polymorphe, en raison de la diversité des habitats dans lesquels elle se développe[85].

L'étude anatomique de la coupe transversale des feuilles a permis de mettre en évidence des caractères typiques des dicotylédones ainsi que des éléments caractéristiques de la famille des Amaranthaceae et des halophytes à photosynthèse de type C4 : présence d'un mésophylle hétérogène organisé en palissades bicouches (cellules externes allongées et internes cubiques), d'un hypoderme riche en macles d'oxalate de calcium, de gaines périvasculaires entourant les tissus conducteurs (anatomie en « Kranz »), ainsi qu'une abondance de trichomes vésiculaires impliqués dans l'excrétion du sel. Ces observations, signalées également par Walker et al. (2011) [41], Mahi et al.(2015)[201], Ounaissia et al. (2019)[202] et Paul Monteil. (1906) [58] confirmant l'identité de l'espèce et sa capacité d'adaptation aux conditions salines.

De même, l'observation microscopique de la poudre foliaire a révélé des éléments diagnostiques concordants : épiderme polygonal avec stomates anomocytiques, poils tecteurs unicellulaires unisériés flexueux, trichomes vésiculaires excréteurs de sels, nombreux faisceaux libéro-ligneux entourés d'une gaine périvasculaire, des vaisseaux lignifiés de types variés (ponctués et réticulés) et macles d'oxalate de calcium très abondants. Ces caractéristiques de la poudre foliaire sont en parfait accord avec les descriptions de Ounaissia et, al. (2019) [202],

Paul Monteil. (1906) [58] et Mozafar et al. (1970) [203], confirmant qu'il s'agit bien de la poudre de feuilles de l'*Atriplex halimus L.*, appartenant à la famille des Amaranthaceae.

IV.2 Enquêtes ethnobotaniques :

Nous avons réalisé deux enquêtes ethnobotaniques auprès de 140 personnes de la Wilaya de M'sila et ses environs et sur 90 herboristes réparties majoritairement entre deux wilaya, Annaba et M'sila. Ce nombre d'échantillons situe notre enquête dans le cadre d'une **étude exploratoire**, permettant d'identifier des tendances générales et de décrire les usages traditionnels rapportés à *Atriplex halimus* L.

L'enquête menée auprès de la **population** a mis en évidence une prévalence marquée de la connaissance et de l'usage d'*Atriplex halimus L.* dans la région de M'sila et ses environs. La population interrogée est majoritairement composée de femmes (69 %), appartenant essentiellement à la tranche des jeunes adultes (67 %). Cette prédominance féminine est fréquemment observée dans les enquêtes ethnobotaniques, car les femmes jouent un rôle central dans la transmission des savoirs thérapeutiques traditionnels, aussi les femmes sont plus disposées à répondre aux enquêtes [204].

La distribution géographique montre que l'usage d'*A. halimus* est particulièrement répondu à M'sila (53 %) mais s'étend aussi aux wilayas voisines, cette plante fait partie de la flore locale de la région, de nombreuses études ethnobotaniques montrent que les plantes locales abondantes dans une région sont les plus fréquemment citées et utilisées, ce qui reflète à la fois leur accessibilité et leur familiarité culturelle[205]. Ainsi, Kefifa et al. (2020), dans l'étude quantitative menée en zone semi-aride algérienne, mettent en évidence que les espèces possédant les plus hauts indices de citation et d'usage étaient les plantes indigènes largement disponibles dans l'environnement local, ce qui explique leur utilisation en phytothérapie populaire [206].

Concernant le niveau d'instruction, les répondants sont majoritairement d'un niveau secondaire (38 %) ou universitaire (28 %), ce qui témoigne d'un maintien du savoir traditionnel au-delà des cercles exclusivement ruraux ou peu instruits. La source d'information la plus fréquente reste le savoir populaire transmis oralement (37 %), suivi par les herboristes (27 %), confirmant que la médecine populaire repose sur la transmission verbale en premier lieu, une transmission qui risque de se perdre si elle n'est pas transcrite comme rapportée par Baziz et al. (2020) et Ramdan et al. (2015) [207,208].

La fréquence de citation élevée de *l'Atriplex halimus* (59 %) suggère qu'il s'agit d'une plante médicinale largement intégrée dans les pratiques traditionnels de la région. Son taux d'utilisation déclaré (58 %) renforce cette observation, avec une prédominance marquée chez les femmes (88 % des utilisatrices), confirmant le rôle central de la femme dans la transmission des savoirs phytothérapeutiques et dans la prise en charge des soins de santé au sein du foyer [209]. Cette emploie féminin majorée de *l'Atriplex*, notamment pour traiter des affections gynécologiques, a également été signalée par Lakhdari et al. (2016) et Bellifa et al. (2023) [210,211], ce qui confirme la pertinence de cette espèce dans les pratiques thérapeutiques liées aux troubles féminins.

La partie de la plante la plus utilisée est la feuille (92 %), ce qui est en cohérence avec d'autres études menées sur les espèces halophytes du genre *Atriplex* [72,212], où les feuilles sont privilégiées en raison de leur disponibilité et l'aisance de leur récolte, même en période de sécheresse, mais surtout que ces organes, par le biais de la photosynthèse, sont le site de biosynthèse et souvent de stockage des composés bioactifs [213].

En ce qui concerne les indications thérapeutiques rapportées pour *l'Atriplex halimus*, la plante est utilisée dans 14 maladies classées en 8 catégories selon la CIM 11ème avec une nette prédominance des affections endocriniennes (51 % des citations), notamment les kystes ovariens (31 % des citations et 52 % de niveau de fidélité), le goitre, les nodules thyroïdiens et le diabète. Ces données révèlent une reconnaissance empirique de l'*A.halimus* comme plante régulatrice du métabolisme hormonal, cela a été constatée dans l'enquêtes ethnobotanique de Behaz et al. (2024) dans la région de Biskra, ou *l'Atriplex* prédominait dans le traitement des pathologies endocriniennes (FC = 53,7%) [212]. Aussi, dans l'enquête de Taïbi et al. (2020) ou *l'Atriplex* est majoritairement citées dans la médecine traditionnelle algérienne pour la gestion des troubles thyroïdiens[121], dans une autre enquête réalisée dans l'Ouest Algérien par Bellifa et al. (2023), *l'Atriplex* est rapportée comme la plante la plus efficace dans le traitement des kystes ovariens [211]. Certains de ces usages sont soutenues par plusieurs études biologiques et pharmacologiques montrant son effet antioxydant, anti-inflammatoire et anti-hyperglycémiant [4,9,81,82]. Toutefois, l'efficacité spécifique de cette plante dans les troubles thyroïdiens et les kystes ovariens reste à valider par des études pharmacologiques approfondies.

Le mode de préparation majoritairement rapporté par la population est la décoction (65 %), suivie de l'infusion (20 %), contrairement à l'enquête de Zennaf et al. (2022) où l'infusion est

le mode de préparation privilégié (65%). La décoction est une préparation courante dans les usages traditionnels des plantes, elle est principalement adaptée aux drogues dures (racines, tiges et écorces) mais on peut l'appliquer pour extraire les composés hydrosolubles thermorésistant (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) [214]. Par ailleurs, la plante est très souvent employée seule (96 %), ce qui suggère une confiance spécifique envers cette espèce pout traiter la pathologie ciblée, cela a déjà été signalée dans l'étude de Bellifa et al. (2023) [211].
L'enquête a également mis en évidence quelques effets indésirables perçus par 20% de la population, principalement dominés par hypertension artérielle (HTA), avec un taux de 69%. Ce signalement peut s'expliquer par le gout salé de la plante (plante halophyte).

La seconde enquête, menée auprès des **herboristes**, se justifie par leur rôle central dans la dispensation et le conseil liés aux plantes médicinales. Ce rôle a été mis en évidence dans l'enquête menée auprès de la population, où 27 % des participants ont déclaré avoir recours à leurs recommandations pour l'utilisation de *l'Atriplex halimus*.
Les herboristes sont souvent perçus comme des thérapeutes traditionnels, fortement enracinés dans les pratiques populaires. Leur activité s'exerce principalement dans les quartiers populaires des villes, les marchés ou les bazars, ce qui les rend facilement accessibles et proches des populations locales [215].
Les herboristes proposent des remèdes à des coûts modestes pour la plupart, ils attirent une clientèle majoritairement issue de milieux à faibles revenus. Ils véhiculent ainsi l'image du «*pharmacien des pauvres*», comblant un vide entre la médecine moderne et les soins traditionnels [216], et s'inscrivent de ce fait dans un système de santé parallèle fondé sur la phytothérapie. Cette accessibilité économique et culturelle leur confère une légitimité sociale dans le domaine des soins de santé traditionnels [1].
Concernant l'âge des informateurs impliqués dans cette enquête, il oscille entre 30 et 60 ans avec une prédominance des jeunes adultes (48%), ces herboristes sont souvent en fonction et présents au niveau des herboristeries avec un bon niveau de connaissance sur les plantes médicinales. De même, les informateurs ayant un âge entre 45 à 60 ans, sont classés en deuxième rang avec 30%, ils sont détendeurs d'un savoir plus étendu et d'une plus grande expérience dans l'usage des plantes médicinales.
Dans les régions investiguées, les hommes et les femmes sont concernés par la médecine traditionnelle. Cependant, le pourcentage des hommes exerçant ce métier est nettement

supérieur à 96%, ce constat de prédominance masculine a été signalée dans l'enquête de Boudjelal et al. (2013) dans la région de M'sila, ce qui est probablement dû aux traditions culturelles de la région, où les femmes ne sont pas encouragées à travailler en dehors de la cellule famille [217].

La connaissance des usages thérapeutiques des plantes médicinales repose traditionnellement sur une transmission orale intergénérationnelle. Toutefois, les résultats de notre enquête indiquent une évolution dans le profil des herboristes : près de 31 % des enquêtés ont un niveau secondaire, suivis par des herboristes ayant un niveau universitaire ou moyen (20 % chacun). Ce constat contraste avec les résultats de Boudjelal et al. (2013) où 34 % des herboristes étaient analphabètes [217], notre échantillon suggèrent une progressive professionnalisation du métier d'herboriste dans certaines régions urbaines ou semi-urbaines, comme cela a été constaté dans l'enquête de Souilah et al. (2023), réalisée dans la région de Skikda ou 36% des herboristes avaient un niveau universitaire[218]. Néanmoins, les 9% d'herboristes analphabètes de notre enquête, ont été une source d'information assez riche. Leurs connaissances thérapeutiques traditionnelles, fondées sur l'expérience empirique, représentent un savoir ancestral qu'il est essentiel de documenter et de préserver.

Concernant les informations recensées sur *l'Atriplex*, cette plante est bien connue et disponible dans les herboristeries (98 % des herboristes interrogés). Ce taux élevé suggère que cette espèce occupe une place importante dans l'arsenal thérapeutique de la pharmacopée traditionnelle algérienne. Des constats similaires ont été rapportés dans d'autres enquêtes ethnobotaniques menées en Algérie, notamment par Behaz et al. (2024) dans la région de Biskra, et par Bellifa et al. (2023) à l'Ouest du pays[211,212].

Aussi, les feuilles sont les parties de la plante les plus citées par les herboristes à 81%, suivie des parties aériennes (tiges et feuilles) à 24% ; ces résultats rejoignent l'enquête réalisée auprès de la population et concordent avec les travaux de Zennaf et al. (2022) [72], les feuilles représentent la drogue principale de la plante.

Selon nos résultats *l'A.halimus* est utilisé dans 13 maladies classées en 7 catégories selon la CIM 11ème, cela est supérieur à l'enquête de Zennaf et al. (2022)[72] réalisée à Mascara qui regroupe 10 pathologies traitées par *A.halimus ;* dans cette étude les estimations d'usages les plus fréquents sont représentés par les pathologies digestives à 27% et les maladies métaboliques spécifiant le diabète à 22,5%, le même constat est soulevé dans l'enquête de

Hadjadj et al. (2015) réalisée à Ouargla, ou les pathologies digestives sont majoritaire à 38% suivie des pathologies génitales à 15%[219].

L'indication principale de la plante selon les herboristes interrogés dans notre enquête est axée sur les pathologies endocriniennes, cette tendance rejoint les résultats de l'enquête auprès de la population. Parmi ces troubles, les kystes ovariens arrivent en tête (83 %), suivis par les nodules thyroïdiens (17 %). Cette forte représentation des pathologies hormonales concorde avec des études antérieures menées en Algérie, telles que Taibi et al. (2021), Kefifa et al. (2018) et Bellifa et al. (2023), qui identifient *A. halimus* comme remède fréquent dans le traitement des déséquilibres hormonaux thyroïdiens et ovariens [121,206,211].

D'autres enquêtes confirment cette tendance, dans l'enquête de Lakhdari et al. (2016) dans la région de Oued Righ, l'emploi principal de *l'A.halimus* est dans le traitement des kystes ovariens suivie du diabète [210].

Dans l'enquête menée par Miara et al. (2018), auprès de 73 nomades vivant en zone steppique, *l'Atriplex* est utilisée pour traiter divers troubles tels que l'hypercholestérolémie, l'obésité, le cancer du sein, les affections utérines et les troubles thyroïdiens [220], ce qui concorde globalement avec les pathologies rapportées dans notre étude.

Aussi, dans l'enquête de Behaz et al. (2024) [212] réalisée sur les plantes halophytes de la région de Biskra, l'*A.halimus* est principalement employée dans les troubles endocriniens à 54% suivie par les troubles génitaux à 30%.

Selon les données recueillies auprès des herboristes, le mode de préparation recommandé est l'infusion (53 %), suivie de la décoction (31 %), ce qui contraste avec les résultats obtenus avec la population. L'infusion est un mode de préparation adapté aux plantes à feuillage, spécifiquement aux plantes à huiles essentielles, où l'extraction douce par infusion est souvent recommandée pour préserver les principes actifs sensibles à la chaleur prolongée[214].

La plante est majoritairement utilisée seule (77 %), ce qui suggère une forte confiance des herboristes dans ses effets thérapeutiques. Néanmoins, certaines associations ont été rapportées, notamment avec la marjolaine (*Origanum majorana*), qui présente un niveau de fidélité (FL) élevé de 71 %, traduisant une recommandation fréquente et cohérente entre les herboristes pour le traitement des kystes ovariens, cette association a déjà été signalée dans l'enquête de Bellifa et al. (2023)[211].

En ce qui concerne la durée du traitement, la majorité des herboristes recommandent une cure de un mois avec deux prises quotidiennes, confirmée par plusieurs enquêtes [72,121,211], cela est cohérent avec une utilisation sub-chronique dans le cadre de troubles métaboliques ou hormonaux. Toutefois, des effets indésirables sont signalés par 29 % des herboristes, avec une prédominance marquée pour l'hypertension artérielle (77 %), déjà signalée par la population, ce qui renforce la nécessité d'une précaution d'emploi, notamment chez les sujets hypertendus. Concernant le prix de vente de 100gr de la plante, les prix oscillent entre de 80 à 400 DA et cela témoigne d'une variabilité notable dans la commercialisation d'*Atriplex halimus* L. Cette fluctuation s'explique principalement par la localisation géographique des herboristeries : dans les régions steppiques comme M'sila, où la plante pousse naturellement, les prix sont plus bas ; à l'inverse, dans les villes du Nord (Annaba et Skikda), les prix atteignent les plus hauts niveaux, cependant, la valeur médiane de 200 DA semble représenter un prix de référence raisonnable pour la plante, la rendant accessible aux utilisateurs.

IV.3 Optimisation des méthodes d'extraction

Afin d'optimiser les conditions d'extraction des composés bioactifs *d'Atriplex halimus* L., (polyphénols et alcaloïdes) une approche statistique basée sur les plans de criblage définitifs (Definitive Screening Designs, DSD) a été adoptée. Contrairement aux approches classiques en deux étapes, qui consistent d'abord à utiliser un plan de criblage pour identifier les facteurs influents, puis à recourir à un plan de surface de réponse pour affiner les conditions, cette méthode permet d'identifier et d'optimiser simultanément les facteurs significatifs avec un nombre réduit d'expériences. Cela représente un gain de temps et de ressources, tout en assurant une exploration rigoureuse de l'espace expérimental [221].

Cette approche s'est avérée particulièrement adaptée au cadre de l'extraction phytochimique, où de nombreux paramètres (température, temps d'extraction, solvant, pH…) peuvent interagir de manière complexe.

3.1. Extraction des polyphénols :

Les facteurs explorés lors de la détermination des conditions opératoires optimales pour l'extraction des polyphénols ont reçu deux niveaux bas et haut (-1 et +1) et un point central (0) pour nous permettre de rechercher les courbures des effets principaux.

La première réponse analysée était le rendement de l'extraction. Nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs. Cependant, le pH est le facteur qui semble le plus influent, avec une tendance d'un effet quadratique.

La deuxième réponse analysée était la teneur en polyphénols. Nous avons constaté un facteur statistiquement significatif ($p \leq 0,05$) et influent sur cette réponse : la granulométrie.

Selon l'analyse du tableau 21, la valeur p (0,0062) indiquent une forte signification statistique et que les variations de la réponse mesurée sont bien dues aux variations de ce facteur.

Selon le profileur de prévision, nous avons constaté que la fonction de désirabilité D maximisée vaut 0,713429 lorsque la valeur du pH est de 4 et la valeur de la granulométrie est de 180µm, cela est également confirmée par le profileur de surface (fig 84).

D'après l'analyse de nos résultats obtenus pour le rendement de l'extraction, le **pH** tend à augmenter le rendement lorsqu'il diminue et à diminuer le rendement lorsque sa valeur est supérieure à 5.5.

Selon la littérature, le pH acide augmente significativement l'extraction des substances naturelles présentes dans la plante et principalement la classe des polyphénols, il permet de :

- Favoriser l'hydrolyse des membranes cellulaires et la mise en liberté des substances liée à la paroi [222] ;
- Augmenter la solubilisation des polyphénols et leur diffusion à travers la matrice végétale[223].

L'analyse des résultats pour la teneur en polyphénols, nous indique que plusieurs facteurs influent sur la concentration des polyphénols. Toutefois, la granulométrie est le facteur ayant l'impact le plus significatif sur cette variation. En effet, nous avons remarqué qu'à partir d'une granulométrie supérieure à 250 µm la teneur en polyphénols chute drastiquement.

On peut déduire la relation suivante, plus la granulométrie de la poudre est basse plus la dissolution des polyphénols est importante.

La taille des particules est un paramètre important lors de l'extraction des composés phénoliques et les teneurs les plus élevées sont obtenues en utilisant les plus fines particules de notre matrice (de 180 à 250 µm).

Cela s'explique par l'augmentation de la surface d'échange entre le solvant d'extraction et la matière sèche, de ce faite le solvant se diffuse plus facilement à l'intérieur des petites particules, pour dissoudre les polyphénols grâce à la création d'une surface de contact plus grande, sans

pour autant que celle-ci soit trop fine, afin d'éviter le phénomène de colmatage de cette dernière[143,224].

Selon notre étude, le rendement maximal est obtenu à pH = 4 et la teneur en polyphénol maximale avec une granulométrie comprise entre 180 et à 250 µm.

Aussi, une T de 50°C et un mélange éthanol–eau de 60/40 (V/V) sont considérés comme des conditions optimales pour obtenir des teneurs élevés en composés phénoliques avec les feuilles *d'Atriplex halimus* L.

Par ailleurs, l'étude d'El Adnany et al. (2023) sur l'extraction des composés phénoliques des feuilles d'olivier a mis en évidence que l'utilisation de solvants hydro-alcooliques contenant 60 % d'éthanol permet d'optimiser significativement le rendement en polyphénols à des températures modérées (< 50 °C)[225]. De même, les travaux de Caldas et al. (2018) ont rapporté que les concentrations de 50 % et 60 % d'éthanol étaient les plus efficaces pour extraire les composés phénoliques de la peau de raisin. Cette efficacité est attribuée à la diversité de polarité des polyphénols présents, qui nécessite un solvant mixte afin de solubiliser à la fois les composés hydrophiles et lipophiles [226].

Aussi, la solubilité des composés phénoliques est également influencée par la température. Une température plus élevée augmente simultanément la solubilité et les vitesses de transfert de masse et diminue la viscosité et la tension superficielle des solvants, ce qui contribue à un taux d'extraction plus élevé[223]**.**

3.2. Extraction des alcaloïdes

Les facteurs explorés lors de la détermination des conditions opératoires optimales pour l'extraction des alcaloïdes ont reçu aussi deux niveaux bas et haut (-1 et +1) et un point central (0) pour nous permettre de rechercher les courbures des effets principaux.

Plusieurs études ont démontré que la nature du solvant, la température ainsi que la durée d'extraction constituent des paramètres clés influençant l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs d'origine végétale [138].

Selon les travaux d'Emam et al. (2011), plusieurs alcaloïdes ont été identifiés dans *Atriplex halimus*, notamment la berbérine, la palmatine, la pipérine et l'éphédrine[60].

Dans notre expérimentation, la réponse analysée était le rendement de l'extraction des alcaloïdes totaux et nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement

significatifs parmi les facteurs choisis. Cependant, la nature de l'acide et le temps d'extraction étaient plus influents que la température d'extraction.

Selon les profileurs de prévision, nous avons noté que la fonction de désirabilité D maximisée vaut 0,547709 lorsque la valeur de la température et du temps d'extraction étaient de 60°C et 4 heures, en utilisant l'acide orthophosphorique au lieu de l'acide chlorhydrique comme agent acidifiant, ce qui est confirmé par le profileur de surface (fig 87).

Dans notre étude, le temps d'extraction optimal est de 4 heures. Ce résultat est en accord avec les observations de Teng et Choi (2013), qui ont évalué l'impact de la durée d'extraction (variant de 1 à 8 h) sur les teneurs de la berbérine, de la palmatine et des alcaloïdes totaux à partir du rhizome de *Coptis chinensis*. Leur étude a également identifié 4 h comme la durée optimale [227].

Aussi, les réactifs acidifiants (généralement avec l'ajout de 0,5 % d'acides inorganiques ou organiques) sont utilisés pour se combiner avec les alcaloïdes bases et les transformer en sels d'alcaloïdes plus solubles dans l'eau [75].

Dans les travaux de Teng et Choi. (2013), différents types d'acides ont été testés pour l'extraction de la berbérine et d'autres alcaloïdes du rhizome de *Coptis chinensis,* tels que : l'acide chlorhydrique, phosphorique, nitrique, sulfurique et acétique. L'acide phosphorique a été considéré comme optimale pour l'extraction de la berbérine [227], ce phénomène est justifié par le fait que les alcaloïdes quaternaires, sous forme de chlorures ou sulfates, sont peu solubles dans l'eau.

Ainsi, l'acide phosphorique permet une protonation douce des alcaloïdes, formant des sels très solubles dans l'eau sans dégradation des composés fragiles, contrairement aux acides forts comme l'acide chlorhydrique ou sulfurique[227].

La T d'extraction est un facteur critique pour l'efficacité de l'extraction. Des températures plus élevées améliorent en général la solubilité des substances naturelles et la puissance du solvant en réduisant la viscosité et en augmentant la diffusivité[228].

La berbérine est un alcaloïde sensible à la lumière et à la chaleur. Ainsi, l'exposition à des T élevées (supérieure à 70°C) pourrait conduire à sa dégradation et donc influencer sa concentration dans l'extrait [75].

La T optimale obtenue lors de nos expériences est de 60°C, ce résultat concorde avec les travaux de Ngyen et al. (2025) qui ont évalué l'effet de la T d'extraction, comprises entre 30 °C et 80 °C,

sur le rendement en alcaloïdes issus de *Coptis chinensis*. Leur étude a révélé que les rendements les plus élevés étaient obtenus à 60 °C et 70 °C, suggérant qu'une élévation modérée de la température favorise l'extraction sans induire de dégradation significative des composés [228]. Ainsi, les conditions optimales que nous avons déterminées pour l'extraction des alcaloïdes totaux d'*Atriplex halimus* L. sont cohérentes avec celles rapportées par Sarraf et al. (2021) pour l'extraction par macération de la berbérine à partir de *Berberis integerrima* et *B. thunbergii*, à savoir une T de 70 °C et un temps d'extraction de 3,36 h [138].

IV.4 Analyse qualitative :

4.1 Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques sur les différents extraits de feuilles *d'Atriplex halimus* de M'sila ont révélé une richesse de la plante en métabolites spécialisés.

Les trois grandes familles de métabolites secondaires végétales sont représentées, à savoir les composés phénoliques (tanins condensés et hydrolysables, flavonoïdes et coumarines), les terpènoïdes (phytostérols, triterpènes, saponosides et iridoïdes) et les alcaloïdes.

Concernant la classe des **composés phénoliques,** nos résultats concordent avec l'étude d'Ounaissia et al. (2020)[79], ou les feuilles d'*A.halimus* récoltées de Biskra, contenaient des polyphénols type flavonoïdes (flavonol), tanins (hydrolysables et condensés) et coumarines, aussi les anthocyanes ont été identifiées dans ces extraits, contrairement à nos résultats.

Aussi les flavonoïdes et les tanins sont identifiés dans les extraits *Atriplex halimus* de Zennaf et al. (2022), Belfar et al. (2020) et Chaouche et al. (2021), récoltés de Mascara, Ouargla, El Oued et Tlemcen, ce qui confirme que ces deux classes de polyphénols sont présents de façon constante malgré la différence des lieux de récolte et des protocoles d'extractions. Par contre les coumarines n'ont pas été identifiées dans les trois études.

En ce qui concerne la classe des **alcaloïdes**, nos résultats concordent avec ceux décrit par Benhamou et al. (2009), Gattouche et al. (2020), Chaouche et al. (2021) et Zennaf et al. (2022) qui ont identifié les alcaloïdes dans les extraits de la plante [9,72,73,229]. Par contre dans les travaux d'Ounaissia et al. (2019), Berreghioua et Ziane. (2024), on eut des résultats négatifs avec les alcaloïdes [77,79].

Ces résultats variables concernant la détection des alcaloïdes dans les extraits d'*Atriplex halimus L.* peuvent être attribués à plusieurs facteurs. Les conditions physiologiques et environnementales lors de la récolte influencent la teneur en alcaloïdes, une teneur faible rend

difficile l'appréciation du précipité obtenu avec les réactifs généraux des alcaloïdes. Aussi, le choix de la méthode d'extraction (T, pH, solvant) peut dégrader les alcaloïdes fragiles, et donner un résultat faussement négatif.

En ce qui concerne les **terpénoïdes**, notre échantillon est riche en saponosides avec un indice de mousse de 250. Nos résultats concordent avec de nombreux travaux qui notent la présence de saponosides dans leurs extraits à savoir : Benhamou et al. (2009), Berreghioua et Ziane (2024), Gattouche et al. (2020) et Zennaf et al. (2022)[9,72,77,229], et dans l'étude de Hadjadj et al. (2015), notre indice de mousse est supérieure à celui de l'A.*halimus* récolté de Biskra (IM=142,85) [219].

Concernant les huiles essentielles, nos résultats n'étaient pas concluants et nous n'avons pas pu observer une phase huileuse distinct lors de l'extraction par Clenvenger. Quelques études ont recherché les huiles essentielles dans l'A.*halimus*, parmi elles l'étude de Kerzabi et al. (2024) où le rendement obtenu était très faible (0,02%), même constatation dans l'étude de Berreghioua et Ziane (2024)[69,77].

Plusieurs études ont rapporté la présence d'hétérosides cardiotoniques dans *l'Atriplex halimus L.* [77,79,229], une classe de métabolites secondaires de distribution restreinte et associée à une toxicité marquée. Dans ces travaux, l'identification repose notamment sur la réaction de Keller-Kiliani, cette réaction positive avec les désoxyoses, n'est pas spécifique aux hétérosides cardiotoniques et peut également réagir avec d'autres types de glycosides, d'où la nécessité d'une connaissance rigoureuse et spécialisé des différentes réactions employées lors du screening phytochimique pour distinguer les véritables composés actifs d'éventuels faux positifs.

Les tests du screening phytochimique sont des tests préliminaires qui nous orientent vers la présence ou l'absence de quelques classes phytochimiques mais dont l'interprétation doit être faites avec précaution surtout pour les résultats négatives.

Cette discordance entre plusieurs études portant sur *l'A.halimus* peut être expliquée par une différence de composition de l'espèce selon des paramètres intrinsèques et/ou extrinsèques, par exemple : la différence du site de récolte (l'exposition à la lumière, la topographie, les précipitations, type de sols…), la saison et période de récolte, l'exposition ou non à des prédateurs microscopique ou macroscopique, et également au patrimoine génétique de la plante.

Aussi, on peut également expliquer ces résultats par les procédures utilisées au niveau du laboratoire (protocoles d'extraction, les paramètres physico-chimiques, le choix des solvants d'extraction, les réactifs employés, la sensibilité des différentes réactions et l'interprétation des résultats).

4.2 Analyses chromatographiques :

L'extraction des substances bioactives des plantes est une étape critique dans l'identification et le dosage de ces substances, elle nécessite des solvants plus ou moins sélectifs selon des procédures particulières, et cela est régit par les propriétés physico-chimiques des substances d'intérêt (polarité, thermosensibilité, photosensibilité, stabilités…).

Au cours de l'extraction, les solvants se diffusent dans la matière végétale solide et solubilisent les composés ayant une polarité similaire ; les extraits ainsi obtenus à partir des plantes sont des mélanges relativement complexes de métabolites variés [92].

L'extraction exhaustive en série est une méthode d'extraction courante qui implique une extraction successive avec des solvants de polarité croissante, débutant par un solvant non polaire (hexane) vers le solvant le plus polaire (eau), afin d'assurer qu'une large gamme de composés de polarités variées puissent être extraits.

Ce choix vise à maximiser l'extraction des composés bioactifs présents dans les feuilles *d'Atriplex halimus L*. Cela nous a permis d'obtenir douze extraits, soumis par la suite à une caractérisation par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et par chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse (UHPLC/SM).

À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a rapporté une extraction en série à la fois à chaud et à froid appliquée aux feuilles d'A. *halimus* dans le but d'identifier de manière ciblée et exhaustive les métabolites spécialisés de cette espèce.

Aussi, les extraits optimisés en polyphénols et en alcaloïdes, ont été également soumis à une identification chromatographique (UHPLC/SM et HPLC-DAD) afin d'identifier spécifiquement les polyphénols et les alcaloïdes présents dans *l'Atriplex halimus*.

Selon les résultats obtenus, on constate une richesse quali-quantitative de la classe des composés phénoliques dans les différents extraits de la plante.

L'analyse UHPLC-MS de **l'extrait hydro-éthanolique optimisé** a permis l'identification de 29 composés phénoliques dans des proportions variées, parmi eux :

- Des dérivés des acides phénoliques, plus spécifiquement des dérivés de l'acide caféique (11,71 %) et l'acide caféoylglucaridique (10,50 %). Ces résultats sont confirmés par l'étude d'El Bouzidi et al. (2022), où l'identification LC-SM/SM de l'extrait hydroéthanolique d'A.*halimus*, a montré une abondance en acides phénoliques dominés par l'acide caféique et l'acide chlorogénique ; aussi, confirmé dans l'étude de Roubi et al. (2025)[82,230].
- Les flavonoïdes sont largement représentés dans l'extrait hydro-éthanolique, du point de vue qualitatif, nous avons identifié des flavones, flavanones, flavonols, flavanols et des isoflavones et du point de vue quantitative, ce sont les flavanones (glabranine) et les isoflavones (alpinumisoflavone ou parvisoflavone) qui sont majoritaires.

Plusieurs flavonoïdes ont été isolés et identifiés à partir de différentes espèces du genre *Atriplex*, notamment des flavanones, des flavonols, des glycosides de flavonols, des flavanones et des éthers méthyliques de flavonols [200], ce qui concorde avec nos résultats. Dans les travaux d'Emam et al. (2011), plusieurs classes de flavonoïdes (les flavonols, les flavanones, flavones et les isoflavones) ont été identifiées à partir *d'A.halimus* récolté en Egypte. Cependant, les flavonols constituent les principaux flavonoïdes de l'espèce [60].

L'analyse UHPLC–MS de **l'extrait alcaloïdique optimisé** a permis de détecter 17 pics, parmi lesquels trois sont majoritaires dans l'extrait : Atrisembaccatoside A (15.78 %), Limocitrine-O-glucosyl-6"-acétate (16.58 %) et un composé inconnu (17.02 %). Ce résultat met en évidence la présence constante des flavonoïdes glycosylés dans l'extrait.

Atrisembaccatoside A, un hétérosides de flavonol identifié pour la première fois au niveau de l'extrait hydrométhanolique des feuilles d'A. *semibaccata* d'Egypte [200], c'est la quercetine-3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl]-(1→6)-β-D-glucopyranosyl]-3`méthyl éther ; la **Limocitrine-O-glucosyl-6″-acétate,** un dérivé glucosidique de 4',5,7-trihydroxy-3',8-dimethoxyflavonol. L'identification de ces hétérosides de flavonols méthoxylés dans l'extrait comme composés majoritaires est cohérente avec les résultats de Emam et al. (2011), El Shamy et al. (2019) et Vitielloo et al. (2025) [60,200,231]; qui avaient détecté des dérivés méthylés de flavonols dans les extraits de feuilles d'*Atriplex halimus* analysés par LC–MS.

La forte glycosylation de la quercétine représente le principal flavonoïde isolé des espèces *d'Atriplex* d'après les travaux de Awaad et al. (2012) et de Clauser et al. (2013) [64,232], alors que l'acétylation de la partie osidique est assez rare mais a déjà été rapportée dans le genre *Atriplex* selon Vitiello et al. (2025) [231].

On peut conclure que les flavonoïdes, sous la forme de glycosides et/ou éthers méthyliques, sont prédominants dans les espèces du genre *Atriplex* et cela peut être considérée comme un marqueur chimiotaxonomique du genre [64,231].

L'analyse de l'extrait alcaloïdique optimisé par UHPLC–MS en mode ESI^- (ionisation négative) n'a pas permis d'identifier les alcaloïdes (berbérine, palmatine, pipérine ou éphédrine...). Toutefois, certains pics non identifiés présentent des temps de rétention et des rapports masse/charge (m/z) compatibles avec des dérivés glycosylés ou conjugués de ces alcaloïdes.

La littérature rapporte que l'ionisation des alcaloïdes à structure quaternaire, comme la berbérine, est plus efficace en mode ESI^+ (ionisation positive), leur protonation étant favorisée dans un environnement acide [233]. En effet, ces composés présentent une faible réponse en mode négatif en raison de leur faible affinité pour l'ionisation par perte de proton (déprotonation), ce qui peut expliquer leur absence apparente.

En complément, une analyse par HPLC–DAD a été réalisée sur le même extrait, permettant cette fois l'identification directe de la berbérine et de la palmatine, confirmant leur présence. Ce résultat est en accord avec les travaux d'Emam et al. (2011), qui avaient signalé ces alcaloïdes dans *Atriplex halimus* L. lors d'une étude phytochimique approfondie réalisée en Égypte[60].

Ainsi, ces résultats soulignent l'intérêt d'une approche analytique croisée, combinant différents modes d'ionisation (ESI^+ et ESI^-) et techniques de détection (MS et DAD), afin de maximiser la sensibilité et la spécificité pour l'identification des alcaloïdes végétaux.

Concernant **l'extraction en série**, l'analyse chromatographique par GC-MS des fractions hexanes d'*Atriplex halimus L.* par Soxhlet et par macération, a révélé des profils phytochimiques globalement similaires entre les deux méthodes d'extraction, bien que des différences quantitatives ont été observées.

L'extraction par Soxhlet (à chaud) a permis l'identification de 28 composés, avec une prédominance marquée de l'octacosan-1-ol (17,5 %), un alcool aliphatique à longue chaîne, suivi par l'acide octacosanoïque (12,12 %). Cette méthode semble favoriser l'extraction de composés à masse molaire élevée et peu polaires, en raison de la T élevée constante et la multiplicité des cycles de solvants, améliorant ainsi la solubilisation de substances lipophiles présents dans le végétal.

En comparaison, l'extraction par macération (à froid) a conduit à l'identification de 27 composés, dominés par des acides gras majeurs tels que l'acide palmitique, oléique et linoléique, ainsi que l'octacosan-1-ol (10,12 %) en proportions moindres.

La macération à T ambiante semble donc privilégier l'extraction des acides gras libres, tout en préservant les composés thermosensibles, cela est confirmée par les travaux d'Omolara et al. (2024)[234].

Sur le plan des composés terpéniques, ils étaient présents dans les deux extraits, avec des teneurs légèrement plus élevées dans l'extrait à froid, ce qui pourrait s'expliquer par leur sensibilité relative à la température [235].

Des travaux antérieurs, notamment ceux d'Asilbekova et al. (2008) sur *A. dimorphostegia*, Tawfik et al. (2011) sur *A. semibaccata* et Emam et al. (2011) sur *A. halimus*, ont également mis en évidence la richesse des espèces du genre *Atriplex* en acides gras insaturés et en stérols végétaux, avec un profil similaire au nôtre, confirmant la cohérence de nos résultats [60,71,236].

L'analyse UHPLC-MS des extraits **dichlorométhaniques** a révélé des différences notables entre les méthodes d'extraction à chaud (Soxhlet) et à froid (macération).

L'extrait obtenu par Soxhlet est dominé par la **catéchine** (14,10 %) et l'acide dicaffeoylquinique (9,42 %), avec une présence faible de flavonoïdes méthoxylés (quercétine diméthyl éther à 5,52 %). En revanche, l'extrait obtenu par macération présente un profil plus diversifié, avec une concentration très élevée d'un dérivé **isoflavonique** (alpinumisoflavone ou du parvisoflavone B à 49,01 %), ainsi qu'une forte teneur en flavonoïdes méthoxylés (kaempférol méthoxy-méthyl éther à 10,11 %).

Ces résultats suggèrent que l'extraction à froid par macération préserve mieux les flavonoïdes méthoxylés et les dérivés isoflavones, contrairement à l'extraction par Soxhlet qui est plus efficace pour extraire les composés thermostables comme les flavan-3-ols (catéchine). Ces observations rejoignent les observations de Blicharski et al. (2017), qui soulignent que l'extraction à T ambiante est plus adaptée pour ces composés[237] contrairement à la catéchine ou la T élevé favorise son extraction selon Cioanca et al. (2024) [238].

L'analyse UHPLC–MS des extraits **acétate d'éthyle** révèle une distribution variée des flavonoïdes et des dérivés phénoliques selon la méthode d'extraction. Au niveau de l'extrait obtenu par Soxhlet, nous avons identifié 23 composés, dont les plus abondants sont le

néoériocitrine (15,57 %) et le 1,3-O-diferuloylglycérol (8,21 %). En revanche, l'extrait issu de la macération a révélé 12 composés, avec une prédominance des flavonoïdes méthoxylés comme la quercétine diméthyléther (17,57 %) et le kaempférol méthoxyéther (11,49 %).

L'identification de la néoériocitrine (ériodictyol-7-O-néohespéridoside), un glycoside de flavanone, n'a pas été rapportée à ce jour dans *Atriplex halimus*. Toutefois, d'autres flavanones apparentées, tels que l'hespéridine et la naringénine-4′-O-rhamnopyranoside, ont été identifiées dans la fraction acétate d'éthyle par Emam et al. (2011) [60].

Les travaux antérieurs de Clauser et al. (2013) ont isolé des flavonoïdes méthoxylés dans *l'Atriplex halimus* L. de Sardaigne tels que la 3′,5′-diméthoxymyricétine et la 3′-méthoxyquercétine glycosylées [64]. Dans les travaux de Awaad et al. (2012), la quercétine et le kaempférol, sous forme glycosidiques et éthers méthyliques, ont été décrits et isolés à partir *d'A.lentiformis* récoltée en Arabie Saoudite [232], confirmant ainsi la présence de structures similaires à celles identifiées dans notre fraction acétate d'éthyle par macération (les méthyles éthers de quercétine et de kaempférol). Ainsi, la fraction acétate d'éthyle a permis d'extraire les flavonoïdes semi-polaires présents en forte proportion dans notre plante.

L'analyse UHPLC–MS de l'extrait **acétone** obtenue par macération a permis d'identifier 10 composés, majoritairement des flavonoïdes tels que des O-glycosides de flavonols (l'Atrisemibaccatoside A à 16,34 %), des dérivés flavanones (glabranine à 15,53 %), ainsi que des C-glucosides (4'-méthylether lucenin-2, diosmétine-8-C-glucoside). Parmi les acides phénoliques, l'acide caféoylglucarique est dominant avec 12,83 %. On peut constater que la fraction acétone permet d'extraire préférentiellement des flavonosides (O et C-hétérosides) présents dans la plante comme cela a été observé dans les travaux de Dirar et al. (2019) ou la fraction acétonique présentée les teneurs les plus élevées en flavonoïdes par rapport aux autres solvants organiques testés sur plusieurs plantes africaines[239].

Le profil phytochimique de l'extrait acétonique est dominé par des flavonols méthoxylés glycosylés, déjà identifiés dans *Atriplex halimus* par Emam et al. (2011) et Kabbash et Shoeib (2012) qui ont isolé plusieurs flavonols glycosides méthoxylés à partir de parties aériennes de la plante[60,68]. De plus, l'identification de l'acide caféoylglucarique dans un extrait d'*Atriplex* reste peu documentée.

L'analyse UHPLC–MS des extraits **méthanoliques** *d'Atriplex halimus* L. obtenus par Soxhlet et par macération révèle dans l'ensemble des profils phytochimiques similaires mais avec quelques différences quali-quantitatives.

Dans l'extrait obtenu par Soxhlet, 13 composés ont été identifiés, dominés par la 3'-méthoxyquercétine-7-O-fucopyranosyl-(1→3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl- (1→4)-xylopyranoside dérivé de l'acide caféique (15.95 %), suivi de composés tels que l'isorhamnetine-3-O-rutinoside (8.19 %) et le kaempférol (7.63 %). On note également la présence d'une forme glycosidée complexe de la quercétine (4.29 %) et d'atrisemibaccatoside A (4.82 %), ainsi qu'un ester phénolique, le 1,3-O-diferuloylglycérol à 9.73 %.

À l'inverse, l'extrait méthanolique par macération présente une plus grande diversité (18 composés identifiés) avec une dominance moindre du même dérivé méthoxylé de la quercétine (10.62 %) et une proportion plus élevée de composés non identifiés (10.09 % et 7.29 %). La glabranine y est également présente (7.32 %), ce qui confirme sa stabilité à froid. On observe aussi une présence d'atrisemibaccatosides A ainsi que du 1,3-O-diferuloylglycérol (5.19 %), indiquant leur solubilité dans le méthanol indépendamment du procédé (à chaud ou à froid).

Ces résultats corroborent les travaux antérieurs d'Emam et al. (2011) et Kabbash et Shoeib (2012)[60,68]. De plus, Clauser et al. (2013) ont rapporté que les extraits méthanoliques de la plante contiennent de nombreux flavonols tri- et tétraglycosylés, notamment avec des chaînes complexes impliquant des unités de rhamnose, glucose et xylose[64].

Le **3'-méthoxyquercétine-7-O-fucopyranosyl-(1→3)-glucopyranosyl-3-O-xylopyranosyl (1→4)-xylopyranoside, dérivé de l'acide caféique**, est un méthoxyflavonol doublement glycosylé aux niveaux des hydroxyles en position C-3 et C-7, portant des chaînes latérales oligosaccharidiques complexes (fucose, glucose et deux xyloses), ainsi qu'une estérification par l'acide caféique. Cette structure confère à la molécule un caractère hybride flavonoïde–acide phénolique–oligosaccharidique, et constitue une architecture moléculaire originale qui, à notre connaissance, n'a pas encore été décrite dans la littérature scientifique indexée (PubChem et PubMed) à ce jour. Ce profil suggère l'identification possible d'un nouveau métabolite phytochimique, nécessitant une confirmation structurale par RMN.

Sur le plan analytique, l'extraction par Soxhlet semble favoriser les composés à forte polarité tels que les hétérosides tri- ou tétraglycosylés, avec une meilleure intensité relative, tandis que

la macération privilégie une plus grande diversité phytochimique, avec un rendement modéré mais révélant les composés thermosensibles.

Enfin, l'analyse UHPLC–MS de l'extrait **aqueux** obtenu par macération a révélé une composition particulière et dominée par deux isoflavonoïdes : l'équol (20,43 %), un hydroxyisoflavane, et la génistéine-4',7-O-diglucoside dimalonylate (12,3 %), un dérivé diglucosylé et malonylé de la génistéine. C'est deux isoflavonoïdes n'ont pas été rapportés dans les espèces du genre *Atriplex*.

À ce jour, la présence d'équol n'a pas été directement signalée dans *Atriplex halimus* L. ni dans d'autres plantes, vu que l'équol est un produit de biotransformation de la daidzéine par certains bactéries de la microflore intestinale [240]; bien que les travaux de Ruiz et al. (2024) sur le soja, ont confirmé la formation d'équol suite à la fermentation artificielle de l'extrait de soja par *Bifidobacterium pseudocatenulatum* [241]. Aussi, les travaux de Montaser et al. (2024) ont permis l'identification de la daidzéine-8-C-glucoside dans l'extrait acétate d'éthyle d'*Atriplex halimus* L. cultivé en Égypte[242]. Ce composé, pourrait constituer le précurseur direct de l'équol, à la suite d'une biotransformation bactérienne de la daidzéine. Ainsi, la détection d'équol dans l'extrait aqueux *d'Atriplex halimus* L. pourrait s'expliquer par une fermentation naturelle de l'extrait aqueux.

Concernant la génistéine diglucoside dimalonylée, cette molécule n'a jamais été rapportée auparavant dans le genre *Atriplex*. En effet, les travaux d'Emam et al. (2011) et de Kabbash et Shoeib (2012) n'ont pas mentionné la présence de tels isoflavonoïdes dans leurs extraits aqueux d'*A. halimus*[60,68]. Cette observation confère donc à nos résultats une originalité phytochimique marquée, pouvant traduire soit une biosynthèse induite par des conditions environnementales particulières, soit une variabilité chimotaxonomique intra-spécifique. Toutefois, ces résultats méritent d'être confirmés par des analyses complémentaires, notamment par résonance magnétique nucléaire (RMN).

En conclusion de ce point, l'investigation phytochimique suite à l'extraction en série par différents modes d'extraction a permis de mettre en avant la richesse quali-quantitative des composés présents dans l'A.*halimus L.* récolté de M'sila, y compris une prédominance de flavonols méthoxylés et/ou glycosylés déjà observé dans de nombreuses espèces du genre *Atriplex*. Par ailleurs, notre étude suggère une capacité de la plante à biosynthétiser divers isoflavonoïdes, potentiellement influencée par les conditions environnementales des différents

habitats[60]. Enfin, l'extraction par Soxhlet s'est montrée plus efficace pour concentrer certains composés thermorésistants tandis que la macération permet de préserver une plus grande diversité de composés thermosensibles mais moins concentrés, le choix méthodologique dépendra donc du profil phytochimique recherché.

IV.5 Analyse quantitative :

A la suite de l'analyse qualitative des différents extraits, l'exploration phytochimique a été compléter par une analyse quantitative des principales classes de métabolites bioactifs.

Aussi, la détermination de la teneur en eau et en cendre totale de la drogue végétale est une étape essentielle en pharmacognosie et pour le contrôle qualité de la plante[115].

La teneur moyenne en eau des feuilles *d'Atriplex halimus* L. est de 9,07 ± 0,75 %, ce qui témoigne d'un faible taux d'humidité. Ce résultat est conforme aux données de la littérature, notamment exigé par OMS, ou les drogues végétales doivent avoir un taux d'humidité inférieur à 10%. Ce taux d'humidité permet la bonne conservation du matériel végétal, en limitant les risques de développement microbien ou de dégradation enzymatique [243].

Concernant la teneur en cendre totale, qui reflète la teneur en sels minéraux et éléments inorganiques, une moyenne de 26,47 ± 2,21 % a été obtenue. Cette valeur est relativement élevée, ce qui est caractéristique des espèces halophytes[18], connues pour leur capacité à accumuler des sels minéraux, notamment le sodium, le potassium et le calcium dans leurs tissus. Ces valeurs sont en accord avec celles rapportées par Abu-Zanat et al. (2003), qui ont déterminé des teneurs moyennes en cendre de 28% chez des échantillons *d'Atriplex halimus* collectés dans des zones arides en Jordanie[244]. De même, Andueza et al. (2005) ont décrit des teneurs moyennes en cendre totale de 29 % des feuilles *d'Atriplex halimus* récoltées de différentes régions provenant de plusieurs pays méditerranéens (Espagne, Maroc, Algérie ; Tunisie, France…)[245].

Concernant l'extrait hydro-éthanolique optimisé, on note le rendement d'extraction le plus élevé par rapport à l'ensemble des extraits préparés, avec un taux de 39%, cet extrait permet de solubilisés à la fois les substances moyennement polaires et les substances très polaires.

En comparant nos résultats avec d'autres études en Algérie, les teneurs en polyphénols de l'extrait hydro-éthanolique optimisé (65,14± 3,05 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (41,78 ± 0,13mg EQ/g MS) et en tanins condensés (2,445 ± 0,73mg EC/g MS), sont supérieurs à la majorité des travaux.

Par exemple, Bounouar et al. (2022) ont rapporté des teneurs en polyphénols nettement inférieures dans les extraits méthanoliques (5,24 mg EAG/g MS) et aqueux (1,02 mg EAG/g MS) de feuilles d'A. *halimus* issues de la région de Béchar[81]. De même, Zennaf et al. (2022) ont observé des concentrations en polyphénols allant de 9 à 12 mg EAG/g MS dans les extraits aqueux d'échantillons récoltés à Mascara[72]. Dans l'étude de Chaouch et al. (2021), les extraits issus des régions de Tlemcen et d'El Oued ont présenté des rendements modérés (14 à 18 %) et des teneurs inférieures en polyphénols (8 à 10,12 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (1,82 à 3,09 mg EQ/g MS) ainsi qu'en tanins condensés (1,71 à 9,23 mg EC/g MS)[73]. Des profils similaires, avec des teneurs faibles en composés phénoliques, ont également été rapportés par Slama et al. (2018) pour des extraits aqueux et méthanoliques de feuilles collectées dans la région d'Oum El Bouaghi, bien que leurs teneurs en tanins condensés (7 à 9,10 mg EC/g MS) soient légèrement supérieures aux nôtres[84].

Par ailleurs, Benhammou et al. (2009) et Chikhi et al. (2014) ont trouvé dans des extraits méthanoliques et aqueux de feuilles d'A. *halimus* de Béchar des teneurs en polyphénols comprises entre 10,12 et 12,47 mg EAG/g MS[4,9]. Des observations concordantes, sont rapportées par des études plus récentes, de Ould Kaddour et al. (2024) et Yahia et al. (2023), confirmant la supériorité en composés phénoliques de notre extrait optimisé d'où l'intérêt d'une optimisation rigoureuse des protocoles d'extraction[246,247].

Cette différence de teneurs peut s'expliquer par plusieurs facteurs : la variabilité des lieux et périodes de récolte, les facteurs génotypiques qui contrôlent l'accumulation de ces composés dans la plante[20,248]. En outre, d'autres études ont suggéré que les conditions biotiques (espèce, organe et stade physiologique) et les stress abiotiques (salinité, luminosité, déficit hydrique et facteurs édaphiques) largement exprimés dans les zones arides, peuvent améliorer le métabolisme phénolique en réponse au stress oxydatif [34]. Cette théorie a été confirmée par les études de Ksouri et al. (2011)[7].

Dans une autre mesure, selon Parshant et al. (2011), les extraits alcooliques sont plus efficaces dans la dégradation des parois cellulaires et provoquent ainsi la libération des polyphénols, mais l'utilisation des solvants organiques (éthanol ou méthanols purs) conduit à l'extraction simultanée de la chlorophylle, qui peut potentiellement affecter la précision des mesures analytiques [249], la solution pour résoudre ce problème est l'utilisation de l'eau comme solvant d'extraction.

L'eau permet d'extraire les substances les plus polaires (les acides phénoliques, les anthocyanes et les flavonoïdes hétérosidiques)[92], mais au niveau des extraits aqueux, on peut observer une dégradation des polyphénols par l'action d'une enzyme la polyphénol oxydase, alors qu'elle est inactive dans les extraits méthanoliques ou éthanoliques[141,250]. D'où l'importance de la détermination des conditions optimales d'extraction, en utilisant un mélange de solvant alcoolique et aqueux qui améliore les avantages et réduits les inconvénients de chacun de ces solvants.

Concernant l'extrait optimisé en alcaloïde, sa teneur en berbérine est environ 10 fois supérieure à celle de l'extrait hydro-éthanolique optimisé, ce qui souligne l'efficacité de la méthode d'extraction pour concentrer les alcaloïdes. Aussi, la présence des alcaloïdes dans les extraits est concordante avec les travaux de Benhammou et al. (2009) et Emam et al. (2011)[9,60].

Ainsi, dans notre étude les procédés d'extractions optimisés (solvant d'extraction, pH, T et granulométrie) ont permis d'augmenter significativement les teneurs en composés phénoliques et en alcaloïdes.

L'analyse quantitative de l'extraction en série met en évidence une influence notable du solvant et de la température d'extraction sur le rendement et le profil polyphénolique.

Les extraits obtenus à chaud par Soxhlet, notamment ceux à l'acétone et à l'acétate d'éthyle, ont présenté les plus fortes concentrations en polyphénols totaux (127,61 ± 1,1 et 79,89 ± 0,53 mg EAG/g respectivement), flavonoïdes (79,87 ± 0,5 et 55,21 ± 0,46 mg EQ/g) et tanins condensés (24,83 ± 1,89 et 17,06 ± 1,76 mg EC/g), confirmant la capacité de ces solvants à polarité intermédiaire à extraire efficacement les composés phénoliques présents dans *l'Atriplex halimus* L.

À l'inverse, les extractions à froid ont rapporté des teneurs moindres en métabolites phénoliques avec des rendement d'extraction plus élevés, suggérant une meilleure préservation des composés thermosensibles au détriment de leur concentration. Aussi, les fractions acétate d'éthyle et acétone présentent les teneurs les plus élevées en composés phénoliques de cette série.

L'acétone est un solvant qui dissout de nombreux composants hydrophiles et lipophiles des plantes ; c'est un solvant d'extraction très efficace et permet l'extraction d'un grand nombre de composés phénoliques, des substances polaires à moyennement polaires, de type flavonoïdes

sous forme de génines et d'hétérosides. De plus, l'acétone présente une grande affinité pour les tanins condensés, comme l'ont confirmé les travaux de Prashant et al. (2011) et de Boussoussa et al. (2014) [141,251].

Concernant l'acétate d'éthyle, c'est un solvant de polarité intermédiaire, il permet d'extraire préférentiellement les composés moyennement polaires, type flavonoïdes sous forme d'aglycones (isoflavones, flavanones, flavones) et sous forme méthoxylés (flavonols méthoxylés) [252] et les acides phénolique peu polaire sous formes estérifiés (ester de l'acide caféiques), nos résultats confirment ainsi la richesse de notre plante en composés phénoliques à polarité intermédiaire, déjà identifiés dans la fraction acétate d'éthyle par Montaser et al. (2024)[242]

Par contre, les extraits hexanes et dichlorométhanes ont révélé des teneurs significatives en flavonoïdes et polyphénols, ce qui pourrait être liée à la présence des composés phénoliques peu polaires dans la plante mais également à la co-extraction de pigments (chlorophylles et caroténoïdes) qui absorbent fortement dans les mêmes longueurs d'onde utilisées dans les dosages spectrophotométriques[223].

La littérature a montré qu'il n'existe pas de solvant généralement idéal pour l'extraction de tous les polyphénols ; néanmoins, il convient de noter qu'une influence majeure de la structure détermine la solubilité des composés dans les solvants [143].

Ainsi, la fraction acétonique obtenue par Soxhlet et la fraction acétate d'éthyle obtenue par macération ont démontré une efficacité quantitative réelle en concentrant les composés phénoliques de *l'Atriplex halimus* L. de M'sila. Ces résultats confirment la diversité structurale des composés présents dans cette espèce, et soulignent l'importance du choix du solvant et de la méthode d'extraction selon les objectifs analytiques visés.

IV.6 Evaluation *in silico* :

L'analyse *in silico* menée sur plusieurs composés issus de l'identification des extraits *d'Atriplex halimus* L. a permis de mettre en évidence des interactions potentielles avec des cibles biologiques impliquées à la fois dans la régulation endocrinienne et le stress oxydatif.

L'analyse prédictive effectuée a permis d'établir une cartographie des cibles probables des molécules présentes dans *l'A.halimus* et d'explorer les mécanismes d'action potentiels de la plante.

Les molécules sélectionnées des extraits *d'Atriplex halimus*, appartiennent à deux classes phytochimiques distincts : les composés phénoliques, représentés par un acide phénolique (l'acide caféoylglucarique) et de nombreux flavonoïdes (aglycones et hétérosides), ainsi qu'un alcaloïde (la berbérine), suggérant ainsi des mécanismes d'action multiples ; qui peuvent être synergiques et complémentaires.

Dans la famille des flavonoïdes aglycones, les composés sélectionnés pour cette étude comprennent des flavonoïdes méthylés (kaempférol-3,7,4'-triméthyléther, quercétine-7,4'-diméthyléther), des flavonoïdes prénylés (glabranine), des flavan-3-ols (catéchine), des isoflavones (équol, parvisoflavone, alpinumisoflavone) présentant des structures communes de type C6-C3-C6, mais différentes par le degré de méthylation, de cyclisation ou de substitution sur les cycles aromatiques.

Un point commun majeur entre ces molécules réside dans leur capacité prédite à interagir avec des récepteurs hormonaux nucléaires, notamment les récepteurs des estrogènes alpha (ESR1) et bêta (ESR2), ainsi qu'avec l'enzyme aromatase (CYP19A1). Ces interactions suggèrent un potentiel modulatoire des voies hormonales, particulièrement pertinent dans le cadre des troubles endocriniens (le syndrome des ovaires polykystiques, le cancer du sein hormono-sensible, les troubles de la thyroïde ou encore les troubles métaboliques…)[253–256].

Parmi les cibles les plus citées par les serveurs de prédictions consultés et qui concordent avec les usages traditionnels de la plante, un groupe fonctionnel pertinent se dégage, les cibles de la **voie œstrogénique,** représentées par : les récepteurs α et β des œstrogènes (ESR1 et ESR2) ainsi que l'aromatase (CYP19A1), enzyme clé de la biosynthèse des œstrogènes.

L'**acide caféoylglucarique,** un ester de l'acide caféique et l'acide glucarique, est connu pour son potentiel antioxydant et anti-inflammatoire [67]. Les analyses *in silico* révèlent une affinité pour plusieurs cibles impliquées dans les processus de stress oxydatif et inflammatoire. Parmi celles-ci, les enzymes aldo-réductase (AKR1B1 et AKR1B10), connues pour leur rôle dans la genèse de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) et les complications du diabète, sont identifiées comme cibles majeures[257]. Plusieurs métalloprotéinases matricielles (MMP2, MMP12, MMP13), enzymes jouant un rôle central dans la dégradation de la matrice extracellulaire et la propagation de l'inflammation[258]. Aussi, la prédiction de plusieurs isoformes de carboxyanhydrases (CA II, IX, XII) qui sont impliquées dans la régulation acido-basique et dans les processus tumoraux [259]. L'ensemble de ces interactions prédites renforce

l'hypothèse d'une activité à la fois antioxydante et anti-inflammatoire, en accord avec la nature phénolique de l'acide caféoylglucarique et la littérature.

La **glabranine**, une flavanone prénylée, présente une forte affinité prédite pour ESR1, ESR2 et CYP19A1 selon les trois serveurs *in silico* (PharmacologyBrowser2, Netinfer et Swiss Target Prediction), ce qui corrobore son potentiel phytoestrogénique [260]. De même, l'equol, qui est décrit dans la littérature comme un ligand sélectif d'ESR2, capable d'exercer une activité estrogénique bénéfique sans activer ESR1, ce qui en fait un candidat intéressant pour la prévention des pathologies hormonales sans risque prolifératif accru [261,262].

Les composés méthylés, tels que la **quercétine-7,4'-diméthyléther** et **le kaempférol-3,7,4'-triméthyléther**, se distinguent par leur stabilité accrue et leur capacité à traverser les membranes cellulaires. Leurs interactions avec CYP19A1 et les récepteurs estrogéniques pourraient participer à une modulation indirecte de la balance œstrogénique, tout en conférant une activité antioxydante. En effet, leur interaction prédite avec la NADPH oxydase 4 (impliquées dans les processus oxydatifs) suggère un rôle protecteur contre le stress oxydatif cellulaire [263].

La **catéchine**, bien que prédite pour les cibles hormonales dans certaines plateformes, montre une plus forte affinité pour les enzymes antioxydantes de la famille des anhydrases carboniques (CA2, CA12) et la cyclooxygénase-1 (COX1), ce qui corrobore ses propriétés anti-inflammatoires bien documentées [264].

Les isoflavone prénylés, **parvisoflavone** et **alpinumisoflavone**, cette structure leur confère une affinité pour les récepteurs hormonaux (ESR), bien qu'aucune donnée *in silico* complète ne soit encore disponible. Toutefois, des études antérieures (*in vitro* et *in vivo*) sur alpinumisoflavone montrent des activités œstrogéniques sur l'utérus et le vagin [265], ils sont classés comme des phytoestrogènes modérés [266]**.**

Des essais *in vitro* ont montré que, bien que la plupart des phyto-œstrogènes, y compris les isoflavones, se lient à la fois aux ERα et ERβ, ils ont généralement une affinité relative plus élevée pour ERβ qu'ERα. Une fois liées, les isoflavones n'agissent pas comme des agonistes classiques des œstrogènes, mais plutôt comme des modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (SERMS) tels que le tamoxifène (médicament du cancer du sein) qui est un agoniste du récepteur de l'œstrogène dans l'utérus et les os, mais un antagoniste dans le sein [267].

Dans la famille des flavonoïdes hétérosidiques, les composés sélectionnés pour cette étude comprennent des hétérosides de flavonols (atrisemibaccatoside A**,** limocitrine-3-glucosyl acétate, 3′-méthoxyquercétine glycoside), un hétéroside flavanonique (Néoériocitrine), un C-hétéroside de flavone (4′-méthyléther lucénine 2) et un hétéroside d'isoflavone (génistéine-7,4′-diglucoside malonylate).

L'**Atrisemibaccatoside A**, un glycoside méthoxylé de la quercétine, cible notamment les récepteurs œstrogéniques (ESR1 et ESR2) ainsi que l'aromatase (CYP19A1), ce qui laisse supposer une possible activité phytoestrogénique attribuée à la génine[267,268]. Par ailleurs, l'interaction avec la **NADPH oxydase 4 (**NOX4**)** et **l'aldose réductase (**AKR1B1**)**, deux cibles centrales dans le stress oxydatif [269], souligne un potentiel antioxydant prometteur de cet hétéroside.

La **limocitrine-3-glucosyl acétate**, hétéroside méthoxylé de flavonol, montre également une double interaction antioxydante et hormonale, ciblant des enzymes de type oxydoréductases telles que AKR1B1 et ALOX 5 et des lyases comme les carbonic anhydrases (CA12, CA4 et CA7), ces dernières sont souvent surexprimées dans des pathologies métaboliques et inflammatoires chroniques [270]. L'interaction prédite avec l'aromatase et les récepteurs ESR1/ESR2 avec un score faible, permet de supposer une action modulatrice hormonale probable, même si cela n'a pas été confirmée *in vitro* ou *in vivo*, sa similarité structurale à la quercétine pourrait expliquer cette activité œstrogénique [267].

Quant à la **Néoériocitrine**, glycoside de flavanone riche en hydroxyles libres, présente la plus forte affinité pour l'aromatase (CYP19A1), ce qui en fait un des meilleurs candidats en tant qu'inhibiteur naturel de l'aromatase, suggérant une application potentielle dans la modulation hormonale, notamment pour le cancer du sein hormono-dépendant ou le syndrome des ovaires polykystiques [271]. Elle montre aussi une forte interaction avec la stéroïde 5-alpha-réductase (SRD5A1), impliquée dans le métabolisme des androgènes, ce qui pourrait suggérer une activité antiandrogénique modérée [272]. Enfin, ses interactions multiples avec les enzymes de la famille des carbonic anhydrases (CA1, CA2, CA12) et AKR1B1 renforcent son rôle potentiel dans les mécanismes antioxydants et anti-inflammatoires [270].

Concernant **la 3′-méthoxyquercétine glycoside**, une méthoxy flavonol glycosylé dérivée de la quercétine, elle présente une capacité à interagir avec des enzymes impliquées dans le métabolisme oxydatif et les processus neurodégénératifs. La prédiction issue des serveurs met

en évidence plusieurs cibles pertinentes, telle que : l'aldose réductase (AKR1B1), une enzyme clé dans la voie des polyols. Cette voie a un impact significatif sur l'apparition des complications liées au diabète et au stress oxydatif neuronal, ce qui suggère un potentiel antidiabétique et neuroprotecteur de la molécule [273]. De plus, plusieurs isoformes des anhydrases carboniques (CA2, CA4, CA7, CA12) sont prédites comme cibles, indiquant une possible modulation du pH intracellulaire[270]. L'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE), identifiée comme cible sur deux plateformes, suggère une activité prometteuse contre les déficits cognitifs, notamment dans la maladie d'Alzheimer [274] Enfin, les interactions possibles avec les récepteurs aux œstrogènes (ESR1/ESR2) et l'aromatase (CYP19A1**)** orientent vers un effet phytoestrogénique, particulièrement pertinent dans le contexte du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) ou des cancers hormono-dépendants [271].

La **4′-méthyléther lucénine 2,** un C-glucoside de flavone, présente une affinité prédite marquée pour l'aldose réductase **(**AKR1B1**)**, les transporteurs sodium/glucose (SGLT1/SLC5A1), des cibles pertinentes dans la modulation de l'absorption intestinale du glucose, ce qui peut renforcer son profil antidiabétique [275]. Elle interagit également avec plusieurs anhydrases carboniques (CA2, CA7, CA12), ce qui lui confère une utilité potentielle en régulation du pH intracellulaire. Enfin, comme la 3′-méthoxyquercétine, elle montre une affinité potentielle pour les récepteurs hormonaux (ESR1, ESR2) et l'aromatase (CYP19A1), renforçant l'intérêt de cette molécule dans les déséquilibres endocriniens.

La **génistéine-7,4′-diglucoside malonylate,** une isoflavone glycosylé, dont la génine est connue pour ses effets phytoestrogéniques [267], confirmé par la prédiction des cibles ESR1/2 et CYP19A1. Les serveurs la désignent également comme un ligand pour deux cibles immuno-inflammatoires, notamment l'IL2 **(**interleukine-2**)** et le TNF-α (tumor necrosis factor), deux cytokines clés dans la régulation de l'immunité adaptative et de l'inflammation chronique [276,277]. Cette molécule est également prédite comme active sur AKR1B1 et les anhydrases carboniques (CA2, CA12, CA7), ce qui confirme son profil antioxydant et antidiabétique.

Enfin, la **berbérine** est un alcaloïde isoquinoléinique caractérisé par une structure tétracyclique plane, l'analyse *in silico* converge vers des cibles majeures telles que l'acétylcholinestérase (ACHE) et la butyrylcholinestérase (BCHE), deux hydrolases clés dans la régulation de la neurotransmission cholinergique, suggérant un potentiel neuroprotecteur et cognitif [274]. Par ailleurs, la berbérine interagit également avec plusieurs récepteurs couplés

aux protéines G, notamment les récepteurs sérotoninergiques (HTR2B) et adrénergiques (ADRA2B, ADRA2C), impliqués dans la modulation de l'humeur, du tonus vasculaire et de la réponse au stress. L'affinité pour le récepteur muscarinique M1 (CHRM1) renforce son rôle potentiel dans l'amélioration cognitive. Enfin, son interaction avec le récepteur Sigma-1 (SIGMAR1), impliqué dans la plasticité neuronale et la survie cellulaire, ouvre des perspectives thérapeutiques dans les maladies neurodégénératives [278].

A la suite de cette analyse, les composés sélectionnés de *l'Atriplex halimus* L. partagent des cibles communes impliquées dans la modulation hormonale (ESR1/2, CYP19A1), dans le stress oxydatif (NOX4, AKR1B1) et dans le métabolisme acide/base et des radicaux libres (carbonic anhydrases). Les différences résident dans la puissance de l'affinité prédite, la diversité des enzymes ciblées et la nature structurale (flavanone, flavonol ou glycoside complexe), ce qui influence leur biodisponibilité et leur profil pharmacologique global.

Les cibles hormonales sont impliquées dans de nombreuses pathologies endocriniennes, notamment les troubles thyroïdiens, les syndromes métaboliques, les déséquilibres hormonaux, ainsi que dans certains cancer hormonodépendants (cancer du sein ou de l'endomètre) [269].

L'identification de ces cibles dans les résultats de prédiction par les différents serveurs suggère que les molécules bioactives de *l'Atriplex halimus* pourraient agir comme des modulateurs hormonaux naturels, présentant un intérêt pharmacologique potentiel dans la régulation des axes oestrogéniques et thyroïdiens. Ces résultats sont en cohérence avec les usages traditionnels de cette plante dans les troubles endocriniens.

Relation structure-activité des composés d'*Atriplex halimus* L. vis-à-vis de l'activité œstrogénique : apports de l'analyse *in silico*

Dans notre étude, plusieurs composés d'*Atriplex halimus L.* ont été prédits comme interagissant significativement avec les récepteurs œstrogéniques malgré leur diversité structurale, notamment la glabranine**,** le kaempférol-3,7,4′-triméthyléther**,** l'équol**,** la quercétine-7,4′-diméthyléther**,** ainsi que la néoériocitrine. Ces interactions suggèrent un potentiel phytoestrogénique**.**

Du point de vue structural, ces composés possèdent un squelette flavonoïde de type A–C–B**,** analogue au noyau stéroïdien, notamment avec la présence des cycles A et C rigides, ce qui favorise le mimétisme avec les œstrogènes endogènes [267]. De plus, les groupements hydroxyles en position 7 et 4′ sur les aglycones sont réputés cruciaux pour renforcer les liaisons

hydrogènes avec la poche de liaison des ESR [267]. Théoriquement, la O-méthylation peut réduire l'activité oestrogénique mais ne l'annule pas, vue que la quercétine-7,4′-diméthyléther et le kaempférol-3,7,4′-triméthyléther sont prédits comme des phytoestogénes, sachant que les substitutions O-méthylés, favorisent une meilleure stabilité métabolique, une biodisponibilité accrue et une pénétration cellulaire plus importante**,** selon les travaux de Bernini et al. (2011)[279].

Concernant l'effet de la glycosylation, nos résultats confirment que des composés comme, la **génistéine diglucoside malonylate** ou encore la **3′-méthoxyquercétine glycoside** présentent une plus faible prédiction d'affinité pour les ESR par rapport à leurs génines correspondantes, ceci corrobore les observations de Morito et al. (2002) [280], suite à la glycosylation des hydroxyles des isoflavonoïdes de soja l'affinité aux ESR est réduite**.**

En revanche, la **néoériocitrine**, ériodictyol-7-néohespéridoside, la glycolisation maintient une prédiction élevée pour les cibles hormonales, cela a été observée dans les travaux de Garritano et al. (2005) ou les flavones glycosylées, telles que la lutéoline-7-glucoside, ont démontré une amélioration de l'activité œstrogénique après glucosylation [281], suggérant que l'influence de la glycosilation dépends de la nature de la génine**.**

Aussi, la présence et la position des groupes **prényles** sur le noyau flavonoïde joue un rôle significatif dans l'activité phytoestrogénique, confirmé par les travaux de Kretzschmar et al. (2010) [260] ; et la position du groupe prényle en position **8** renforce la sélectivité pour ESR β, alors qu'en position 6, elle l'annule [282]. Dans ce contexte, la **glabranine**, qui présente une substitution prényle en position 8 sur le cycle A, peut être considérée comme un candidat sélectif d'ESR β**.**

Enfin, **l'équol**, un composé non glycosylé, ressort comme l'un des plus prometteurs parmi les composés de *Atriplex halimus* L, sa structure d'isoflavanol avec absence de la fonction cétonique au niveau du cycle C, en fait une molécule à forte affinité pour les récepteurs œstrogéniques, en particulier ERβ, démontré dans des essais de liaison compétitive [283,284].

L'identification de ces cibles permet non seulement de mieux comprendre les mécanismes d'action de *l'Atriplex*, mais aussi d'orienter les futures recherches vers des applications thérapeutiques ciblées, notamment dans le cadre des troubles hormonaux et les pathologies du stress oxydatif.

L'évaluation *in silico* des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques constitue un outil essentiel dans la présélection de composés bioactifs à potentiel thérapeutique, car elle permet d'estimer leur comportement *in vivo*, notamment en termes de biodisponibilité, de diffusion tissulaire, de métabolisme et d'élimination.

Le modèle Boiled-Egg, est une approche graphique intuitive permettant de prédire simultanément l'absorption intestinale et la pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), en se basant sur la polarité (TPSA) et la lipophilie (WLOGP) des molécules [285].

Plusieurs molécules naturelles issues de *Atriplex halimus* L. présentent un bon potentiel d'absorption orale, sans pour autant franchir la BHE. Il s'agit notamment de l'acide caféoylglucarique, la catéchine, la quercétine-4′,7-diméthyléther, l'alpinumisoflavone et la parvisoflavone. Leur distribution limitée au compartiment périphérique peut être bénéfique dans le cadre d'applications thérapeutiques non neurologiques, notamment pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires ou œstrogéniques périphériques.

Parmi ces composés, seule la catéchine est identifiée comme un substrat de la glycoprotéine P (P-gp), une pompe d'efflux exprimée dans l'épithélium intestinal et au niveau de la BHE. Son statut de substrat P-gp pourrait limiter sa biodisponibilité systémique et sa pénétration tissulaire, comme déjà documenté pour les flavan-3-ols dans la littérature[286].

En revanche, certaines molécules comme la glabranine, le kaempférol-3,7,4′-triméthyléther, l'équol et la berbérine se localisent dans la zone jaune du modèle Boiled-Egg, suggérant une capacité à traverser la BHE. Cette propriété est particulièrement pertinente dans le cadre d'indications neurologiques ou neuroendocriniennes. Notamment, pour la glabranine et le kaempférol-3,7,4′-triméthyléther ne sont pas des substrats de la P-gp, ce qui pourrait favoriser une rétention prolongée dans le système nerveux central (SNC), augmentant ainsi leur efficacité potentielle sur des cibles cérébrales.

À l'inverse, l'équol et la berbérine, bien qu'ayant la capacité de franchir la BHE, sont identifiés comme substrats de la P-gp, ce qui implique une élimination active hors du SNC. Cela pourrait limiter leur effet central, sauf en cas de co-administration avec des inhibiteurs de P-gp [287].

Enfin, certaines molécules comme l'atrisembaccatoside A, la néoériocitrine, la 3′-méthoxyquercétine glycoside, la lucénine 2-4′-méthyléther et la génistéine diglucoside malonylate ne sont pas positionnées dans le modèle Boiled-Egg. Cela peut s'expliquer par la

polarité excessive (TPSA trop élevé) apportées par les nombreux hydroxyles des oses qui les constituent et une masse molaire importante, les excluant des zones de prédiction du modèle. Ces composés présentent généralement une faible absorption orale et une accessibilité tissulaire restreinte.

Le métabolisme prédictif montre que plusieurs composés, notamment la glabranine, la berbérine**,** les formes méthylées de kaempférol et de quercétine, interagissent potentiellement avec plusieurs isoformes du cytochrome P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4). Ces interactions métaboliques peuvent présenter des risques d'interaction médicamenteuse [4], pouvant rendre un médicament inefficace ou exagérer sa pharmacologie et le rendre toxique[288].

Sur le plan du **drug-likeness**, les règles de Lipinski, Ghose et Veber permettent d'identifier les composés les plus prometteurs pour une administration orale. Les molécules simples telles que la catéchine**,** glabranine**,** équol**,** ou quercétine-4′,7-diméthyléther ne violent aucune de ces règles et obtiennent des SA scores (Synthetic Accessibility) inférieurs à 4, ce qui indique une bonne faisabilité de synthèse et un potentiel de développement en tant que médicaments oraux [5]. En revanche, les glycosides comme la 3′-méthoxyquercétine glycoside**,** la génistéine diglucoside malonylate ou l'atrisemibaccatoside A présentent 3 à 4 violations, notamment en raison de leur taille, de leur polarité excessive et de leur nombre de liaisons rotatives, ce qui les classe en dehors des standards classiques d'administration orale. Néanmoins, ces composés restent d'intérêt pour une administration topique ou ciblée, ou comme pro-médicaments**.**

L'évaluation toxicologique *in silico* des composés naturels isolés d'*Atriplex halimus* L. permet d'anticiper les risques liés à leur usage thérapeutique. La majorité des composés présentent des profils toxicologiques favorables, sans mutagénicité ni inhibition hERG I, et des DL_{50} supérieures à 5000 mg/kg, les plaçant dans la classe 5–6, c'est-à-dire faiblement toxiques. Par contre**,** la berbérine se distingue comme la plus préoccupante sur le plan toxicologique ; elle est prédite mutagène**,** neurotoxique**,** hépatotoxique**,** et présente une DL_{50} faible de 200 mg/kg**,** la classant dans la catégorie toxicité aiguë élevée (classe 3)**.** Cette prédiction est en accord avec des études *in vivo* antérieures rapportant une génotoxicité, une toxicité hépatique et neurologique à fortes doses chez le rat [289,290].

Aucun composé n'inhibe le canal hERG I, mais plusieurs sont prédits comme inhibiteur du canal hERG II, ce qui pourrait exposer à un risque faible à modéré d'arythmie cardiaque[291], les molécules à risque potentielle sont principalement les formes hétérosidiques.

Les prédictions révèlent également des risques spécifiques pour certains composés, notamment une toxicité hépatique (alpinumisoflavone) ou néphrotoxique potentielle (les formes hétérosidiques). Cela souligne l'importance d'une évaluation expérimentale approfondie avant toute application clinique.

Cependant la toxicité des molécules, est un phénomène dépendant de la dose ingérée et de la concentration sanguine, même si les flavonoïdes en générale présentent une bonne sécurité d'emploi, il est très important de mieux comprendre le moment et la quantité d'apport en flavonoïdes afin d'augmenter les bénéfices tout en réduisant les risques[292].

les résultats de cette approche prédictive montrent que les composés *d'Atriplex halimus* L. présentent un double potentiel thérapeutique : un effet modulateur hormonal et un effet antioxydant. Ces propriétés positionnent ces composés comme candidats prometteurs pour la prise en charge des désordres endocriniens inflammatoires et oxydatifs, avec un intérêt particulier dans le contexte des maladies métaboliques et hormonodépendantes.

Les effets peuvent être dose-dépendants, variant selon les extraits et la biodisponibilité des composés (forme aglycone ou glycosidique, présence de substituants comme méthylés ou prénylés).

Ces prédictions *in silico* constituent une étape préliminaire pour la sélection de candidats bioactifs prometteurs, en anticipant leurs performances *in vivo* et leur sécurité potentielle. Ils fournissent des hypothèses solides, mais nécessitent une validation expérimentale *via* des tests biologiques (essais *in vitro*) et pharmacologiques (essais *in vivo*).

IV.7 Evaluation biologique (*in vitro*)

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits *d'Atriplex halimus* L. met en évidence des différences marquées selon la nature de l'extrait et la méthode d'analyse employée.

Les résultats obtenus par les tests DPPH et FRAP montrent que l'extrait hydro-éthanolique (HEO) possède un pouvoir antioxydant nettement supérieur à celui de l'extrait aqueux (AE), bien que tous deux restent moins actifs que l'acide ascorbique, utilisé comme référence.

Dans l'étude menée par Benmarce et al. (2024), les extraits éthanoliques et aqueux d'*Atriplex halimus L.,* de la région de Sétif, ont présenté des valeurs d'IC_{50} respectives de 0,850 ± 0,026

mg/mL et 0,897 ± 0,060 mg/mL [293]. Ces résultats indiquent une activité antioxydante plus marquée pour l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait aqueux, ce qui est en cohérence avec nos observations. En effet, notre extrait hydro-éthanolique a montré une efficacité antioxydante encore supérieure, avec une IC_{50} de 0,326 mg/mL, traduisant une capacité anti-radicalaire plus puissante.

Dans l'étude de Slama et al. (2018), les extraits méthanolique et aqueux des feuilles *d'Atriplex halimus* L. de la région d'Oum el Bouaghi, ont présenté une IC_{50} de 0,53 mg/ml et 0,86 mg/ml, ainsi on constate une supériorité constante de l'activité anti-oxydante des extraits alcooliques par rapport aux extraits aqueux, confirmant nos observations[84].

Aussi, les mêmes observations sont retrouvées dans les travaux de Roubi et al. (2023), ou l'extrait hydro-éthanolique présente une activité antioxydante supérieure à l'extrait aqueux d'*A.halimus* récolté au Maroc, avec des IC_{50} de l'ordre de 0,59 ± 0,12 mg/mL et 1,21 ± 0,09 mg/mL respectivement[294].

La supériorité de l'extrait HEO dans le test DPPH est également en accord avec les travaux de Bouaziz et al. (2021), où les extraits hydro-alcooliques *d'Atriplex halimus* L. présentaient une activité antioxydante significativement plus élevée que celle des extraits aqueux, grâce à une meilleure solubilisation des polyphénols spécifiquement les flavonoïdes [65].

Le potentiel antioxydant d'un extrait, mesuré par la méthode FRAP, permet de déterminer de manière fiable son pouvoir réducteur. Un pouvoir réducteur élevé indique une meilleure capacité à donner l'électron aux radicaux libres pour former des substances stables et stopper les réactions en chaîne des radicaux libres [295].

Les résultats, exprimés en équivalent acide ascorbique (EAA), indiquent que l'extrait hydro-éthanolique optimisé possède une capacité réductrice plus élevée (36,69 mg EAA/g d'extrait mesuré à une concentration de 1 mg/ml) comparée à l'extrait aqueux (23,49 mg EAA/g mesuré à une concentration de 10 mg/ml). Cette tendance démontre que l'extrait hydro-éthanolique optimisé est plus riche en substances anti-oxydantes agissant via des mécanismes de transfert d'atomes d'hydrogène et de transfert d'électrons [296].

La variabilité structurale (flavonoïdes et acides phénoliques) et la teneur en polyphénols totaux (65,57 mg AG/g d'extrait) principalement dominés par les flavonoïdes (41,78 mg EQ/g d'extrait), expliquent la forte activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique optimisé confirmée par les deux méthodes d'évaluation.

La capacité et l'efficacité des composés phénoliques en tant qu'antioxydants sont déterminées par leur conformation, en particulier le nombre et la position des groupes OH des anneaux aromatiques [295].

Selon les constatations de Parcheta et al. (2021), plus il y a de groupes hydroxyles ou méthoxyles dans un anneau aromatique, meilleures sont les propriétés antioxydantes observées. Aussi, les hydroxyles en position ortho dans l'anneau B des flavonoïdes, constituent les piégeurs de radicaux libres les plus efficaces pour les radicaux oxygénés et azotés [297].

Par exemple, la limocitrine, identifiée dans l'extrait HEO, est une flavonol riche en hydroxyles libres et méthoxylés répartis sur les deux anneaux A et B, avec une configuration ortho dans l'anneau B et la présence de la double liaison C_2-C_3 en conjugaison avec le groupe 4-oxo, ces critères répondent aux exigences structurelles favorables à un piégeage efficace des radicaux libres selon Galanakis et al. (2018)[298].

La glabranine, une forme prénylée en C-8 de la flavanone, identifiée dans l'extrait HEO, selon les observations de Sentos et al (2021), la prénylation augmente le pouvoir antioxydant par rapport à la génine correspondante. Elle n'ajoute pas directement de groupements donneurs d'hydrogènes mais elle stabilise la molécule radicalaire formée après le don d'un électron ou d'un atome d'hydrogène, en plus elle permet d'augmenter la liposolubilité et l'interaction avec les membranes cellulaires (cite principal des processus oxydatifs)[299].

Les isoflavones, identifiées dans l'extrait HEO, sont des isoflavones prénylées en C8, caractérisées par la présence de groupes hydroxyles en C7 et C4′ pour l'alpinumisoflavone et un hydroxyle supplémentaire en C2′ pour parvisoflavone B, cette structure confère une activité antioxydante intéressante à ces molécules. Les groupes hydroxyles assurent la capture des radicaux libres [300], tandis que la chaîne prényl augmente la lipophilie et l'affinité pour les membranes cellulaires [266]. Toutefois, l'absence de système catéchol sur l'anneau B réduit la puissance antioxydante comparée à celle des flavonols type quercétine. Cela suggère un potentiel antioxydant intermédiaire, renforcé par une meilleure biodisponibilité cellulaire.

Même si les flavonoïdes ont une activité antioxydante plus forte que les acides phénoliques, Les acides phénoliques augmente l'activité antioxydante de l'extrait avec l'apport de groupes hydroxyles ou méthoxyles supplémentaires [297,301].

Notre extrait est riche en dérivés de l'acide caféique, notamment l'acide caféoylglucarique. Selon les travaux de Urbaniak et al. (2017), l'analyse des paramètres structurels de plusieurs

dérivés de l'acide caféique a démontré que les esters de cet acide présentent une activité antioxydante supérieure à celle de l'acide caféique lui-même. Cette observation a été confirmée par des travaux antérieurs, notamment ceux de Sopheak et al. (2002), qui ont évalué l'activité antioxydante de divers dérivés de l'acide caféique. Il en ressort que l'activité antioxydante des composés testés dépend non seulement du nombre de groupes hydroxyles, de la présence d'anneaux catéchols, mais également de l'hydrophobicité des composés [302,303].Tous ces éléments structuraux expliquent l'activité anti-oxydante puissante de l'extrait hydro-éthanolique.

Concernant **l'activité anti-inflammatoire** des extraits, elle a été évaluée à travers deux méthodes *in vitro :* l'inhibition de la dénaturation des protéines et la protection contre l'hémolyse induite par la chaleur.

lors de la dénaturation des protéines, un phénomène au cours duquel la protéine perd sa structure tridimensionnelle suite à l'exposition à différents agents (chaleur, agents infectieux ou chimique)[247], l'extrait hydro-éthanolique a présenté une meilleure activité anti-inflammatoire (CI_{50} = 1,51 mg/ml) que l'extrait aqueux (CI_{50} = 1,75 mg/ml), bien que ces valeurs restent nettement supérieures à celle du diclofénac sodique utilisé comme standard (CI_{50}=0,103 mg/ml).

De même, le test de stabilisation membranaire a révélé une supériorité de l'extrait hydro-éthanolique (CI_{50} = 8,01 mg/ml) par rapport à l'extrait aqueux (CI_{50} = 9,13 mg/ml). Toutefois, le diclofénac sodique, utilisé comme référence, demeure nettement plus actif (CI_{50} = 0,25 mg/ml). Ainsi, l'activité anti-inflammatoire est plus marquée dans l'extrait hydro-éthanolique optimisé (HEO).

Nos observations sont en accord avec les travaux de Tadj et al. (2024), qui ont rapporté que l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* L. provenant de la région de Tiaret présentait une activité anti-inflammatoire et anti-hémolytique supérieure à celle de l'extrait aqueux [304]. Mais la comparaison directe des valeurs numériques avec d'autres travaux reste difficile en raison de la variabilité des protocoles expérimentaux et de l'utilisation de standards de différents.

Cette supériorité pourrait s'expliquer à la fois par une meilleure solubilisation, dans le solvant hydro-éthanolique, des composés bioactifs impliqués dans la réponse anti-inflammatoire, et par

la richesse de l'extrait en métabolites phénoliques, reconnus pour leurs propriétés stabilisatrices des membranes et leur capacité à inhiber les médiateurs inflammatoires[305].

Les résultats obtenus aux tests d'inhibition de la dénaturation des protéines et de l'hémolyse induite confirment la capacité du HEO à limiter les processus inflammatoires. Cette activité pourrait résulter de la présence et de l'effet combiné des différents composés polaires de l'extrait, notamment les dérivés de l'acide caféique et les flavonoïdes méthylés.

L'ensemble de ces résultats souligne le potentiel de l'extrait HEO comme candidat anti-oxydant et anti-inflammatoire naturel.

IV.8 Evaluation pharmacologique (*in vivo*) :

L'exposition aux perturbateurs endocriniens, notamment par le biais des plastifiants comme les phtalates, représente aujourd'hui un problème majeur de santé publique.

Les effets délétères sur la santé humaine de ces xénobiotiques, en perturbant l'homéostasie hormonale et de nombreuses fonctions physiologiques, se manifeste chez les deux sexes avec une prédominance d'exposition chez les femmes [306].

Face à ce constat, l'étude des effets biologiques des phtalates, ainsi que l'identification des extraits de plantes capables de rétablir les perturbations induites par ces composés, est devenue une priorité face à la prévalence des maladies endocriniennes type : diabète type 2, dysfonctionnement thyroïdien, obésité, syndrome des ovaires polykystiques, endométriose, infertilité ...

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude, en explorant plusieurs paramètres physiologiques, hormonales et biochimiques chez des rats femelles exposées aux DINP et aux extraits *d'Atriplex halimus* L. afin d'évaluer le potentiel thérapeutique de la plante et la sécurité d'utilisation de ces extraits.

Variations des paramètres physiologiques :

Le premier paramètre physiologique étudié concerne l'évolution du poids corporel des rats Wistar femelle, la réduction du poids corporel est généralement un indicateur de la détérioration de l'état de santé général du rat et une prise de poids excessive est également un indicateurs d'effets métaboliques indésirables [307].

Lors de notre expérimentation animale, le poids absolu des animaux a été mesuré quotidiennement et nous a permis de constater que tous les lots ont présentés un gain de poids corporel à la fin de l'expérimentation avec des différences notables entre les groupes.

Le lot toxique (PT) a montré la prise de poids la plus élevée, atteignant +34,5 g, ce qui pourrait traduire une altération du métabolisme énergétique induite par les phtalates. Plusieurs études ont rapporté que l'exposition aux phtalates, notamment le DEHP, peut induire une prise de poids via l'activation des récepteurs nucléaires PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptors), responsables de l'adipogenèse et du stockage lipidique [308], et ce mécanisme a été confirmé dans les travaux de Yang et al. (2021) sur des souris exposées au DINP[309]. Cette action pourrait être renforcée par une perturbation hormonale, en particulier sur la régulation des androgènes et des hormones thyroïdiennes, comme l'ont suggéré Chiang et al. (2020) et Lea et al (2025)[191,197].

Concernant les lots traités avec l'extrait aqueux *d'Atriplex halimus*, le lot AE (extrait aqueux) a présenté un gain de poids de + 31,2 g, légèrement supérieur à celui du lot témoin (C) (+29,3 g), L'absence d'impact pondéral significatif s'accorde avec les observations de nombreuses études tels que : Chikhi et al (2014), Slama et al. (2018) et Metawea et al. (2021) [4,84,310], cela est un indicateur favorable de tolérance aux extraits de la plante à la dose de 200mg/Kg/jr.

Tandis que le lot PTAE (toxique + extrait aqueux) a montré une prise de poids de 30,5 g. Ces résultats suggèrent un effet modérateur potentiel de l'extrait aqueux sur l'accumulation pondérale induite par les phtalates, bien que cet effet demeure modeste. Il est plausible que les composés bioactifs hydrosolubles (flavonosides, acides phénoliques) aient contribué à limiter partiellement les effets obésogènes des phtalates via leur action antioxydante ou leur influence sur les voies métaboliques.

En revanche, les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique ont montré des résultats plus marqués. Le lot HE (extrait hydro-éthanolique) a présenté le gain pondéral le plus faible (+25,4 g), suggérant un effet hypopondérant potentiel de l'extrait hydro-éthanolique *d'Atriplex*. Ce type d'extrait est souvent plus riche en composés lipophiles, comme les saponines ou certains flavonoïdes, qui peuvent interagir avec les voies de régulation métabolique, inhiber la lipogenèse ou stimuler la lipolyse. Le lot PTHE (DINP + extrait hydro-éthanolique), quant à lui, a présenté un gain de poids de 29,5 g, proche du témoin, ce qui laisse penser que l'extrait hydro-éthanolique pourrait atténuer les effets obésogènes du traitement toxique.

Cependant, malgré ces tendances observées, l'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative entre les différents groupes par rapport au témoin. Cela pourrait s'expliquer par la

durée du protocole expérimental (28 jours), ne permettant pas de mettre en évidence des effets métaboliques plus marqués.

Dans notre expérimentation, l'analyse de la consommation quotidienne hydrique et alimentaire a montré une diminution significative de la consommation chez l'ensemble des groupes expérimentaux comparés au lot témoin (C). Cette baisse est très hautement significative ($p \leq 0,0001$) pour les lots exposés au DINP seul (PT) et combinés aux extraits (PTAE, PTHE). Chez les rats traités uniquement avec l'extrait aqueux (AE) ou hydro-éthanolique (HE), une baisse de la consommation alimentaire et hydrique a également été observée, significative voire très hautement significative. Ce résultat pourrait s'expliquer par :

- La présence de composés bioactifs (saponines, flavonoïdes, tanins) ayant un effet modulateur de l'appétit, voire un goût amer ou astringent pouvant altérer la palatabilité de l'eau ou des aliments.
- Un effet digestif ou hépatoprotecteur modéré, susceptible de modifier la motilité gastro-intestinale ou le métabolisme des nutriments.

Cela peut suggérer que *l'Atriplex halimus* L. peut avoir un effet modulateurs de l'appétit, comme cela a été rapporté pour d'autres plantes médicinales présentant des activités régulatrices similaires [311], même si ce constat n'est pas été rapporté pour l'*Atriplex* à ce jour. Aussi, les résultats de notre étude indiquent que le DINP, seul ou en combinaison avec les extraits *d'Atriplex*, altère significativement la consommation alimentaire et hydrique des rats. Ce comportement peut être interprété comme la conséquence d'une perturbation hormonale responsable d'une baisse du métabolisme de base et d'un stress oxydatif.

Les groupes co-traités par DINP et les extraits (PTAE, PTHE) montrent également une réduction très significative de la consommation hydrique et alimentaire. Cela suggère que les extraits *d'Atriplex* n'ont pas atténué les effets du DINP. Toutefois, la tendance pourrait indiquer un léger effet protecteur.

La mesure du poids absolue des organes est un paramètre simple pour évaluer à la fois la sécurité d'un composé, la cible organique affectée et la physiopathologie en cours, parmi les organes mesurés lors de notre expérimentation, nous avons : le foie, le rein, le cerveau et les organes reproducteurs (ovaire et utérus).

Le poids absolu du foie est un indicateur important dans l'évaluation de la toxicité hépatique et des effets protecteurs ou toxiques des substances administrées. Une augmentation du poids

hépatique est généralement interprétée comme un signe d'inflammation, de stéatose, d'hypertrophie cellulaire ou d'accumulation de métabolites toxiques.

Dans cette étude, l'administration des extraits de la plante (AE et HE) n'a entraîné aucune variation significative du poids absolu du foie par rapport au groupe témoin (C), ce qui suggère une innocuité hépatique des extraits. Ceci concorde avec les travaux de Slama et al (2018) et Zeghib et al (2021) [84,312] , qui ont observé l'absence d'hépatotoxicité des extraits de la plante.

Le groupe traité avec l'agent toxique (PT) présente une élévation hautement significative du poids hépatique comparé au groupe contrôle ($p \leq 0,01$), ce qui est typique d'une hépatomégalie induite par le xénobiotique. Ce résultat est cohérent avec les effets hépatotoxiques du DINP démontrés dans l'étude de Ma et al. (2014), Liang et al (2020) et Adeyemo et al. (2021) par le biais du stress oxydatif, de l'inflammation et de l'épuisement du système antioxydant hépatique [181,189,313].

Dans les groupes PTAE et PTHE, une légère augmentation du poids hépatique est observée par rapport au témoin C, elle n'est pas significative, indiquant une neutralisation de la toxicité. Par contre, le poids hépatique est significativement réduit par rapport au groupe PT ($p \leq 0,05$), ce qui suggère un effet hépatoprotecteur de l'extrait aqueux et de l'extrait hydro-éthanolique, cela peut s'expliquer par les composés phénoliques présents dans les deux extraits et les mécanismes antioxydants et anti-inflammatoires capables d'atténuer les dommages hépatocellulaires induits par le DINP.

Le poids absolu du rein est un indicateur important dans l'évaluation de la toxicité rénale et des effets protecteurs ou toxiques des substances administrées. En ce qui concerne les groupes traités par les extraits *d'Atriplex*, nos résultats montrent que ni l'extrait aqueux (AE) ni l'extrait hydroéthanolique (HE) n'ont modifié significativement le poids rénal par rapport au lot témoin C. Cela suggère une innocuité rénale de ces extraits à la dose testée, ce qui est conforme aux données de Zeghib et al. (2019) et Slama et al. (2021) [314,315].

Par contre, l'administration du DINP a induit une augmentation significative ($p \leq 0,001$) du poids absolu des reins chez les rats du lot PT, comparativement au lot témoin (C), ce qui est en accord avec l'étude de Liang et al. (2020) ayant rapporté l'effet néphrotoxique de ce phtalate [313]. Cette augmentation de poids pourrait s'expliquer par une infiltration cellulaire inflammatoire, un stress oxydatif, comme le suggère l'étude de Yue et al. (2021) [316].

Chez les groupes co-traités (PTAE et PTHE), bien que les poids rénaux restent supérieurs à ceux du groupe témoin C, une tendance à la réduction par rapport au lot PT est observée, bien que statistiquement non significative. Ce résultat pourrait indiquer un effet partiellement protecteur des extraits, en particulier face au stress oxydatif induit par le DINP [314,315].

Le poids absolu des organes reproducteurs (ovaires et utérus) est un indicateur sensible aux perturbations hormonales, qu'elles soient d'origine chimique (les phtalates) ou naturelles (extraits de plantes), notamment aux œstrogènes, permettant de détecter les effets œstrogénomimétiques ou antioestrogéniques [317].

Pour le lot traité avec le phtalate (PT), le DINP a entraîné une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) du poids absolu des ovaires comparé au groupe témoin C, ce qui corrobore les effets gonadotoxiques décrits par Land et al. (2021) et Alam et al. (2025) [178,306].

Cette hypertrophie ovarienne pourrait résulter d'un déséquilibre hormonal, notamment une stimulation anormale de la synthèse des œstrogènes ou une inflammation ovarienne, conséquences fréquentes de l'exposition aux phtalates. Plusieurs études ont rapporté que les phtalates activent les récepteurs PPARs, perturbent la signalisation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG) et modifient la structure et la fonction ovarienne[180,308].

Aussi, le DINP a induit une augmentation utérine significative, ce qui confirme l'effet perturbateur endocrinien du phtalate testé (DINP), en cohérence avec son potentiel œstrogénomimétique rapporté dans plusieurs études sur l'animal [318].

Lors de notre expérimentation, les lots traités par les extraits *d'Atriplex* seuls n'ont présenté aucune modification significative du poids des ovaires par rapport au témoin C, traduisant une tolérance ovarienne satisfaisante vis-à-vis de ces extraits.

En revanche, une augmentation très hautement significative du poids utérin du lot AE par rapport au témoin suggère que l'extrait aqueux *d'Atriplex halimus* pourrait exercer une activité œstrogénique ou hyperplasique. Ceci rejoint des données indiquant que certains extraits de plantes riches en flavonoïdes type isoflavones peuvent induire une hypertrophie utérine dose-dépendante [319,320].Contrairement au lot HE, il présente une augmentation utérine modeste et non significative, ce qui pourrait indiquer une activité hormonale plus faible que l'extrait aqueux.

Dans l'étude de Zin et al. (2013) à dose faible (10 mg/kg), l'isoflavone type genistéine entraîne une réduction du poids utérin et ovarien, associée à une augmentation des gonadotrophines (FSH) et des œstrogènes et à dose forte (100 mg/kg), l'effet est inversé, une augmentation du poids utérin et ovarien, avec diminution de FSH et d'œstrogène. Cela démontre une réponse dose-dépendante, confirmant que les phytoœstrogènes peuvent stimuler ou inhiber la croissance des organes reproducteurs selon la dose[320].

Chez les groupes co-traités (PTAE et PTHE), bien que le poids des ovaires reste supérieur à celui du groupe témoin C, une tendance à la diminution par rapport au lot PT est observée, bien que sans signification statistique. Ces résultats suggèrent un effet modérément protecteur des extraits *d'Atriplex* sur l'augmentation ovarienne induite par le DINP. Cette action pourrait être attribuée à la richesse des extraits en antioxydants et phytoestrogènes (flavonoïdes et isoflavonoïdes), capables de moduler les voies de signalisation hormonales et oxydatives, et ainsi protéger le tissu ovarien [321].

Pour le poids utérin, le lot PTAE montre une élévation non significative par rapport au contrôle, mais une baisse très hautement significative par rapport au lot PT**,** suggérant que l'extrait aqueux pourrait atténuer l'effet œstrogénique excessif induit par le DINP**.** Le lot PTHE montre une baisse importante et très hautement significative du poids utérin par rapport au lot PT, suggérant une action protectrice puissante contre l'effet œstrogénique du phtalate**.**

Ce type de réponse a été décrit avec des extraits riches en polyphénols ayant une activité modulatrice des récepteurs hormonaux, dans l'étude de Watcho et al. (2022), les extraits aqueux et méthanoliques d'*Amaranthus hybridus*, une Amaranthaceae, ont permis de rétablir la toxicité sur les organes reproducteurs féminins induite chez des rats traités par cyclophosphamide durant 28jours, et cela a été expliquée par la présence de tanins, de rutine, de quercétine et d'alcaloïdes, qui pourraient présenter des activités stéroïdogènes et antioxydantes [322].

Les deux extraits *d'Atriplex halimus* L. montrent une capacité à moduler les effets utérins induits par un perturbateur endocrinien**.** Cependant, l'extrait hydro-éthanolique semble le plus efficace pour prévenir les altérations utérines induites par le perturbateur endocrinien tout en ayant une faible activité hormonale intrinsèque**.**

La mesure du poids absolu du cerveau constitue un paramètre important dans l'évaluation de la neurotoxicité d'un xénobiotique ou de substances naturelles. Dans cette étude, l'administration

du DINP a entraîné une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) du poids cérébral par rapport au groupe control C, ce qui pourrait refléter un œdème cérébral, une inflammation, ou une altération du métabolisme neuronal induite par le stress oxydatif [323].

Les phtalates sont connus pour franchir la barrière hémato-encéphalique et induire des effets neurotoxiques, notamment par déséquilibre redox, activation de microglies et perturbation de la signalisation neuronale [324]. L'augmentation du poids cérébral peut ainsi traduire une réponse inflammatoire cérébrale à l'exposition au DINP.

En revanche, les traitements par les extraits aqueux (AE) et hydro-éthanoliques (HE) *d'Atriplex halimus*, administrés seuls, n'ont pas entraîné de variations significatives du poids du cerveau, suggérant une bonne tolérance neurologique de ces extraits. Cette observation est en accord avec les propriétés antioxydantes et neuroprotectrices rapportées pour *Atriplex* dans l'étude de Guedri et al. (2024) [74].

Chez les groupes co-traités (PTAE, PTHE), on observe une tendance à la réduction du poids cérébral par rapport au groupe DINP seul, bien que non significative. Cela pourrait refléter un effet neuroprotecteur partiel des extraits vis-à-vis l'inflammation cérébrale induite par le phtalate, probablement grâce à leur contenu en flavonoïdes, acides phénoliques et alcaloïdes (berbérine) [278,325,326].

En résumé, l'exposition au DINP a augmenté de manière significative le poids d'organes cibles par rapport au groupe témoin C, pour les lots traités par les extraits d'A.*halimus* nous observons une action hépatprotectrice significative, pour les autres organes une action protectrice modérée non significative dans les conditions expérimentales suivie (traitement de 28jours à la dose de 200mg/Kg/jr). Par ailleurs, la forme hydro-éthanolique ne semble pas montrer une efficacité supérieure à l'extrait aqueux dans la modulation du poids des organes.

Variations des paramètres hormonaux :

Les hormones thyroïdiennes FT3 (triiodothyronine libre) et FT4 (thyroxine libre) jouent un rôle fondamental dans la régulation du métabolisme, de la croissance, du développement cérébral et du système reproducteur. Leur altération est souvent un marqueur sensible des effets des perturbateurs endocriniens.

Dans notre étude, l'exposition au DINP a entraîné une diminution très significative du FT4 ($p \leq 0,001$) et une légère baisse du FT3, cela démontre en premier lieu que le toxique DINP induit une perturbation des hormones thyroïdienne, et cet impact est plus marqué sur FT4 plutôt

que sur FT3, on peut expliquer cette différence par la conversion continue des FT4 en FT3 pour maintenir une valeur normale des FT3 dans l'organisme[95].

Nos résultats concordent avec les travaux de Dong et al. (2019) [327] ; où l'utilisation d'un phtalate (DEHP) réduisait de manière significative FT4, augmentait TSH chez son modèle animale, tandis que la FT3 ne présentait aucun changement significatif, cette observation a été également signalée dans l'étude de Qader et al. (2023) et de Linlin et al. (2023) [328,329]. Cet impact des phtalates sur la réduction des hormones thyroïdiennes a également été rapporté dans d'autres études, attribué à une perturbation de la transcription des gènes codant la thyroperoxydase (TPO), à une interférence avec la liaison de la T3 aux protéines de transport, ou encore à une activité antagoniste exercée au niveau des récepteurs thyroïdiens [328].

L'administration de l'extrait aqueux *d'Atriplex* (AE) a montré une augmentation très hautement significative du FT3 et FT4 comparée au lot témoin C, ce qui suggère un effet stimulant sur la fonction thyroïdienne. Cette action pourrait être liée à la richesse en sels minéraux (iode, sélénium, zinc) selon Kohrle et al. (2023) [330] et les acides phénoliques présents dans l'extrait, reconnus pour leurs effets antioxydants et stimulants du métabolisme thyroïdien d'après les travaux de Habza-Kowalska et al. (2021) [331]; en augmentant l'activité de la TPO (thyroperoxydase), enzyme-clé dans la synthèse des hormones thyroïdiennes.

Le co-traitement avec l'extrait aqueux (PTAE) a entraîné une amélioration significative des taux hormonaux, en particulier une augmentation du FT4 par rapport au lot toxique. Cette réponse traduit une action protectrice des composés bioactifs de l'extrait contre la thyrotoxicité induite par le DINP, contribuant ainsi à une restauration quasi normale de la fonction thyroïdienne.

Quant à l'extrait hydro-éthanolique (HE), bien qu'il entraîne une élévation très significative du FT4, il n'induit qu'une légère élévation du FT3, et sa capacité à restaurer les niveaux hormonaux chez les animaux co-exposés au DINP (PTHE) est moins marquée comparée à l'extrait aqueux. Cela peut s'expliquer par une différence dans la composition chimique des extraits, les composés hydrophiles présents dans l'extrait aqueux semblant plus impliqués dans la modulation hormonale que les composés présents dans l'extrait hydro-éthanolique.

Concernant la TSH, une hormone hypophysaire essentielle à la régulation de l'activité thyroïdienne. Sa sécrétion est inversement corrélée aux taux circulants de FT3 et FT4 **;** une élévation de TSH reflète souvent une hypothyroïdie (ou un stress thyroïdien), tandis qu'une

baisse peut être la conséquence d'un rétrocontrôle négatif suite à une augmentation des hormones thyroïdiennes.

Dans notre étude, l'administration de DINP (groupe PT) a entraîné une élévation du taux de TSH par rapport au lot C, bien que non significative. Cette tendance confirme les effets perturbateurs endocriniens du DINP, qui agit en diminuant les taux de FT4, ce qui provoque une stimulation compensatoire de la TSH via l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien (HPT). Dans le groupe AE, une baisse du taux de TSH est observée par rapport au lot C, ce qui peut être corrélé à l'augmentation significative des FT3 et FT4 observée dans ce groupe. Ce profil suggère que AE *d'Atriplex* stimule efficacement la fonction thyroïdienne, ce qui active le mécanisme de rétrocontrôle négatif et réduit la production de TSH. Cette tendance, bien que non significative statistiquement, va dans le sens d'un effet régulateur ou stimulant de l'activité thyroïdienne**.** Chez les animaux co-traités par AE (lot PTAE), on note aussi une réduction du taux de TSH par rapport au lot PT**,** indiquant un effet atténuateur partiel de l'extrait aqueux sur la perturbation thyroïdienne induite par le DINP. Ce résultat amorce l'hypothèse d'un potentiel effet adaptogène de cet extrait sur l'axe HPT.

En revanche, dans le groupe HE, la TSH est globalement stable par rapport au témoin, malgré l'élévation marquée du FT4 observée dans ce groupe. Cela suggère que l'extrait HE, bien qu'actif, a un effet moins prévisible sur la régulation hormonale que l'extrait AE.

Observation marquante, le lot PTHE présente une élévation très significative de la TSH ($p \leq 0,01$), malgré une normalisation du FT4. Cela pourrait être le signe d'un déséquilibre transitoire ou d'une activation excessive de l'axe HPT, possiblement liée à un stress oxydatif résiduel, ou à des composés spécifiques à l'extrait hydro-éthanolique qui interfèrent avec le rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire.

Dans l'ensemble, ces résultats soulignent que l'extrait aqueux exerce une action plus équilibrée et bénéfique que l'extrait hydro-éthanolique dans la stimulation et la protection de la fonction thyroïdienne.

Ces résultats confirment les propriétés endocrino-régulatrice**s** potentielles *d'Atriplex halimus*, et confortent l'usage des feuilles l'*A.halimus*, dans la médecine traditionnelle, pour le traitement des troubles de la glande thyroïde.

Les perturbations endocriniennes induites par l'exposition au DINP provoquent des déséquilibres hormonaux, en interférant avec la biosynthèse, le métabolisme ou l'action propres des hormones sexuelles, notamment l'estradiol et la progestérone [309,332].

Les résultats de notre expérimentation ont montré que l'administration de l'extrait aqueux (lot AE) et de l'extrait hydro-éthanolique (lot HE) seuls, n'ont pas induit de modifications significatives des taux d'estradiol ou de progestérone, indiquant une innocuité hormonale**.**

En revanche, l'exposition au DINP (lot PT) a provoqué une augmentation significative de l'estradiol et une baisse hautement significative de la progestérone, suggérant une hyperœstrogénie relative associée à un déficit lutéal, probablement due à une altération de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Chiang et al. (2021) et Pan et al. (2024) [197,318].

Notamment, les co-traitements (lot PTAE et PTHE) ont entraîné une baisse très significative de l'estradiol et une élévation significative de la progestérone par rapport au lot PT**,** traduisant un effet correcteur**.** Cette restauration hormonale pourrait être attribuée à la richesse des extraits en composés bioactifs (flavonoïdes, isoflavonoïdes et acides phénoliques) dotés de propriétés phytoestrogeniques et antioxydantes capables de rétablir la fonction stéroïdogène normale selon les travaux de Chen et al. (2010), Kiyama et al. (2023) et Leti Maggio et al. (2024) [267,321,333].

Les extraits aqueux et éthanolique *d'Atriplex halimus* ont démontré une capacité à restaurer l'équilibre hormonal**,** en normalisant la concentration d'œstradiol circulant comme cela a été suggéré dans l'étude de Eveline et al. (2019) sur une Euphorbiaceae à action similaire (*Phyllanthus muellerianus*) [319].

Variations des paramètres biochimiques :

La détermination de la glycémie et des paramètres lipidiques chez les différents lots traités, sont des marqueurs clés, ils permettent d'évaluer l'impact métabolique**,** hormonal et toxicologique des substances testées.

Les phtalates, tel que le diisononyl phtalate, sont classés parmi les perturbateurs métaboliques, ils sont capables d'induire un stress oxydatif**,** une insulino-résistance et des dérèglements lipidiques [316,334].

Nos résultats confirment cet impact, révélant une hyperglycémie hautement significative chez le lot PT, ce qui concorde avec les effets hyperglycémiants rapportés par Li et al. (2024)[334].

Le lot AE et le lot HE montrent des valeurs glycémiques similaires à celles du témoin C, ce qui indique l'innocuité métabolique de ces extraits lorsqu'ils sont administrés seuls.

En revanche, le lot PTAE (DINP + extrait aqueux) présente une réduction très hautement significative de la glycémie par rapport au lot PT, ramenant les valeurs à celle du témoin. En revanche, le lot PTHE (DINP + extrait HE) présente une diminution modérée**,** non significative**.** Cette baisse marquée avec l'extrait aqueux, concorde avec l'étude de Chikhi et al. (2014)[4], qui a testé l'extrait aqueux de la plante à la dose de 200 mg/kg/jr sur un modèle de rats diabétiques, et dans l'étude de Bounouar et al. (2022)[81], qui a testé l'extrait aqueux à deux doses (100 et 200mg/kg/jr), les extraits ont induit une baisse significative de la glycémie des rats diabétiques.

Le mécanisme possible de l'action antidiabétique de l'extrait aqueux peut être l'augmentation de la sécrétion pancréatique d'insuline par les cellules β-existantes[4] ; et la présence de flavonoïdes (quercétine, kaempférol et génistéine) possédant une activité antidiabétique reconnue[335–337] ; la berbérine, un alcaloïde identifié dans *l'Atriplex*, présente également des effets hypoglycémiants [338].

Ces données confirment l'effet antidiabétique de *l'Atriplex halimus* et suggèrent que l'extrait aqueux est plus efficace pour réduire l'hyperglycémie induite par le DINP que l'extrait hydro-éthanolique, probablement en raison d'une meilleure concentration en composés hydrosolubles**.**

L'exposition au DINP (lot PT) a induit également une élévation très hautement significative des triglycérides et une augmentation modérée du cholestérol total. Ces observations sont cohérentes avec la dyslipidémie induite par les phtalates, démontrées dans plusieurs études [308,309,316].

Pour les lots co-traités, le lot PTAE montre une réduction très hautement significative des triglycérides par rapport au lot toxique, et une réduction significative du cholestérol total, ce qui concorde avec les travaux de Bounouar et al (2022), observant une diminution significative du cholestérol total chez les rats diabétique traités par l'extrait aqueux *d'Atriplex* [81].

Le lot PTHE a également diminué les triglycérides et le cholestérol, et ces effets étaient hautement significatifs pour les deux paramètres, ce qui suggère que l'extrait HE d'A. *halimus* peut protéger de façon plus significative les patients diabétiques contre les maladies coronariennes causées par l'augmentation du cholestérol.

Ainsi, les deux extraits ont atténué les perturbations lipidiques induites par le DINP, mais l'extrait AE présente une supériorité en termes de normalisation des triglycérides et l'extrait HE présente une supériorité en termes de normalisation de l'hypercholestérolémie.

Nos résultats démontrent que l'exposition au DINP perturbe significativement le métabolisme glucidique et lipidique chez le rat. Les deux extraits d'*Atriplex halimus* L. ont montré un effet correcteur, mais l'extrait aqueux s'est révélé d'une efficacité plus globale pour ramener la glycémie, les triglycérides et le cholestérol total à des valeurs proches du témoin.

La CRP est un marqueur inflammatoire systémique sensible, dont l'élévation reflète la présence d'une inflammation aiguë ou chronique [339]. En parallèle, le cortisol, hormone de stress, participe à la régulation du métabolisme, de la réponse immunitaire et de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) [340]. Leur mesure permet de relier l'état inflammatoire à la réponse au stress et aux modifications endocrines induites par un perturbateur endocrinien (PE) et à observer l'impact des extraits *d'Atriplex* sur ces paramètres.

Au niveau du lot PT, on constate une augmentation très significative de la CRP ($p \leq 0{,}001$), montrant une inflammation systémique. Par contre, le xénobiotique entraîne une diminution significative de la cortisolémie ($p \leq 0{,}05$), attestant d'une dysrégulation de l'axe HPA**,** probablement due au stress métabolique.

Dans les groupes AE et HE, la CRP reste stable, ce qui démontre aucun signe d'inflammation à la suite de l'ingestion des deux extraits ; mais la cortisolémie est fortement abaissée de façons significative ; ce qui reflète une atténuation du stress systémique et une action sur l'axe hypothalamo- hypophyso-surrénalien des deux extraits.

Pour les lots de co-traitements, on constate une réduction significative de la CRP dans le lot PTAE ($p \leq 0{,}01$) et une baisse non significative pour le lot PTHE par rapport au lot PT, cela dénote d'un effet anti-inflammatoire marqué chez l'extrait aqueux.

Les composés phénoliques (flavonoïdes et acides phénoliques) présents dans les extraits sont connus pour réduire l'inflammation de façon systémique, étant donné que différents polyphénols peuvent avoir plusieurs cibles intracellulaires [341].

Aussi, la cortisolémie des lots PTAE et PTHE montre une baisse hautement significative par rapport au lot PT ($p \leq 0{,}001$), suggérant un effet adaptogène des extraits *d'Atriplex halimus*, mais l'extrait hydro-éthanolique (PTHE) démontre une baisse du cortisol plus prononcée.

La réduction de la cortisolémie est un effet principalement observée chez les plantes adaptogènes[340]. Les plantes adaptogènes sont définis comme des « régulateurs métaboliques, qui augmentent la capacité d'un organisme à s'adapter aux facteurs environnementaux pour éviter les dommages causés par le stress des facteurs physiques, chimiques et biologiques » [342,343], nos résultats renforcent l'hypothèse que *A.halimus* peut être considérée comme une plante adaptogène, à l'instar du ginseng, curcuma, réglisse, ashwagandha…

Aussi, l'extrait le plus global est l'extrait aqueux**,** car il combine efficacement protection anti-inflammatoire (CRP) et régulation du stress (cortisol)**.** Le recours à ce type d'extrait favorise une action synergique sur les axes immuno-endocriniens, tout en minimisant la réponse inflammatoire induite par les perturbateurs endocriniens.

Paramètres biochimiques explorant la fonction hépatique :

Les enzymes hépatiques (ALT, AST, PAL, γGT), la bilirubine, ainsi que les paramètres protéiques (protéines totales, albumine), sont des marqueurs clés de la fonction hépatique et de l'intégrité cellulaire hépatique. Les variations de ces indicateurs permettent de détecter les toxicités hépatiques aiguës ou chroniques**,** les altérations de l'excrétion biliaire et l'état nutritionnel global [95]**.**

L'exposition à un perturbateur endocrinien, tel que le DINP, peut induire un stress oxydatif et une perturbation du métabolisme hépatique**,** entraînant des modifications des marqueurs enzymatiques et protéiques. L'introduction d'extraits *d'Atriplex*, vise à évaluer le potentiel hépatoprotecteur de la plante et ces extraits.

L'ALT est principalement localisée dans le foie, tandis que ASAT se trouve aussi dans d'autres tissus (muscles, cœur et reins), leurs variations expriment une atteinte hépatique selon plusieurs mécanismes.

L'extrait seul (AE) n'a provoqué aucune variation significative des taux d'ALT et d'AST, indiquant une tolérance hépatique**,** nos résultats concorde avec l'observation de Slama et al. (2018) [84]**.**

Les lots traités avec l'extrait hydro-éthanolique seul (HE) a induit une baisse de l'ALT et de l'AST, mais cette baisse est statistiquement significative uniquement pour ALT ($p \leq 0,05$), démontrant un potentiel effet hépatoprotecteur intrinsèque, cela concorde avec les travaux de Parvez et al. (2017) sur l'effet protecteur de l'extrait éthanolique de *l'Atriplex suberecta* sur le foie, à la dose de 100 et 200mg/kg/jr [196].

L'exposition au DINP (lot PT) a engendré une baisse très hautement significative de l'ALT ($p \leq 0,0001$) avec une augmentation non significative de l'AST, évoquant un possible effet disruptif sur le métabolisme hépatique**,** plutôt qu'une cytolyse classique, ces résultats sont discordant avec les travaux de Ling et al. (2022), ou l'exposition des rats à divers type de phtalates (DEHP, DBP), induit une augmentation significative de l'ALT et de l'AST, ainsi que de l'ALP ; indiquant des lésions hépatocellulaires et une cholestase, mais cela a été observée à des taux d'exposition de l'ordre de 900mg/Kg/jr supérieure à nos valeurs (200mg/Kg/jr) [344]. Dans notre étude le DINP à induit des perturbations de la synthèse enzymatique, plutôt qu'une cytolyse classique. Cela concorde avec les travaux de Ma et al. (2014)**,** le DINP à la dose de 200 mg/kg/j administré à des souris durant 14jours, a induit un stress oxydatif hépatique, avec détérioration cellulaire, sans mention d'élévation enzymatique. Ces résultats indiquent une perturbation métabolique hépatique, plutôt qu'une action cytolytique classique[189].

Pour les lots co-traités, le lot PTAE a maintenu cette baisse de ALT, suggérant une stabilité enzymatique**,** mais peu d'action corrective spécifique. Pour le lot PTHE, l'ALT reste basse par rapport au lot C, bien que légèrement plus élevé que dans le lot PT, ce qui indique une légère correction par l'extrait hydro-éthanolique**.**

Dans les travaux de Slama et al. (2018), les extraits d'*A.halimus* tendent à normaliser les taux élevées de l'ALT et l'AST induite par une intoxication au CCl_4 suggérant un effet hépato-protecteur[84].

La PAL, la γGT et la bilirubine totale sont aussi des marqueurs de la fonction hépato-biliaire et du stress oxydatif, la PAL augmente en cas de cholestase, de maladies osseuses…Les taux abaissés sont moins fréquents mais peuvent être observés dans certaines maladies telles que : l'hypophosphatasie, les femmes ménopausées recevant une thérapie œstrogénique, la malnutrition, la carence en magnésium, l'hypothyroïdie…Tandis que la γGT reflète l'activité de défense au stress oxydatif via le glutathion et la bilirubine totale est un marqueur de la capacité de conjugaison et élimination biliaire [345,346].

Les lots traités avec les extraits seuls (AE et HE) n'ont provoqué aucune variation significative des taux de PAL, de γGT et de bilirubine totale, cela confirme que nos extraits ne provoquent pas de toxicité hépato-biliaire, en accord avec les observations de Slama et al. (2018) et Zeghib et al**.** (2020)[84,347].

Au niveau du lot PT, nous constatons une baisse très significative de la PAL ($p \leq 0,0001$), une élévation non significative de γGT, et une augmentation hautement significative de la bilirubine totale ($p \leq 0,001$).

La baisse significative de la PAL, suite à l'exposition au DINP peut s'expliquer par :

- Inhibition de la synthèse enzymatique via un effet métabolique ou transcriptionnel, plutôt qu'un effet cytolytique.
- Possibilité d'un stress sur le métabolisme biliaire, entraînant une réduction de la PAL[348].

Au niveau des lots co-traités, PTAE et PTHE, le maintien de taux significativement bas de la PAL induite par le DINP, n'est pas corrigée ni par l'extrait aqueux ni par l'extrait hydro-éthanolique.

Par contre, l'extrait hydro-éthanolique induit une baisse significative de la γGT, ce qui suggère une réduction significative du stress oxydatif induit par le DINP, cela est confirmé dans l'étude de Parvez et al, (2018) ou l'extrait éthanolique a démontré une activité antioxydante plus puissante que l'extrait aqueux en réduisant les marqueurs du stress oxydatifs et normalisant le taux de γGT [196].

Pour la bilirubine totale, le lot PTAE a permis de normaliser sa valeur, bien qu'aucune restauration complète n'ait eu lieu. Le lot PTHE a permis une réduction significative de la bilirubine, signe d'un effet plus marqué sur la capacité de conjugaison et d'excrétion biliaire ; nos constatations concordent avec les travaux de Zeghib et al. (2020) ou l'extrait éthanolique réduit de façon plus significative les valeurs de ces trois paramètres par rapport à l'extrait aqueux [347].

Ainsi, l'extrait hydro-éthanolique présente un effet hépatoprotecteur plus marqué que l'extrait aqueux.

Paramètres biochimiques explorant la fonction rénale :

Les taux sanguins d'urée et de créatinine sont des indicateurs clés de la fonction rénale, reflétant la capacité du rein à filtrer les déchets métaboliques. Une augmentation de ces biomarqueurs est souvent associée à une altération de la filtration glomérulaire et à un stress néphrotoxique [349]. Dans le contexte de l'exposition aux perturbateurs endocriniens tels que les phtalates, ces substances chimiques sont connues pour induire un stress oxydatif et une inflammation tissulaire pouvant conduire à une dysfonction rénale [189].

Les lots traités avec l'extrait aqueux (AE) et l'extrait hydro-éthanolique (HE) seuls n'ont pas induits des modifications significatives des taux d'urée et de créatinine par rapport au lot C, indiquant une absence de néphrotoxicité, cela est confirmée par les travaux de Zeghib et al. (2019) [315].

L'exposition au DINP (PT), a entraîné une élévation très significative de l'urée et une augmentation significative de la créatinine, indiquant une altération de la fonction rénale.

Le co-traitement PTAE a montré une urémie toujours élevée mais une créatinine stabilisée autour du témoin, suggérant une protection partielle par l'extrait aqueux**.**

Le lot PTHE, a montré une baisse non significative de l'urée, et une réduction très significative de la créatinine, indiquant une action néphroprotectrice plus marquée que l'extrait aqueux, vu que la créatinine est un marqueur clé de la filtration glomérulaire.

Ces résultats concordent avec les travaux de Slama et al. (2021) ou une néphrotoxicité induite par une injection de CCL_4 a été réduite, de façon significative, par un pré-traitement de 4 semaines avec l'extrait aqueux *d'Atriplex halimus* à 200 mg/kg/jr, la prise d'extrait a abaissé significativement l'urée urinaire et sanguine ainsi que la créatinine urinaire et sanguine, avec une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes type : catalase ; superoxyde dismutase et glutathion-S-transférase [314].

Nos résultats sont en accords avec des études récentes montrant que les polyphénols sont capables de protéger le rein contre la néphrotoxicité liée au stress oxydatif et à l'inflammation [350].

Bien que les deux extraits soient efficaces, l'extrait hydro-éthanolique (PTHE) présente une réduction de la créatinine plus prononcée, ce qui suggère une efficacité supérieure dans la protection de la fonction glomérulaire.

Exploration histologique :

Histologie thyroïdienne : Les résultats histologiques du lot PT, montrent une désorganisation marquée de la structure thyroïdienne, caractérisée par la présence de nombreuses vésicules kystiques, traduisant une hyperplasie associée à une activité fonctionnelle réduite. Ces altérations concordent avec les observations de Jebara et al. (2022) [188], qui ont décrit des effets similaires des phtalates sur la glande thyroïde.

Dans les lots co-traités (PTAE et PTHE), la persistance de vésicules kystiques, bien que moins prononcée que dans le lot toxique, indique une hyperplasie encore présente mais partiellement

atténuée. Cette évolution traduit un effet protecteur des extraits, nécessitant probablement un temps de traitement plus long pour une récupération complète. Sur le plan histologique, l'extrait HE semble suggérer une tendance vers une meilleure protection que l'extrait AE.

Histologie ovarienne : les résultats histologiques montrent que l'exposition au DINP présente un tableau de souffrance ovarienne qui induit l'accumulation de follicules kystiques, donnant l'apparence du « syndrome des ovaires polykystiques ». Ce profil morphologique est typique après administration de xénobiotiques perturbant l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, et en accord avec les travaux de Jebara et al. (2022) où ils ont observé une augmentation de la prévalence des kystes folliculaires au niveau des ovaires de rattes adultes suite à l'injection d'un phtalate (DEHP) par voie IP durant 21jours consécutives [188].

Au niveau des lot AE et HE, la présence équilibrée de structures folliculaires fonctionnelles**,** confirme que l'extrait aqueux et hydro-éthanolique n'ont pas d'effet délétère manifeste sur le tissu ovarien à la dose étudiée.

Les lots co-traités par les extraits réduisent les lésions induites par le DINP, avec un effet protecteur marqué, bien que la normalisation complète ne soit pas atteinte.

Histologie utérine : Les résultats histologiques montrent que l'administration de l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* n'a induit aucune modification morphologique au niveau de l'utérus, cela indique une bonne tolérance tissulaire sans effet toxique évident à la dose testée.

Cependant l'extrait hydro-éthanolique pourrait exercer une influence plus marquée**,** possiblement liée à une plus forte concentration de composés actifs présents dans l'extrait. Toutefois, l'extrait reste relativement bien toléré.

Par contre, l'aspect histologique du lot exposé au DINP évoque un utérus inactif ou privé de stimulation hormonale (œstrogènes/progestérone), Ce profil morphologique est conforme aux observations de Somasundaram et al. (2017) sur la toxicité utérine du di- (2-ethylhexyl)phtalates testé sur des rattes adultes [351].

Pour les groupes co-traités avec les extraits *d'Atriplex*, une préservation de l'intégrité structurale est observée. Cette tendance, traduit un effet protecteur des extraits vis-à-vis de la toxicité utérine induite par le DINP. Cela peut s'expliquer par l'action anti-inflammatoire, antioxydante et potentiellement modératrice des troubles hormonaux, déjà soulignée dans les analyses biochimiques et hormonaux observées aux niveaux des groupes PTAE et PTHE.

H**istologie hépatique :** les résultats indiquent que le DINP induit une inflammation, une dilation des sinusoïdes et une congestion vasculaire importante**,** cela est confirmé dans l'étude d'Adeyemo et al. (2021) et Ma et al. (2014) [181,189].

Les groupes traités par les extraits aqueux et hydro-éthanoliques *d'Atriplex halimus* L., seuls (AE, HE), présentent une architecture hépatique normale, confirmant que ces extraits sont non hépatotoxiques, ce qui est en accord avec les observations de Slama et al. (2018) et Zeghib et al. (2017)[84,347].

Pour les groupes PTAE et PTHE, ils montrent une atténuation des lésions hépatiques, notamment dans le lot PTHE, où la structure hépatique est presque totalement préservée. Cette activité hépatoprotectrice pourrait être attribuée à la présence de flavonoïdes, acides phénoliques et composés terpéniques dans *Atriplex*, qui sont capables de piéger les radicaux libres, d'inhiber les voies pro-inflammatoires et de stabiliser les membranes hépatocytaires.

Histologie rénale : les résultats démontrent clairement que le DINP induit une néphrotoxicité marquée, caractérisée par des altérations tubulaires, des congestions vasculaires et une désorganisation glomérulaire. Ces observations sont cohérentes avec les données de la littérature décrivant les effets délétères des phtalates sur les reins via un stress oxydatif marqué[189]. En revanche, les groupes traités par les extraits *d'Atriplex halimus* L**.** seuls (AE et HE) ne présentent aucune lésion rénale, confirmant leur innocuité rénale ce qui concorde avec les travaux de Zeghib et al. (2019)[347].

L'association des extraits avec le DINP (PTAE et PTHE) montre une atténuation des lésions histologiques induites par le phtalate. Cette action protectrice peut s'expliquer par la richesse en composés phénoliques anti-oxydants, anti-inflammatoires, et stabilisateur des membranes cellulaires [315]. L'effet plus prononcé de l'extrait hydro-éthanolique pourrait s'expliquer par une meilleure extraction en composés bioactifs dans le mélange hydroalcoolique, notamment les flavonoïdes méthylés et les isoflavones hydrophobes ayant des propriétés cytoprotectrices.

Histologie cérébrale : les résultats indiquent que l'ensemble des lots présente un tissu cérébral dont l'architecture est globalement bien préservée. Les coupes montrent une organisation homogène du parenchyme, une répartition régulière des neurones et un neuropile intact, sans signes de dégénérescence, de vacuolisation, de foyers nécrotiques ou d'infiltrat inflammatoire. tous les lots analysés témoignent d'un état cérébral sain ou peu altéré, ce qui suggère l'absence d'effets neurodégénératifs notables dans les conditions expérimentales appliquées.

CONCLUSION

Conclusion :

L'Algérie de par sa position géographique recouvre une biodiversité exceptionnelle avec une richesse importante en plantes aromatiques et médicinales ; nombreuses d'entre elles sont utilisées dans les remèdes traditionnels mais ne sont pas évaluées scientifiquement.

Le présent travail, une étude ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique, a été mené sur une plante halophyte spontanée des régions steppiques, à savoir l'*Atriplex halimus* L, communément appelée « Gteff ».

L'étude botanique, confirme l'identité de l'espèce, l'*Atriplex halimus* sous-espèce *schweinfurthii* (famille des Amaranthaceae) et met en évidence des adaptations structurelles typiques des espèces halophytes (trichomes vésiculaires, gaines périvasculaires, cristaux d'oxalate de calcium).

L'enquête ethnobotanique menée auprès de la population et des herboristes, révèle que cette espèce occupe une place importante dans la pharmacopée traditionnelle, en particulier pour le traitement des affections endocriniennes (kystes ovariens, thyroïdiens et goitre) et métaboliques (diabète et hypercholestérolémie), tout en soulignant des précautions d'usage, notamment chez les hypertendus.

L'analyse phytochimique des feuilles *d'Atriplex halimus* L. récoltées à M'sila a révélé une remarquable diversité métabolique, regroupant des composés phénoliques, terpénoïdes et alcaloïdiques. Les flavonoïdes, notamment les flavonols méthoxylés et glycosylés, dominent le profil, confirmant l'appartenance chimiotaxonomique de l'espèce au genre *Atriplex*.

Un résultat particulièrement marquant est la mise en évidence d'un flavonol méthoxylé doublement glycosylé inédit et la détection d'isoflavonoïdes rares, suggérant une biosynthèse spécifique liée à des conditions écologiques locales et soulignant l'importance du choix des conditions d'extraction dans la valorisation chimique de l'espèce.

L'optimisation des conditions d'extraction basée sur l'utilisation des plans de criblage définitifs (DSD) a permis d'obtenir des extraits enrichis en polyphénols et en alcaloïdes, avec des valeurs largement supérieures à celles rapportées par la majorité des études antérieures, confirmant l'intérêt d'une optimisation rigoureuse des paramètres opératoires pour améliorer les concentrations des composés bioactifs tout en conservant leurs diversités structurales.

L'évaluation *in silico* des métabolites *d'Atriplex halimus* L. a mis en évidence un double potentiel thérapeutique majeur, associant une activité endocrino-modulatrice (interactions

prédites avec ESR1, ESR2 et CYP19A1) à une action antioxydante et anti-inflammatoire, ce qui appuie l'usage empirique traditionnel attribué à la plante en médecine populaire.

Les prévisions pharmacocinétiques révèlent une biodisponibilité variable selon la structure, et les composés capables de franchir la barrière hémato-encéphalique, pourrait ouvrir la voie à des applications neuroendocriniennes et neuroprotectrices.

L'évaluation *in vitro* a révélé la supériorité de l'extrait hydro-éthanolique optimisé, qui présente une activité antioxydante et anti-inflammatoire plus marquée que l'extrait aqueux, ouvrant la voie à son utilisation comme source naturelle d'agents antioxydants et anti-inflammatoires, à la fois de manière préventive et/ou curative.

L'évaluation *in vivo* menée sur des rats femelles Wistar exposées à un perturbateur endocrinien a mis en évidence un effet protecteur multisystémique des extraits de la plante**.**

Par ailleurs, l'extrait aqueux a contribué à la restauration de l'hypothyroïdie induite, tandis que les deux extraits ont exercé des effets hépatoprotecteurs, antihyperglycémiants, hypocholestérolémiants et une correction de l'hyperœstrogénie.

L'Atriplex halimus L., plante halophyte à vocation pastorale poussant dans les zones steppiques, est un traitement phytothérapeutique prometteur pour différentes maladies, et nécessite une intégration réfléchie dans les politiques de santé et de développement durable.

Parmi les nombreuses perspectives de recherche qui doivent être envisagées :

- Renforcer la préservation du patrimoine ethnobotanique des espèces halophytes locales en élargissant l'enquête à une population plus représentative et en documentant de manière systématique les savoirs traditionnels ;
- Réaliser une analyse structurale approfondie par RMN 1D/2D afin de confirmer la structure et la stéréochimie des composés originaux identifiés dans les extraits de la plante ;
- Compléter les prédictions *in silico* par des études de Docking moléculaire ciblées sur les récepteurs hormonaux (ESR1, ESR2 et CYP19A1) pour distinguer les molécules susceptibles d'être des modulateurs efficaces et spécifiques des voies œstrogéniques et sélectionner les candidats-médicaments les plus performants ;

- Valoriser l'extrait hydro-éthanolique optimisé sous forme d'extrait standardisé, en l'intégrant comme ingrédient actif dans des formulations galéniques destinées à une applications pharmaceutiques ou nutraceutiques.
- Envisager des études cliniques pilotes sur des patients présentant des syndromes métaboliques ou des troubles endocriniens ;
- Mettre en place un programme de conservation et de culture raisonnée afin de préserver la ressource naturelle et le savoir traditionnel associé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques :

[1] Organisation mondiale de la santé. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. 2013.

[2] Aidoud A. Les steppes arides du Nord de l'Afrique. Sci Chang Planetaires 2006.

[3] Belakhder J. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoir populaire. Ibis Press; 1998.

[4] Chikhi I, Allali H, El Amine Dib M, Medjdoub H, Tabti B. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of Atriplex halimus L. (Chenopodiaceae) in streptozotocin–induced diabetic rats. Asian Pac J Trop Dis 2014;4:181–4.

[5] Quezel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. vol. tome 1. Centre national de la recherche scientifique. 1962.

[6] Ozenda P. Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. CNRS Éditions; 2004.

[7] Riadh K, Ksouri WM, Jallali I, Debez A, Magné C, Hiroko I, et al. Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. Crit Rev Biotechnol 2012;32:289–326.

[8] Ferreira MJ, Pinto DCGA, Cunha Â, Silva H. Halophytes as medicinal plants against human infectious diseases. Appl Sci 2022;12:7493.

[9] Benhammou N, Bekkara FA, Kadifkova Panovska T. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of Atriplex halimus. Comptes Rendus Chim 2009;12:1259–66.

[10] Ortiz-Dorda J. Genetic structure of Atriplex halimus populations in the mediterranean basin. Ann Bot 2005;95:827–34.

[11] Boutaoui N, Zaiter L, Benayache F, Benayache S, Cacciagrano F, Cesa S, et al. Atriplex mollis Desf. aerial parts: extraction procedures, secondary metabolites and color analysis. Molecules 2018;23:1962.

[12] Grigore M-N, editor. Handbook of halophytes: from molecules to ecosystems towards biosaline agriculture. Cham: Springer International Publishing; 2021.

[13] Van Zelm E, Zhang Y, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants. Annu Rev Plant Biol 2020;71:403–33.

[14] Djerroudi O, Bissati S, Belkhodja M. Biochemical response of two Atriplex species (Atriplex halimus L. and Atriplex canescens (Pursh) Nutt.) under salt stress conditions. International journal of plant physiology and biochemistry 2011;Vol. 3:163–8.

[15] Dekhinat S, Bensid Z. Analyse de la variabilité spatiale de la salinité des sols dans une palmeraie algérienne (Biskra, Algérie). Sciences & Technologie 2010:pp.9-14.
[16] Arya SS, Devi S, Ram K, Kumar S, Kumar N, Mann A, et al. Halophytes: the plants of therapeutic medicine. Springer Singapore; 2019, p. 271–87.
[17] Sharma R, Wungrampha S, Singh V, Pareek A, Sharma MK. Halophytes as bioenergy crops. Front Plant Sci 2016;7.
[18] Flowers TJ, Colmer TD. Salinity tolerance in halophytes. New Phytol 2008;179:945–63.
[19] Ogburn RM, Edwards EJ. The ecological water-use strategies of succulent plants. Adv. Bot. Res., vol. 55, Elsevier; 2010, p. 179–225.
[20] Cheeseman JM. The evolution of halophytes, glycophytes and crops, and its implications for food security under saline conditions. New Phytol 2015;206:557–70.
[21] Giordano R, Saii Z, Fredsgaard M, Hulkko LSS, Poulsen TBG, Thomsen ME, et al. Pharmacological insights into halophyte bioactive extract action on anti-inflammatory, pain relief and antibiotics-type mechanisms. Molecules 2021;26:3140.
[22] Falleh H, Jalleli I, Ksouri R, Boulaaba M, Guyot S, Magné C, et al. Effect of salt treatment on phenolic compounds and antioxidant activity of two Mesembryanthemum edule provenances. Plant Physiol Biochem 2012;52:1–8.
[23] Marius-Nicu G. A proposal for a new halophytes classification, based on integrative anatomy observations. Muzica Olten Științele Nat Comunicări Științifice 2010;Tome 26:45–50.
[24] Dassanayake M, Larkin JC. Making plants break a sweat: the structure, function, and evolution of plant salt glands. Front Plant Sci 2017;08.
[25] Petropoulos SA, Karkanis A, Martins N, Ferreira ICFR. Halophytic herbs of the Mediterranean basin: An alternative approach to health. Food and Chemical Toxicology. 2018;114:155-169.
[26] Grigore M-N, Ivanescu L, Toma C. Halophytes: an integrative anatomical study. Springer; 2014.
[27] Faustino MV, Faustino MAF, Pinto DCGA. Halophytic grasses, a new source of nutraceuticals? a review on their secondary metabolites and biological activities. Int J Mol Sci 2019;20:1067.

[28] Boestfleisch C, Papenbrock J. Changes in secondary metabolites in the halophytic putative crop species Crithmum maritimum L., Triglochin maritima L. and Halimione portulacoides (L.) Aellen as reaction to mild salinity. PLOS ONE 2017;12:e0176303.
[29] Stanković M, Jakovljević D. Phytochemical diversity of halophytes. In: Grigore M-N, editor. Handb. Halophytes, Cham: Springer International Publishing; 2021, p. 1–26.
[30] Cybulska I, Brudecki G, Alassali A, Thomsen M, Brown J. Phytochemical composition of some common coastal halophytes of the United Arab Emirates. Emir J Food Agric 2014;26:1046.
[31] Cuadra V P, Cambi V. Morphoanatomical functional traits in xerophytic species of a saline environment. Phyton 2014;83:389–96.
[32] Stevens PF. Angiosperm phylogeny website. Missouri Botanical Garden. (accessed October 16, 2022).
[33] Brewer MS. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. Compr Rev Food Sci Food Saf 2011;10:221–47.
[34] Saleh IA, Usman K, Abu-Dieyeh MH. Halophytes as important sources of antioxidants and anti-cholinesterase compounds. In: Grigore M-N, editor. Handb. Halophytes, Cham: Springer International Publishing; 2020, p. 1–22.
[35] Öztürk M, Altay V, Gucel S, Guvensen A. Halophytes in the East Mediterranean – Their medicinal and other economical values. In: Khan MA, Böer B, Öztürk M, Al Abdessalaam TZ, Clüsener-Godt M, Gul B, editors. Sabkha Ecosyst. Vol. IV Cash Crop Halophyte Biodivers. Conserv., vol. 47, Dordrecht: Springer Netherlands; 2014, p. 247–72.
[36] Petropoulos SA, Karkanis A, Martins N, Ferreira ICFR. Halophytic herbs of the Mediterranean bassin: an alternative approach to health. Food Chem Toxicol 2018;114:155–69.
[37] Le Houérou HN. The role of saltbushes (Atriplex spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean basin: a review. Agrofor Syst 1992;18:107–48.
[38] René M. Encyclopédie biologique flore de l'Afrique du nord. vol. VIII. Éditions Lechevalier - Paris; 1962.
[39] Mohammedi Z. Resistance, pharmacology properties and nutritional value of a shrub from arid environments Atriplex halimus. Res J Med Plant 2016;10:10–8.
[40] Fried G. Atriplex halimus L. (Amaranthaceae). J Bot 2015;72:69–71.

[41] Walker DJ, Lutts S, Sánchez-García M, Correal E. Atriplex halimus L.: Its biology and uses. J Arid Environ 2014;100–101:111–21.
[42] Atlas-Sahara. Atriplex halimus. (accessed April 17, 2025).
[43] Xu H, Guo Y, Xia M, Yu J, Chi X, Han Y, et al. An updated phylogeny and adaptive evolution within Amaranthaceae s.l. inferred from multiple phylogenomic datasets. Ecol Evol 2024;14:e70013.
[44] Mabberley DJ. Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classification and uses. 4th ed., completely revised, with some 1400 additional entries. Cambridge: Cambridge university press; 2017.
[45] Botineau M. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris: Éd. Tec & doc-Lavoisier; 2010.
[46] Dupont F, Guignard J-L. Botanique: les familles de plantes. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2012.
[47] Dupont F, Guignard J-L. Botanique: les familles de plantes. 16e éd. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2015.
[48] International Plant Names Index. Atriplex halimus L. (accessed April 19, 2025).
[49] Global Biodiversity Information Facility (GBIF). Atriplex halimus L. (accessed October 19, 2022).
[50] Tela Botanica. eFlore. (accessed October 16, 2022).
[51] Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem (BGBM). Atriplex halimus L. The Euro+Med PlantBase Project. (accessed October 17, 2022).
[52] Nedjimi B et Guit B. Les steppes algeriennes:causes de déséquilibre. Algerian J Arid Environ 2012:12.
[53] Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève (CJBG). African Plant Database. (accessed October 17, 2022).
[54] Nedjraoui D. Evaluation des ressources pastorales des régions steppiques algériennes et définition des indicateurs de dégradation. Cah Options Méditerranéennes 2004:239–43.
[55] Le Houerou HN. An agro-bioclimatic classification of arid and semiarid lands in the isoclimatic mediterranean zones. Arid Land Res Manag 2004;18:301–46.
[56] Récolnat / Muséum national d'histoire naturelle (MNHN). Atriplex halimus. (accessed October 19, 2022).

[57] Garner DM, Mure CM, Yerramsetty P, Berry JO. Kranz anatomy and the C4 pathway. Encycl Life Sci 2016:1–10.
[58] Paul Monteil, M. Anatomie comparée de la feuille des chénopodiacées. Université PARIS., 1906.
[59] Ali B, Tabassum R, Riaz N, Yaqoob A, Khatoon T, Tareen RB, et al. Bioactive triterpenoids from Atriplex lasiantha. J Asian Nat Prod Res 2015;17:843–50.
[60] Emam SS. Bioactive constituents of Atriplex halimus plant. J Nat Prod 2011;4:17.
[61] Dessena L, Mulas M. Mineral composition of Atriplex halimus plant as influenced by genotype and thermal regime. Int J Phytoremediation 2021;23:548–58.
[62] Arbouche F, Arbouche Y. Valeur nutritive de l'Atriplex (Atriplex halimus L.), suivant les stades phénologiques, en région steppique (Algérie). Rech Agron 2013;16.
[63] Medjekal S, Guetouache M. Chemical composition and in vitro rumen biogas production of some perennial plants species. J Anim Plant Sci 2023;33.
[64] Clauser M, Dall'Acqua S, Loi MC, Innocenti G. Phytochemical investigation on Atriplex halimus L. from Sardinia. Nat Prod Res 2013;27:1940–4.
[65] Bouaziz S, Amri M, Taibi N, Zeghir-Bouteldja R, Benkhaled A, Mezioug D, et al. Protoscolicidal activity of Atriplex halimus leaves extract against Echinococcus granulosus protoscoleces. Exp Parasitol 2021;229:108155.
[66] Sehrawat R, Rathee P, Akkol EK, Khatkar S, Lather A, Redhu N, et al. Phenolic acids - versatile natural moiety with numerous biologicalapplications. Curr Top Med Chem 2022;22:1472–84.
[67] Kiriyama Y, Tokumaru H, Sadamoto H, Kobayashi S, Nochi H. Effects of phenolic acids produced from food-derived flavonoids and amino acids by the gut microbiota on health and disease. Molecules 2024;29:5102.
[68] Kabbash A, Shoeib N. Chemical and biological investigation of some secondary metabolites in Atriplex Halimus growing in Egypt. Nat Prod Commun 2012;7:1465–8.
[69] Rachida K, Ahmed AS, Ilyas C, Khadidja B, Imène L, Alain M. Chemical characterization and biological activity assessment of Atriplex halimus essential oil. Braz J Anim Environ Res 2024;7:e74556.
[70] Naboulsi I, El Fakhouri K, Lamzira R, Ramdani C, Bitchagno GTM, Boulamtat R, et al. Insecticidal activities of Atriplex halimus L., Salvia rosmarinus Spenn. and Cuminum cyminum

L. against Dactylopius opuntiae (Cockerell) under laboratory and greenhouse conditions. Insects 2022;13:930.
[71] Tawfik W, Abdel-Mohsen M, Radwan H, Habib A, Yeramian M. Phytochemical and biological investigations of Atriplix semibacatar Br. growing in Egypt. Afr J Tradit Complement Altern Med 2011;8.
[72] Mokhtar M, et al. Ethnobotanical and phytochemical study of the medicinal plant Atriplex Halimus and its importance in the traditional Algerian pharmacopoeia. Fr-Ukr J Chem 2022;10:60–9.
[73] Chaouche TM, Haddouchi F, Abbou F, Aissaoui M, Boudjemai O, Ghellai I, et al. Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of Atriplex halimus from two regions Algeria (El Oued and Tlemcen). GABJ 2021;5:59–67.
[74] Guedri MM, Krir N, Terol CC, Romdhane M, Boulila A, Guetat A. Phytochemical analysis, acetylcholinesterase inhibition, antidiabetic and antioxidant activities of Atriplex halimus L. (Amaranthaceae Juss.). Chem Biodivers 2024;21:e202301941.
[75] Neag MA, Mocan A, Echeverría J, Pop RM, Bocsan CI, Crişan G, et al. Berberine: botanical occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders. Front Pharmacol 2018;9:557.
[76] PubChem. Berberine. Bethesda (MD): National library of medicine (us), national center for biotechnology information. (accessed May 30,2025)..
[77] Berreghıoua A, Ziane L. Phytochemical screening and antibacterial activity of some extracts from Atriplex halimus growing in Algerian sahara. Asian J Dairy Food Res 2024.
[78] Chaouche TM, Haddouchi F, Abbou F, Aissaoui M, Boudjemai O, Ghellai I, et al. Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of Atriplex halimus from two regions Algeria (El Oued and Tlemcen). GABJ 2021;5:59–67.
[79] Ounaissia K, Bennadja S, Aliane L, Djahoudi A. Phytochemical screening and anti-bacterial activity of methanolic extracts of the aerial. J Int Sci Agric Nat 2020;12:26–33.
[80] El-Aasr M, Kabbash A, El-Seoud KAA, Al-Madboly LA, Ikeda T. Antimicrobial and immunomodulatory activities of flavonol glycosides isolated from Atriplex halimus L. Herb. J Pharm Sci 2016;8.
[81] Bounouar E, Missoun F, Amari NO, Belabaci FZ, Belabaci S, Sekkal FZ, et al. Antidiabetic effect of Atriplex halimus long and short term treatment against streptozotocin induced diabetes in rats. An Biol 2022:21–30.

[82] Elbouzidi A, Ouassou H, Aherkou M, Kharchoufa L, Meskali N, Baraich A, et al. LC–MS/MS phytochemical profiling, antioxidant activity, and cytotoxicity of the ethanolic extract of Atriplex halimus L. against breast cancer cell lines: computational studies and experimental validation. Pharmaceuticals 2022;15:1156.
[83] Al-Senosy N, Abou-Eisha A, Ahmad E. In vitro antiproliferation effect of Atriplex halimus L. crude extract on human cell lines by induction of apoptosis and G2/M phase arrest. Egypt Acad J Biol Sci C Physiol Mol Biol 2018;10:115–26.
[84] Slama K, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A, Messarah M. Atriplex halimus aqueous extract abrogates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. Arch Physiol Biochem 2018:1–12.
[85] Nedjimi B, Guit B, Toumi M, Beladel B, Akam A, Daoud Y. Atriplex halimus subsp. schweinfurthii (Chenopodiaceae): description, écologie et utilisations pastorales et thérapeutiques. Fourrag – Publ Agric Spéc 2013:333–8.
[86] Said O, Fulder S, Khalil K, Azaizeh H, Kassis E, Saad B. Maintaining a physiological blood glucose level with 'Glucolevel', a combination of four anti-diabetes plants used in the traditional arab herbal medicine. Evid Based Complement Alternat Med 2008;5:421–8.
[87] Afrokh M, Tahrouch S, ELMehrach K, Fahmi F, Bihi MA, Weber-Ravn H, et al. Ethnobotanical, phytochemical and antioxidant study of fifty aromatic and medicinal plants. Chem Data Collect 2023;43:100984.
[88] Boulanouar B. DPPH free radical scavenging activity of ethanolic extracts of twenty two medicinal species from South Algeria (Laghouat region). Med Anal Chem Int 2017;1.
[89] Kazi Tani C, Dali-Yahia K. Quatre-vingt-quatorze plantes médicinales odonto-stomatologiques d'Algérie. Al Yasmina Rev Bot Électronique Pour Maghreb Sahara 2020;1.
[90] Nefodov O, Pertseva N, Matsanga YI. Pharmacologie du système endocrinien. Acad Med Dnipropetrovsk 2018:95.
[91] Young WF Jr. Glandes endocrines.Troubles hormonaux et métaboliques. MSD Manuals (grand public); 2025 [révisé févr 2025, modifié juill 2025] (accessed May 3, 2025)..
[92] Kirsten D. The thyroid gland: physiology and pathophysiology. Neonatal Netw 2000;19:11–26.
[93] Bessaguet F, Suteau V, Desmoulière A. La glande thyroïde. Actual Pharm 2023;62:53–6.
[94] Stathatos N. Anatomy and physiology of the thyroid gland. In: Luster M, Duntas LH, Wartofsky L, editors. Thyroid Its Dis., Cham: Springer International Publishing; 2019, p. 3–12.

[95] Durand G, Beaudeux J-L. Biochimie médicale: marqueurs actuels et perspectives. 2e éd. revue et augmentée. Paris: Médecine sciences publications-[Lavoisier]; 2011.
[96] Martin C, Riou B, Vallet B. Physiologie humaine appliquée. 2e éd. Montrouge: Éditions Arnette; 2017.
[97] Organisation Mondial de la Santé. Progrès en vue de l'élémination des troubles liés à la carence en iode. 1999.
[98] Mu C, Ming X, Tian Y, Liu Y, Yao M, Ni Y, et al. Mapping global epidemiology of thyroid nodules among general population: A systematic review and meta-analysis. Front Oncol 2022;12:1029926.
[99] Haute Autorité de Santé (HAS). Dysthyroïdies: la HAS publie un socle complet de recommandations. (accessed May 25, 2025).
[100] Chiovato L, Magri F, Carlé A. Hypothyroidism in Context: where we've been and where we're going. Adv Ther 2019;36:47–58.
[101] Lee SY, Pearce EN. Hyperthyroidism: a review. JAMA 2023;330:1472.
[102] Slama R, Bourguignon J-P, Demeneix B, Ivell R, Panzica G, Kortenkamp A, et al. Scientific issues relevant to setting regulatory criteria to identify endocrine-disrupting substances in the European Union. Environ Health Perspect 2016;124:1497–503.
[103] Guarnotta V, Amodei R, Frasca F, Aversa A, Giordano C. Impact of chemical endocrine disruptors and hormone modulators on the endocrine system. Int J Mol Sci 2022;23:5710.
[104] OMS. State of the science of endocrine disrupting chemicals. 2012.
[105] Ahn C, Jeung E-B. Endocrine-disrupting chemicals and disease endpoints. Int J Mol Sci 2023;24:5342.
[106] Thambirajah AA, Wade MG, Verreault J, Buisine N, Alves VA, Langlois VS, et al. Disruption by stealth - interference of endocrine disrupting chemicals on hormonal crosstalk with thyroid axis function in humans and other animals. Environ Res 2022;203:111906.
[107] Liu WJH, editor. Traditional herbal medicine research methods: identification, analysis, bioassay, and pharmaceutical and clinical studies. John Wiley&Sons. Hoboken, N.J: 2011.
[108] Rebbas K, Bounar R. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la région de M'Sila (Algérie). Phytothérapie 2014;12:284–91.
[109] Ministère de l'Intérieur, Algérie. Monographie de la wilaya: M'Sila. (accessed September 14, 2024).

[110] DB-City. Maarif, Chellal, M'Sila, Algérie – Toutes les infos sur les Pays, Régions, Villes et Villages. (accessed September 15, 2024).
[111] Google Inc. Google Maps. (accessed September 14, 2024).
[112] Zedam A, Fenni M. Vascular flora analysis in the Southern part of Chott El Hodna wetland (Algeria). Challenging Issues Environ Earth Sci 2015;7:88–100.
[113] Ladgham A, Zerguine D. Fiche descriptive sur la zone humide Ramses. (accessed April 18, 2025). 2001.
[114] Upton R, editor. American herbal Pharmacopoeia: botanical pharmacognosy, microscopic characterization of botanical medicines. Boca Raton, FL: American Herbal Pharmacopoeia/CRC Press; 2011.
[115] Bruneton J. pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 5ème Ed. Tec & Doc – Lavoisier (Paris); 2016.
[116] Bekbolatova EN, Kurbatova NV, Sakipova ZB, Ibragimova LN, Kabdenova AT, Kukula-Koch W, et al. Macroscopic and microscopic diagnostic features of the potential herbal drug Crataegus almaatensis Pojark Endemic in Kazakhstan. Iran J Pharm Sci 2018;14:39–50.
[117] Egon Stahl. Analyse chromatographique et microscopique des drogues. Paris: Lavoisier. Entreprise Moderne d'Edition; 1970.
[118] Deysson, G. Eléments d'anatomie des plantes vasculaires. Société d'édition d'enseignement supérieur, Paris.; 1965.
[119] Ruzin SE. Plant microtechnique and microscopy. New York Oxford: Oxford University Press; 1999.
[120] Tunón H, Westin A, Ivașcu C. Practicing historical ecology: methods for the collection, analysis and integration of interdisciplinary historical data; Chapter 7 ethnobotany. Swedish University of Agricultural Sciences. 2024.
[121] Taïbi K, Ait Abderrahim L, Helal F, Hadji K. Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria. Saudi Pharm J 2021;29:43–52.
[122] D-Maps. Algérie, carte géographique gratuite, carte muette gratuite, carte vierge gratuite, fond de carte gratuit, formats graphiques courants, frontières, wilayas, noms, blanc. (accessed October 1, 2025).
[123] Ducret G. Approches méthodologiques synthétisées des études d'ethnobotanique quantitative en milieu tropical. Ann Sci Agron 20 2016:20.

[124] Albuquerque UP, Lucena RFP, Monteiro JM, Florentino ATN, Almeida CDFCBR. Evaluating two quantitative ethnobotanical techniques. Ethnobot Res Appl 2006;4:051.
[125] Sukumaran ST, Keerthi. Conservation and sustainable utilization of bioresources. vol. 30. Singapore: Springer Nature Singapore; 2023.
[126] Musa MS, Abdelrasool FE, Elsheikh EA, Mahmoud ALE, Yagi SM. Ethnobotanical study of medicinal plants in the Blue Nile State, South-Eastern Sudan. J Med Plants Res 2011;5:4287–97.
[127] Sulaiman N. Botanical ethnoknowledge index: a new quantitative assessment method for cross-cultural analysis. J Ethnobiol Ethnomedicine 2025;21:20.
[128] Mandal SC, Mandal V, Das AK. Essentials of botanical extraction: principles and applications. Amsterdam; Boston: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier; 2015.
[129] Moldovan ML, Iurian S, Puscas C, Silaghi-Dumitrescu R, Hanganu D, Bogdan C, et al. A design of experiments strategy to enhance the recovery of polyphenolic compounds from Vitis vinifera by-products through heat reflux extraction. Biomolecules 2019;9:529.
[130] Jones B. A Class of three-level designs for definitive screening in the presence of second-order effects. J Qual Technol 2011;43:1.
[131] Phoa FKH, Lin DKJ. A systematic approach for the construction of definitive screening designs. Stat Sin 2015.
[132] Bégin D, Couture C, Gérin M, Debia M. Solvants verts: fondements, santé, sécurité, environnement et substitution. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail; 2020.
[133] Institut national de recherche et de sécurité. Fiche toxicologique no 48. Ethanol: base de données. Fiches toxicologiques. INRS; 2019.
[134] Institut national de recherche et de sécurité. Fiche toxicologique no 5. Méthanol. Base de données. Fiches Toxicologiques. INRS; 2018.
[135] Boizot N, Charpentier J-P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah Tech L'INRA Numéro Spéc Obs Éval 2006:79–82.
[136] Hamzat T Adejoke, Hitler Louis, Apebende G. A review on classes, extraction, purification and pharmaceutical importance of plants alkaloid. J Med Chem Sci 2019;2:130–9.
[137] Yubin J, Miao Y, Bing W, Yao Z. The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. J Chem Pharm Res 2014;6:338–45.

[138] Sarraf M, Beig-babaei A, Naji-Tabasi S. Optimizing extraction of berberine and antioxidant compounds from barberry by maceration and pulsed electric field-assisted methods. J Berry Res 2021;11:133–49.
[139] Houghton PJ, Raman A. Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. 1ère édition. Boston, MA: Springer US; 1998.
[140] Chukwuebuka E, Chinenye Ifemeje J, Chidi Udedi S, Kumar S, Vikas Kurhekar J. Phytochemistry (3 volumes). Oakville, Ont: Apple academic press; 2019.
[141] Prashant T, Blimesh K, Mandeep. Phytochemical screening and extraction: a review. Int Pharm Sci Également Cité Comme Int Pharm Sci 2011;Vol. 1.
[142] Azwanida N N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med Aromat Plants 2015;04:196.
[143] Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Extraction of phenolic compounds: a review. Curr Res Food Sci 2021;4:200–14.
[144] Grenand P, Moretti C, Jacquemin H. Pharmacopées traditionnelles en Guyane: créoles, palikur, wayãpi. Paris: Editions de l'ORSTOM; 1987.
[145] Mohanasundari L, S. Suja. Qualitative phytochemical screeing of rhizomes on Alpinia calcarata and Alpinia speciosa. J Pharmacogn Phytochem 2015:53–6.
[146] Vercauteren, J. Plan. Formules et illustrations du cours de pharmacognosie 2018.
[147] Evans W C. Trease and evans pharmacognosy. 16e édition. Édimbourg & New York: Saunders Ltd (Elsevier); 2009.
[148] Khade OS, K S, Sonkar RM, Gade PS, Bhatt P. Plant secondary metabolites: extraction, screening, analysis and their bioactivity. Int J Herb Med 2023;11:01–17.
[149] Turatbekova A, Babamuradova L, Tasheva U, Saparbaeva N, Saibnazarova G, Turayeva M, et al. A brief review on biological and chemical activities of flavonoids in plants. E3S Web Conf 2023;434:03026.
[150] Banu KS, Cathrine DL. General techniques involved in phytochemical analysis. Int J Adv Res Chem Sci 2015;2:25–32.
[151] Radhia A, Hanen N, Abdelkarim BA, Mohamed N. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of Erodium glaucophyllum (L.) L'Hérit. J Biomed Sci 2018;7.
[152] Kofler L. Die Saponine. Vienna: Springer; 2013.
[153] Biren A, Kalia A N. Textbook of pharmacognosy and phytochemistry. 2e édition. Oxford and IBH Publishers; 2019.

[154] Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. Afr J Biotechnol 2005;4:685–8.
[155] Selma N, Ghania T, Zohra KF, Hamida M, Henni C. Screening phytochimique, essais in vitro de cytotoxicité, et antileishmanien de l'extrait éthanolique de feuilles 'EE-F' de Cestrum parqui L'Hérit. Agrobiologia 2017;7:574–88.
[156] Zhou N, Liu D, Bao X. A Validated liquid chromatographic method for berberine analysis in tissue and application. Int J Anal Chem 2020;2020:1–7.
[157] Blond A, Boutefnouchet S, Cachet X, Cottet K, Genta-Jouve G, Grougnet R, et al. Guide de travaux pratiques — 3e année (manuel interne). Université Paris Descartes,: 2013.
[158] Ilmi HM, Elya B, Handayani R. Association between total phenol and flavonoid contents in Artocarpus heterophyllus (jackfruit) bark and leaf extracts and lipoxygenase inhibition. Int J Appl Pharm 2020:252–6.
[159] Akpo J-MK, Sangare-Oumar MM, Sacramento IT, Issotina AZ, Guinnin FF, Houngbeme A. Analyse phytochimique des extraits éthanoliques de la variété blanche d'Hibiscus sabdariffa Linn (Malvaceae) et évaluation de toxicité aiguë par voie orale chez des rats Wistar. Int J Biol Chem Sci 2024;17:2909–24.
[160] Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) hulls and flour. J Ethnopharmacol 2000;72:35–42.
[161] Broadhurst RB, Jones WT. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. J Sci Food Agric 1978;29:788–94.
[162] Julkunen-Tiitto R. Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. J Agric Food Chem 1985;33:213–7.
[163] Joshi H, Kanaki N. Quantitative analysis of berberine in an ayurvedic formulation-Rasayana Churna by UV spectrophotometry. J Pharm Sci Bio-Sci Res 2013;3:32–4.
[164] Hongbin H, Guigui Z, Yuquan Z. Reverse screening methods to search for the protein targets of chemopreventive compounds. Front Chem 2018.
[165] Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol 2011;48:412–22.
[166] Athamena S, Chalghem I, Kassah-Laouar A, Laroui S. Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de Cuminum cyminum L. Leban Sci J 2010;11.
[167] Gulcin İ, Alwasel SH. DPPH radical scavenging assay. Processes 2023;11:2248.

[168] de Menezes BB, Frescura LM, Duarte R, Villetti MA, da Rosa MB. A critical examination of the DPPH method: mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV–Vis spectroscopy. Anal Chim Acta 2021;1157:338398.
[169] Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J Sci Food Agric 1998;76:270–6.
[170] Chaouche TM, Haddouchi F, Ksouri R, Atik-Bekkara F. Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. J Chin Med Assoc 2014;77:302–7.
[171] MT Benmoussa, RA Cherif, S Lekhal, Y Hadef. Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de Brocchia cinerea VIS de l'Algérie (Sud-Est). Algerian journal of pharmacy.Vol. 04 Num. 01 (2022) 2602–975X.
[172] Bentabet N, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredolia aretioides de la région de Béchar en Algérie. Phytothérapie 2014;12:364–71.
[173] Dieng SIM, Fall AD, Diatta-Badji K, Sarr A, Sene M, Sene M, et al. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de Piliostigma thonningii Schumach. Int J Biol Chem Sci 2017;11:768.
[174] Malino AP, Kepel BJ, Budiarso FDH, Fatimawali F, Manampiring AE, Bodhi W. In vitro test of antioxidant activity of leilem leaf ethanol extract (Clerodendrum minahassae) using DPPH and FRAP Methods. Heca J Appl Sci 2024;2:27–34.
[175] Adekola MB, Areola JO, Fagbohun OF, Asaolu FT, Ogundepo GE, Fajobi AO, et al. In-vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol stem-bark extract of Blighia sapida K.D. Koenig. J Pharm Anal 2022;12:350–4.
[176] Gupta G, Memon AG, Pandey B, Khan MS, Iqbal MS, Srivastava JK. Colchicine induced mutation in Nigella sativa plant for the assessment of morpho-physiological and biochemical parameter vis-a-vis in vitro anti-inflammatory activity. Open Biotechnol J 2021;15:173–82.
[177] Zaghloul E, Handousa H, Singab ANB, Elmazar MM, Ayoub IM, Swilam N. Phytoecdysteroids and anabolic effect of Atriplex dimorphostegia: UPLC-PDA-MS/MS profiling, in silico and in vivo models. Plantssection Front Chem – Plants Édité Par MDPI 2023;12:206.
[178] Alam MS, Maowa Z, Hasan MN. Phthalates toxicity in vivo to rats, mice, birds, and fish: a thematic scoping review. Heliyon 2025;11:e41277.

[179] Chen J, Yang S, Ma B, Wang J, Chen J. Di-isononyl phthalate induces apoptosis and autophagy of mouse ovarian granulosa cells via oxidative stress. Ecotoxicol Environ Saf 2022;242:113898.
[180] Sedha S, Lee H, Singh S, Kumar S, Jain S, Ahmad A, et al. Reproductive toxic potential of phthalate compounds – State of art review. Pharmacol Res 2021;167:105536.
[181] Adeyemo OA, Ore A, Ajisafe EO. The protective effect of piperine on oxidative stress and hepatic damage induced by diisononyl phthalate in rat. Egypt J Basic Appl Sci 2021;8:293–301.
[182] Yang S, Arcanjo RB, Nowak RA. The effects of the phthalate DINP on reproduction. Biol Reprod 2021;104:305–16.
[183] PubChem. Diisononyl phthalate. (accessed March 16, 2025).
[184] Li WC, Chow CF. Adverse child health impacts resulting from food adulterations in the Greater China region. J Sci Food Agric 2017;97:3897–916.
[185] Godoi FGA, Forner-Piquer I, Randazzo B, Habibi HR, Lo Nostro FL, Moreira RG, et al. Effects of di-isononyl phthalate (DINP) on follicular atresia in zebrafish ovary. Front Endocrinol 2021;12:677853.
[186] Plichta V, Völkel W, Fembacher L, Wöckner M, Nowak D, Fromme H. The oral bioavailability of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP), di-isononyl phthalate (DINP) and di-(isononyl)-cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH®) in house dust. Toxicol Lett 2022;355:82–7.
[187] Al Shoyaib A, Archie SR, Karamyan VT. Intraperitoneal route of drug administration: should it be used in experimental animal studies?. Pharm Res 2020;37:12.
[188] Jebara A, Beltifa A, Di Bella G, Mabrouk L, Ben Mansour H. Endocrine-disruptor endpoints in the ovary and thyroid of adult female rats exposed to realistic doses of di-(2-ethylhexyl) phthalate. J Water Health 2022;20:1256–67.
[189] Ma P. Oral exposure of Kunming mice to diisononyl phthalate induces hepatic and renal tissue injury through the accumulation of ROS. Protective effect of melatonin. Food Chem Toxicol 2014.
[190] European Union risk assessment report. 1,2-benzenedicarboxylic acid, di-C8-10-branched alkyl esters, C9-rich and di-'isononyl' phthalate (DINP). Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities: 2003.

[191] Lea IA, Buerger AN, Feifarek D, Mihalchik A, Heintz MM, Haws LC, et al. Evaluation of the endocrine disrupting potential of di-isononyl phthalate. Curr Res Toxicol 2025;8:100220.
[192] Institut national de recherche et de sécurité (INRS), Base de données Fiches Toxicologiques. Fiche toxicologique n° 245 – Phtalate de di-isononyle (DINP). 2017.
[193] McGrath JC, McLachlan EM, Zeller R. Transparency in research involving animals: the basel declaration and new principles for reporting research in BJP manuscripts. Br J Pharmacol 2015;172:2427–32.
[194] Yousaf B, Amina, Liu G, Wang R, Qadir A, Ali MU, et al. Bisphenol A exposure and healing effects of Adiantum capillus-veneris L. plant extract (APE) in bisphenol A-induced reproductive toxicity in albino rats. Environ Sci Pollut Res 2016;23:11645–57.
[195] Quignot N, Arnaud M, Robidel F, Lecomte A, Tournier M, Cren-Olivé C, et al. Characterization of endocrine-disrupting chemicals based on hormonal balance disruption in male and female adult rats. Reprod Toxicol 2012;33:339–52.
[196] Parvez M, Arbab A, Al-Dosari M, Al-Rehaily A, Alam P, Ibrahim K, et al. Protective effect of Atriplex suberecta extract against oxidative and apoptotic hepatotoxicty. Exp Ther Med 2018;15:3883–91.
[197] Chiang C, Lewis LR, Borkowski G, Flaws JA. Late-life consequences of short-term exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate and diisononyl phthalate during adulthood in female mice. Reprod Toxicol 2020;93:28–42.
[198] Dong X, Dong J, Zhao Y, Guo J, Wang Z, Liu M, et al. Effects of long-term in vivo exposure to di-2-ethylhexylphthalate on thyroid hormones and the TSH/TSHR signaling pathways in Wistar rats. Int J Environ Res Public Health 2017;14:44.
[199] World Health Organization. ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics. (accessed May 13, 2025).
[200] Elshamy AI, Mohamed TA, Suenaga M, Noji M, Umeyama A, Efferth T, et al. New phenolics, cytotoxicity and chemosystematic significance of Atriplex semibaccata. Phytochem Lett 2019;34:74–8.
[201] Mahi Z, Dedaldechamp F, Belkhodja M. Anatomical features of Atriplex halimus L. to saline environments. Nternational J Sci Res Sci Technol 2015;1:69–76.
[202] Ounaissia K, Ailane L, Laredj H, Bennadja S, Smati D. Anatomical study of Atriplex halimus L. (Guettaf) growing under the climatic conditions of Biskra - Algeria. Int J Innov Approaches Agric Res 2019;3:698–705.

[203] Mozafar A, Goodin JR. Vesiculated hairs: a mechanism for salt tolerance in Atriplex halimus L. Plant Physiol 1970;45:62–5.
[204] Da Costa FV, Guimarães MFM, Messias MCTB. Gender differences in traditional knowledge of useful plants in a Brazilian community. PLOS ONE 2021;16:e0253820.
[205] Amjad MS, Qaeem MF, Ahmad I, Khan SU, Chaudhari SK, Zahid Malik N, et al. Descriptive study of plant resources in the context of the ethnomedicinal relevance of indigenous flora: a case study from Toli Peer National Park, Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. PLOS ONE 2017;12:e0171896.
[206] Kefifa A, Saidi A, Hachem K, Mehalhal O. An ethnobotanical survey and quantitative study of indigenous medicinal plants used in the Algerian semi-arid region. Phytothérapie 2020;18:204–19.
[207] Farah R, Mahfoud HM, Mohamed DOH, Amoura, Roukia H, Naima H, et al. Ethnobotanical study of some medicinal plants from Hoggar, Algeria. J Med Plants Res 2015;9:820–7.
[208] Baziz K, Maougal RT, Amroune A. An ethnobotanical survey of spontaneous plants used in traditional medicine in the region of Aures, Algeria. Eur J Ecol 2020;6.
[209] Lahsissene H, Kahouadji A. Usages thérapeutiques traditionnels des plantes médicinales dans le Maroc occidental: cas de la région de Zaër. Phytothérapie 2010;8:210–7.
[210] Lakhdari W, Dehliz A, Acheuk F,, Mlik R,. Ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the region of Oued Righ (Algerian Sahara). J Med Plants Stud 2016: 204-211.
[211] Nazim B, AdiL S, YassiNe M, Ismail B, Matmour D. Herbal remedies used for the treatment of infertility in females by traditional healers in the Northwest of Algeria. Curr Perspect Med Aromat Plants CUPMAP 2023.
[212] Behaz ZF, Allache FD, Mebrek N, Belhadj A. Inventorization of ethnobotanical use of some medicinal halophytes plants in the Algerian arid zone (Biskra). J Pharm Pharmacogn Res 2024;12:1143–55.
[213] Bahassan A, Zidane L, El Yacoubi H, Rochdi A. Ethnobotanique et taxonomie des plantes médicinales utilisées pour le traitement des pathologies du système digestif à Hadramaout (Yémen). Phytothérapie 2014;12:399–416.
[214] Raynaud J, Blanchet J-M. Prescription et conseil en phytothérapie. 1re édition. Tec & Doc – Éditions Médicales Internationales; 2005.

[215] Lado L. Le pluralisme médical en Afrique: colloque international de Yaoundé, 3-5 février 2010: hommage à Éric de Rosny. Karthala & Presses de l'UCAC (Université catholique d'Afrique centrale); 2011.
[216] Bost I. Le médecin, le pharmacien et l'herboriste: la perception de la biomédecine par les utilisateurs français de l'herboristerie, des années 1970 à nos jours. Debater Eur 2016.
[217] Boudjelal A, Henchiri C, Sari M, Sarri D, Hendel N, Benkhaled A, et al. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. J Ethnopharmacol 2013;148:395–402.
[218] Souilah N, Bendif H, Benaradj A, Belaid A, Mekious S. Ethnobotanical study of antihemorrhagic plants in the Skikda region (North East of Algeria). J Bioresour Manag 2023;10.
[219] Hadjadj S, Bayoussef Z, Hadj-Khelil AOE, Beggat H, Boukaka Y, Khaldi IA, et al. Ethnobotanical study and phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (area of Ouargla). J Med Plants Res 2015;9:1049–59.
[220] Miara MD, Bendif H, Ait Hammou M, Teixidor-Toneu I. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by nomadic peoples in the Algerian steppe. J Ethnopharmacol 2018;219:248–56.
[221] Moussa H, Dahmoune F, Mahdjoub MM, Kadri N, Remini H. Definitive screening design and I-optimal design for optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content and antioxidant capacity from Salvia officinalis L. leaves. Sustain Chem Pharm 2022;29:100820.
[222] Sik B, Ajtony Z, Lakatos E, Székelyhidi R. The effects of extraction conditions on the antioxidant activities, total polyphenol and monomer anthocyanin contents of six edible fruits growing wild in Hungary. Heliyon 2022;8:e12048.
[223] Brglez Mojzer E, Knez Hrnčič M, Škerget M, Knez Ž, Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. Molecules 2016;21:901.
[224] Bonnaillie C, Salacs M, Vassiliova E, Saykova I. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (Arachis hypogaea L.) 2012;vol 7:35–45.
[225] El Adnany EM, Elhadiri N, Mourjane A, Ouhammou M, Hidar N, Jaouad A, et al. Impact and optimization of the conditions of extraction of phenolic compounds and antioxidant activity

of olive leaves (Moroccan picholine) using response surface methodology. Separations 2023;10:326.
[226] Caldas TW, Mazza KEL, Teles ASC, Mattos GN, Brígida AIS, Conte-Junior CA, et al. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. Ind Crops Prod 2018;111:86–91.
[227] Teng H, Choi Y. Optimum extraction of bioactive alkaloid compounds from rhizome coptidis (Coptis Chinensis Franch.) using response surface methodology. Solvent Extr Res Dev Jpn 2013;20:91–104.
[228] Nguyen KV, Le NT, Dang VTT, Koshovyi O, Raal A, Nguyen HT. Alkaloid extraction from Coptis chinensis Franch. using ultrasound-assisted aqueous solutions of surfactants, organic acids, deep eutectic solvents, and supramolecular deep eutectic solvents. Molecules 2025;30:1418.
[229] Gattouche S, Zenkhri L, Belfar ML, Tabchouche A. Phytochemical Screening, anti-bacterial and anti-oxidant activities of some aerial parts extracts in Atriplex halimus L., from Ouargla (Algeria). Asian J Res Chem 2020;13:365–72.
[230] Roubi M, Dalli M, Azizi S, Gseyra N. Atriplex halimus: phytochemical insights, traditional applications, and pharmacological promises. Chem Biodivers 2025;22:e202402171.
[231] Vitiello M, Vidotto F, Camangi F, Donadio G, Nocera R, De Tommasi N, et al. Antioxidant flavonol glycosides from the aerial parts of Atriplex halimus L. Phytochemistry 2025;238:114559.
[232] Awaad AS, Maitland DJ, Donia AERM, Alqasoumi SI, Soliman GA. Novel flavonoids with antioxidant activity from a Chenopodiaceous plant. Pharm Biol 2012;50:99–104.
[233] Ren Y, Wang Z, Wu C, Dong H, Gan C, Fan L, et al. Ultrahigh-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of 10 alkaloids in beagle plasma after the oral administration of the three Coptidis rhizoma extracts. J Ethnopharmacol 2019;239:111896.
[234] Adegbanke OR, Bada RT. Comparative Analysis of oil extraction from clove and ginger using maceration and soxhlet methods: physicochemical properties and quality assessment. IPS J Nutr Food Sci 2025;4:10–9.
[235] Yoon B-H, Truong V-L, Jeong W-S. Phytosterols: Extraction methods, analytical techniques, and biological activity. Molecules 2025;30:2488.

[236] Asilbekova DT, Tursunkhodzhaeva FM, Gazizov FYu. Lipids from Atriplex dimorphostegia leaves. Chem Nat Compd 2008;44:764–6.
[237] Blicharski T, Oniszczuk A. Extraction Methods for the isolation of isoflavonoids from plant material. Open Chem 2017;15:34–45.
[238] Cioanca O, Lungu I-I, Mita-Baciu I, Robu S, Burlec AF, Hancianu M, et al. Extraction and Purification of catechins from tea leaves: an overview of methods, advantages, and disadvantages. Separations 2024;11:171.
[239] Dirar AI, Alsaadi DHM, Wada M, Mohamed MA, Watanabe T, Devkota HP. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. South Afr J Bot 2019;120:261–7.
[240] Mayo B, Vázquez L, Flórez AB. Equol: A bacterial metabolite from the daidzein isoflavone and its presumed beneficial health effects. Nutrients 2019;11:2231.
[241] Ruiz De La Bastida A, Langa S, Curiel JA, Peirotén Á, Landete JM. Effect of fermented soy beverage on equol production by fecal microbiota. Foods 2024;13:2758.
[242] Montaser O, El-Aasr M, Tawfik HO, Meshrif WS, Elbrense H. Drosophila melanogaster as a model organism for diabetes II treatment by the ethyl acetate fraction of Atriplex halimus L. J Exp Zool Part Ecol Integr Physiol 2024;341:702–16.
[243] Pradhan N, Gavali J, Waghmare N. WHO (World Health Organization) Guidelines for standardization of herbal drugs. Int Ayurvedic Med J 2015;3:2238–43.
[244] Abu-Zanat M, Al-Hassanat F, Alawi M, Ruyle G. Mineral assessment in Atriplex halimus L. and Atriplex nummularia L. in the arid region of Jordan. Afr J Range Forage Sci 2003;20:247–51.
[245] Andueza D, Muñoz F, Delgado I, Correal E. Intraspecific variation in Atriplex halimus: chemical composition of edible biomass. Options Méditerranéennes Sér A 2005:377–81.
[246] A.S Ould Kaddour, R Kouadria, M Bouzouina,, B Lotmani. Phytochemical identification and antioxidant activities of wild Algerian plant Atriplex halimus L. 2024: 31(6):1494-1506.
[247] Yahia M, Benhouda A, Takellalet K. Anti-inflammatory and hemostatic activities of methanolic extract from Atriplex halimus leaves collected in East of Algeria. Arab J Med Aromat Plants AJMAP 2023;9:11.
[248] Walker DJ, Lutts S. The tolerance of Atriplex halimus L. to environmental stresses. Emir J Food Agric 2014;26:1081–90.

[249] Ebrahimi P, Bayram I, Mihaylova D, Lante A. A strategy to minimize the chlorophyll content in the phenolic extract of sugar beet leaves: can this extract work as a natural antioxidant in vegetable oils?. Food Bioprocess Technol 2025;18:2493–506.
[250] Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. J Med Plants Res 2010;4:104–11.
[251] Boussoussa H, Hamia C, Djeridane A, Boudjeniba M, Yousfi M. Effect of different solvent polarity on extraction of phenolic compounds from algerian Rhanterium adpressum flowers and their antimicrobial and antioxidant activities. Curr Chem Biol 2014;8:43–50.
[252] Rodríguez De Luna SL, Ramírez-Garza RE, Serna Saldívar SO. Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties. Sci World J 2020;2020:1–38.
[253] Filardi T, Townsend KL, Lappano R, Caprio M. Editorial: Estrogen receptors in endocrine disorders. Front Endocrinol 2023;14.
[254] Estrogen hormone biology. Curr Top Dev Biol 2017;125:109–46.
[255] Tang Z-R, Zhang R, Lian Z-X, Deng S-L, Yu K. Estrogen-receptor expression and function in female reproductive disease. Cells 2019;8:1123.
[256] Santin AP, Furlanetto TW. Role of estrogen in thyroid function and growth regulation. J Thyroid Res 2011;2011:875125.
[257] Zhao Q, Han B, Wang L, Wu J, Wang S, Ren Z, et al. AKR1B1-dependent fructose metabolism enhances malignancy of cancer cells. Cell Death Differ 2024;31:1611–24.
[258] Dufour A, Overall CM. Missing the target: matrix metalloproteinase antitargets in inflammation and cancer. Trends Pharmacol Sci 2013;34:233–42.
[259] Lee S, Toft NJ, Axelsen TV, Espejo MS, Pedersen TM, Mele M, et al. Carbonic anhydrases reduce the acidity of the tumor microenvironment, promote immune infiltration, decelerate tumor growth, and improve survival in ErbB2/HER2-enriched breast cancer. Breast Cancer Res 2023;25:46.
[260] Kretzschmar G, Zierau O, Wober J, Tischer S, Metz P, Vollmer G. Prenylation has a compound specific effect on the estrogenicity of naringenin and genistein. J Steroid Biochem Mol Biol 2010;118:1–6.
[261] Jackson RL, Greiwe JS, Schwen RJ. Emerging evidence of the health benefits of S-equol, an estrogen receptor β agonist. Nutr Rev 2011;69:432–48.

[262] Patisaul HB, Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. Front Neuroendocrinol 2010;31:400–19.
[263] Chen X, Zheng L, Zhang B, Deng Z, Li H. Synergistic protection of quercetin and lycopene against oxidative stress via SIRT1-Nox4-ROS axis in HUVEC cells. Curr Res Food Sci 2022;5:1985–93.
[264] Baranwal A, Aggarwal P, Rai A, Kumar N. Pharmacological actions and underlying mechanisms of catechin: a review. Mini-Rev Med Chem 2022;22:821–33.
[265] Mvondo MA, Njamen D, Tanee Fomum S, Wandji J. Effects of alpinumisoflavone and abyssinone V-4′-methyl ether derived from Erythrina lysistemon (fabaceae) on the genital tract of ovariectomized female wistar rat. Phytother Res 2012;26:1029–36.
[266] Ateba SB, Mvondo MA, Djiogue S, Zingué S, Krenn L, Njamen D. A pharmacological overview of alpinumisoflavone, a natural prenylated isoflavonoid. Front Pharmacol 2019;10:952.
[267] Kiyama R. Estrogenic flavonoids and their molecular mechanisms of action. J Nutr Biochem 2023;114:109250.
[268] Jafari Khorchani M, Zal F, Neisy A. The phytoestrogen, quercetin, in serum, uterus and ovary as a potential treatment for dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovary syndrome in the rat. Reprod Fertil Dev 2020;32:313.
[269] Zhao Y, Klionsky DJ, Wang X, Huang Q, Deng Z, Xiang J. The estrogen–autophagy axis: insights into cytoprotection and therapeutic potential in cancer and infection. Int J Mol Sci 2024;25:12576.
[270] Supuran CT. Emerging role of carbonic anhydrase inhibitors. Clin Sci 2021;135:1233–49.
[271] Seth R, Kushwaha S, Luqman S, Meena A. Flavonoids as prospective aromatase inhibitors in breast cancer prevention/ therapy. Curr Mol Pharmacol 2021;14:1112–24.
[272] Goodarzi MO, Shah NA, Antoine HJ, Pall M, Guo X, Azziz R. Variants in the 5α-reductase Type 1 and Type 2 genes are associated with polycystic ovary syndrome and the severity of hirsutism in affected women. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:4085–91.
[273] Gupta JK. The Role of Aldose reductase in polyol pathway: an emerging pharmacological target in diabetic complications and associated morbidities. Curr Pharm Biotechnol 2024;25:1073–81.

[274] Patel SS, Raghuwanshi R, Masood M, Acharya A, Jain SK. Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity. Rev Neurosci 2018;29:491–529.
[275] Gyimesi G, Pujol-Giménez J, Kanai Y, Hediger MA. Sodium-coupled glucose transport, the SLC5 family, and therapeutically relevant inhibitors: from molecular discovery to clinical application. Pflüg Arch - Eur J Physiol 2020;472:1177–206.
[276] Croft M, Duan W, Choi H, Eun S-Y, Madireddi S, Mehta A. TNF superfamily in inflammatory disease: translating basic insights. Trends Immunol 2012;33:144–52.
[277] Liao W, Lin J-X, Leonard WJ. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. Curr Opin Immunol 2011;23:598–604.
[278] Fan D, Liu L, Wu Z, Cao M. Combating neurodegenerative diseases with the plant alkaloid berberine: molecular mechanisms and therapeutic potential. Curr Neuropharmacol 2019;17:563–79.
[279] Bernini R, Crisante F, Ginnasi MC. A convenient and safe O-methylation of flavonoids with dimethyl carbonate (DMC). Molecules 2011;16:1418–25.
[280] Morito K, Hirose T, Kinjo J, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T, et al. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta. Biol Pharm Bull 2001;24:351–6.
[281] Garritano S, Pinto B, Giachi I, Pistelli L, Reali D. Assessment of estrogenic activity of flavonoids from Mediterranean plants using an in vitro short-term test. Phytomedicine 2005;12:143–7.
[282] Hillerns PI, Wink M. Binding of flavonoids from Sophora flavescens to the rat uterine estrogen receptor. Planta Med 2005;71:1065–8.
[283] Fatima A, Khan MS, Ahmad MdW. Therapeutic potential of equol: a comprehensive review. Curr Pharm Des 2020;26:5837–43.
[284] Cho HW, Gim HJ, Li H, Subedi L, Kim SY, Ryu J-H, et al. Structure–activity relationship of phytoestrogen analogs as ERα/β agonists with neuroprotective activities. Chem Pharm Bull (Tokyo) 2021;69:99–105.
[285] Daina A, Michielin O, Zoete V. Swiss ADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep 2017;7.

[286] Naeem A, Ming Y, Pengyi H, Jie KY, Yali L, Haiyan Z, et al. The fate of flavonoids after oral administration: a comprehensive overview of its bioavailability. Crit Rev Food Sci Nutr 2022;62:6169–86.
[287] Dewanjee S, Dua T, Bhattacharjee N, Das A, Gangopadhyay M, Khanra R, et al. Natural products as alternative choices for P-glycoprotein (P-gp) inhibition. Molecules 2017;22:871.
[288] Guengerich FP. Roles of cytochrome P450 enzymes in pharmacology and toxicology: past, present, and future. Adv Pharmacol 2022;95:1–47.
[289] Singh N, Sharma B. Toxicological effects of berberine and sanguinarine. Front Mol Biosci 2018;5.
[290] Kamrani Rad SZ, Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Toxicology effects of Berberis vulgaris (barberry) and its active constituent, berberine: a review. Iran J Basic Med Sci 2017;20.
[291] Priest B, Bell IM, Garcia M. Role of hERG potassium channel assays in drug development. Channels 2008;2:87–93.
[292] Khan J, Deb PK, Priya S, Medina KD, Devi R, Walode SG, et al. Dietary flavonoids: cardioprotective potential with antioxidant effects and their pharmacokinetic, toxicological and therapeutic concerns. Molecules 2021;26:4021.
[293] Benmarce M, Elissondo MC, Laatamna A, Haif A. Comparative study of the anthelmintic activity of ethanolic and aqueous extracts of Atriplex halimus, the anti-echinococcal plant used in Algeria. Vet Parasitol Reg Stud Rep 2024;54:101094.
[294] Roubi M, Elbouzidi A, Dalli M, Azizi S, Aherkou M, Taibi M, et al. Phytochemical, antioxidant, and anticancer assessments of Atriplex halimus extracts: in silico and in vitro studies. Sci Afr 2023;22:e01959.
[295] Saleem M, Durani AI, Asari A, Ahmed M, Ahmad M, Yousaf N, et al. Investigation of antioxidant and antibacterial effects of citrus fruits peels extracts using different extracting agents: phytochemical analysis with in silico studies. Heliyon 2023;9:e15433.
[296] Tumilaar SG, Hardianto A, Dohi H, Kurnia D. A comprehensive review of free radicals, oxidative stress, and antioxidants: overview, clinical applications, global perspectives, future directions, and mechanisms of antioxidant activity of flavonoid compounds. J Chem 2024;2024:5594386.
[297] Parcheta M, Świsłocka R, Orzechowska S, Akimowicz M, Choińska R, Lewandowski W. Recent developments in effective antioxidants: the structure and antioxidant properties. Materials 2021;14:1984.

[298] Galanakis CM. Polyphenols: properties, recovery, and applications. 1ère édition. Woodhead Publishing (Elsevier); 2018.
[299] Santos CMM, Silva AMS. The antioxidant activity of prenylflavonoids. Molecules 2020;25:696.
[300] Promden W, Monthakantirat O, Umehara K, Noguchi H, De-Eknamkul W. Structure and antioxidant activity relationships of isoflavonoids from Dalbergia parviflora. Molecules 2014;19:2226–37.
[301] Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. Sci Rep 2020;10.
[302] Urbaniak A, Kujawski J, Czaja K, Szelag M. Antioxidant properties of several caffeic acid derivatives: a theoretical study. Comptes Rendus Chim 2017;20:1072–82.
[303] Son S, Lewis BA. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure−activity relationship. J Agric Food Chem 2002;50:468–72.
[304] Tadj A, Achir M, Souana K, Abderrahim LA, Boussaid M, Taïbi K. Evaluation of the phytochemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and antihemolytic activities of Atriplex halimus L. from the region of Tiaret, Algeria. Stud Health Sci 2024;5:e12637.
[305] Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. Inflamm Allergy - Drug Targets 2009;8:229–35.
[306] Land KL, Miller FG, Fugate AC, Hannon PR. The effects of endocrine-disrupting chemicals on ovarian- and ovulation-related fertility outcomes. Mol Reprod Dev 2022;89:608–31.
[307] Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The laboratory rat: age and body weight matter. EXCLI J 2021;20:1431–45.
[308] Desvergne B, Feige JN, Casals-Casas C. PPAR-mediated activity of phthalates: a link to the obesity epidemic?. Mol Cell Endocrinol 2009;304:43–8.
[309] Yang Y, Sun F, Chen H, Tan H, Yang L, Zhang L, et al. Postnatal exposure to DINP was associated with greater alterations of lipidomic markers for hepatic steatosis than DEHP in postweaning mice. Sci Total Environ 2021;758:143631.

[310] Metawea RR, Shaheen KA. Study of the potential impact of Atriplex halimus L. (chenopodiaceae) on experimental animals infected with hyperglycemia. JHE, 2021, 31(2): pp. 1-13.
[311] Hasani-Ranjbar S, Nayebi N, Larijani B, Abdollahi M. A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. World J Gastroenterol 2009;15:3073.
[312] Zeghib K, Boutlelis DA, Menai S, Debouba M. Protective effect of Atriplex halimus extract against benzene-induced haematotoxicity in rats. Ukr Biochem J 2021;93:66–76.
[313] Liang F, Yan B. Oxidative damage in the liver and kidney induced by dermal exposure to diisononyl phthalate in Balb/c mice. Toxicol Ind Health 2020;36:30–40.
[314] Slama K, Rouag M, Tichati L, Taibi F, Boumendjel M, Boumendjel A, et al. Nephroprotective role and antioxidant capacity of Atriplex halimus on carbon tetrachloride-induced kidney damage in rats. Comp Clin Pathol 2021;30:75–87.
[315] Zeghib K, Boutlelis DA. Protective role of aqueous extract of Atriplex halimus L. against benzene-induced damage on renal function and glomerular cells in rats. Asian J Pharm Clin Res 2019;12:387–92.
[316] Gu Y, Gao M, Zhang W, Yan L, Shao F, Zhou J. Exposure to phthalates DEHP and DINP May lead to oxidative damage and lipidomic disruptions in mouse kidney. Chemosphere 2021;271:129740.
[317] Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Test No. 440: Uterotrophic bioassay in rodents: a short-term screening test for oestrogenic properties. Paris: OECD Publishing; 2007.
[318] Pan J, Liu P, Yu X, Zhang Z, Liu J. The adverse role of endocrine disrupting chemicals in the reproductive system. Front Endocrinol 2024;14:1324993.
[319] Ndeingang EC, Defo Deeh PB, Watcho P, Kamanyi A. Phyllanthus muellerianus (Euphorbiaceae) restores ovarian functions in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in rats. Evid Based Complement Alternat Med 2019;2019:2965821.
[320] Zin SRM, Omar SZ, Khan NLA, Musameh NI, Das S, Kassim NM. Effects of the phytoestrogen genistein on the development of the reproductive system of Sprague Dawley rats. Clinics 2013;68:253–62.

[321] Leti Maggio E, Zucca C, Grande M, Carrano R, Infante A, Bei R, et al. Polyphenols regulate the activity of endocrine-disrupting chemicals, having both positive and negative effects. J Xenobiotics 2024;14:1378–405.
[322] Watcho P, Ngueyong PCN, Deeh PBD, Bonsou Fozin GR, Ngadjui E, Wankeu-Nya M, et al. Amaranthus hybridus (Amaranthaceae) prevents the detrimental effects of cyclophosphamide on ovarian function in Wistar rats: an experimental study. Int J Reprod Biomed IJRM 2022;20:651–62.
[323] Gaur K, Siddique YH. Phthalates induced neurotoxicity: a mechanistic approach. Cent Nerv Syst Agents Med Chem 2024;25.
[324] Hlisníková H, Petrovičová I, Kolena B, Šidlovská M, Sirotkin A. Effects and mechanisms of phthalates' action on neurological processes and neural health: a literature review. Pharmacol Rep 2021;73:386–404.
[325] Silva RFM, Pogačnik L. Polyphenols from food and natural products: neuroprotection and safety. Antioxidants 2020;9:61.
[326] Szwajgier D, Borowiec K, Pustelniak K. The Neuroprotective effects of phenolic acids: molecular mechanism of action. Nutrients 2017;9:477.
[327] Dong J, Cong Z, You M, Fu Y, Wang Y, Wang Y, et al. Effects of perinatal di (2-ethylhexyl) phthalate exposure on thyroid function in rat offspring. Environ Toxicol Pharmacol 2019;67:53–60.
[328] Qader A, Batool Z, Tariq H. Induction of thyroid hormones disruption by exposure of dioxins and phthalates: a comprehensive review. J Med Res 2023;9:72–5.
[329] Du L, Li X, Qi Y, Wang M. Research progress on the correlation between environmental phthalate exposure and thyroid hormone level. J Med Health Sci 2023;1:55–9.
[330] Köhrle J. Selenium, iodine and iron–essential trace elements for thyroid hormone synthesis and metabolism. Int J Mol Sci 2023;24:3393.
[331] Habza-Kowalska E, Kaczor AA, Bartuzi D, Piłat J, Gawlik-Dziki U. Some dietary phenolic compounds can activate thyroid peroxidase and inhibit lipoxygenase-preliminary study in the model systems. Int J Mol Sci 2021;22:5108.
[332] Hlisníková H, Petrovičová I, Kolena B, Šidlovská M, Sirotkin A. Effects and mechanisms of phthalates' action on reproductive processes and reproductive health: a literature review. Int J Environ Res Public Health 2020;17:6811.

[333] Chen Z-G, Luo L-L, Xu J-J, Zhuang X-L, Kong X-X, Fu Y-C. Effects of plant polyphenols on ovarian follicular reserve in aging rats. Biochem Cell Biol 2010;88:737–45.
[334] Li L, Huang L, Lei R, Zhang P, Yang Y, Liu H, et al. DEHP and DBP, common phthalates, induce glucose metabolism disorders in rats via oxidative damage of PI3K/Akt/GLUT4 signaling. Environ Pollut 2024;341:122948.
[335] Alkhalidy H, Moore W, Wang A, Luo J, McMillan RP, Wang Y, et al. Kaempferol ameliorates hyperglycemia through suppressing hepatic gluconeogenesis and enhancing hepatic insulin sensitivity in diet-induced obese mice. J Nutr Biochem 2018;58:90–101.
[336] Yang DK, Kang H-S. Anti-diabetic effect of cotreatment with quercetin and resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. Biomol Ther 2018;26:130–8.
[337] Fu Z, Zhang W, Zhen W, Lum H, Nadler J, Bassaganya-Riera J, et al. Genistein induces pancreatic β-cell proliferation through activation of multiple signaling pathways and prevents insulin-deficient diabetes in mice. Endocrinology 2010;151:3026–37.
[338] Ma W, Xiao L, Liu H, Hao X. Hypoglycemic natural products with in vivo activities and their mechanisms: a review. Food Sci Hum Wellness 2022;11:1087–100.
[339] Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. J Clin Invest 2003;111:1805–12.
[340] Della Porta M, Maier JA, Cazzola R. Effects of Withania somnifera on cortisol levels in stressed human subjects: a systematic review. Nutrients 2023;15:5015.
[341] Winiarska-Mieczan A, Kwiecień M, Jachimowicz-Rogowska K, Donaldson J, Tomaszewska E, Baranowska-Wójcik E. Anti-inflammatory, antioxidant, and neuroprotective effects of polyphenols—polyphenols as an element of diet therapy in depressive disorders. Int J Mol Sci 2023;24:2258.
[342] Panossian A. Understanding adaptogenic activity: specificity of the pharmacological action of adaptogens and other phytochemicals. Ann N Y Acad Sci 2017;1401:49–64.
[343] Panossian A, Efferth T. Network pharmacology of adaptogens in the assessment of their pleiotropic therapeutic activity. Pharmaceuticals 2022;15:1051.
[344] Xia L-Z, Jiang M-Z, Liu L-L, Wu Y, Zhang Y-L, Yang L-X, et al. Protective effect of quercetin against phthalates induced hepatotoxicity in rats. Toxicol Res 2022;11:863–71.
[345] Koenig G, Seneff S. Gamma-Glutamyltransferase: a predictive biomarker of cellular antioxidant inadequacy and disease risk. Dis Markers 2015;2015:818570.

[346] Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. Indian J Clin Biochem 2014;29:269–78.
[347] Zeghib K Z, Boutlelis A D BD. Preventive and curative effects of Atriplex Halimus L. aqueous extract on benzene provoked hepatic injury in rats. J Drug Deliv Ther 2020;10:217–22.
[348] Khovarnagh N, Seyedalipour B. Antioxidant, histopathological and biochemical outcomes of short-term exposure to acetamiprid in liver and brain of rat: the protective role of N-acetylcysteine and S-methylcysteine. Saudi Pharm J 2021;29:280–9.
[349] Tsinalis D, Binet I. Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire. Forum Méd Suisse 2006;6.
[350] Guerreiro Í, Ferreira-Pêgo C, Carregosa D, Santos CN, Menezes R, Fernandes AS, et al. Polyphenols and their metabolites in renal diseases: an overview
. Foods 2022;11:1060.
[351] Somasundaram D, Manokaran K, Selvanesan B, Bhaskaran R. Impact of di-(2-ethylhexyl) phthalate on the uterus of adult Wistar rats. Hum Exp Toxicol 2017;36:565–72.

ANNEXES

ANNEXE I : Les fiches d'enquétes

A : adressée à la population

Madame/Monsieur on réalise une enquête ethnobotanique sur une plante steppique *Atriplex halimus* (Guettaf)
Fiche n :……
Population cible : population zone steppique
Critère d'inclusion :age>20ans et habitant une wilaya Steppique
Critère d'exclusion : age inferieur à 20ans

1.age :……..2. sexe :……..3. lieu d'habitation :……

1-Connaissez-vous el-Guettaf

Oui☐ Non☐

2-Est-ce que vous l'avez déjà utilisé?

Oui☐ Non☐

3-Quel est le but de son utilisation? Pour quelles pathologies?

……

4-Quelle partie de la plante vous utilisez?

Feuille☐ Fleurs☐ Racine☐ Feuille-tige☐

5-Sous quelle forme vous l'utilisez?

Poudre☐ Tisane☐ En association ☐

6-Quelle est la fréquence de son usage?

Journalier☐ Hebdomadaire☐ Mensuel☐ Très rare☐

7-Avez-vous eu des effets indésirables?

Oui☐ Non☐

8-Si oui quels sont ses effets?

……

9-Qui vous a conseillé de l'utiliser?

……

10- Quelle est votre recette ?

……

ANNEXE I : Les fiches d'enquêtes

B : adréssée aux herboristes

« Madames, Monsieurs, on réalise une enquête sur une plante médicinale steppique, Atriplex halimus القطف»

Fiche d'enquête n°:……
Population cible: herboristes et phyto-thérapeutes
Critères d'inclusion : herboristes, phytothérapeutes, plus de 5 ans d'expérience.
Critères d'exclusion : Age < 20 ; expérience moins de 5 ans

---

1) Profession : Herboriste☐ ou/et phytothérapeute ☐
2) Sexe : masculine ☐ féminin ☐
3) Age : ☐[20-30] ☐ [30-40] ☐ [40-60] ☐ >60
4) Niveau d'étude : Non scolarisé☐ Primaire☐ Moyen☐ Secondaire☐ Universitaire☐
5) Sources de l'information sur les usages des plantes médicinales : Lecture de livres ou revues☐ savoir-faire familiale☐ formation académique spécialisé☐ Consultation sur le net (sites spécialisés)☐ réseaux sociaux☐ autres :……..
6) Connaissez-vous *Atriplex* / القطف ? OUI ☐ NON ☐
7) Disponibilité de L'*Atiplex*(القطف) dans votre herboristerie : OUI ☐ NON ☐
8) La source de l'*Atriplex*/ القطف : plante sauvage ☐ plante de culture نبتة مزروعة☐
9) Lieu de récolte : locale☐ **:** M'Sila ☐ Djelfa☐ El oued☐ Biskra☐ Laghouat☐ Naama☐ Bechar☐ Tébessa☐ Autre:……
Pays étranger☐ : Tunis ☐ Maroc☐ Turquie☐ Inde☐ Autres:…..

10) La partie de la plante utilisée: feuilles ☐ fleurs☐ fruits☐ racines☐ tige ☐ Autre :……..
11) Le prix de la plante : ……DA/100gr. Pas cher ☐ moyennent cher ☐ cher ☐
→ Utilisation dans domaine = thérapeutique ☐ alimentaire ☐ cosmétique ☐ autre: - - - -
12) Les pathologies traitées par l'*Atriplex*/ القطف: Kystes ovariens☐ troubles gynécologiques☐ kystes thyroïdiens☐ goitre☐ diabète☐ cancer☐ troubles de la fertilité (masculine ou féminine)☐ infections microbiennes☐ troubles urinaires☐ troubles digestifs☐ anémie☐ problèmes cutanés☐ Autres ……

13) Efficacité l'*Atriplex*/ القطف : OUI ☐ NON ☐
14)Le mode de préparation de l'*Atriplex*/ القطف:
Tisane ☐ : infusion (يسكب الماء المغلي على النبتة) ☐ décoction (تغلى النبتة مع الماء)☐ macération(تترك في الماء البارد)☐
seule☐ en association avec d'autres plantes☐ lesquels :……
Poudre ☐ : seule ☐ mélangée à d'autres ingrédients☐
lesquels :……
Inhalation☐ application externe☐

15) la quantité : une☐ deux ☐ trois☐ cuillère à café Autre précisez : ….
16) la Posologie : 1 fois/jr☐ 2 fois/jr☐ 3 fois/jr☐
17) Pendant : 1 semaine☐ 2 semaines☐ 3 semaines☐ 1 mois☐ 2 mois☐ 3 mois☐

18) Y a t il des effets indésirables : OUI ☐ NON ☐
19) Parmi les effets indésirables : hypertension☐ soif☐ vomissements☐ douleurs abdominales☐ prurit cutanée☐ hypoglycémie☐ troubles du cycle menstruelle☐ diarrhée☐ constipation☐ Autres :……

20) la recette en détaille :
……
……
……
……

MERCI شكرا

ANNEXE II : les recettes de l'enquête ethnobotanique

A : décrites par la population

Usages	Recettes
Alimentaire	- les feuilles cuites à la vapeur d'eau consommées avec du pain après l'ajout du sel et de beurre - la poudre consommée avec les plats chauds.
Usage thérapeutique	**Recettes**
Kystes ovariens	-Préparer une décoction (faire bouillir une quantité de feuilles dans un verre d'eau), à prendre une ou deux fois par jour soit seul, soit avec une cuillère de miel. -Préparer une infusion (placer une quantité de feuilles ou de fleurs dans un verre d'eau bouillante pendant 10 minutes), à prendre une ou deux fois par jour, ou en cas de soif à la place d'eau. -Préparer une poudre et la prendre soit avec une cuillère de miel une ou deux fois par jour, soit avec l'omelette à la place du sel.
Kystes Thyroïdiens	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour. -Préparer une infusion à prendre une fois par jours. -Préparer une poudre et la prendre avec une cuillère de miel une fois par jour la nuit.
Problèmes de stérilité féminine et prurit vaginal	-Préparer une décoction (une quantité de feuilles ou de racines) à prendre une ou deux fois par jour. -Préparer une infusion à prendre une fois par jours. -Préparer une poudre et la prendre avec une cuillère de miel, 30 minutes avant les repas et trois fois par jour.
Troubles de cycle menstruel	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour, seul ou avec le miel. -Préparer une infusion à prendre une fois par jours.

A : décrites par la population (suite)

Usage thérapeutique	Recettes
Goitre	-Préparer une décoction (faire bouillir une quantité de feuilles, de fleurs ou de racines dans un verre d'eau), à prendre une, deux ou trois fois par jour. -Préparer une infusion (placer une quantité de feuilles dans un verre d'eau bouillante pendant 10 minutes), à prendre une ou deux fois par jour. -Préparer une poudre et la prendre soit avec une cuillère de miel deux fois par jour, soit avec l'omelette à la place du sel.
Cancers du sein et tumeurs	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour. -Préparer une infusion (placer une quantité de feuilles dans un verre d'eau bouillante pendant 10 minutes), à prendre une ou deux fois par jour, ou en cas de soif à la place d'eau. -Préparer une poudre et la prendre avec l'omelette à la place du sel.
Usage externe	-préparer une décoction (faire bouillir 500g des feuilles dans 1 litre d'eau) destinée au lavage des brûlures qui seront recouverts par les feuilles cuites à l'huile d'olive. -Préparer une poudre qui sera appliquée sur les plaies. -Préparer un cataplasme (faire mâcher une quantité de feuilles) et l'appliquer sur les plaies.
Diabète et anémie	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour.
Perte du poids et troubles digestives	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour. -Préparer une poudre et la prendre une fois par jour avec une cuillère de miel soit à jeun soit après les repas.
Arthrite	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour. -Pulvériser les feuilles sur les genoux préalablement massées à l'huile d'olive.
Infections microbiennes	-Préparer une décoction à prendre une fois par jour.
Gale	-Préparer un cataplasme (faire mâcher une quantité de feuilles) et l'appliquer sur les plaies.

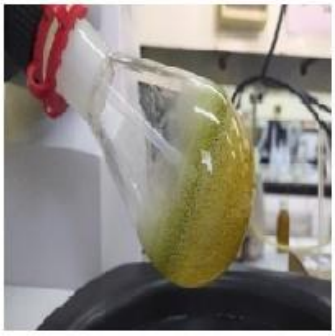
B : décrites par les herboristes (suite)

Usage thérapeutique	Recettes
Kystes ovariens	-une cuillère à café de poudre *d'Atriplex* avec une cuillère à café de marjolaine dans de l'eau bouillante pendant 15mn, à prendre 2fois/jr pendant 3semaines (après menstruation). - 2càc de la plante dans de l'eau chaude (infusée 45mn) à prendre 2fois/jr, à jeun et avant de dormir pendant 15jr. - 3càc de la plante dans de l'eau chaude (infusée 15mn) à prendre 1fois/jr, à jeun pendant 3mois, à l'exception des jours de menstruation. - une cuillère à café de poudre de la plante dans de l'eau bouillante pendant 5mn, à prendre 2fois/jr à partir du 7ème jour du cycle ; pendant 15jours. - une cuillère à soupe de poudre dans 1L d'eau bouillante pendant 20mn, à prendre 1fois/jr à jeun ; pendant 1mois. - 100g de feuilles *d'Atriplex* dans 1L d'eau et faire infuser et boire 1fois/jr pendant 2semaines. - faire bouillir 1càc de feuilles d'Atriplex dans de l'eau pendant 10mn, à consommer 1fois/jr pendant 3mois
Nodules Thyroïdiens	- par infusion mélangé 1 càc de la poudre (ou quelques feuilles) avec 2 verres d'eau, deux fois par jour matin et soir à jeun, pendant 15 jours puis l'arrêté pour 4 jours et refaire une autre cure, pendant 3 mois. - Une infusion de 1 c à s de la poudre d'Atriplex(ou quelques feuilles) dans 100ml d'eau matin et soir en alternance avec un ½ cuillère à soupe de la poudre du Costus indien et de la nigelle dans 100 ml d'eau. - faire bouillir 1càc de feuilles d'Atriplex dans de l'eau pendant 10mn, à consommer 1fois/jr pendant 3mois
Problèmes de stérilité féminine	-2càc de la plante dans de l'eau chaude (infusée 45mn) à prendre 2fois/jr, à jeun et avant de dormir pendant 15jr. - 3càc de la plante dans de l'eau chaude (infusée 15mn) à prendre 1fois/jr, à jeun pendant 3mois, à l'exception des jours de menstruation. - une cuillère à soupe de poudre dans 1L d'eau bouillante pendant 20mn, à prendre 1fois/jr à jeun ; pendant 1mois.
Troubles de cycle menstruel	-100g de feuilles *d'Atriplex* dans 1L d'eau et faire infuser et boire 1fois/jr pendant 2semaines.
Usage cosmétologique	-Pour les soins des cheveux

ANNEXE III : Les extractions des substances naturelles








Etapes d'extraction des composés phénoliques



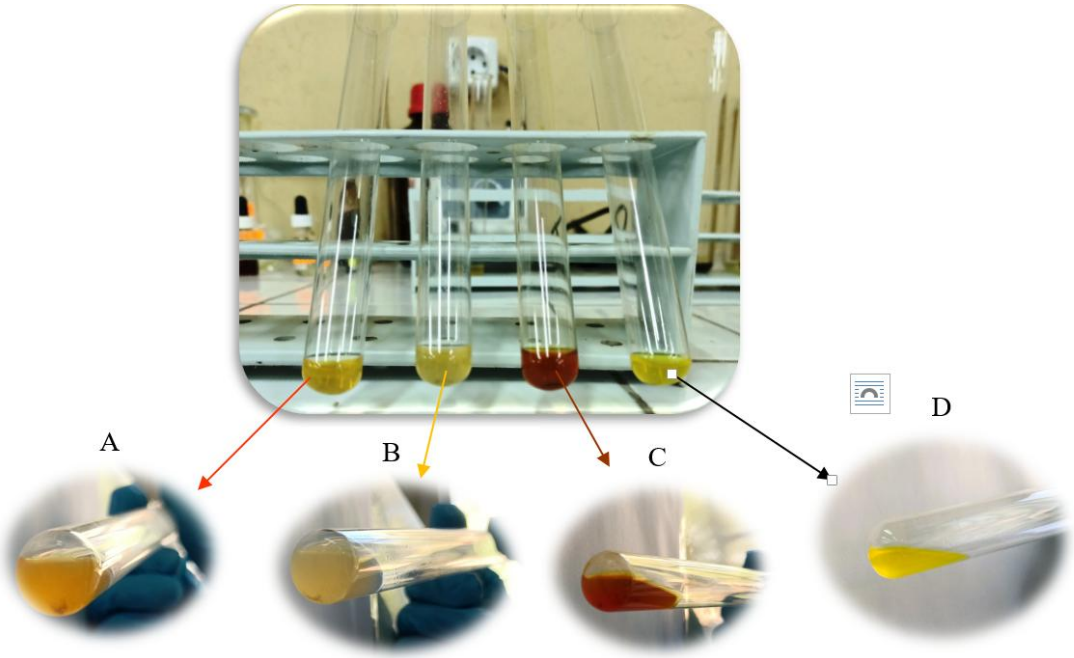



Etapes d'extraction des alcaloïdes



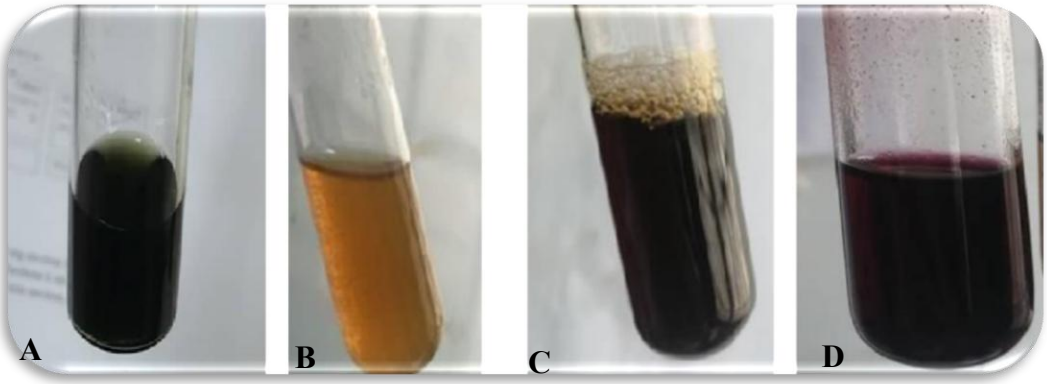
extraction en série par Soxhlet

ANNEXE IV: Résultats du screenning phytochimique



tests d'identification des alcaloïdes

A : précipité orange avec le réactif de Drangendorff, B : précipité blanc avec le réactif de Meyer, C :précipité brun avec le réactif de Bouchardat, D: témoin négatif



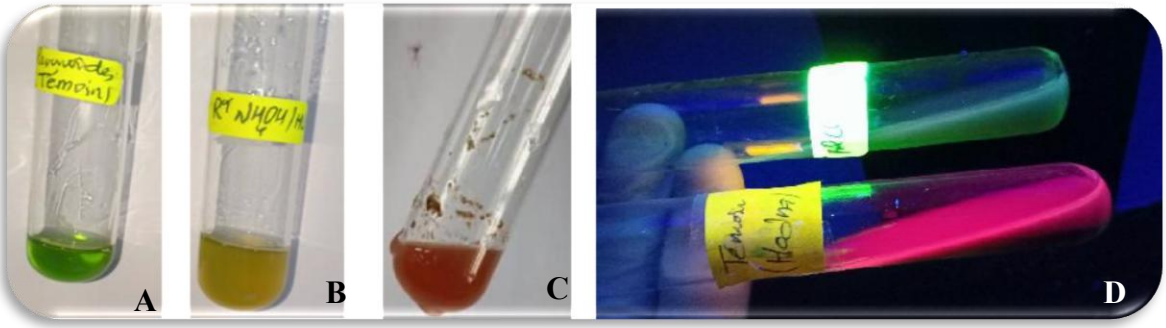
tests d'identification des polyphénols et des tanins

A : test aux $FeCl_3$; B et C: test de Stiasny ; D : test de Bath-smith



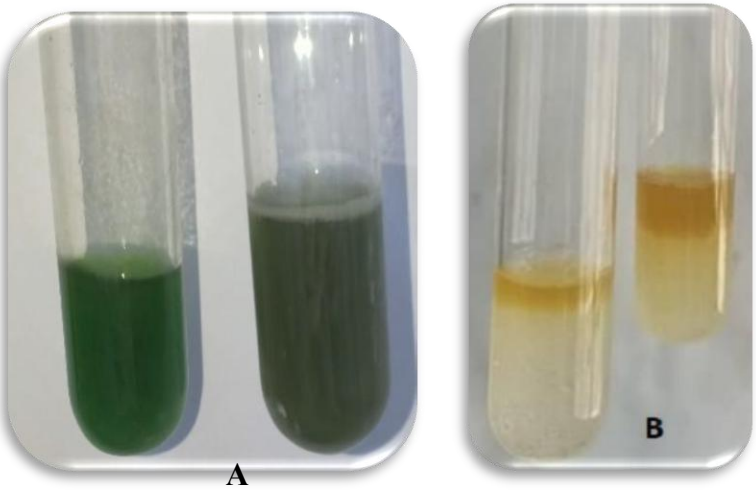
test d'identification des coumarines

Résultats du screenning phytochimique (suite)



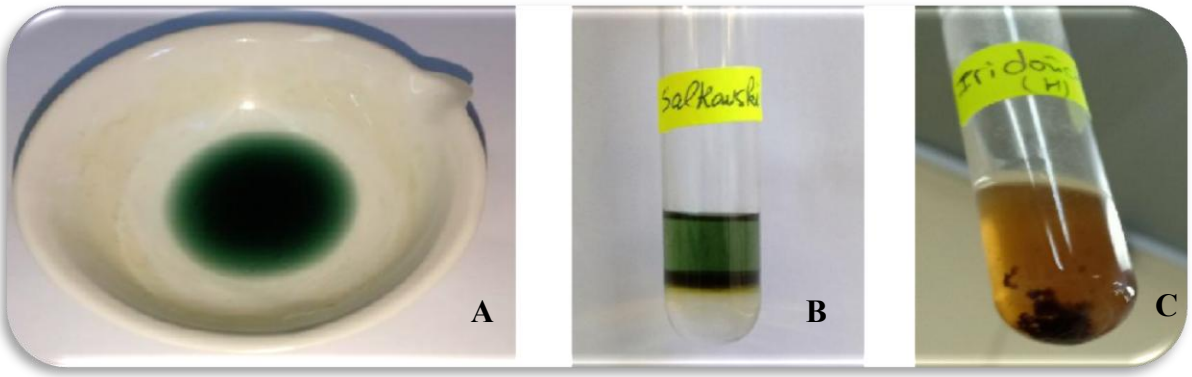
tests d'identification des flavonoïdes

A : témoin négatif ; B : test au NH_4OH ; C : test à la cyanidine ; D : test au $AlCl_3$



tests d'identification des anthocyanosides et des anthracénosides

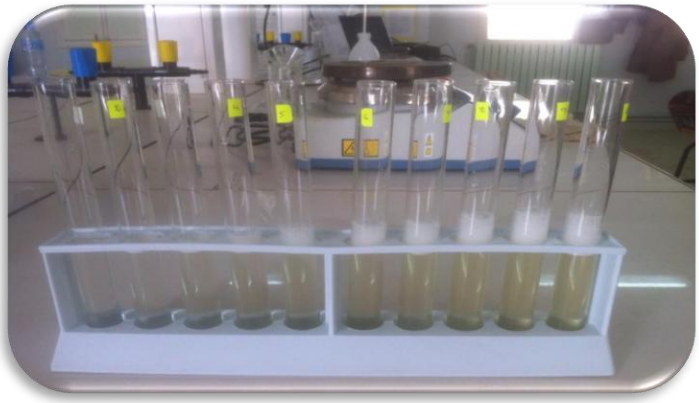
A : test des anthocyanosides ; B : tests de Borntrager avec et sans hydrolyse



Tests d'identification des composés terpéniques

A : test des phytostérols ; B: test des triterpènes ; C: test des iridoides

Résultats du screening phytochimique (suite)



Détermination de l'indice de mousse

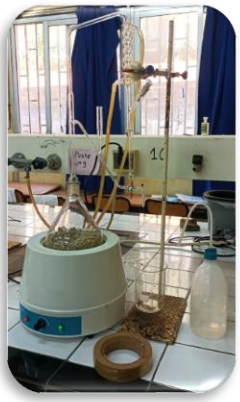
hauteur de la mousse des différents tubes

Numéro du tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hauteur de la mousse en cm	0,1	0,4	0,7	1	1,2	1,5	1,7	2	2,1	2,2



Tests d'identification des hétérosides cardiotoniques

A : test de Baljet ; B : test de Kedde



hydrodistillation des feuilles *d'Atriplex halimus*

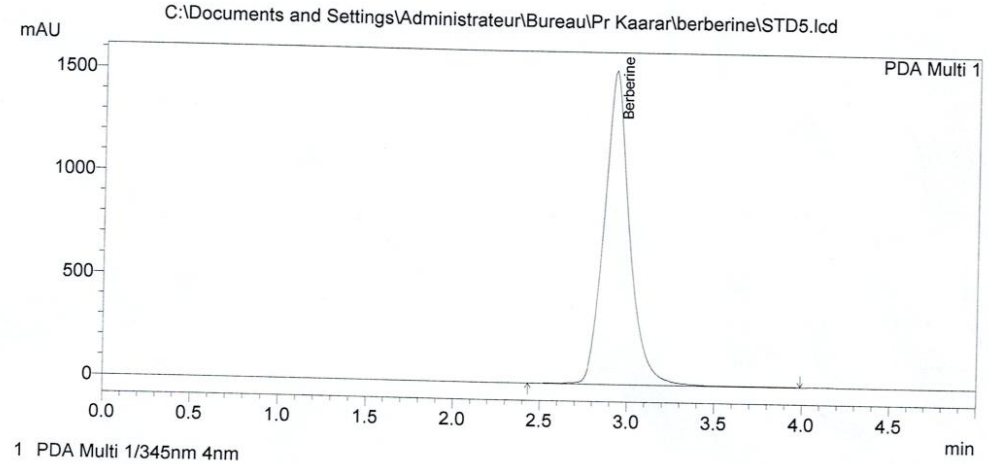
ANNEXE V : chromatogramme des alcaloïdes

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\Documents and Settings\Administrateur\Bureau\Pr Kaarar\berberine\STD5.lcd

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Berberine
Sample ID	: STD
Tray#	: 1
Vail #	: 1
Injection Volume	: 10 uL
Data File Name	: STD5.lcd
Method File Name	: Berberine.lcm
Batch File Name	: Berberine.lcb
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 02-06-2025 13:42:37
Data Processed	: 03-06-2025 12:53:32

<Chromatogram>



1 PDA Multi 1/345nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 345nm 4nm

Name	Ret. Time	Area	Theoretical Plate#	Tailing Factor
Berberine	2.915	15315435	1808.961	1.303
		15315435		

ANNEXE V (suite)

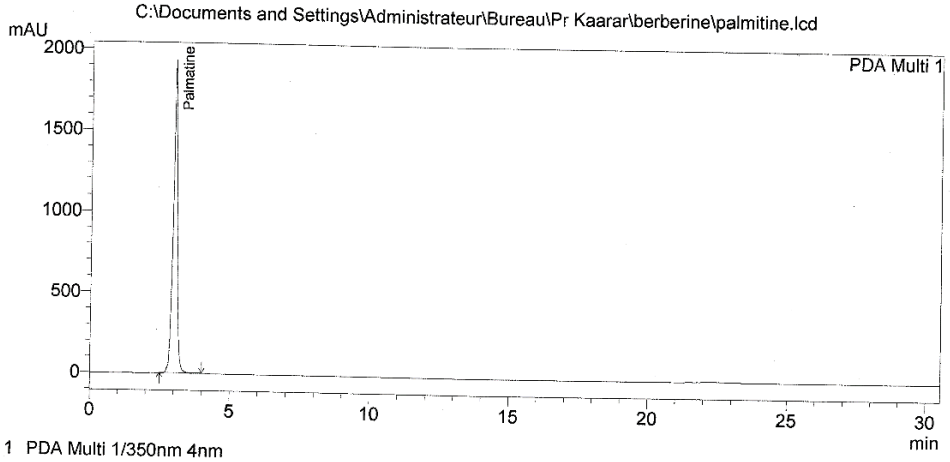
==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\Documents and Settings\Administrateur\Bureau\Pr Kaarar\berberine\palmitine.lcd

Acquired by	: Admin
Sample Name	: palmitine
Sample ID	: STD
Tray#	: 1
Vail #	: 8
Injection Volume	: 10 uL
Data File Name	: palmitine.lcd
Method File Name	: Berberine.lcm
Batch File Name	: Berberine.lcb
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 03-06-2025 11:56:04
Data Processed	: 03-06-2025 13:04:41

<Chromatogram>

C:\Documents and Settings\Administrateur\Bureau\Pr Kaarar\berberine\palmitine.lcd



1 PDA Multi 1/350nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 350nm 4nm

Name	Ret. Time	Area	Theoretical Plate#	Tailing Factor
Palmatine	3.009	19852586	1874.996	1.147
		19852586		

C:\Documents and Settings\Administrateur\Bureau\Pr Kaarar\berberine\palmitine.lcd

ANNEXE V (suite)

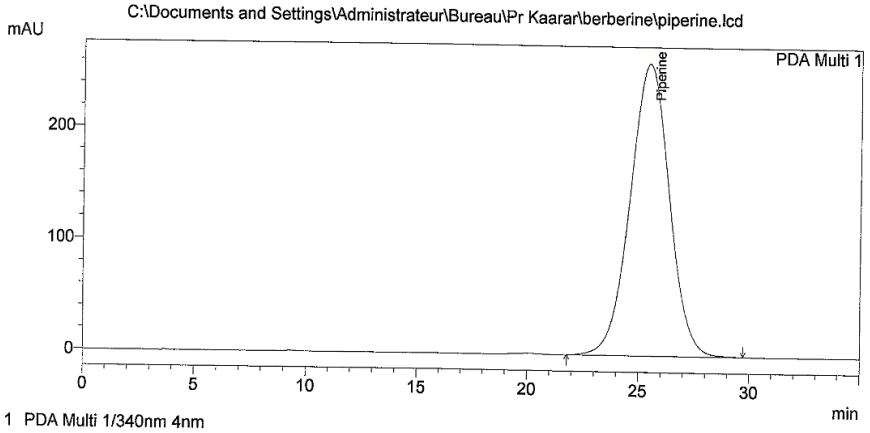
==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\Documents and Settings\Administrateur\Bureau\Pr Kaarar\berberine\piperine.lcd

Acquired by	: Admin
Sample Name	: piperine
Sample ID	: STD
Tray#	: 1
Vail #	: 7
Injection Volume	: 10 uL
Data File Name	: piperine.lcd
Method File Name	: Berberine.lcm
Batch File Name	: Berberine.lcb
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 03-06-2025 12:28:41
Data Processed	: 03-06-2025 13:06:53

<Chromatogram>

C:\Documents and Settings\Administrateur\Bureau\Pr Kaarar\berberine\piperine.lcd



1 PDA Multi 1/340nm 4nm

PeakTable

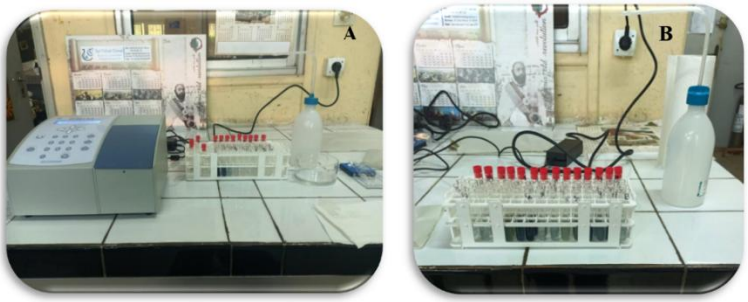
PDA Ch1 340nm 4nm

Name	Ret. Time	Area	Theoretical Plate#	Tailing Factor
Piperine	25.445	32068540	1000.972	1.025
		32068540		

Annexe VI : L'analyse quantitative

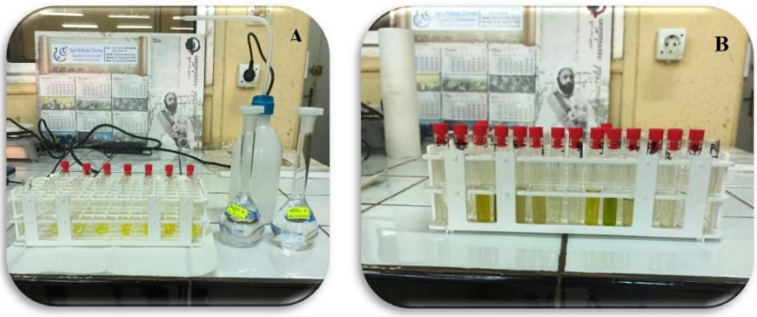


Détermination de la teneur en cendre totale



Dosage des composés phénoliques

A : préparation de la gamme d'étalonnage avec l'acide gallique ; **B :** détermination de la teneur en polyphénols des différents extraits



Dosage des flavonoïdes

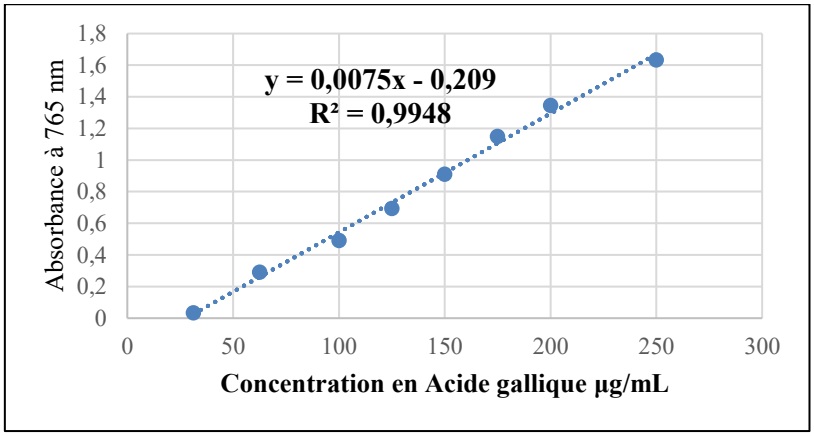
A : préparation de la gamme d'étalonnage avec la quercétine ; **B** : détermination de la teneur en flavonoïdes des différents extraits

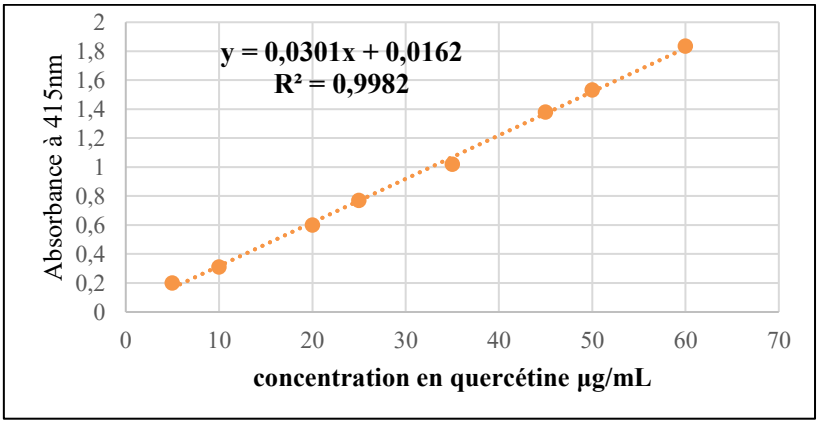


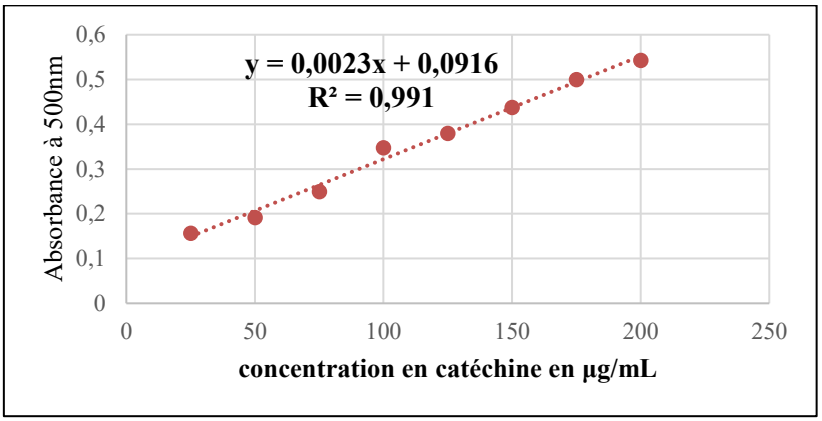
Dosage des tanins condensés

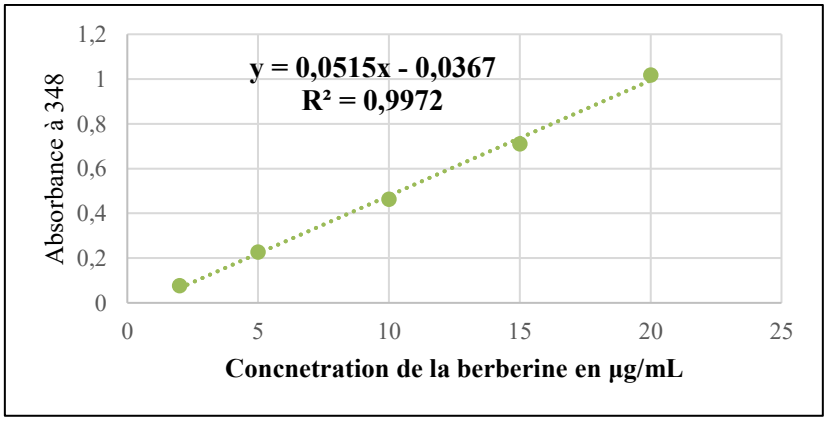
A : préparation de la gamme d'étalonnage avec la catéchine ; B : détermination de la teneur en tanins condensés des différents extraits

ANNEXE VI (suite) : Courbes d'étalonnages

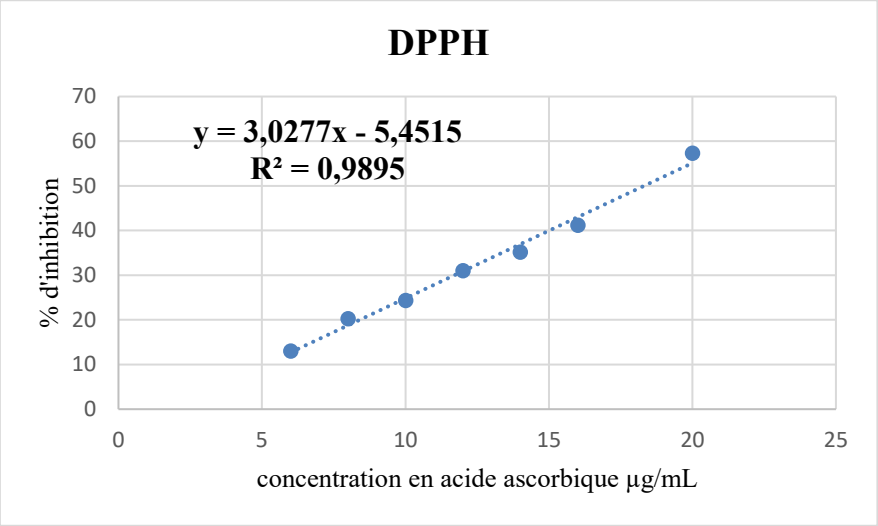


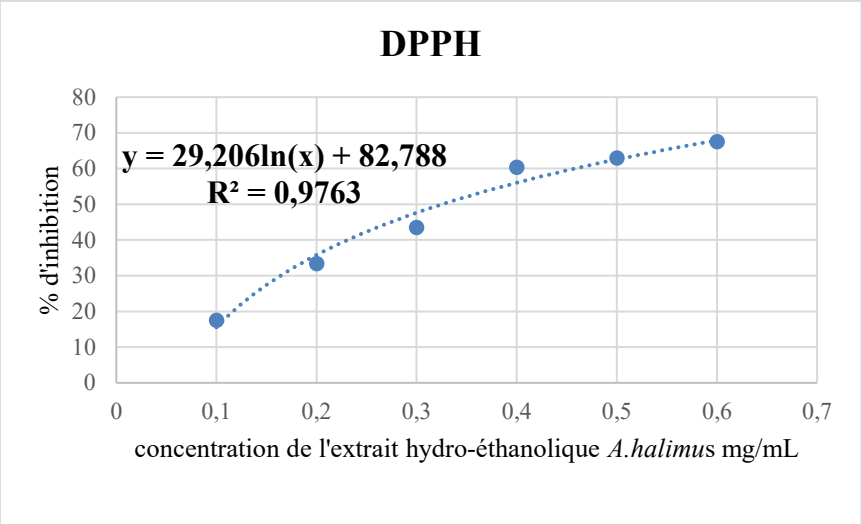


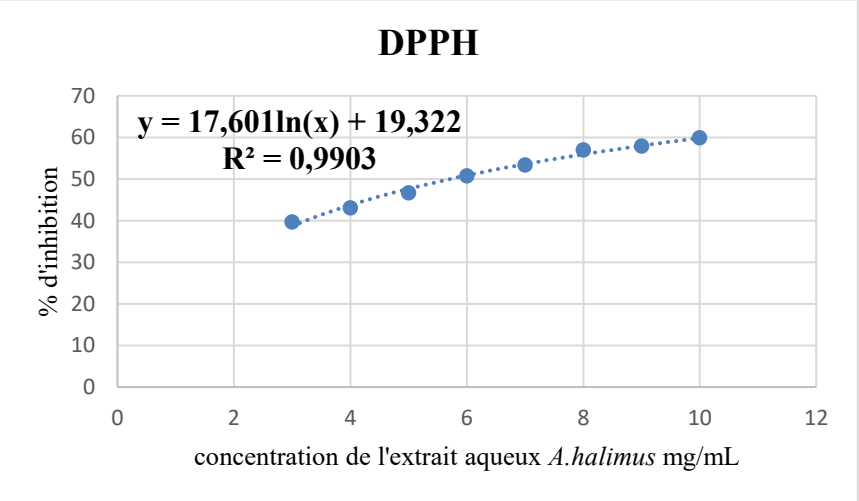




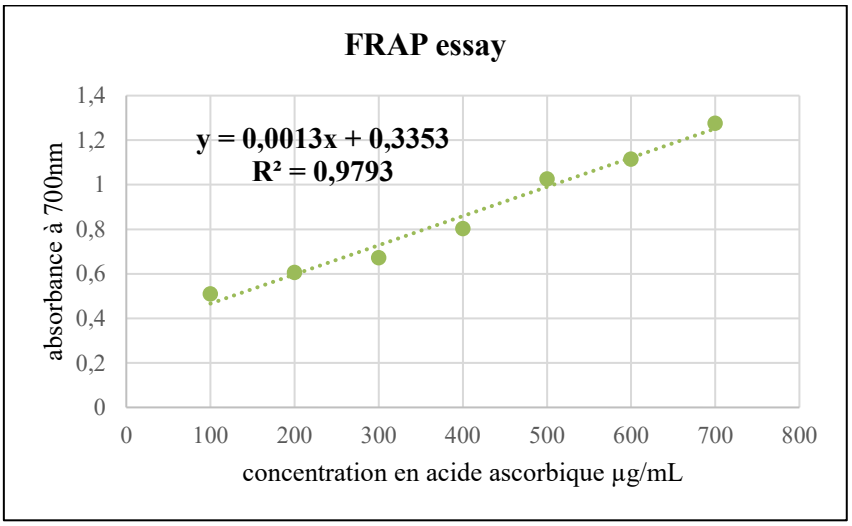
ANNEXE VII: Courbe des activités biologiques

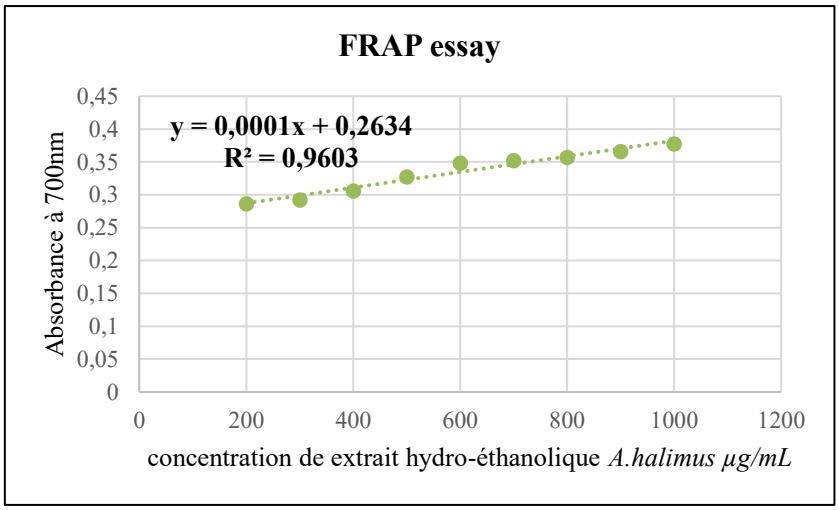


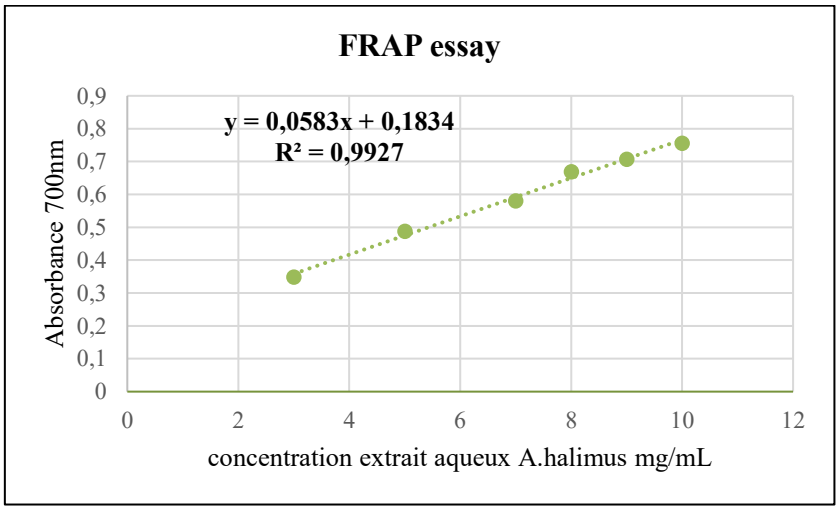




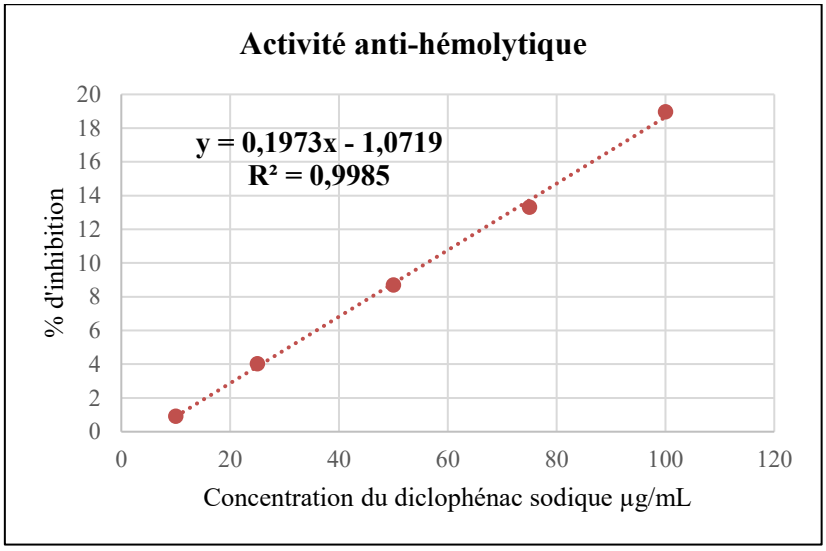
ANNEXE VII (suite) : Courbe des activités biologiques

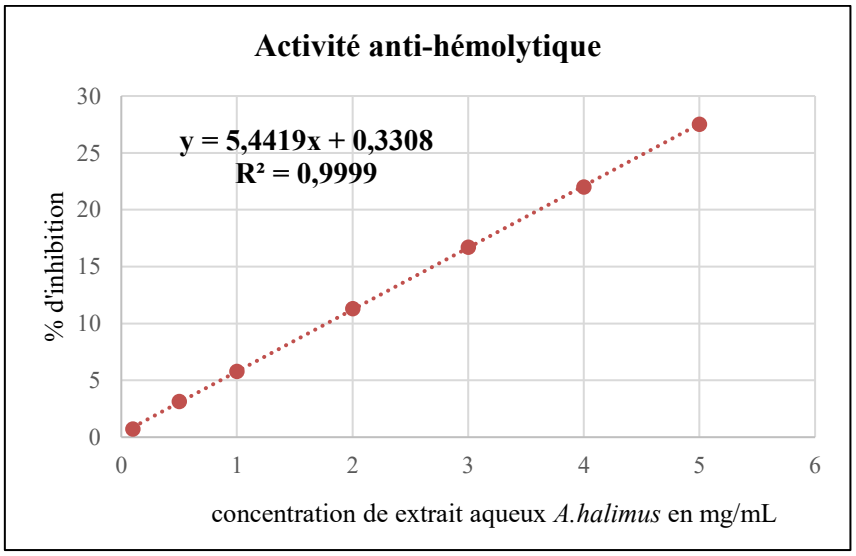


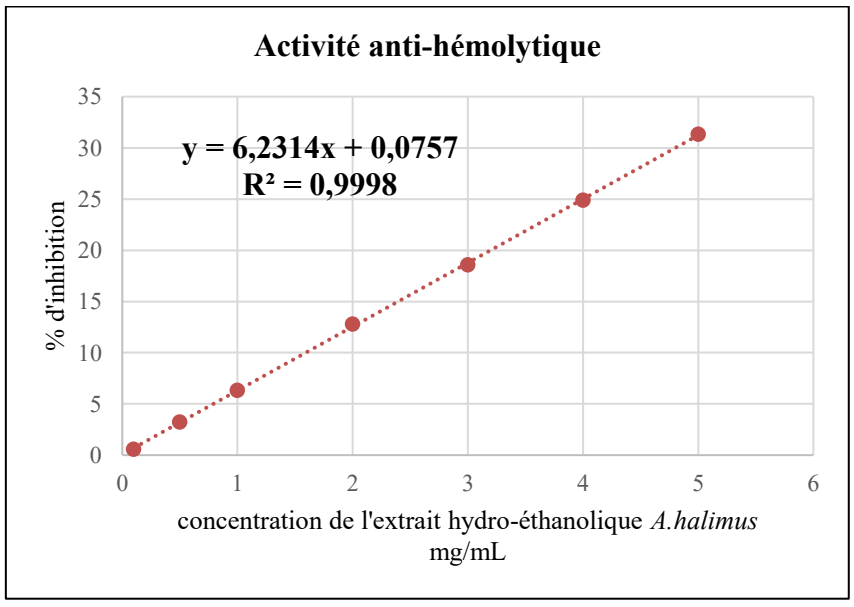




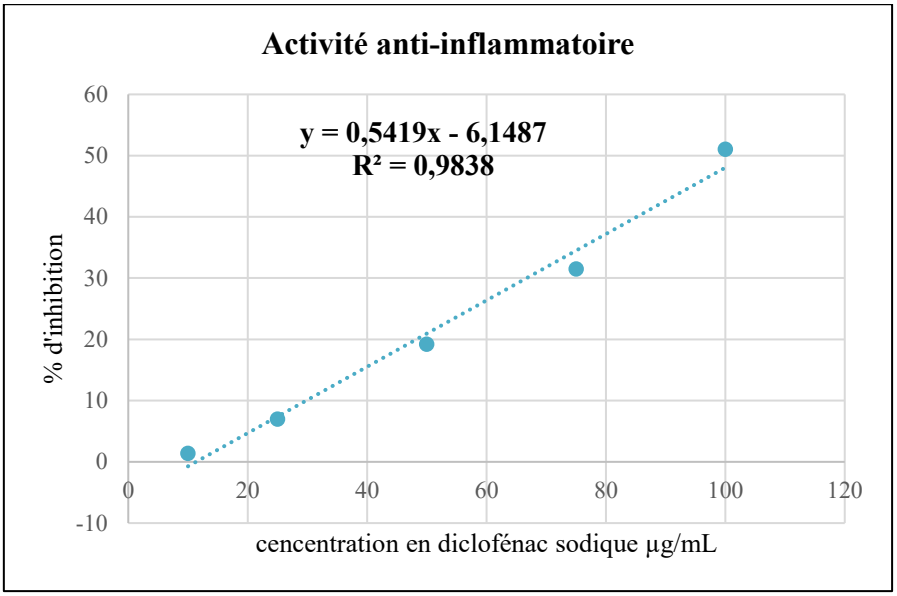
ANNEXE VII (suite): Courbe des activités biologiques

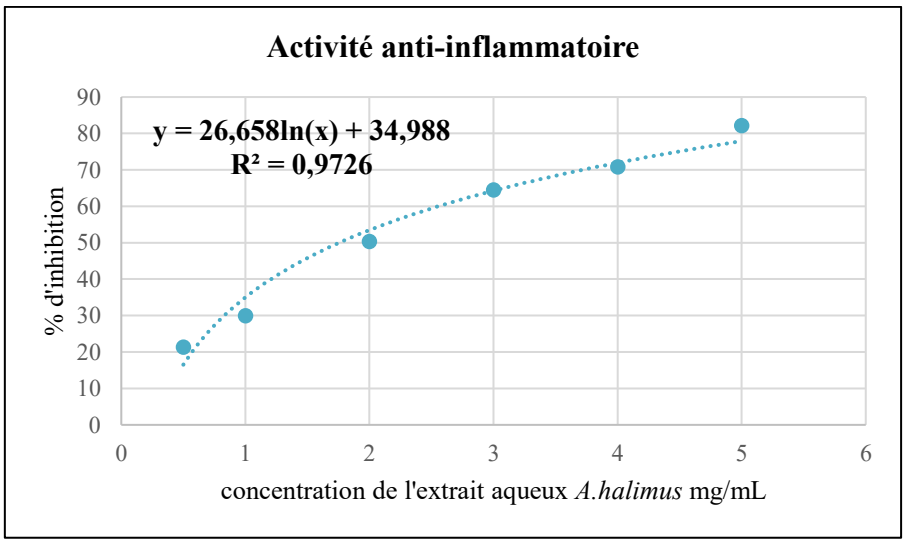


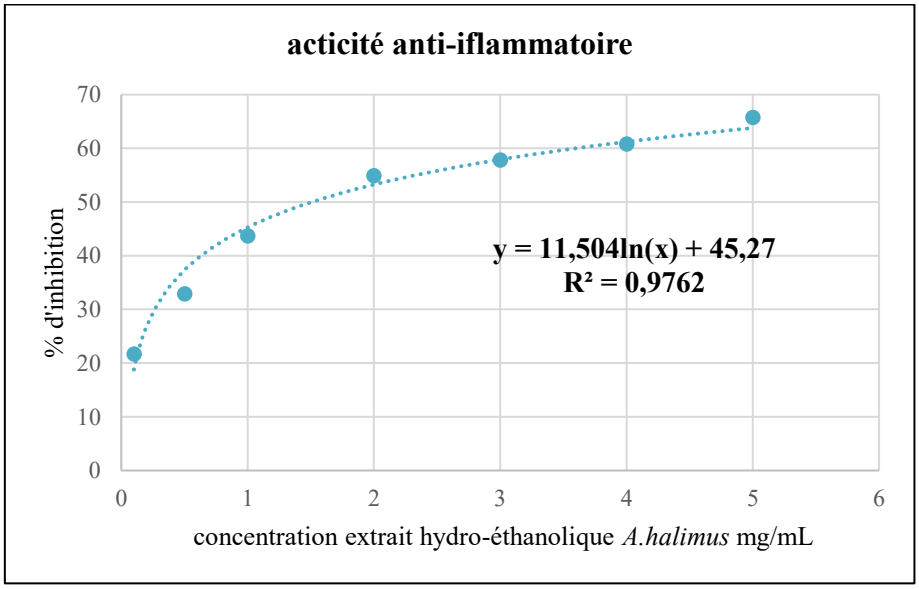




ANNEXE VII(suite) : Courbe des activités biologiques







RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE LA SANTÉ

Institut Pasteur d'Algérie

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le Directeur Général de l'Institut Pasteur d'Algérie, atteste que Madame SAHRAOUI Ouafa a participé en qualité d'apprenante au « 5ème Cours de l'Institut Pasteur d'Algérie en Expérimentation Animale » qui s'est déroulé à l'Annexe de Sidi Fredj, du 26 au 30 novembre 2023.

Cette attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Faite à Alger, le : 30 NOV. 2023

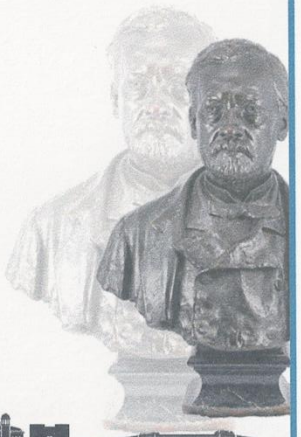
LE PRÉSIDENT DU COMITÉ PÉDAGOGIQUE
Dr. ISSAD Mourad

Institut Pasteur d'Algérie
Directeur de production
Dr ISSAD Mourad

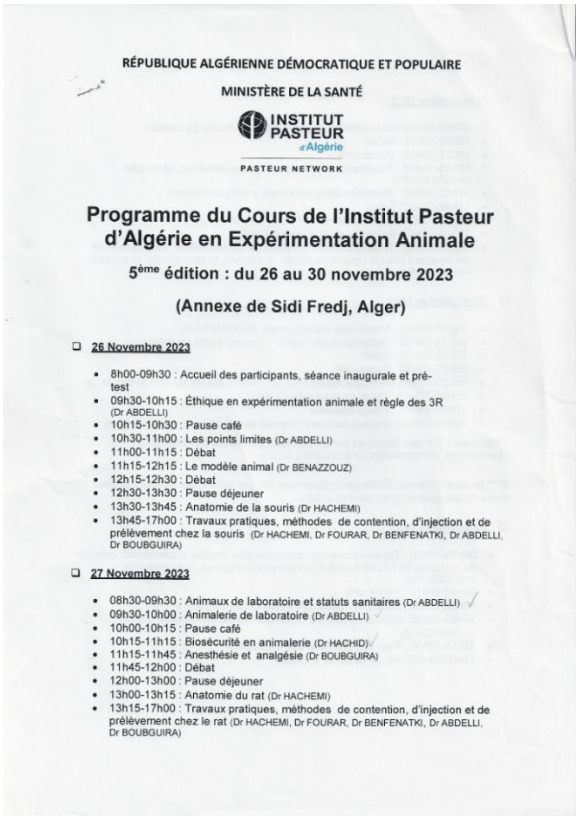
LE DIRECTEUR GÉNÉRAL
Pr. DERRAR Fawzi

Ministère de la Santé
Direction Générale
Institut Pasteur d'Algérie

Institut Pasteur d'Algérie
Directeur Général
Pr. Fawzi DERRAR



ANNEXE VIII : Etapes de l'expérimentation animale



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE LA SANTÉ

INSTITUT PASTEUR d'Algérie

PASTEUR NETWORK

Programme du Cours de l'Institut Pasteur d'Algérie en Expérimentation Animale

5ème édition : du 26 au 30 novembre 2023

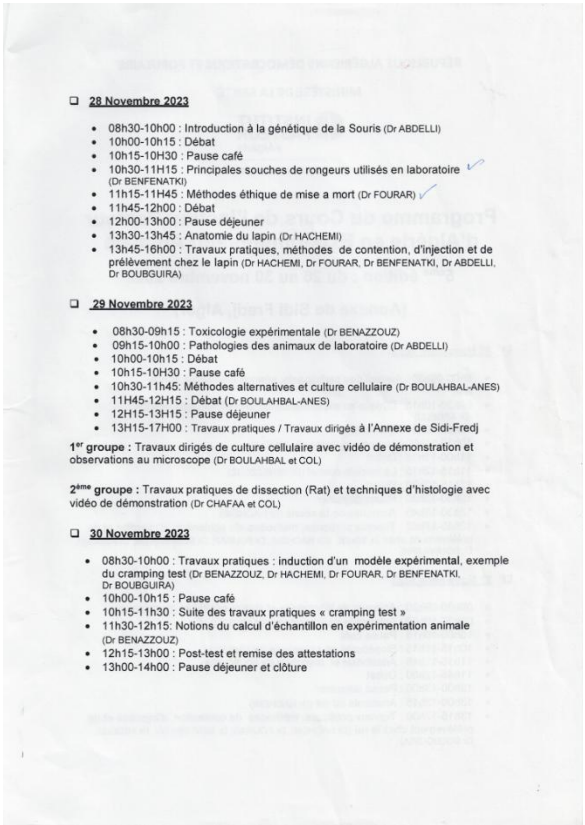
(Annexe de Sidi Fredj, Alger)

❑ **26 Novembre 2023**

- 8h00-09h30 : Accueil des participants, séance inaugurale et pré-test
- 09h30-10h15 : Éthique en expérimentation animale et règle des 3R (Dr ABDELLI)
- 10h15-10h30 : Pause café
- 10h30-11h00 : Les points limites (Dr ABDELLI)
- 11h00-11h15 : Débat
- 11h15-12h15 : Le modèle animal (Dr BENAZZOUZ)
- 12h15-12h30 : Débat
- 12h30-13h30 : Pause déjeuner
- 13h30-13h45 : Anatomie de la souris (Dr HACHEMI)
- 13h45-17h00 : Travaux pratiques, méthodes de contention, d'injection et de prélèvement chez la souris (Dr HACHEMI, Dr FOURAR, Dr BENFENATKI, Dr ABDELLI, Dr BOUBGUIRA)

❑ **27 Novembre 2023**

- 08h30-09h30 : Animaux de laboratoire et statuts sanitaires (Dr ABDELLI)
- 09h30-10h00 : Animalerie de laboratoire (Dr ABDELLI)
- 10h00-10h15 : Pause café
- 10h15-11h15 : Biosécurité en animalerie (Dr HACHID)
- 11h15-11h45 : Anesthésie et analgésie (Dr BOUBGUIRA)
- 11h45-12h00 : Débat
- 12h00-13h00 : Pause déjeuner
- 13h00-13h15 : Anatomie du rat (Dr HACHEMI)
- 13h15-17h00 : Travaux pratiques, méthodes de contention, d'injection et de prélèvement chez le rat (Dr HACHEMI, Dr FOURAR, Dr BENFENATKI, Dr ABDELLI, Dr BOUBGUIRA)



❑ **28 Novembre 2023**

- 08h30-10h00 : Introduction à la génétique de la Souris (Dr ABDELLI)
- 10h00-10h15 : Débat
- 10h15-10H30 : Pause café
- 10h30-11H15 : Principales souches de rongeurs utilisés en laboratoire (Dr BENFENATKI)
- 11h15-11H45 : Méthodes éthique de mise a mort (Dr FOURAR)
- 11h45-12h00 : Débat
- 12h00-13h00 : Pause déjeuner
- 13h30-13h45 : Anatomie du lapin (Dr HACHEMI)
- 13h45-16h00 : Travaux pratiques, méthodes de contention, d'injection et de prélèvement chez le lapin (Dr HACHEMI, Dr FOURAR, Dr BENFENATKI, Dr ABDELLI, Dr BOUBGUIRA)

❑ **29 Novembre 2023**

- 08h30-09h15 : Toxicologie expérimentale (Dr BENAZZOUZ)
- 09h15-10h00 : Pathologies des animaux de laboratoire (Dr ABDELLI)
- 10h00-10h15 : Débat
- 10h15-10H30 : Pause café
- 10h30-11h45: Méthodes alternatives et culture cellulaire (Dr BOULAHBAL-ANES)
- 11H45-12H15 : Débat (Dr BOULAHBAL-ANES)
- 12H15-13H15 : Pause déjeuner
- 13H15-17H00 : Travaux pratiques / Travaux dirigés à l'Annexe de Sidi-Fredj

1er groupe : Travaux dirigés de culture cellulaire avec vidéo de démonstration et observations au microscope (Dr BOULAHBAL et COL)

2ème groupe : Travaux pratiques de dissection (Rat) et techniques d'histologie avec vidéo de démonstration (Dr CHAFAA et COL)

❑ **30 Novembre 2023**

- 08h30-10h00 : Travaux pratiques : induction d'un modèle expérimental, exemple du cramping test (Dr BENAZZOUZ, Dr HACHEMI, Dr FOURAR, Dr BENFENATKI, Dr BOUBGUIRA)
- 10h00-10h15 : Pause café
- 10h15-11h30 : Suite des travaux pratiques « cramping test »
- 11h30-12h15: Notions du calcul d'échantillon en expérimentation animale (Dr BENAZZOUZ)
- 12h15-13h00 : Post-test et remise des attestations
- 13h00-14h00 : Pause déjeuner et clôture

ANNEXE VIII : Etapes de l'expérimentation animale

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE Petits Animaux de Laboratoire	Formulaire d'enregistrement	F PAL 0421/03
	Attestation d'acquisition d'animaux de laboratoire	Page : 1 / 3

Ce formulaire est rattaché à la procédure de vente des animaux de laboratoire P PAL 0121
N° de facture : 25000196
Date de l'enregistrement :
N° d'ordre de l'enregistrement :

Alger le 13.01.25

Le laboratoire des petits animaux de laboratoire de l'Institut Pasteur D'Algérie **(IPA)** atteste par la présente que Mme/~~Mr~~..... SAHRAOUI OUAFA ..... de l'université..... Annaba ..... s'est porté acquéreur d'animaux de laboratoire de type/souche ..... Rats wistar ..... au nombre de ..... 6 familles ....., et à statut **Holoxenique.** Ces animaux proviennent d'un élevage de **type conventionnel** et ne présentent aucun signe clinique de pathologies au moment de leur mise à disposition ; néanmoins, l'usage fait de ces animaux après avoir quitté l'enceinte des animaleries de l'IPA, leurs conditions de transport, d'hébergement, de manipulation (devant obéir à des règles d'hygiène et de sécurité et à une compétence dans ce domaine) et les possibles conséquences liées à cela relèvent de la responsabilité exclusive de l'acquéreur.

N.B : Ces animaux sont destinés à des activités scientifiques et ne peuvent être revendus, ni eux ni leur descendance.

Remarque :

Nom et prénom
(Si différent de l'acquéreur)

Laboratoire des animaux de laboratoire

Institut Pasteur d'Algérie
Laboratoire des petits Animaux
Dr Vétérinaire F. HACHEMI

Note : la présente attestation est accompagnée d'une fiche explicative relative aux bonnes pratiques en animalerie

ANNEXE VIII : Etapes de l'expérimentation animale




transport des rats en période hivernal (mois de janvier) et surveillance constante durant le trajet



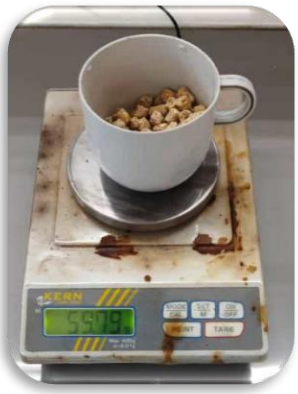
Matière alimentaire	Quantité en g/kg	Pourcentage%
Mais	620	62%
Soja	260	26%
Phosphate	16	1.6%
Calcaire	9	0.9%
Cellulose	10	1%
Minéraux	10	1%
Vitamines	10	1%



Les granulés de nourriture fourni par ONAB Bouchegouf avec la composition et eau de source de Bouglez



Mesure du poids des animaux





Mesure quotidienne de la consommation en nourriture et en eau à heure fixe

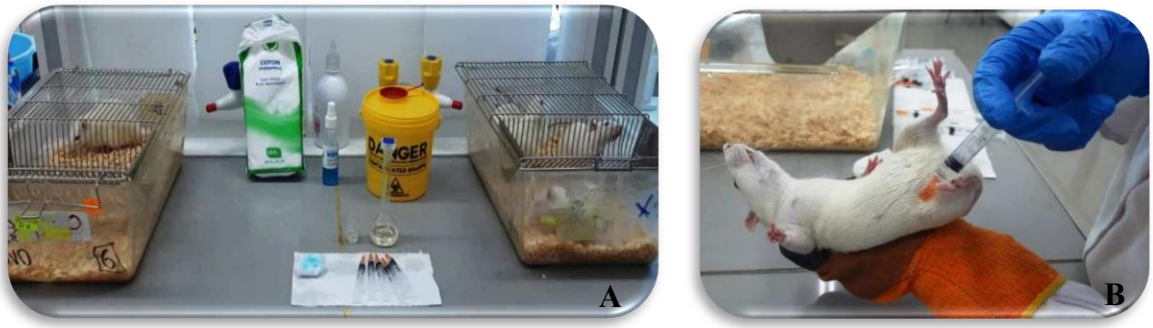
ANNEXE VIII: Etapes de l'expérimentation animale (suite)



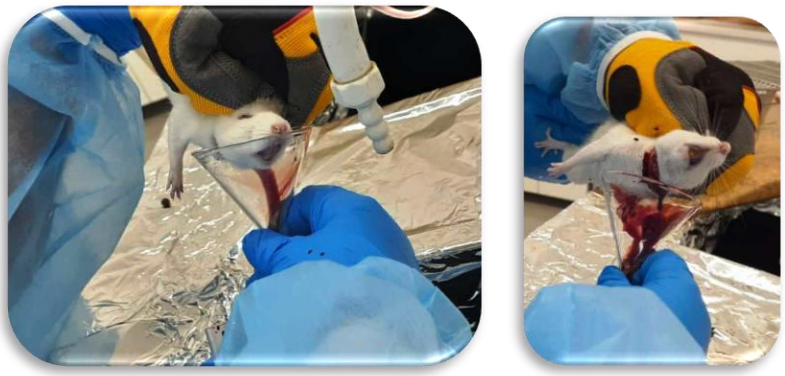
préparation des postes pour le gavage des rats par les extraits *d'Atriplex halimus*
A : extrait aqueux ; B : extrait hydro-éthanolique



gavage des différents lots par les extraits *d'Atriplex halimus* L.

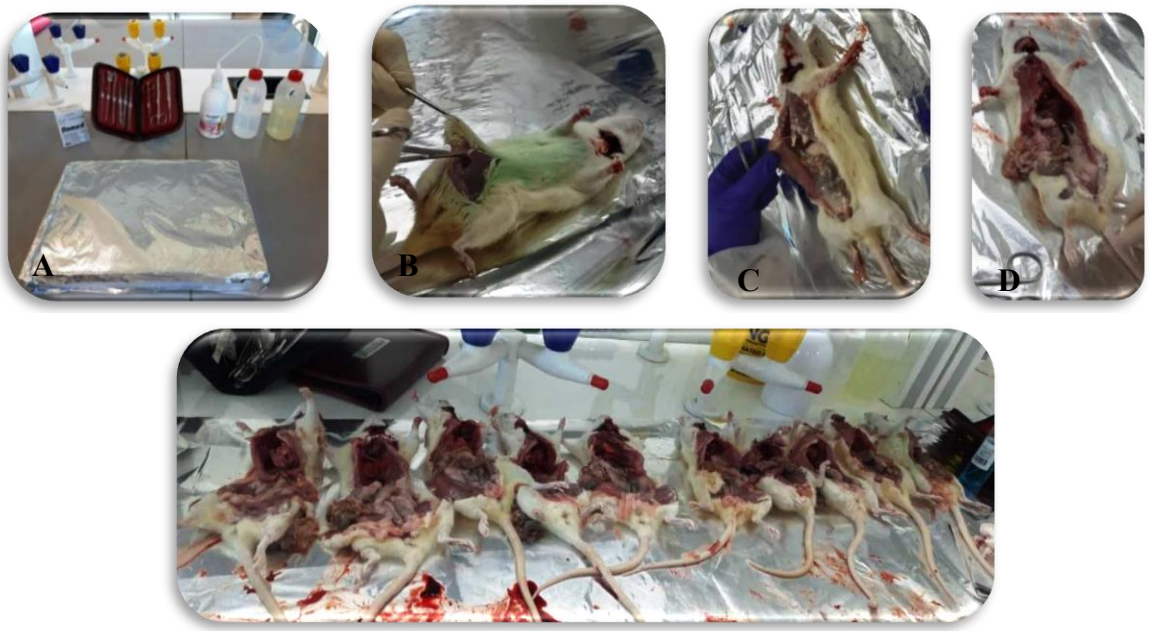


injection du DINP par voie IP
A : préparation du matériel nécessaire pour l'injection ; **B** : maintenir le rongeur en position couchée, la tête inclinée plus bas que la partie postérieure du corps, et insérer l'aiguille dans le quadrant inférieur de l'abdomen (à un angle d'environ 45°) en prenant soin d'éviter toute pénétration accidentelle dans les viscères.

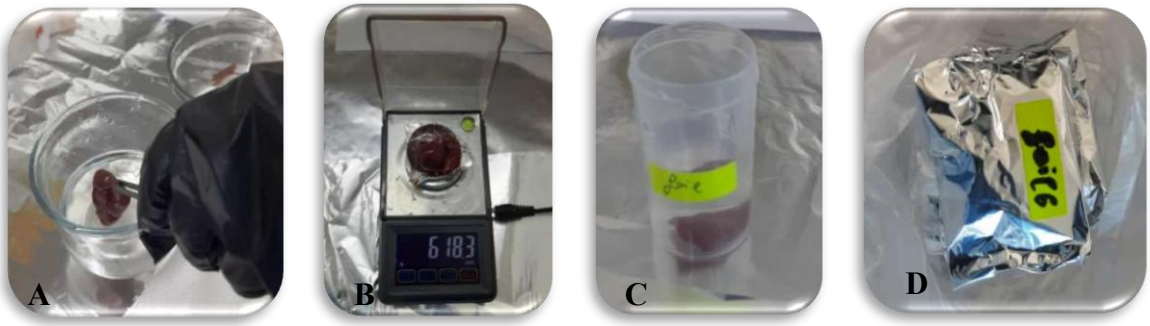


sacrifice des animaux par décapitation et récupération du sang pour analyse (tubes secs et héparinés)

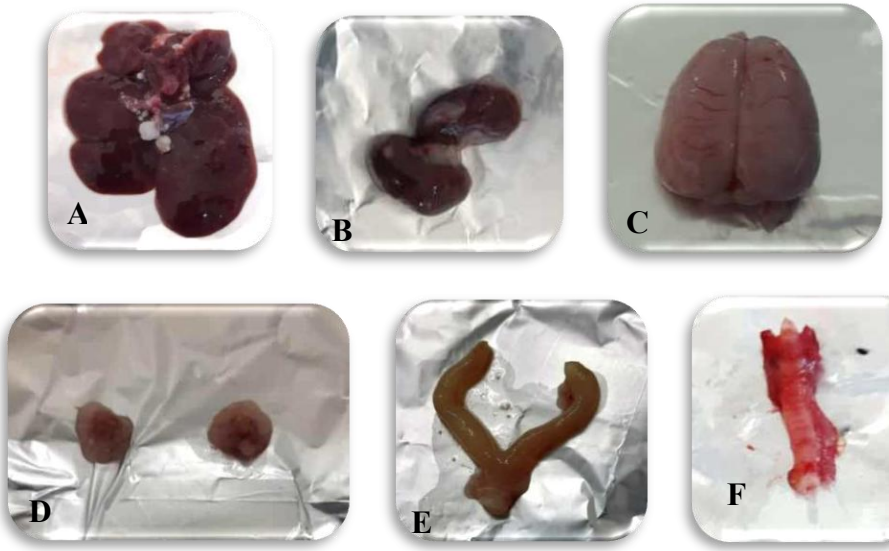
ANNEXE VIII : Etapes de l'expérimentation animale (suite)



les différentes étapes de dissection des rats
A : préparation du poste pour la dissection, B : ouverture des carcasses, C : ouverture de la cage thoracique, D: récupération des organes cibles



traitement des organes après récupération



Les organes prélevés (A : foie, B : reins ; C : cerveau ; D :ovaires ; E : utérus ; F : thyroïde)

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST/GOT)

COD 21531 8 x 60 mL + 8 x 15 mL	COD 23531 4 x 60 mL + 4 x 15 mL
Only for in vitro use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST/GOT) IFCC

INTENDED USE

Reagent for the measurement of aspartate aminotransferase (AST or GOT) concentration in human serum or plasma. The obtained values are useful as an aid in the diagnosis and monitoring of disorders of liver diseases, especially acute ones.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers or in other analyzer with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The aminotransferases catalyze the formation of glutamic acid from 2-oxoglutarate by transfer of amino groups. AST is found in highest concentration in the liver and heart muscle but it is also abundant in skeletal muscle, kidney and pancreas.

The serum concentration of AST is elevated in hepatitis and other forms of hepatic disease associated with necrosis: infectious mononucleosis, cholestasis, cirrhosis, metastasic carcinoma of the liver, delirium tremens, and after administration of various drugs[1,2].

Serum AST concentration is also elevated after myocardial infarction, in sketetal muscle disease (as progressive muscular distrophy). In acute pancreatitis or hemolytic disease and other[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Aspartate aminotransferase (AST or GOT) catalyzes the transfer of the amino group from aspartate to 2-oxoglutarate, forming oxalacetate and glutamate. The catalytic concentration is determined from the rate of decrease of NADH, measured at 340 nm, by means of the malate dehydrogenase (MDH) coupled reaction[3-5].

$$\text{Aspartate} + 2\text{-Oxoglutarate} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxalacetate} + \text{Glutamate}$$

$$\text{Oxalacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malate} + \text{NAD}^+$$

CONTENTS

	COD 21531	COD 23531
A. Reagent	8 x 60 mL	4 x 60 mL
B. Reagent	8 x 15 mL	4 x 15 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Tris 121 mmol/L, L-aspartate 362 mmol/L, malate dehydrogenase > 460 U/L, lactate dehydrogenase > 660 U/L, pH 7.8.

WARNING: H315: Causes skin irritation. H319: Causes serious eye irritation. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P332+P313: If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

B. Reagent: NADH 1.9 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L, sodium hydroxide 148 mmol/L, sodium azide 9.5 g/L.

WARNING: H302: Harmful if swallowed. EUH031: Contact with acids liberates toxic gas. P301+P312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. P330: Rinse mouth.

For further warnings and precautions, see the product safety data sheet (SDS).

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank below the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

- Pyridoxal phosphate (BioSystems cod. 11666):
  C. Reagent: Pyridoxal phosphate AST 10 mmol/L, 5 mL.
- Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

Working Reagent A with Pyridoxal Phosphate (Note 1): Pour 0.6 mL of Reagent C (cod 11666). Into the Reagent A bottle. Mix gently. Stable for 6 days at 2-8°C and for 6 days in the refrigerated compartment of the analyzer.

SAMPLES

Serum and plasma collected by standard procedures.

Aspartate aminotransferase in serum and plasma is stable for 7 days at 2-8°C. Use heparin as anticoagulant[6].

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 2 months (6 days for Working Reagent with Pyridoxal Phosphate), after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Reaction temperature	37°C	30°C
Without pyr-P, up to[7]	40 U/L = 0.67 µkat/L	25 U/L = 0.42 µkat/L
With pyr-P, up to[1,4]	50 U/L = 0.83 µkat/L	30 U/L = 0.50 µkat/L

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 7.15 U/L = 0.119 µkat/L.
- Linearity limit: 500 U/L = 8.33 µkat/L.
- Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
41.5 U/L = 0.69 µkat/L	2.6 %	5.8 %
154 U/L = 2.55 µkat/L	1.0 %	2.7 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferences: Lipemia (triglycerides 2 g/L) interfere. Bilirubin (20 mg/dL) and Hemolysis (hemoglobin 50 mg/dL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[2].

NOTES

1. The IFCC recommended method specifies the addition of pyridoxal phosphate.

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en suero de la concentración catalítica de la aspartato aminotransferasa en plasma sanguíneo humano. Quím Clín 1987; 6: 235-239.
4. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40:725-733.
5. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. Clin Chem Lab Med 2010; 48: 615-621.
6. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. Clin Chim Acta 1985; 153: 241-247.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
8. Word Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2, 2002.

TEST PARAMETERS

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A, or Reagent A with Pyridoxal Phosphate, R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	AST-GOT	AST-GOT
Short name	AST/GOT	AST/GOT
Sample type	serum /plasma	serum /plasma
Analysis mode	kinetic bireagent	kinetic bireagent
Unit	U/L	U/L
Decimals	0	0
Reaction type	decreasing	decreasing
PROCEDURE		
Reading mode	monochromatic	monochromatic
Main filter	340	340
Reference filter	-	-
Sample	10.5	16.5
Vol. R1	160	160
Vol. R2	40	40
Reading 1 (cycle)	23	48
Reading 2 (cycle)	33	68
Predilution factor	-	-
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	1.400	1.400
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	500	500
Substrate depletion (✓/R/A/r)	✓/1.4/0.3	✓/1.4/0.3

M21531-07

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

07/2024
B0811128510ASTGOT0000006A

GLUCOSE

COD 11803 1 x 50 mL	COD 11503 1 x 200 mL	COD 91503 4 x 50 mL	COD 11504 1 x 500 mL	COD 11536 1 x 1 L	COD 91538 5 x 200 mL	COD 91504 4 x 100 mL
STORE AT 2-8°C						
Reagents for measurement of glucose concentration Only for *in vitro* use in the clinical laboratory						

BioSystems

CE

GLUCOSE
GLUCOSE OXIDASE/PEROXIDASE

PRINCIPLE OF THE METHOD

Glucose in the sample originates, by means of the coupled reactions described below, a coloured complex that can be measured by spectrophotometry[1].

$$\text{Glucose} + \tfrac{1}{2}\,O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{glucose oxidase}} \text{Gluconate} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + 4\text{-Aminoantipyrine} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{Quinoneimine} + 4\,H_2O$$

CONTENTS

	COD 11803	COD 11503	COD 91503	COD 11504	COD 11536	COD 91538	COD 91504
R. Reagent	1 x 50 mL	1 x 200 mL	4 x 50 mL	1 x 500 mL	1 x 1 L	5 x 200 mL	4 x 100 mL
S. Standard	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Phosphate 100 mmol/L, phenol 5 mmol/L, glucose oxidase > 10 U/mL, peroxidase > 1 U/mL, 4-aminoantipyrine 0.4 mmol/L, pH 7.5

S. Glucose/Urea/Creatinine Standard. Glucose 100 mg/dL (5.55 mmol/L), urea 50 mg/dL, creatinine 2 mg/dL. Aqueous primary standard.

STORAGE

Store at 2-8°C.

Reagent and Standard are stable until the expiry date shown on the label when stored tightly closed and if contaminations are prevented during their use.

Indications of deterioration:

- Reagent: Presence of particulate material, turbidity, absorbance of the blank over 0.160 at 500 nm (1 cm cuvette).
- Standard: Presence of particulate material, turbidity.

WARNING AND PRECAUTIONS

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents. Safety data sheet available for professional user on request. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines. Any serious incident that might occur in relation to the device shall be reported to BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.

REAGENT PREPARATION

Reagent and Standard are provided ready to use.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic water bath at 37°C
- Analyzer, spectrophotometer or photometer able to read at 500 ± 20 nm

SAMPLES

Serum or plasma collected by standard procedures. Serum or plasma must be separated from the red cells promptly to prevent glycolysis. The addition of sodium fluoride to the blood sample prevent glycolysis.

Glucose in serum or plasma is stable for 5 days at 2-8°C. Heparin, EDTA, oxalate and fluoride may be used as anticoagulants.

Cerebrospinal fluid collected by standard procedures. Cerebrospinal fluid may be contaminated with bacteria or other cells and should therefore be analyzed for glucose immediately.

PROCEDURE

1. Bring the Reagent to room temperature.
2. Pipette into labelled test tubes: (Note 1)

	Blank	Standard	Sample
Glucose Standard (S)	—	10 µL	—
Sample	—	—	10 µL
Reagent (A)	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

3. Mix thoroughly and incubate the tubes for 10 minutes at room temperature (16-25°C) or for 5 minutes at 37°C.
4. Measure the absorbance (A) of the Standard and the Sample at 500 nm against the Blank. The colour is stable for at least 2 hours.

CALCULATIONS

The glucose concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = C_{\text{Sample}}$$

If the Glucose Standard provided has been used to calibrate (Note 2):

$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}}$	x 100 = mg/dL glucose x 5.55 = mmol/L glucose

REFERENCE VALUES

Serum and plasma[2]:

Children, adult	60-100 mg/dL = 3.30-5.60 mmol/L

Cerebrospinal fluid[2]:

Adult	40-70 mg/dL = 2.22-3.89 mmol/L

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

According to the National Diabetes Data Group (US)[2], elevation of fasting plasma glucose values over 140 mg/dL (7.77 mmol/L) on more than one occasion is diagnostic of diabetes mellitus.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

- Detection limit: 0.23 mg/dL = 0.0126 mmol/L
- Linearity limit: 500 mg/dL = 27.5 mmol/L. For higher values dilute sample 1:4 with distilled water and repeat measurement.
- Repeatibility (within run):

Mean Concentration	CV	n
88 mg/dL = 4.84 mmol/L	1.2 %	20
326 mg/dL = 17.93 mmol/L	0.9 %	20

- Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV	n
88 mg/dL = 4.84 mmol/L	2.7 %	25
326 mg/dL = 17.93 mmol/L	1.9 %	25

- Sensitivity: 4 mV/dL/mg = 0.22 mA·L/mmol
- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents (Note 2). Details of the comparison experiments are available on request.
- Interferences: Hemolysis (hemoglobin up to 300 mg/dL), bilirubin (up to 10 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 125 mg/dL) do not interfere. Ascorbic acid (up to 25 mg/dL) does not interfere. Other drugs and substances may interfere[4].

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or a manual procedure are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Glucose is the major source of energy in the body. Insulin, produced by islet cells in the pancreas, facilitates glucose entry into the tissue cells. A deficiency of insulin or a decrease of its effectiveness increases blood glucose.

Elevated serum or plasma glucose concentration is found in diabetes mellitus (insulin dependent, non-insulin dependent) and in other conditions and syndromes[2,3].

Hypoglycemia can occur in response to fasting, or it may be due to drugs, poisons, inborn errors of metabolism or previous gastrectomy[2,5].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

NOTES

1. These reagents may be used in several automatic analysers. Specific instructions for application in many of them are available on request.
2. Calibration with the provided aqueous standard may cause a matrix related bias, specially in some analyzers. In these cases, it is recommended to calibrate using a serum based standard (Biochemistry Calibrator, cod. 18011 and 18044).

BIBLIOGRAPHY

1. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-27.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2012.
3. National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979; 28:1039-1057.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

M11503i-18.2

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

02/2020
B0811138510GLUCOS0000203R

GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE (γ-GT)

COD 21520 4 x 60 mL + 4 x 15 mL	COD 23520 2 x 60 mL + 2 x 15 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE (γ-GT)
IFCC

INTENDED USE

Reagent for the measurement of gamma-glutamyltransferase (γ-GT) concentration in human serum or plasma. The obtained values are useful as an aid in the diagnosis and monitoring of hepatobiliary diseases and alcoholism.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers or in other analyzer with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Gamma-glutamyl transferase is found in highest concentration in liver, the renal tubules and intestines although it is also present in other tissues such as the pancreas, prostate, salivary glands, seminal vesicles, brain and heart.

Gamma-glutamyl activity is elevated in any and all forms of liver disease, showing highest values in cases of intra or posthepatic biliary obstruction. High elevations are also observed in patients with metastatic neoplasm of the liver. In pancreatitis and some pancreatic malignancies, enzyme activity may be moderately elevated[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Gamma-glutamyltransferase (γ-GT) catalyzes the transfer of the γ-glutamyl group from γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide to glycylglycine, liberating 3-carboxy-4-nitroaniline. The catalytic concentration is determined from the rate of 3-carboxy-4-nitroaniline formation[3,6].

γ – Glutamyl – 3 – carboxy – 4 – nitroanilide + Glycylglycine $\xrightarrow{\gamma\text{-GT}}$ γ – Glutamyl – glycylglycine + 3 – carboxy – 4 - nitroaniline

CONTENTS

	COD 21520	COD 23520
A. Reagent	4 x 60 mL	2 x 60 mL
B. Reagent	4 x 15 mL	2 x 15 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Glycylglycine 205.25 mmol/L, sodium hydroxide 130 mmol/L, pH 7.9.

WARNING: H315: Causes skin irritation. H319: Causes serious eye irritation. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P332+P313: If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

B. Reagent: γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 32.5 mmol/L.

WARNING: P302+P352 - IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. P362 - Take off contaminated clothing and wash before reuse.

For further warnings and precautions, see the product safety data sheet (SDS).

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank over the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum and plasma collected by standard procedures.

Gamma-glutamyltransferase in serum and plasma is stable for 5 days at 2-8°C. Use heparin or EDTA as anticoagulant.

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 2 months, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Reaction temperature	Men		Women	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
25°C	< 22	< 0.37	< 15	< 0.25
30°C	< 35	< 0.59	< 24	< 0.40
37°C[1]	< 55	< 0.92	< 38	< 0.64

Values at 25°C and 30°C are obtained from those at 37°C by using a conversion factor. These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 3.07 U/L = 0.052 µkat/L.
- Linearity limit: 600 U/L = 10.0 µkat/L.
- Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
34 U/L = 0.57 µkat/L	2.3 %	4.2 %
137 U/L = 2.27 µkat/L	0.6 %	2.3 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Interferences: bilirubin (up to 10 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 500 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 400 mg/dL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[4].

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co. 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests. 4th ed. AACC Press, 2001.
3. IFCC Primary reference Procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of γ-Glutamyltransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:734-738.
4. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 615-621.
5. Beleta J, Gella FJ. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentracion catalítica de la γ-glutamiltransferasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1990; 9:58-61.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A, R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	GAMMA-GT	GAMMA-GT
Short name	GGT	GGT
Sample type	serum / plasma	serum / plasma
Analysis mode	kinetic bireagent	kinetic bireagent
Unit	U/L	U/L
Decimals	0	0
Reaction type	increasing	increasing
PROCEDURE		
Reading mode	monochromatic	monochromatic
Main filter	405	405
Reference filter	-	-
Sample	20	20
Vol. R1	160	160
Vol. R2	40	40
Reading 1 (cycle)	22	43
Reading 2 (cycle)	29	57
Predilution factor	-	-
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	1.450	1.450
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	500	600
Substrate depletion	-	-

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

M21520-07

11/2021
89061138510GAMAGT000019CK

ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT)

COD 21533 8 x 60 mL + 8 x 15 mL	COD 23533 4 x 60 mL + 4 x 15 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

ALANINE AMINOTRANSFERASE
(ALT/GPT)
IFCC

INTENDED USE

Reagent for the measurement of alanine aminotransferase (ALT or GPT) concentration in human serum or plasma. The obtained values are useful as an aid in the diagnosis and monitoring of disorders of liver diseases, especially acute ones.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers or in other analyzer with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The aminoatransferases catalyze the formation of glutamic acid from 2-oxoglutarate by transfer of amino groups. ALT is normally present in various tissues but its higher concentrations are found in liver and kidney.

The serum concentration of ALT is elevated in hepatitis and other forms of hepatic disease associated with necrosis: infectious mononucleosis, cholestasis, cirrhosis, metastasic carcinoma of the liver, delirium tremens, and after administration of various drugs, such as opiates, salicilates or ampicillin[1,2].

Serum ALT concentration can also be elevated in skeletal or cardiac muscle disease[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Alanine aminotransferase (ALT or GPT) catalyzes the transfer of the amino group from alanine to 2-oxoglutarate, forming pyruvate and glutamate. The catalytic concentration is determined from the rate of decrease of NADH, measured at 340 nm, by means of the lactate dehydrogenase (LDH) coupled reaction[3,6].

Alanine + 2 - Oxoglutarate $\xrightarrow{\text{ALT}}$ Pyruvate + Glutamate

Pyruvate + NADH + H$^+$ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ Lactate + NAD$^+$

CONTENTS

	COD 21533	COD 23533
A. Reagent	8 x 60 mL	4 x 60 mL
B. Reagent	8 x 15 mL	4 x 15 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Tris 150 mmol/L, L-alanine 750 mmol/L, lactate dehydrogenase > 1350 U/L, pH 7.3.

B. Reagent: NADH 1.9 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L, sodium hydroxide 148 mmol/L, sodium azide 9.5 g/L.

WARNING: H302: Harmful if swallowed. EUH031: Contact with acids liberates toxic gas. P301+P312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. P330: Rinse mouth.

For further warnings and precautions, see the product safety data sheet (SDS).

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank below the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

- Pyridoxal phosphate (BioSystems cod. 11666):
  C. Reagent: Pyridoxal phosphate ALT 10 mmol/L, 5 mL.
- Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

Working Reagent A with Pyridoxal Phosphate (Note 1): Pour 0.6 mL of Reagent C (cod 11666). Into the Reagent A bottle. Mix gently. Stable for 6 days at 2-8°C and for 6 days in the refrigerated compartment of the analyzer.

SAMPLES

Serum and plasma collected by standard procedures.

Alanine aminotransferase in serum and plasma is stable for 7 days at 2-8°C. Use heparin or EDTA as anticoagulant[5].

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 2 months (6 days for Working Reagent with Pyridoxal Phosphate), after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Reaction temperature	37°C	30°C
Without pyr-P, up to[1,5]	41 U/L = 0.68 µkat/L	29 U/L = 0.48 µkat/L
With pyr-P, up to[3,4]	65 U/L = 1.08 µkat/L	35 U/L = 0.58 µkat/L

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 8.5 U/L = 0.14 µkat/L.
- Linearity limit: 500 U/L = 8.33 µkat/L.
- Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
40.2 U/L = 0.67 µkat/L	3.9 %	5.0 %
133 U/L = 2.21 µkat/L	1.2 %	1.4 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferences: bilirubin (up to 20 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 1000 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 200 mg/dL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[7].

NOTES

1. The IFCC recommended method specifies the addition of pyridoxal phosphate.

BIBLIOGRAPHY

1. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co. 2005.
3. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1997; 6: 241-244.
4. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 718-724.
5. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 615-621.
6. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta* 1985; 153: 241-247.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
8. Word Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2. 2002.

TEST PARAMETERS

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A, or Reagent A with Pyridoxal Phosphate, R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	ALT-GPT	ALT-GPT
Short name	ALT	ALT
Sample type	serum / plasma	serum / plasma
Analysis mode	kinetic bireagent	kinetic bireagent
Unit	U/L	U/L
Decimals	0	0
Reaction type	decreasing	decreasing
PROCEDURE		
Reading mode	monochromatic	monochromatic
Main filter	340	340
Reference filter	-	-
Sample	16.5	16.5
Vol. R1	160	160
Vol. R2	40	40
Reading 1 (cycle)	23	46
Reading 2 (cycle)	33	66
Predilution factor	-	-
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	1.400	1.400
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	500	500
Substrate depletion (✓/A₀/A₇)	✓/1.4/0.3	✓/1.4/0.3

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

M21533-07

05/2022
89061138510ALTGPT000001XP

PROTEN (TOTAL)

COD 11600 1 x 50 mL	COD 11500 2 x 250 mL	COD 11572 1 x 250 mL	COD 11553 1 x 1 L	COD 91800 2 x 50 mL
STORE AT 2-30°C				
Reagents for measurement of protein concentration Only for *in vitro* use in the clinical laboratory				

BioSystems

CE

PROTEN (TOTAL)
BIURET

PRINCIPLE OF THE METHOD

Protein in the sample reacts with copper (II) ion in alkaline medium forming a coloured complex that can be measured by spectrophotometry[1].

CONTENTS

	COD 11600	COD 11500	COD 11572	COD 11553	COD 91800
A. Reagent	1 x 50 mL	2 x 250 mL	1 x 250 mL	1 x 1 L	2 x 50 mL
S. Standard	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL

COMPOSITION

A. Reagent. Copper (II) acetate 6 mmol/L, potassium iodide 12 mmol/L, sodium hydroxide 1.15 mol/L, detergent.

DANGER: H314: Causes severe skin burns and eye damage. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P303+P361+P353: IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.

S. Protein Standard. Bovine albumin. Concentration is given on the label. Concentration value is traceable to the Standard Reference Material 927 (National Institute of Standards and Technology, USA).

For further warnings and precautions, see the product safety data sheet (SDS).

STORAGE

Reagent (A): Store at 2-30°C.

Protein Standard (S): Store at 2-30°C, once opened.

Reagent and Standard are stable until the expiry date shown on the label when stored tightly closed and if contaminations are prevented during their use.

Indications of deterioration:

– Reagent: Presence of particulate material, turbidity, absorbance of the blank over 0.150 at 545 nm.

– Standard: Presence of particulate material, turbidity.

REAGENT PREPARATION

Reagent and Standard are provided ready to use.

ADDITIONAL EQUIPMENT

– Analyzer, spectrophotometer or photometer able to read at 545 ± 10 nm.

SAMPLES

Serum or heparinized plasma collected by standard procedures. Stable for 4 weeks at 4-8°C[2].

Anticoagulants other than heparin should not be used.

PROCEDURE

1. Pipette into labelled test tubes: (Note 1)

	Blank	Standard	Sample
Distilled water	20 µL	—	—
Protein Standard (S)	—	20 µL	—
Sample	—	—	20 µL
Reagent (A)	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

2. Mix thoroughly and let stand the tubes for 10 minutes at room temperature.
3. Read the absorbance (A) of the Standard and the Sample at 545 nm against the Blank. The colour is stable for at least 2 hours.

CALCULATIONS

The protein concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{A_{Sample}}{A_{Standard}} \times C_{Standard} = C_{Sample}$$

REFERENCE VALUES

Serum, adults[2]:

Ambulatory	64-83 g/L
Recumbent	60-78 g/L

Concentrations are lower in child. Plasma total protein concentration is 2 to 4 g/L higher due to the presence of fibrinogen as well as some other trace proteins[3].

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

– Detection limit: 4.6 g/L

– Linearity limit: 150 g/L. For higher values dilute sample 1/2 with distilled water and repeat measurement.

– Repeatibility (within run):

Mean Concentration	CV	n
44 g/L	1,1 %	20
57 g/L	0,9 %	20

– Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV	n
44 g/L	1,8 %	25
57 g/L	1,9 %	25

– Sensitivity: 5 mA·L/g

– Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents (Note 2). Details of the comparison experiments are available on request.

– Interferences: Hemoglobin (2.5 g/L) and lipemia interfere. Bilirubin (20 mg/dL) does not affect the results. Other drugs and substances may interfere[4].

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or a manual procedure are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Most of the plasma proteins are synthesized by the liver. The major exception to this is the immunoglobulins which are produced by plasma cells found in the spleen, lymph nodes and bone marrow.

The two general causes of alterations of serum total protein are a change in the volume of plasma water and a change in the concentration of one or more of the serum proteins.

Hyperproteinemia can be caused by dehydration (inadequate water intake, severe vomiting, diarrhea, Addison's disease, diabetic acidosis) or as a result of an increase in the concentration of specific proteins (immunoglobulins in chronic infections, multiple myeloma)[3,5].

Hypoproteinemia may be caused by hemodilution (salt retention syndromes, massive intravenous infusions), by an impaired synthesis (severe malnutrition, chronic liver disease, intestinal malabsorptive disease), or by an excessive protein loss due to a chronic kidney disease or severe burns[3,5].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

NOTES

1. This reagent may be used in several automated analysers. Instructions for many of them are available on request.
2. Calibration with the provided aqueous standard may cause a matrix related bias, specially in some analyzers. In these cases, it is recommended to calibrate using a serum based standard (Biochemistry Calibrator, cod. 18011 and 18044).

BIBLIOGRAPHY

1. Gornall AG, Bardawill CS, David MM. Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
2. Word Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1. Rev.2: 2002. http://www.who.int/iris/handle/10665/65957.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

M11509-24.1

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

02/2021
8906113851OPROTOT000024TJ

ALKALINE PHOSPHATASE (ALP)-AMP

COD 21592 4 x 60 mL + 4 x 15 mL	COD 23592 1 x 60 mL + 1 x 15 mL	COD 93592 2 x 60 mL + 2 x 15 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory		

BioSystems

CE

ALKALINE PHOSPHATASE (ALP)-AMP
2-AMINO-2-METHYL-1-PROPANOL BUFFER (IFCC)

INTENDED USE

Reagent for the measurement of alkaline phosphatase (ALP)-AMP concentration in human serum or plasma. The obtained values are useful as an aid in the diagnosis and treatment of hepatobiliary and bone diseases with impaired osteoblastic activity diseases.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers or in other analyzer with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Alkaline phosphatase catalyzes the hydrolysis of organic phosphate monoesters at alkaline pH. The enzyme is present in practically all tissues of the body, especially at or in the cell membranes, and it occurs at particularly high concentrations in placenta, intestinal epithelium, kidney tubules, osteoblasts and liver.

The form present in the sera of normal adults originates mainly in the liver and bone.

Elevated serum ALP is found in patients with bone disease associated with increased osteoblastic activity (Paget's disease, primary and secondary hyperparathyroidism, bone tumors, rickets, osteomalacia, bone fractures) and also in patients with hepatobiliary disease (obstructive jaundice, hepatitis, hepatotoxicity caused by drugs, liver cancer). Physiological changes, such as bone growth and pregnancy, may cause increases in ALP levels[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Alkaline phosphatase (ALP) catalyzes in alkaline medium the transfer of the phosphate group from 4-nitrophenylphosphate to 2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP), liberating 4-nitrophenol. The catalytic concentration is determined from the rate of 4-nitrophenol formation, measured at 405 nm[3].

$$\text{4 – Nitrophenylphosphate + AMP} \xrightarrow{\text{ALP}} \text{AMP – phosphate + 4 - Nitrophenol}$$

CONTENTS

	COD 21592	COD 23592	COD 93592
A. Reagent	4 x 60 mL	1 x 60 mL	2 x 60 mL
B. Reagent	4 x 15 mL	1 x 15 mL	2 x 15 mL

COMPOSITION

A. Reagent: 2-Amino-2-methyl-1-propanol 0.4 mol/L, zinc sulfate 1.2 mmol/L, N-hydroxyethylethylenediaminetriacetic acid 2.5 mmol/L, magnesium acetate 2.5 mmol/L, pH 10.4.

B. Reagent: 4-Nitrophenylphosphate 60 mmol/L.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank over the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum and plasma collected by standard procedures.

Alkaline phosphatase in serum or plasma is stable for 7 days at 2-8°C. Heparin may be used as anticoagulant.

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 20 days, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Reaction temperature	men	women
25°C, up to	75 U/L = 1.25 µKat/L	68 U/L = 1.13 µKat/L
30°C, up to[4]	87 U/L = 1.45 µKat/L	80 U/L = 1.33 µKat/L
37°C, up to[4]	115 U/L = 1.92 µKat/L	105 U/L = 1.75 µKat/L

Values at 25°C are obtained from those at 30°C by using a conversion factor. Concentrations in growing children are higher and highly variable.

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

– Detection limit: 19.2 U/L = 0.320 µkat/L

– Linearity limit: 1200 U/L = 20 µkat/L.

– Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
134 U/L = 2.23 µkat/L	1.4 %	2.5 %
205 U/L = 3.40 µkat/L	0.9 %	1.8 %

– Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

– Interferences: bilirubin (up to 30 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 500 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 1625 mg/dL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[5].

BIBLIOGRAPHY

1. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2006.
3. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49:1439-1446.
4. Rosalki SB, Foo AY, Burtina A, at al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clin Chem* 1993; 39:648-652.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A, R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	ALP-AMP	ALP-AMP
Short name	ALP-AMP	ALP-AMP
Sample type	serum / plasma	serum / plasma
Analysis mode	kinetic bireagent	kinetic bireagent
Unit	U/L	U/L
Decimals	0	0
Reaction type	increasing	increasing
PROCEDURE		
Reading mode	monochromatic	monochromatic
Main filter	405	405
Reference filter	-	-
Sample	6	6
Vol. R1	240	240
Vol. R2	60	60
Reading 1 (cycle)	21	43
Reading 2 (cycle)	31	63
Prediluition factor	-	-
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	1,200	1,200
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	1200	1200
Substrate depletion	-	-

M21593-05.1

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

12/2018
8906113851OALPAMP000005L4

BILIRUBIN (TOTAL)

COD 21506 8 x 60 mL + 8 x 15 mL	COD 23506 4 x 60 mL + 4 x 15 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

BILIRUBIN (TOTAL)
DICHLOROPHENYL DIAZONIUM

INTENDED USE

Reagent for the quantitative measurement of total bilirubin concentration in human serum for monitoring the evolution of jaundice in adult population. For in vitro professional use in the clinical laboratory only.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

A number of inherited and acquired diseases affect production, uptake, metabolism, and excretion of bilirubin, resulting in hyperbilirubinemia[1,2].

Unconjugated hyperbilirubinemia is seen in increased red cell destruction (hemolytic anemia, extensive hematoma), in ineffective erythropoiesis and in some rare genetic diseases (Gilbert's syndrome, Crigler-Najjar syndrome).

Conjugated hyperbilirubinemia is associated to a decreased excretion of bile due to liver diseases (hepatitis or cirrhosis) or to intrahepatic or extrahepatic cholestasis.

Jaundice is a clinical manifestation of hyperbilirubinemia, consisting of deposition of bile pigments in the skin, resulting in a yellowish staining of the skin and mucous membranes.

Based on clinical guidelines and textbooks, and when used in conjunction with other diagnostic technologies and options, this medical information is useful for the assessment of bilirubin variations. Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Direct bilirubin in the sample reacts with 3,5-dichlorophenyl diazonium salt forming a coloured complex that can be measured by spectrophotometry at 535 nm[3]. Both direct and indirect bilirubin couple with diazo in the presence of cetrimide[4,5]. The terms "direct" and "total" refer to the reaction characteristics of serum bilirubin in the absence or presence of solubilizing (accelerating) reagents. The "direct" and "indirect" bilirubin are only approximately equivalent to the conjugated and unconjugated fractions.

CONTENTS

	COD 21506	COD 23506
A. Reagent	8 x 60 mL	4 x 60 mL
B. Reagent	8 x 15 mL	4 x 15 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Phosphoric acid 188 mmol/L, cetrimide 40 mmol/L, pH 0,9.

DANGER: H314: Causes severe skin burns and eye damage. P260: Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P303+P361+P353: IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

B. Reagent: 3,5-dichlorophenyl diazonium 1,5 mmol/L.

DANGER: H314: Causes severe skin burns and eye damage. P260: Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P303+P361+P353: IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further warnings and precautions, see the product safety data sheet (SDS).

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 3 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank over the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum and plasma collected by standard procedures. Heparin and EDTA may be used as anticoagulants.

Bilirubin concentration in serum and plasma is stable for 1 day at 20-25°C, 7 days at 4-8°C and 6 months at -20°C if protected from light[6].

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 3 months, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Adults[7]:

Total:	Up to 2.0 mg/dL = 34 µmol/L

Newborns[7]:

Age	premature	full-term
Up to 24 h	1.0 - 8.0 mg/dL = 17 - 137 µmol/L	2.0 - 6.0 mg/dL = 34 - 103 µmol/L
Up to 48 h	6.0 - 12.0 mg/dL = 103 - 205 µmol/L	6.0 - 10 mg/dL = 103 - 171 µmol/L
3 - 5 days	10 - 14 mg/dL = 171 - 239 µmol/L	4.0 - 8.0 mg/dL = 68 - 137 µmol/L

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 0.109 mg/dL = 1.86 µmol/L.
- Linearity limit: 38 mg/dL = 650 µmol/L.
- Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Imprecision total (CV)
1.99 mg/dL = 34.0 µmol/L	1.4 %	3.1 %
4.53 mg/dL = 77.5 µmol/L	1.0 %	2.5 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferences: hemolysis (hemoglobin up to 250 mg/dL) do not interfere. Lipemia (triglycerides 1300 mg/dL) interfere. Other drugs and substances may interfere[3].

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Thaler M, Luppa PB and Schlebusch H. Bilirubin measurement – an updated survey. J Lab Med 2008; 32:1-9.
4. Zoppi F, Peracino A, Ferilli D, Marcovina S and Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirubina totale e coniugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante. Giorn It Chim Cl 1976; 1:343-356.
5. Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
6. WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2: 2002.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A.

R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	BILIRUBIN TOTAL	BILIRUBIN TOTAL
Short name	T-BIL	T-BIL
Sample type	Serum / plasma	Serum / plasma
Analysis mode	differential bireagent	differential bireagent
Unit	mg/dL	mg/dL
Decimals	2	2
Reaction type	increasing	Increasing
PROCEDURE		
Reading mode	bichromatic	bichromatic
Main filter	535	535
Reference filter	670	670
Sample	6	6
Vol. R1	240	240
Vol. R2	60	60
Reading 1 (cycle)	17	35
Reading 2 (cycle)	33	67
Prédilution factor	-	-
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	0.050	0.050
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	38	38
Substrate depletion	-	-

M21506-05

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

03/2023
8906113851OBITDPD000011KD

ALBUMIN

COD 21547 10 x 60 mL	COD 23547 4 x 60 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

ALBUMIN
BROMOCRESOL GREEN

INTENDED USE

Reagent for the measurement of albumin concentration in human serum or plasma for the assessment of its imbalance.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers.

CLINICAL BENEFIT

Hyperalbuminemia is of little diagnostic significance except in dehydration[1].

Hypoalbuminemia is found as a result of several factors: reduced synthesis caused by liver diseases; reduced absorption of amino acids due to malabsorption syndromes or malnutrition; increased catabolism as a result of inflammation or tissue damage; altered distribution between intravascular and extravascular space due to increased capillary permeability, overhydration or ascites; abnormal losses caused by renal disease (nephrotic syndrome, diabetes mellitus, chronic glomerulonephritis, systemic lupus erythematosus), gastrointestinal tract disease (ulcerative colitis, Crohn's disease) or skin damage (exfoliative dermatitis, extensive burns); congenital absence of albumin or analbuminemia[1,2].

Albumin plasma concentrations, although important for management and follow-up, have very little value in diagnosis[1]. Based on clinical guidelines and textbooks, and when used in conjunction with other diagnostic technologies and options, this medical information is useful for the assessment of albumin imbalance.

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Albumin in the sample reacts with bromocresol green in acid medium forming a coloured complex that can be measured by spectrophotometry[3].

CONTENTS

	COD 21547	COD 23547
A. Reagent	10 x 60 mL	4 x 60 mL

COMPOSITION

A. Reagent. Acetate buffer 100 mmol/L, bromocresol green 0.27 mmol/L, detergent, pH 4.1.

WARNING: H317: May cause an allergic skin reaction. P261: Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P302+P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P333+P313: If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. P362: Take off contaminated clothing and wash before reuse.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank over the limit indicated in "Test Parameters".

WARNING AND PRECAUTIONS

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents. Safety data sheet available for professional user on request. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines. Any serious incident that might occur in relation to the device shall be reported to BioSystems S.A.

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum or plasma (EDTA, citrate or heparin) collected by standard procedures.

Albumin in serum is stable for 3 days at 2-8°C.

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 2 months, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Serum and plasma[2]:

Newborn, 2 to 4 days	28-44 g/L
4 days to 14 years	38-54 g/L
Adult	35-52 g/L
> 60 years	32-46 g/L

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 1.43 g/L. Quantification limit: 3.72 g/L.
- Linearity limit: 70 g/L. Measuring range: 3.72 – 70 g/L. For samples with higher values, dilute manually or refer to the Test Parameterization for Automatic dilution (note that all these samples will be diluted with the same dilution ratio).
- Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
8.04 g/L	4.9 %	5.9 %
38.4 g/L	0.8 %	1.2 %
57.1 g/L	0.7 %	1.1 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Albumin values for human serum and plasma samples obtained on BA400 analyzer (y) were compared with those determined on a Roche Cobas 8000 analyzer (x). Serum: Sample size (n)=118; Linear regression y=0.08+0.996x, r=0.993. Plasma: Sample size (n)=127; Linear regression y=-0.8+1.03x, r=0.988. The sample concentrations were between 6 and 58 g/L.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferences: Bilirubin (up to 30 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 400 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 655 mg/dL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[4].

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2012.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
3. Doumas BT, Watson WA and Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta* 1971: 31: 87-96.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS

R1: use Reagent A.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	ALBUMIN	ALBUMIN
Short name	ALB	ALB
Sample type	serum / plasma	serum / plasma
Analysis mode	endpoint monoreagent	endpoint monoreagent
Unit	g/L	g/L
Decimals	0	0
Reaction type	increasing	increasing
PROCEDURE		
Reading mode	bichromatic	bichromatic
Main filter	635	635
Reference filter	670	670
Sample	3	3
Vol. R1	300	300
Vol. R2	-	-
Reading 1 (cycle)	4	8
Reading 2 (cycle)	-	-
Prédilution factor	-	-
Reduced factor	2	2
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	0.200	0.200
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	70	70
Substrate depletion	-	-

M21547-06

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

01/2023
8906113851OALBUMI000002HV

UREA/BUN-UV

COD 21516 8 x 60 mL + 8 x 15 mL	COD 23516 4 x 60 mL + 4 x 15 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

UREA/BUN - UV
UREASE / GLUTAMATE DEHYDROGENASE

INTENDED USE

Reagent for the measurement of urea concentration in human serum, plasma or urine. The obtained values are useful as an aid in the diagnosis and treatment of chronic renal failure, and to evaluate the function of renal glomerulus.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Urea is synthesized in the liver as a by-product of the deamination of amino acids. Its elimination in the urine represents the major route for nitrogen excretion.

Elevated urea concentration in plasma is found as a result of a high-protein diet, increased protein catabolism, after a gastrointestinal hemorrhage, mild dehydration, shock and heart failure or treatment with glucocorticoids (pre-renal uremia)[1,2].

Post-renal uremia is caused by conditions that obstruct urine outflow: nephrolithiasis, tumor or prostatic hypertrophy. The usefulness of urea as an indicator of renal function is limited by the variability of its plasma concentration as a result of nonrenal factors[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Urea in the sample consumes, by means of the coupled reactions described below, NADH that can be measured by spectrophotometry[3,4].

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{urease}} 2NH_4^+ + CO_2$$

$$NH_4^+ + \text{NADH} + H^+ + 2\text{-oxoglutarate} \xrightarrow[\text{dehydrogenase}]{\text{glutamate}} \text{Glutamate} + \text{NAD}^+$$

CONTENTS

	COD 21516	COD 23516
A. Reagent	8 x 60 mL	4 x 60 mL
B. Reagent	8 x 15 mL	4 x 15 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Tris 100 mmol/L, 2-oxoglutarate 5.6 mmol/L, urease > 140 U/mL, glutamate dehydrogenase > 140 U/mL, ethyleneglicol 220 g/L, sodium azide 0.95, pH 8.0.

B. Reagent: NADH 1.5 mmol/L, sodium azide 9.5 g/L.

WARNING: H302: Harmful if swallowed. EUH031: Contact with acids liberates toxic gas. P301+P312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. P330: Rinse mouth.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 30 days.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank below the limit indicated in "Test Parameters".

WARNING AND PRECAUTIONS

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents. Safety data sheet available for professional user on request. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines. Any serious incident that might occur in relation to the device shall be reported to BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum, plasma or urine collected by standard procedures.

Urea in serum or plasma is stable for 7 days at 2-8°C. Heparin is recommended as anticoagulant[5].

Urea in urine is stable for 2 days at room temperature if microbial growth is prevented[5].

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 30 days, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, cod. 18009 and cod. 18042) and II (cod. 18007, cod. 18010 and 18043) and the Biochemistry Control Urine (cod. 18054 and cod. 18066) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Serum and plasma[1]: 12.8 - 42.8 mg/dL urea = 6 - 20 mg/dL BUN = 2.14 - 7.14 mmol/L urea. Concentrations in the neonatal period are lower, and in adults over 60 years of age are higher than in adults. Concentrations also tend to be slightly higher in males than in females.

Urine[1]: 26 - 43 g/24-h urea = 12 - 20 g/24 h BUN = 428 - 714 mmol/24-h urea

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 3.69 mg/dL urea = 1.72 mg/dL BUN = 0.614 mmol/L urea.
- Linearity limit: 300 mg/dL urea = 140 mg/dL BUN = 50 mmol/L urea. For samples with higher values, dilute manually or refer to the Test Parameterization for Automatic dilution (note that all these samples will be diluted with the same dilution ratio).
- Precision:

Serum, Mean urea concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
26.8 mg/dL = 4.47 mmol/L	3.5 %	5.0 %
137 mg/dL = 22.9 mmol/L	1.1 %	1.7 %
Urine, Mean urea concentration	**Repeatability (CV)**	**Within-laboratory (CV)**
1291 mg/dL = 215 mmol/L	3.1 %	4.3 %
1771 mg/dL = 295 mmol/L	2.9 %	3.1 %

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Interferences: bilirubin (up to 30 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 500 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 1625 mg/dL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[6].

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co. 2012
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Talke H and Schubert GE. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serm im optischen test nach Warburb. *Klinische Wochenschrift* 1965; 43: 174-175.
4. Gutmann I, Bergmeyer HU. Methods of enzymatic Analysis, ed Bergmeyer HU. Academic Press, NY, 1974; 4:1794-1798.
5. World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2: 2002.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS

R1: use Reagent A.

R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	UREA-BUN-UV	UREA-BUN-UV
Short name	UREA	UREA
Sample type	serum / plasma / urine	serum / plasma / urine
Analysis mode	fixed-time bireagent	fixed-time bireagent
Unit	mg/dL	mg/dL
Decimals	0	0
Reaction type	decreasing	decreasing
PROCEDURE		
Reading mode	monochromatic	monochromatic
Main filter	340	340
Reference filter	-	-
Sample	2	2
Vol. R1	240	240
Vol. R2	60	60
Reading 1 (cycle)	20	40
Reading 2 (cycle)	23	45
Predilution factor	- / - / 50	- / - / 50
Reduced factor	10	10
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	1.100	1.100
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	300 / 300 / 15000	300 / 300 / 15000
Substrate depletion (✓/A/Ar)	✓/1.1/0.3	✓/1.1/0.3

M21516I-09

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

12/2021
8906113851UREAUV000023FJ

CREATININE

COD 21502 5 x 60 mL + 5 x 60 mL	COD 23502 5 x 20 mL + 5 x 20 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

CREATININE
JAFFÉ COMPENSATED

INTENDED USE

Reagent for the measurement of creatinine concentration in human serum, plasma or urine. The obtained values are useful as an aid in diagnosis and treatment of renal diseases.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers or in other analyzer with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Creatinine is a catabolic end product of creatine (or phosphocreatine). The amount produced each day is related to the muscle mass. Creatinine is freely filtered by the glomerulus (small amounts are reabsorbed and are also secreted by the renal tubules).

Creatinine measurement is used almost exclusively in the assessment of kidney function (impaired renal perfusion, loss of functioning nephrons) and in the monitoring renal dialysis[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Creatinine in the sample reacts with picrate in alkaline medium forming a coloured complex (Jaffé method). The complex formation rate is measured in a short period to avoid interferences[3,4]. Serum and plasma samples contain proteins that react in a non specific way; nevertheless, the results can be corrected subtracting a fixed value. The use of this correction is known as the Jaffé method compensated[5,6].

CONTENTS

	COD 21502	COD 23502
A. Reagent	5 x 60 mL	5 x 20 mL
B. Reagent	5 x 60 mL	5 x 20 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Sodium hydroxide 0.4 mol/L, detergent.

WARNING: H315: Causes skin irritation. H319: Causes serious eye irritation. P260: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P332+P313: If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

B. Reagent: Picric acid 25 mmol/L.

For further warnings and precautions, see the product safety data sheet (SDS).

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-30°C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer at 2-8°C are stable 30 days.

Indications of deterioration: Reagents: RA is a NaOH solution with high concentration. In some storage conditions (i.e. storage at a lower temperature than indicated) a precipitate may appear in the vial that will not affect the reagent performance and will disappear with a slight rotation of the vial before carrying out the analysis. RB, presence of particulate material, turbidity. Absorbance of the blank over the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum, plasma or urine collected by standard procedures. Heparin, EDTA, oxalate and fluoride may be used as anticoagulants.

Creatinine in samples is stable for 1 day at 2-8°C.

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 9 days, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, cod. 18009 and cod. 18042) and II (cod. 18007, cod. 18010 and cod. 18043) and the Biochemistry Control Urine (cod. 18054 and cod. 18066) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

Serum and plasma[3]:

Men: 0.7 - 1.2 mg/dL = 62 - 106 µmol/L

Women: 0.5 - 0.9 mg/dL = 44 - 80 µmol/L

Urine[3]:

Men: 14 - 26 mg/kg/24-h = 124 - 230 µmol/kg/24-h

Women: 11 - 20 mg/kg/24-h = 97 - 177 µmol/kg/24-h

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 0.04 mg/dL = 3.55 µmol/L.
- Linearity limit: 20 mg/dL = 1768 µmol/L.
- Precision:

Serum, Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
1.06 mg/dL = 94 µmol/L	3.2 %	4.8 %
3.16 mg/dL = 280 µmol/L	1.2 %	2.2 %
Urine, Mean concentration	**Repeatability (CV)**	**Within-laboratory (CV)**
142 mg/dL = 12525 µmol/L	0.8 %	1.1 %
284 mg/dL = 25050 µmol/L	0.6 %	1.2 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferences: bilirubin (up to 10 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 1000 mg/dL), lipemia (triglycerides up to 200 mg/dL) and protein and ketonic bodies do not interfere. High concentration of reducing compounds may interfere. Other drugs and substances may interfere[6].

NOTE

For measurement in serum or plasma, introduce corrective value for the reaction of nonspecific proteins as a factor in the equation of the instrument y = ax + b, where a = 1.0 and b = -0.37 (mg/dL), or a = 1.0 and b = -33 (µmol/L)[5,6].

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Bartels H, Böhmer M. Eine mikromethode zur kreatininbestimmung. *Clin Chim Acta* 1971; 32: 81-85.
4. Fabiny DL, Ertingshausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with CentrifiChem. *Clin Chem* 1971; 17: 696-700.
5. Weber JA, Van Zanten AP. Interferences in current methods for measurements of creatinine. *Clin Chem* 1991; 37: 695-700.
6. Peake M, Whiting M. Measurement of serum creatinine-current status and future goals. *Clin Biochem* 2006;27:173-184.
7. Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference range and method comparison studies for enzymatic and Jaffé creatinine assays in plasma and serum and early morning urine. *Clin Lab* 2000;46:53-55.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS (Note 1)

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A, R2: use Reagent B.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	CREATININE	CREATININE
Short name	CREA	CREA
Sample type	serum / plasma / urine	serum / plasma / urine
Analysis mode	fixed-time bireagent	fixed-time bireagent
Unit	mg/dL	mg/dL
Decimals	2	2
Reaction type	increasing	increasing
PROCEDURE		
Reading mode	monochromatic	monochromatic
Main filter	505	505
Reference filter	-	-
Sample	20	30
Vol. R1	100	150
Vol. R2	100	150
Reading 1 (cycle)	20	40
Reading 2 (cycle)	24	47
Predilution factor	- / - / 50	- / - / 50
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	0.350	0.350
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	20 / 20 / 1000	20 / 20 / 1000
Substrate depletion	-	-

M21502I-10

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

09/2021
8906113851OCREATI000016JU

CHOLESTEROL

COD 21505 10 x 60 mL	COD 23505 4 x 60 mL
Only for *in vitro* use in the clinical laboratory	

BioSystems

CE

CHOLESTEROL
CHOLESTEROL OXIDASE/PEROXIDASE

INTENDED USE

Reagent for the measurement of cholesterol concentration in human serum or plasma. The obtained values are useful as an aid in the risk of suffering clinical manifestations of atherosclerosis.

This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers or in other analyzer with similar performance characteristics.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Cholesterol is a steroid of high molecular weight and possesses the cyclopentanophenanthrene skeleton. Dietary cholesterol is partially absorbed and it is also synthesized by the liver and other tissues. Cholesterol is transported in plasma by lipoproteins. It is excreted unchanged into bile or after transformation to bile acids.

Increased total cholesterol values are associated with a progressively escalating risk of atherosclerosis and coronary artery disease[1,2].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Free and esterified cholesterol in the sample originates, by means of the coupled reactions described below, a coloured complex that can be measured by spectrophotometry[3,4].

$$\text{Cholesterol ester} + H_2O \xrightarrow{\text{chol. esterase}} \text{Cholesterol} + \text{Fatty acid}$$

$$\text{Cholesterol} + \tfrac{1}{2}\,O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{chol. oxidase}} \text{Cholestenone} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + 4\text{-Aminoantipyrine} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{Quinoneimine} + 4\,H_2O$$

CONTENTS

	COD 21505	COD 23505
A. Reagent	10 x 60 mL	4 x 60 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Pipes 35 mmol/L, sodium cholate 0.5 mmol/L, phenol 26 mmol/L, cholesterol esterase > 0.2 U/mL, cholesterol oxidase > 0.1 U/mL, peroxidase > 0.8 U/mL, 4-aminoantipyrine 0.5 mmol/L, pH 7.0.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are stored well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: Reagents open and kept in the refrigerated compartment of the analyzer are stable 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the blank over the limit indicated in "Test Parameters".

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044).

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum or plasma collected by standard procedures.

Cholesterol is stable for 7 days at 2-8°C. Heparin, EDTA, oxalate and fluoride may be used as anticoagulants.

CALIBRATION

A reagent blank should be done every day and a calibration at least every 2 months, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, 18009 and 18042) and II (cod. 18007, 18010 and 18043) to verify the accuracy of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

The following uniform cut-off points have been established by the US National Cholesterol Education Program and have also been adopted in many other countries for the evaluation of coronary artery disease risk[5].

Up to 200 mg/dL = 5.2 mmol/L	Desirable
200-239 mg/dL = 5.2-6.21 mmol/L	Borderline High
> 240 mg/dL = > 6.24 mmol/L	High

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

The metrological characteristics described below have been obtained using a BA400 analyzer and following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Detection limit: 4.2 mg/dL = 0.109 mmol/L.
- Linearity limit: 1000 mg/dL = 26 mmol/L.
- Precision:

Mean concentration	Repeatability (CV)	Within-laboratory (CV)
153 mg/dL = 3.97 mmol/L	0.7 %	1.4 %
220 mg/dL = 5.7 mmol/L	0.6 %	1.0 %

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferences: Hemolysis (hemoglobin up to 500 mg/dL), bilirubin (up to 10 mg/dL) and lipemia (triglycerides up to 1000 mg/dL) do not interfere. Ascorbic acid (up to 6.25 mg/dL) does not interfere. Other drugs and substances may interfere[6].

BIBLIOGRAPHY

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W and Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974; 20: 470-475.
4. Meiattini F, Prencipe L, Bardelli F, Giannini G and Tarli P. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol. *Clin Chem* 1978; 24: 2161-2165.
5. National Cholesterol Educarion Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5th ed. AACC Press, 2000.

TEST PARAMETERS

These reagents may be used in several automatic analyzers. Specific instructions for application in many of them are available on request.

R1: use Reagent A.

	BA200	BA400
GENERAL		
Name	CHOLESTEROL	CHOLESTEROL
Short name	CHOL	CHOL
Sample type	serum / plasma	serum / plasma
Analysis mode	endpoint monoreagent	endpoint monoreagent
Unit	mg/dL	mg/dL
Decimals	0	0
Reaction type	increasing	increasing
PROCEDURE		
Reading mode	bichromatic	bichromatic
Main filter	505	505
Reference filter	670	670
Sample	3	3
Vol. R1	300	300
Vol. R2	-	-
Reading 1 (cycle)	18	36
Reading 2 (cycle)	-	-
Predilution factor	-	-
CALIBRATION AND BLANK		
Blank type	distilled water	distilled water
Calibration mode	experimental calibrator	experimental calibrator
Number of calibrators	1	1
Calibration curve	-	-
OPTIONS		
Blank absorbance limit	0.200	0.200
Kinetic blank limit	-	-
Linearity limit	1000	1000
Substrate depletion	-	-

M21505i-05

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

10/2018
8906138510CHOLES000013NC

C-REACTIVE PROTEIN (CRP)

COD 31321 1 x 20 mL	COD 31921 1 x 50 mL	COD 31029 2 x 200 mL	COD 91921 2 x 50 mL	COD 94921 1 x 50 mL
STORE AT 2-8°C				
Reagents for measurement of CRP concentration Only for *in vitro* use in the clinical laboratory				

BioSystems

CE

C-REACTIVE PROTEIN (CRP)
LATEX

PRINCIPLE OF THE METHOD

Serum C-reactive protein (CRP) causes agglutination of the latex particles coated with anti-human C-reactive protein. The agglutination of the latex particles is proportional to the CRP concentration and can be measured by turbidimetry[1-4].

CONTENTS

	COD 31321	COD 31921	COD 31029
A. Reagent	1 x 16 mL	1 x 40 mL	2 x 160 mL
B. Reagent	1 x 4 mL	1 x 10 mL	2 x 40 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Glycine buffer 0.1 mol/L, sodium azide 0.95 g/L, pH 8.6.

B. Reagent: Suspension of latex particles coated with anti-human CRP antibodies, sodium azide 0.95 g/L.

STORAGE

Store at 2-8°C.

Reagents are stable until the expiry date shown on the label when stored tightly closed and if contaminations are prevented during their use.

Indications of deterioration:

- Reagents: absorbance of the blank over 0.900 at 540 nm.

AUXILIARY REAGENTS

S. CRP Standard: 1 x 1 mL (BioSystems Cod. 31113). Human serum. C-reactive protein concentration is stated on the vial label. The concentration value of the CRP Standard is traceable to the ERM-DA474/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).
Human serum used in the preparation of the standard has been tested and found to be negative for the presence of antibodies anti-HIV and anti-HCV, as well as for HBs antigen. However, the standard should be handled cautiously as potentially infectious.

Reconstitute with 1.0 mL of distilled water. Stable for 30 days at 2-8°C and 3 months at -20°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

REAGENT PREPARATION

Working Reagent: Four the contents of a Reagent B vial into a Reagent A bottle (Note 1). Mix thoroughly. Stable for 60 days at 2-8°C.

Smaller Working Reagent volumes can be prepared by mixing: 1 mL of Reagent B + 4 mL of Reagent A. Shake the Reagent B vial before pipetting.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic water bath at 37°C
- Analyzer, spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C able to read at 540 ± 20 nm.

SAMPLES

Serum collected by standard procedures.

CRP in serum is stable for 7 days at 2-8°C.

PROCEDURE

1. Bring the Working Reagent and the instrument to 37°C.
2. Zero the instrument with distilled water (Note 2)
3. Pipette into a cuvette:

Working Reagent	1.0 mL
Standard (S) or Sample	7 µL

4. Mix and immediately insert cuvette into the instrument. Start stopwatch.
5. Record the absorbance at 540 nm after 10 seconds (A_1) and after 2 minutes (A_2).

CALIBRATION

A calibration is recommended at least every 2 months, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

CALCULATIONS

The CRP concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{(A_2-A_1)_{\text{Sample}}}{(A_2-A_1)_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = C_{\text{Sample}}\ (\text{mg/L})$$

REFERENCE VALUES

Serum, adults[5]: Up to 5 mg/L.

This range is given for orientation only; each laboratory should establish its own reference range.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Rheumatoid Control Serum level I (Cod. 31213) and II (Cod. 31214) to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

- Detection limit: 1.0 mg/L.
- Linearity limit: 150 mg/L. For higher values dilute sample 1/5 with distilled water and repeat measurement. Linearity limit may vary depending on the photometer or analyzer used. (Note 3)
- Repeatability (within run):

Mean concentration	CV	n
7.4 mg/L	4.5 %	20
19.0 mg/L	3.6 %	20

- Reproducibility (run to run):

Mean concentration	CV	n
7.4 mg/L	4.6 %	25
19.0 mg/L	3.7 %	25

- Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.
- Zone effect: This method has not zone effect (< 500 mg/L).
- Interferences: Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/dL), lipemia (triglycerides 10 g/L) and rheumatoid factors (200 IU/mL) do not interfere. Other drugs and substances may interfere[6].

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or a manual procedure are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

C-Reactive Protein (CRP), which is synthesized in the liver, is one of the the most sensitive acute phase reactants after tissue damage or inflammation. CRP activates the classical complement pathway as a response to the inflammatory reaction.

CRP levels in plasma can rise dramatically after myocardial infarction, stress, trauma, infection, inflammation, surgery or neoplastic proliferation. The increase occurs within 24 to 48 hours and the level may be 2000 times normal. An elevation can be expected in virtually all diseases involving tissue damages so the finding is nonspecific[7].

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

NOTES

1. Shake the Reagent B vial gently before pouring its contents into the Reagent A bottle. It is advisable to wash the Reagent B vial with a small volume of the prepared mixture in order to completely rinse the vial and avoid any losses. The dark particles that can be observed in some batches come from the production process and do not affect the functionality of the product.
2. These reagents may be used in several automatic analysers. Instructions for many of them are available on request.
3. The linearity limit depends on the sample to reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.

BIBLIOGRAPHY

1. Kindmark C-O. The concentration of C-Reactive Protein in sera from healthy individuals. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; 29: 407-411
2. Grange J, Roch AM, Quash GA. Nephelometric assay of antigens and antibodies with latex particles. *J Immunol Methods* 1977; 18: 365-375
3. Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. *J Immunol Methods* 1987; 99: 205-211
4. Otsuji S, Shibata H, Umeda M. Turbidimetric immunoassay of serum C-reactive protein. *Clin Chem* 1992; 28: 2121-4
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

M31321i-17.1

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

12/2023
8906138521CRPTUR000036/V

ANNEXE XI : les protocoles d'analyse biochimique (suite)

BioSystems

TRIGLYCERIDES

COD 21528	10 x 60 mL	COD 23528 4 x 60 mL
Only for in vitro use in the clinical laboratory		

CE

TRIGLYCERIDES

GLYCEROL PHOSPHATE OXIDASE/PEROXIDASE

INTENDED USE

Reagent for the quantitative measurement of triglycerides concentration in human serum or plasma to assess lipid metabolism and the risk of cardiovascular disease in the general population. This reagent is for use in the BioSystems BA analyzers.

For in vitro diagnostic and professional use in the clinical laboratory only.

CLINICAL BENEFIT

Elevated serum triglycerides levels can be caused by liver diseases, diabetes mellitus, nephrosis, hypothyroidism, alcoholism and familial hyperlipoproteinemia IV and V, among other physiological conditions[1-3].

Based on clinical guidelines and textbooks, and when used in conjunction with other diagnostic technologies and options, this medical information is useful for the assessment of triglycerides variations. Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result but should integrate both clinical and laboratory data.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Triglycerides are hydrolyzed to fatty acids and glycerol by lipase. Glycerol is phosphorylated by glycerol-3-phosphate oxidase to dihydroxyacetone-phosphate and hydrogen peroxide (H_2O_2) in the presence of oxygen. At the end, H_2O_2 is oxidized by peroxidase in the presence of 4-aminoantipyrine and 4-chlorophenol forming quinonimine, a colored complex which is proportional to the concentration of triglycerides and can be measured by spectrophotometry at 505 nm[4].

Triglycerides + H_2O —lipase→ Glycerol + Fatty acids

Glycerol + ATP —glycerol kinase→ Glycerol-3-P + ADP

Glycerol-3-P + O_2 —G-3-P-oxidase→ Dihidroxyacetone-P + H_2O_2

2 H_2O_2 + 4-Aminoantipyrine + 4-Chlorophenol —peroxidase→ Quinoneimine + 4 H_2O

CONTENTS

	COD 21528	COD 23528
A. Reagent	10 x 60 mL	4 x 60 mL

COMPOSITION

A. Reagent: Pipes 45 mmol/L, magnesium acetate 5 mmol/L, 4-chlorophenol 6 mmol/L, lipase > 1000 U/mL, glycerol kinase > 1.5 kU/L, glycerol-3-phosphate oxidase > 4 U/mL, peroxidase > 0.8 U/mL, 4-aminoantipyrine 0.75 mmol/L, ATP 0.9 mmol/L, pH 7.0.

None of the components may be considered as being dangerous according to current regulations.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8 °C.

Components are stable once opened until the expiry date marked in the label if they are kept at the recommended storage temperature, well closed and care is taken to prevent contamination during their use.

On board stability: The reagents opened and stored in the refrigerated compartment of the analyzer are stable for 2 months.

Indications of deterioration: Absorbance of the Blank over the limit indicated in the parameterization of the analyzer. In that case do not use the device.

WARNING AND PRECAUTIONS

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents. Safety data sheet available for professional user on request. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines. Any serious incident that might occur in relation to the device shall be reported to BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED (NOT PROVIDED)

- Calibration materials. See Calibration section.
- Quality Control materials. See Quality Control section.

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

SAMPLES

Serum and EDTA or heparinized plasma collected by standard procedures. Serum or plasma samples are stable for 7 days when stored at 2-8 °C and for 3 months when stored at -20°C[4].

The handling and storage information provided here is based on data or references maintained by the manufacturer. It is the responsibility of the individual laboratory to use all available references and/or its own studies when establishing alternate stability criteria to meet specific needs.

TEST PARAMETERS AND CALCULATIONS

Test parameters and calculations are programed in the BioSystems BA analyzers.

CALIBRATION

Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044) are recommended for routine calibration.

A reagent blank should be determined every day, and a calibration performed at least every 2 months, after reagent lot change or as required by quality control procedures.

The triglycerides value in Biochemistry Calibrator (BioSystems cod. 18011) or Biochemistry Calibrator Human (BioSystems cod. 18044) is traceable to the Standard Reference Material (SRM) 909 from the National Institute of Standards and Technology (NIST). Assigned value and uncertainty are included in the calibration Values sheet.

QUALITY CONTROL

Biochemistry Control Serum level I (cod. 18005, cod. 18009 and cod. 18042) and level II (cod. 18007, cod. 18010 and cod. 18043) are recommended for routine quality control.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if control results are not within the acceptable limits.

REFERENCE VALUES

The following uniform cut-off points have been established by the US National Institutes of Health and have also been adopted in many other countries for the evaluation of risk[1]:

Up to 150 mg/dL = 1.7 mmol/L	Normal
150-199 mg/dL = 1.70-2.25 mmol/L	Borderline-high
200-499 mg/dL = 2.26-5.64 mmol/L	High
>500 mg/dL = >5.65 mmol/L	Very high

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

ANALYTICAL AND CLINICAL PERFORMANCE

The metrological characteristics described below have been obtained following the guidelines of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)[7] (Note 1)

Limits and ranges	BA300	BA400
	Serum / plasma	Serum / Plasma
Limit of Detection (mg/dL)	3.80	5.99
Limit of Detection (mmol/L)	0.04	0.07
Measuring Range* (mg/dL)	7.58-600	6.66-600
Measuring Range* (mmol/L)	0.08-6.78	0.08-6.78

* For samples with higher values, dilute sample 1/2 with saline solution and repeat measurement or refer to the Test Parameterization for Automatic dilution (note that all these samples will be diluted with the same dilution ratio). Measuring range: from Limit of Quantification to Limit of Linearity.

Precision	BA300			BA400		
	Mean (mg/dL) / (mmol/L)	Repeatability (CV)%	Reproducibility (CV)%	Mean (mg/dL) / (mmol/L)	Repeatability (CV)%	Reproducibility (CV)%
Serum / Plasma	68.0 / 0.68 127 / 1.44 405 / 4.58	1.3 1.1 0.8	2.7 2.3 2.1	69.0 / 0.68 127 / 1.44 405 / 4.58	1.0 0.6 0.4	1.7 0.9 1.2

For repeatability and reproducibility studies, samples were measured on three different analyzers during five days, one run per day and five replicates per run. Correctly operating BioSystems' system should exhibit the following precision values: Repeatability (CV)% ≤ 2.5; Reproducibility (CV)% ≤ 5.0.

Traceability: evaluated with the certified reference material SRM 909c (NIST), with an assigned value of 107.6 mg/dL (1.21 mmol/L), resulting in an estimated bias ≤ 9.6 %

Method Comparison	Serum	Plasma (EDTA)	Plasma (Heparin)
Number of samples (n)	111	97	104
Passing-Bablok regression	y = 4.951 + 1.017x	y = 4.742 + 1.025x	y = 5.28 + 1.088x
Correlation coefficient (r)	0.995	0.997	0.9938
Comparison interval (mg/dL)	7.58 - 599	7.58 - 583	8.58 - 573

Method comparison studies were performed using a commercial triglycerides device for the reference method.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Interferences: bilirubin (up to 5 mg/dL), hemolysis (hemoglobin up to 200 mg/dL), ascorbic acid (up to 1.5 mg/dL), acetaminophen (up to 20 mg/dL) and dehemoglobin (up to 1.2 mg/dL) do not interfere, other drugs and substances may interfere[4].

NOTICE TO USER

IFU is available inside the kit and SDS is available for user upon request.

NOTES

1. Plasma and serum sample matrices are considered equivalents. Therefore, plasma matrix is validated with analytical performances studies performed with serum samples.

BIBLIOGRAPHY

1. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd.,
A4 - SIPCOT, Irungattukottai, TN - 602105.
EN ISO 13485 Standard Certified Co.

M21528-07

10/2024

8908113851107RGLY000025JD

mindray

CE

E2

Estradiol (CLIA)

Conditionnement

Référence	Nombre de tests
E2111	2×50 tests
E2112	2×100 tests
E2113	2×30 tests

Utilisation

Le dosage E2 série CL est un dosage immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative de l'estradiol (E2) dans le sérum humain.

Résumé

L'estradiol (17β-estradiol,1,3,5 (10)-estratrien-3, 17β-diol), l'œstrogène biologiquement le plus actif, est une hormone stéroïde ayant une masse moléculaire de 272,3 daltons. Elle régule la fonction reproductrice chez les femmes et maintient la grossesse avec la progestérone. L'estradiol est sécrété principalement par l'ovaire et le corps jaune chez les femmes non enceintes, tandis que les glandes surrénales et les testicules (chez les hommes) peuvent également en sécréter de petites quantités. Pendant la grossesse, la majeure partie de l'estradiol circulant est produite principalement par le placenta. La plus grande partie de l'estradiol est liée aux protéines, seulement 1 à 3 % de l'estradiol est libre.[1]

L'estradiol est sécrété à des taux variables au cours du cycle menstruel. Les taux d'estradiol sont plus faibles pendant la menstruation et lors de la phase folliculaire précoce, et augmentent lors de la phase folliculaire tardive pour atteindre un pic juste avant que la LH (hormone lutéinisante) apparaisse pour initier l'ovulation. Les taux d'estradiol commencent à diminuer dès les pics de LH, puis augmentent à nouveau dans la phase lutéale. Si la conception ne se produit pas, l'estradiol diminue à son niveau le plus bas, puis la menstruation survient. Si la conception a lieu, les niveaux d'estradiol augmentent rapidement au cours de la grossesse, stimulant ainsi la croissance de l'endomètre avec de la progestérone. À la ménopause, les niveaux d'estradiol restent faibles.[2]

Les taux d'estradiol peuvent être utilisés pour surveiller la fonction ovulatoire et refléter la maturation folliculaire parce que les ovaires produisent la majeure partie de l'estradiol.En outre, la mesure des taux d'estradiol est importante dans l'évaluation du développement sexuel, de l'étiologie de l'aménorrhée, des causes de l'infertilité et de la ménopause.[3,4] Des niveaux anormalement élevés chez les hommes peuvent indiquer un syndrome de féminisation tel que la gynécomastie.[5]

Principe du dosage

Le dosage E2 série CL est un dosage immunoenzymatique selon la méthode de compétition permettant de déterminer la concnetration d'estradiol.

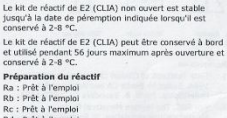
Dans la première étape, l'échantillon, une microparticule paramagnétique recouverte d'anticorps de chèvre anti-IgG de lapin, une solution de traitement de l'échantillon et un anticorps polyclonal anti-estradiol (lapin) sont ajoutés dans une cuvette réactionnelle. Après incubation, l'estradiol dans l'échantillon se lie à l'anticorps anti-estradiol. Dans la deuxième étape, un conjugué d'estradiol-phosphatase alcaline est ajouté dans le récipient de réaction. L'estradiol dans l'échantillon entre en compétition avec le conjugué d'estradiol-phosphatase alcaline pour les sites de liaison sur l'anticorps anti-estradiol. Les complexes d'anticorps sont liés à l'anticorps de chèvre anti-IgG de lapin sur la microparticule, qui est magnétiquement capturée tandis que les autres substances non liées sont éliminées par lavage.

Dans la troisième étape, la solution de substrat est ajoutée dans cuvette réactionnelle. Elle est catalysée par le conjugué d'estradiol-phosphatase alcaline dans le complexe immun retenu sur la microparticule. La réaction de chimiluminescence résultante est mesurée en unités relatives de lumière (RLU) par un photomultiplicateur intégré au système. La quantité d'estradiol présente dans l'échantillon est inversement proportionnelle aux unités relatives de lumière (RLU) produites au cours de la réaction. La concentration d'estradiol est déterminée au moyen d'une courbe de calibration.

Composition des réactifs

Ra	Microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-IgG de lapin dans du tampon TRIS avec des conservateurs.
Rb	Conjugué d'estradiol-phosphatase alcaline dans du tampon MES avec des conservateurs.
Rc	Anticorps polyclonal anti-estradiol (lapin) dans du tampon TRIS avec des conservateurs.
Rd	Solution de traitement de l'échantillon avec des conservateurs.

La position de chaque réactif est représentée sur la figure ci-dessous (vue de face sur la gauche et vue de dessus à droite) :



Stockage et stabilité

Le kit de réactif de E2 (CLIA) non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption indiquée lorsqu'il est conservé à 2-8 °C.

Le kit de réactif de E2 (CLIA) peut être conservé à bord et utilisé pendant 56 jours maximum après ouverture et conservé à 2-8 °C.

Préparation du réactif

Ra : Prêt à l'emploi
Rb : Prêt à l'emploi
Rc : Prêt à l'emploi
Rd : Prêt à l'emploi

Matériel nécessaire mais non fourni

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL.

N° de réf. E2211/E2212 : calibrateurs Mindray de l'estradiol, 1x2 ml/1x1 ml pour chaque calibrateur de C0, C1 et C2.

N° de réf. RHL311/RHL312 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (B), 6×5 ml/12×5 ml.

N° de réf. RHH311/RHH312 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (H), 6×5 ml/12×5 ml.

N° de réf. RHL313/RHL314 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (B), 1×5 ml/3×5 ml.

N° de réf. RHH313/RHH314 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (H), 1x5 ml/3×5 ml.

N° de réf. WB411 : tampon de lavage Mindray, 1x10 l.

N° de réf. CS511/CS512 : solution de substrat Mindray, 4x115 ml/4x75 ml.

Cuvettes réactionnelles Mindray.

Instrument dédié

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL

Prélèvement et préparation des échantillons

Le sérum humain est recommandé pour ce dosage. Centrifugez les échantillons après la formation du caillot. Transférez les surnageants dans des tubes pour le stockage ou effectuez le dosage dans les deux heures après la centrifugation.

Les échantillons doivent être dosés dès que possible après le prélèvement. Si le dosage n'est pas effectué dans les 8 heures, les échantillons doivent être hermétiquement fermés et réfrigérés à 2-8 °C. Si le test doit être retardé pendant plus de 72 heures, les échantillons doivent être congelés à -20 °C ou moins.

Évitez les cycles de congélation et de décongélation.

Procédure du dosage

Pour des performances optimales de ce dosage, les opérateurs doivent lire attentivement le manuel d'utilisation du système concerné, afin d'obtenir suffisamment d'informations telles que les instructions de fonctionnement, la préservation et la gestion des échantillons, les précautions de sécurité et la maintenance. Préparez également tout le matériel requis pour le test.

Avant de charger le kit de réactif de E2 (CLIA) sur la machine pour la première fois, le flacon de réactif non ouvert doit être retourné délicatement au moins 30 fois pour remettre en suspension les microparticules qui se sont déposées pendant le transport ou le stockage. Inspectez visuellement le flacon pour vous assurer que les microparticules ont été remises en suspension. Si les microparticules restent collées au flacon, continuez à le retourner jusqu'à ce que les microparticules soient complètement remises en suspension. Si les microparticules ne peuvent pas être remises en suspension, il est recommandé de ne pas utiliser ce flacon de réactif. Contactez le service Client de Mindray pour obtenir de l'aide. Ne pas retourner un flacon de réactif ouvert.

Ce dosage nécessite un volume de 35 µl d'échantillon par test. Ce volume ne comprend pas le volume mort du contenant de l'échantillon. Un volume complémentaire est nécessaire lors de l'exécution de tests supplémentaires du même échantillon. Les opérateurs doivent se référer au manuel d'utilisation du système et aux exigences spécifiques du dosage afin de déterminer le volume d'échantillon minimal.

Calibration

Le E2 série CL (CLIA) a été standardisé par rapport à la procédure de mesure de référence IDMS (spectrométrie de masse à dilution isotopique).

Les informations spécifiques de la courbe de calibration principale du kit de réactif de E2 (CLIA) sont enregistrées dans le code à barres à deux dimensions apposé sur la cartouche de réactif. Elles sont utilisées avec les calibrateurs pour la calibration du lot de réactif spécifique. Lors de la calibration, commencez par numériser les informations de la courbe de calibration principale sur le code à barres dans le système, puis utilisez les calibrateurs à trois niveaux. Une courbe de calibration valide est nécessaire avant tout dosage de E2. Une nouvelle calibration est recommandée toutes les 4 semaines, ou quand un nouveau lot de réactif est utilisé ou quand les contrôles qualité sont hors de la plage spécifiée. Pour des instructions détaillées sur la calibration, reportez-vous au manuel d'utilisation du système.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'effectuer des contrôles qualité une fois toutes les 24 h si les tests sont en cours ou après chaque calibration. La fréquence des contrôles qualité doit être adaptée en fonction des exigences de chaque laboratoire. Les contrôles de qualité à deux niveaux recommandés pour ce dosage sont le contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (B) et le contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (H).

Les résultats du contrôle de qualité doivent être dans les intervalles de confiance. Si un contrôle est hors de cette plage, les résultats de test associés ne sont pas valides et les échantillons doivent être testés à nouveau. Une recalibration peut être nécessaire. Examinez le système de dosage en vous référant au manuel d'utilisation du système. Si les résultats du contrôle de qualité sont toujours en dehors de cette plage, veuillez contacter le service Client de Mindray pour obtenir de l'aide.

Calcul

L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon sur la courbe de calibration principale lue à partir du code à barres, et un modèle mathématique à quatre paramètres (4PLC) avec les unités relatives de lumière (RLU) est généré à partir des calibrateurs à trois niveaux des valeurs de concentration déterminées. Les résultats sont présentés dans l'unité pg/ml.

Facteurs de conversion :

pg/ml (ng/l) x 3,671 = pmol/l

pmol/l x 0,273 = pg/ml (ng/l)

Dilution

Les échantillons présentant une concentration en E2 dépassant la limite supérieure peuvent être dilués à l'aide du diluant pour échantillons Mindray. Une dilution (automatisée par l'analyseur ou manuelle) au 1:2 est recommandée. La concentration de l'échantillon dilué doit être >500 pg/ml. Après une dilution manuelle, multipliez le résultat par le facteur de dilution. Après une dilution automatisée par les analyseurs, le système multiplie automatiquement le résultat par le facteur de dilution lors du calcul de la concentration de l'échantillon.

Valeurs de référence

Une étude sur une cohorte de 559 personnes en bonne santé (130 hommes et 429 femmes) a déterminé les valeurs de référence du dosage de E2 série CL.

Catégorie		N	Valeurs de référence (Intervalle central à 95%)
Hommes		130	<25-84 pg/ml
Femmes	Phase folliculaire	125	20 - 138 pg/ml
	Phase d'ovulation	42	100 - 440 pg/ml
	Phase lutéale	128	31 - 317 pg/ml

P/N: 046-003262-00 (13.0) Français-7

1/2

2024-04

Access®
Immunoassay Systems

BECKMAN COULTER®

CORTISOL

REF 33600

Utilisation Le test Access Cortisol utilise une technique immunoenzymatique chimioluminescente à particules paramagnétiques pour le dosage du cortisol dans le sérum humain, le plasma (hépariné, EDTA) et l'urine à l'aide des Systèmes d'Immunoanalyse Access.

Généralités Le cortisol est le premier glucocorticoïde produit et sécrété par le cortex surrénal. Il affecte (a) le métabolisme des protéines, des lipides et des glucides, (b) le maintien de l'intégrité musculaire et myocardique, et (c) la suppression des activités inflammatoires et allergiques.[1]

La globuline liant les corticostéroïdes et l'albumine fixe approximativement 90% du cortisol sécrété par le cortex surrénal. Le cortisol fixé circule sous une forme disponible mais temporairement inactive. L'activité physiologique du cortisol dépend des concentrations de la petite fraction de cortisol libre circulant.[2]

La corticotrophine ou Adrenocorticotropic Hormone (ACTH) active la synthèse et la libération du cortisol par le cortex surrénal. L'hypophyse produit et libère l'ACTH par stimulation de l'hormone libératrice de la corticotrophine ou Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) sécrétée par l'hypothalamus. Le cortisol libre agit, selon un mécanisme de rétroaction négative, sur l'axe hypothalamus-hypophyse-cortex surrénal ou axe Hypothalamus-Pituitary-Adrenal cortex (HPA) au niveau de l'hypophyse et de l'hypothalamus.[3,4] De plus, les variations diurnes et un stress tel que la fièvre induite par un mécanisme pyrogène, les psychoses sévères ou les traumatismes influencent la régulation neuro-endocrinienne du cortex surrénal.[1,3,5]

Des changements anormaux dans les concentrations en cortisol apparaissent lors d'un dysfonctionnement hypothalamique, hypophysaire ou surrénal. Si ces dérèglements ne sont pas diagnostiqués ou ne sont pas traités, ils peuvent conduire à un déséquilibre métabolique important qui peut menacer le pronostic vital. Le dosage du cortisol sérique ou plasmatique (en utilisant des concentrations du matin et du soir et/ou des tests de stress tels que la stimulation de l'ACTH ou le freinage de la sécrétion de dexaméthasone) apporte une aide dans le diagnostic des maladies en rapport avec la surrénale. Des concentrations excessives de cortisol sont rencontrées dans le syndrome de Cushing (hyperfonctionnement du cortex surrénal) tandis que des concentrations abaissées apparaissent dans la maladie d'Addison (insuffisance du cortex surrénal).[6]

Le cortisol lié aux protéines est protégé contre le métabolisme hépatique.[4] Le cortisol non lié (ou libre) dans le sérum est métabolisé par le foie pour donner une large variété de formes ou métabolites. Nombre de ces métabolites (formes conjuguées, glycuroconjugées et sulfates) sont hydrosolubles et rapidement éliminés dans les urines. Une petite quantité (< 100 µL/24 heures) de cortisol et d'autres métabolites extractibles sont également excrétés dans les urines. Le cortisol urinaire peut être dosé en effectuant une étape d'extraction qui élimine certains des métabolites hydrosolubles avant l'analyse ou en dosant directement l'urine. Les tests immuno-enzymatiques dosent le cortisol urinaire aussi bien que certains métabolites immuno-actifs. Par conséquent, des valeurs attendues représentatives devront être établies pour chaque technique immuno-enzymatique. Le dosage du cortisol urinaire reflète la quantité de cortisol sérique non lié (ou libre) et apporte une aide dans le diagnostic de l'hyperactivité de la glande surrénale. Une concentration élevée en cortisol urinaire est considérée comme valeur diagnostique du syndrome de Cushing (hyperfonctionnement du cortex surrénal).[4,7,8,9,10]

© 2008 Beckman Coulter, Inc.

BECKMAN COULTER CE 2797

ACCESS
Immunoassay Systems

Mode d'emploi

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

Access Progesterone
REF 33550

RÉSERVÉ À UN USAGE PROFESSIONNEL

Sur prescription uniquement

PRINCIPE

UTILISATION

Le test Access Progesterone utilise une technique immunoenzymatique chimioluminescente à particules paramagnétiques pour le dosage de progestérone dans le sérum humain à l'aide des Systèmes d'Immunoanalyse Access.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le dosage Access Progestérone peut être utilisé pour indiquer la survenue de l'ovulation et le bon fonctionnement du corps jaune.[1]

Physiologie

Les hommes et les femmes produisent de faibles taux de progestérone, une hormone stéroïdienne de la corticosurrénale. La progestérone est importante, non seulement en tant qu'hormone, mais aussi en tant que précurseur des oestrogènes, des androgènes et des corticostéroïdes.[2]

Chez les femmes, durant la phase folliculaire du cycle menstruel, les concentrations sériques restent basses. Après l'ovulation, les concentrations sériques augmentent de façon significative lorsque le corps jaune commence à produire de la progestérone en quantités croissantes. Ceci entraîne des changements au niveau de l'utérus, le préparant ainsi à l'implantation d'un ovule fécondé. Si l'implantation se fait, le trophoblaste commence à sécréter de l'hCG (gonadotrophine chorionique humaine) qui maintient le corps jaune et sa sécrétion de progestérone. A la fin du premier trimestre, la placenta devient l'organe principal de sécrétion et les concentrations sériques continuent à augmenter. Si l'implantation ne se fait pas, le corps jaune dégénère et les concentrations de progestérone circulante diminuent rapidement, atteignant les concentrations de la phase folliculaire environ 4 jours avant la période menstruelle suivante.[3]

°En général, des concentrations croissantes de progestérone indiquent des grossesses viables. Une échographie ultrasonique est nécessaire pour confirmer la viabilité à des concentrations faibles de progestérone. Les concentrations sériques sont relativement constantes pendant la période de 8 à 10 semaines de gestation, à moins que la grossesse ne soit défaillante, ce qui peut être signalé par des concentrations décroissantes en progestérone. Après 10 à 12 semaines, les concentrations augmentent plus rapidement, mais le dosage de la progestérone dans le sérum n'est pas considéré comme utile du point de vue diagnostique à la fin de la grossesse.[4,5]

Métabolisme et transport

La synthèse des hormones stéroïdes commence par la voie de transformation des acétates en cholestérol. La prégnénolone est le précurseur immédiat et la 17-α hydroxyprogestérone est l'un des premiers métabolites de la progestérone.[2,6]

Access®
Immunoassay Systems

BECKMAN COULTER®

FREE T3

REF A13422

Utilisation

Le test Access Free T3 utilise une technique immunoenzymatique chimioluminescente à particules paramagnétiques pour le dosage de la triiodothyronine libre dans le sérum ou le plasma humain à l'aide des Systèmes d'Immunoanalyse Access.

Généralités

L'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien contrôle la synthèse, la libération et l'action des hormones thyroïdiennes. La thyrotropin-releasing hormone (TRH), sécrétée à partir de l'hypothalamus, stimule la synthèse et la libération de l'hormone thyréotrope (hTSH). La hTSH, à son tour, stimule la synthèse, le stockage, la sécrétion et le métabolisme de la thyroxine (T4) et de la triiodothyronine (T3).

La T3 est l'hormone thyroïdienne biologiquement active. Environ 80% de la T3 circulante est formée à partir de la désiodation périphérique de la thyroxine et 20% est sécrétée directement par la thyroïde. Les hormones T4 et T3 sont transportées dans la circulation, liées à la globuline fixant la thyroxine (TBG), à la préalbumine fixant la thyroxine (TBPA) et à l'albumine. Environ 0,2 à 0,4% de la T3 totale circulante est en équilibre sous forme non liée ou libre, par opposition à environ 0,03% de la T4 totale. Chez la plupart des individus, les fractions libres de ces hormones sont en corrélation avec l'état fonctionnel de la thyroïde.[1,2]

La T4 libre et la T3 libre régulent la croissance et le développement normal en maintenant la température du corps et en stimulant la production de chaleur. De plus, la T4 libre et la T3 libre touchent tous les aspects du métabolisme des hydrates de carbone ainsi que certaines parties du métabolisme des lipides et des vitamines. Le développement fétal et néonatal réclame également des hormones thyroïdiennes.[1,2]

Avec des concentrations normales de protéines fixant les hormones thyroïdiennes, les concentrations en T3 libre sont en corrélation avec la T3 totale. Le dosage de la T3 libre est utile lorsque des concentrations altérées de T3 totale surviennent à cause de changements au niveau des protéines fixant les hormones thyroïdiennes, particulièrement dans le cas de TBG altérée ou de faibles concentrations en albumine. La T3 libre est seule élevée (thyrotoxicose T3) chez environ 5% des hyperthyroïdiens.

Des troubles non liés au métabolisme thyroïdien peuvent être à l'origine de taux de T3 anormaux. La détermination de l'état thyroïdien chez des patients souffrant d'une maladie non thyroïdienne doit être interprétée avec précaution.[2,3] Par exemple, une thérapie à base de médicaments anticonvulsivants (particulièrement la phénytoïne) peut entraîner des taux de T3 libre diminués dus à une augmentation du métabolisme hépatique et, secondairement, à un déplacement de l'hormone des sites de liaison.[2,4,5] Des médicaments anti-inflammatoires tels que les salicylés et la phénylbutazone entrent également en compétition pour les sites de liaison de l'hormone, mais leur effet sur les taux de T3 libre n'a pas été clairement défini.[2,6] Les patients sous héparinothérapie peuvent présenter des taux de T3 libre élevés dus à la libération d'acides gras non estérifiés qui peuvent également altérer la relation entre l'hormone libre et l'hormone liée.[5]

Principe du test

Le test Access Free T3 est un test immunoenzymatique de liaison par compétition. Un échantillon est ajouté dans une cuvette réactionnelle avec un anticorps monoclonal anti-T3 conjugué à de la phosphatase alcaline. Au cours de l'incubation, la T3 libre présente dans l'échantillon réagit avec l'anticorps anti-T3. Des particules sensibilisées avec de la streptavidine et un analogue biotinylé de T3 sont ensuite ajoutés au mélange. Les sites de liaison inoccupés

© 2007 Beckman Coulter, Inc.

Access®
Immunoassay Systems

BECKMAN COULTER®

FREE T4

REF 33880 **A UTILISER AVEC LE TEST FRT4**

Utilisation

Le test Access Free T4 utilise une technique immunoenzymatique chimioluminescente à particules paramagnétiques pour le dosage de la thyroxine libre dans le sérum ou le plasma (hépariné) humain à l'aide des Systèmes d'Immunoanalyse Access.

Généralités

L'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien contrôle la synthèse, la libération et l'action des hormones thyroïdiennes. La thyrotropine (TRH), sécrétée à partir de l'hypothalamus, stimule la synthèse et la libération de la Thyroid Stimulating Hormone (TSH). La TSH, à son tour, stimule la synthèse, le stockage, la sécrétion et le métabolisme de la thyroxine (T4) et de la triiodothyronine (T3). Les formes libres et liées de la T4 et de la T3 sont, ensembles, présentes dans le sang. Plus de 99% de la T4 et de la T3 circulent dans le sang, liées à des protéines porteuses, ceci laissant moins de 1% sous la forme non liée. Il s'agit de cette concentration d'hormone non liée ou libre qui est en corrélation avec l'état fonctionnel de la thyroïde chez la plupart des individus.[1,2]

La T4 libre et la T3 libre régulent la croissance et le développement normaux en maintenant la température du corps et en stimulant la réduction de chaleur. De plus, la T4 libre et la T3 libre touchent tous les aspects du métabolisme des hydrates de carbone aussi bien que certaines parties du métabolisme des lipides et des vitamines. Le développement fétal et néonatal réclame également des hormones thyroïdiennes.[1,2]

Des concentrations nettement élevées en T4 libre corroborent les observations cliniques d'un diagnostic d'hyperthyroïdisme tandis que des valeurs nettement faibles en T4 libre couplées avec des observations cliniques convenables peuvent permettre d'établir un diagnostic d'hypothyroïdisme. Le dosage des concentrations de T4 libre accompagné d'autres tests touchant la thyroïde ainsi que des observations cliniques peuvent établir un diagnostic d'hyperthyroïdisme ou d'hypothyroïdisme limite.[3]

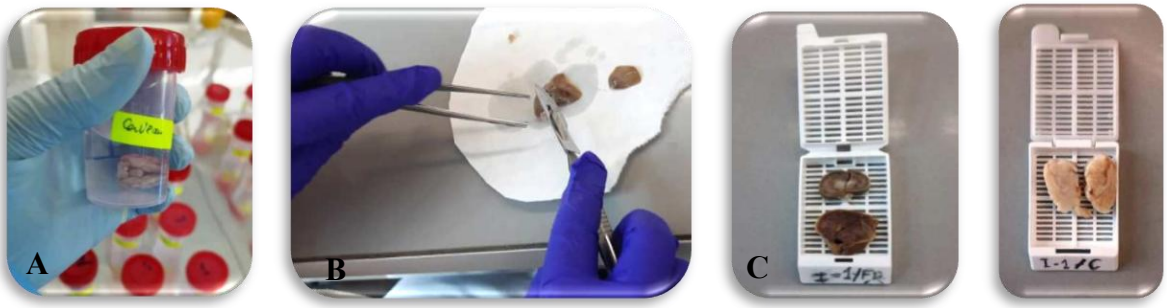
La RIA à l'équilibre de dialyse est considérée comme la technique de référence pour le dosage de la T4 libre parce qu'elle prévoit la séparation de la T4 libre de la T4 liée aux protéines avant le dosage direct de la T4 libre.[2] Toutefois, cette méthode est lourde, astreignante du point de vue technique et ne convient pas à une utilisation en routine dans les laboratoires cliniques. Plus récemment, des radio-immunodosages et des dosages immuno-enzymatiques ont été développés pour le dosage de la T4 libre. Ces dosages utilisent des combinaisons variées de traceurs analogues ou non et des procédures d'incubation en une ou deux étapes.

Principe du test

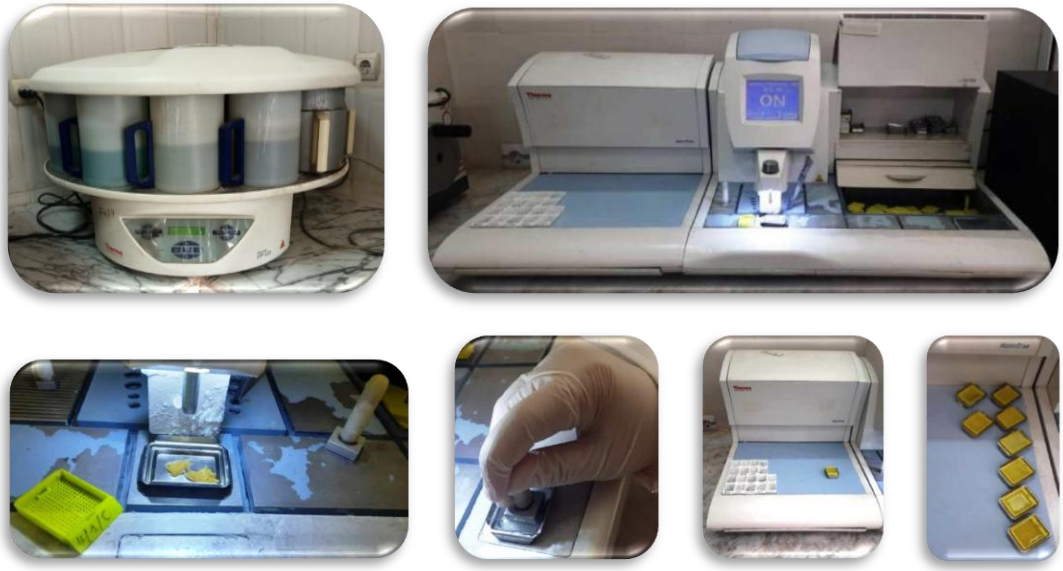
Le test Access Free T4 est un test immunoenzymatique en deux étapes. L'anticorps monoclonal anti-thyroxine (T4) couplé à de la biotine, l'échantillon, la solution tamponnée de protéines et la phase solide sensibilisée à la streptavidine sont déposés dans la cuvette réactionnelle. Durant la première incubation, l'anticorps anti-T4 couplé à la biotine se fixe sur la phase solide et à la T4 libre contenue dans l'échantillon. Après incubation, la séparation dans un champ magnétique et le lavage éliminent tout produit non lié à la phase solide. Ensuite, la solution tamponnée de protéines et le conjugué phosphatase alcaline - triiodothyronine (T3) sont ajoutés dans la cuvette réactionnelle. Le conjugué phosphatase alcaline - triiodothyronine (T3) se fixe sur les sites de liaison vacants de l'anticorps anti-T4. Après incubation dans une cuvette réactionnelle, les matériels liés à la phase solide sont maintenus dans un champ magnétique tandis que les matériels non liés sont éliminés par lavage. Puis, le substrat chimioluminescent, Lumi-Phos* 530 est ajouté à la cuvette réactionnelle et la lumière générée par la réaction est mesurée à l'aide

© 2007 Beckman Coulter, Inc.

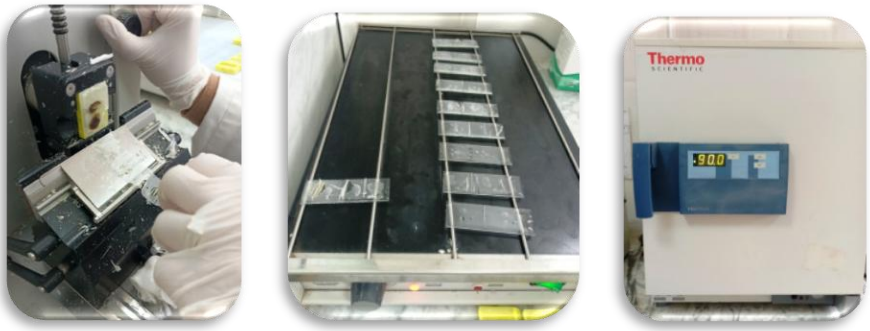
ANNEXE X : Traitement des organes



les étapes de préparation des cassettes



station de déshydratation automatisée et préparation des blocs de cires dans la station d'enrobage



les étapes de préparation des coupes histologiques



les différents bains utilisés pour la coloration des tissus

Résumé

L'Atriplex halimus L. une plante halophyte de la famille des Amaranthaceae, communément appelée « *Gteff* » par la population locale, est largement répandue tout au long du bassin méditerranéen et spontanée dans les zones steppiques de l'Algérie.

Dans un objectif de valorisation de *l'Atriplex halimus* L. récolté de la région d'El Maarif (M'sila), une étude ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique a été réalisée sur plusieurs extraits de la plante.

Les enquêtes ethnobotaniques menées auprès de la population et des herboristes de l'Est algérien, ont révélé que la plante est principalement utilisée pour le traitement des troubles endocriniens (kystes ovariens, kystes thyroïdiens et goitre).

L'examen botanique de la feuille a permis l'identification des caractères macroscopiques et microscopiques nécessaires à la diagnose, il a reflété la richesse de la plante en trichomes vésiculaires et en cristaux d'oxalate de calcium.

L'analyse UHPLC/SM des extraits foliaires a mis en évidence la présence de métabolites secondaires caractéristiques, notamment la quercétogénine fortement glycosylée et méthoxylée (Atrisemibaccatoside A). L'étude confirme également la capacité de la plante à synthétiser des isoflavonoïdes, tels que l'alpinumisoflavone et un glucoside de génistéine. L'évaluation quantitative a révélé que l'extrait hydro-éthanolique optimisé se distingue par des teneurs élevées en polyphénols (65,57 ± 3,05 mg EAG/g) et en flavonoïdes (41,78 ± 0,13 mg EQ/g). De plus, les extractions successives par Soxhlet ont fourni des fractions particulièrement concentrées, la fraction acétonique présentant les niveaux les plus élevés en polyphénols totaux (127,61 ± 1,1 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (40,87 ± 0,5 mg EQ/g MS) et en tanins condensés (24,83 ± 1,89 mg EC/g MS).

L'évaluation biologique a mis en évidence une activité anti-oxydante et anti-inflammatoire de l'extrait hydro-éthanolique supérieure à l'extrait aqueux par contre l'évaluation pharmacologique sur des rats Wistar femelles a permis de restaurer une hypothyroïdie induite par un perturbateur endocrinien de la famille des phtalates (di-isononylphtalate) avec une augmentation significative des taux de FT4 observée chez les lots traités par l'extrait aqueux. L'effet hépatoprotecteur et anti-hyperglycémique a été également démontré pour les deux extraits testés.

L'Atriplex halimus L. constitue une source prometteuse de composés bioactifs naturels utilisés en phytothérapie traditionnelle et clinique.

Mots clés : *Atriplex halimus* L., halophytes, UHPLC/SM, quercétogénine, isoflavonoïdes, hypothyroïdie.

Abstract

Atriplex halimus L., a halophyte plant from the Amaranthaceae family, commonly known as 'Gteff' by the local population, is widely distributed throughout the Mediterranean basin and grows spontaneously in the steppe areas of Algeria.

With the aim of promoting *Atriplex halimus* L. harvested from the El Maarif region (M'sila), an ethnobotanical, phytochemical and pharmacological study was carried out on several extracts of the plant.

Ethnobotanical surveys conducted among the population and herbalists in eastern Algeria revealed that the plant is mainly used for the treatment of endocrine disorders (ovarian cysts, thyroid cysts and goiter).

Botanical examination of the leaf allowed the identification of the macroscopic and microscopic characteristics necessary for diagnosis, revealing the plant's richness in vesicular trichomes and calcium oxalate crystals.

UHPLC/MS analysis of leaf extracts revealed the presence of characteristic secondary metabolites, including highly glycosylated and methoxylated quercetogenin (Atrisemibaccatoside A). The study also confirmed the plant's ability to synthesize isoflavonoids, such as alpinumisoflavone and a genistein glucoside. Quantitative evaluation revealed that the optimised hydro-ethanolic extract is distinguished by high polyphenol (65.57 ± 3.05 mg EAG/g) and flavonoid (41.78 ± 0.13 mg EQ/g) contents. In addition, successive Soxhlet extractions provided particularly concentrated fractions, with the acetone fraction having the highest levels of total polyphenols (127.61 ± 1.1 mg EAG/g DM), flavonoids (40.87 ± 0.5 mg EQ/g DM) and condensed tannins (24.83 ± 1.89 mg EC/g DM).

Biological evaluation revealed that the hydro-ethanolic extract had greater antioxidant and anti-inflammatory activity than the aqueous extract, whereas pharmacological evaluation in female Wistar rats restored hypothyroidism induced by an endocrine disruptor from the phthalate family (diisononyl phthalate) with a significant increase in FT4 levels observed in the groups treated with the aqueous extract. The hepatoprotective and anti-hyperglycemic effect was also demonstrated for both extracts tested.

Atriplex halimus L. is a promising source of natural bioactive compounds used in traditional and clinical phytotherapy.

Keywords*:* *Atriplex halimus* L., halophytes, UHPLC/SM, quercetogenin, isoflavonoids, hypothyroidism.