



Résumé :

L'utilisation des plantes médicinales au Maroc occupe une place très importante chez différentes populations. Cependant, la diversité végétale est confrontée à la surexploitation et aux changements climatiques. Afin de valoriser les plantes indigènes de la région de Tata, il est nécessaire de mettre en évidence les capacités biologiques de ces plantes à travers différents tests biologiques. Sur la base des résultats d'une étude ethnobotanique, deux plantes herbacées, *Brocchia cinerea* Del. (*B. cinerea*) et *Haplophyllum tuberculatum* Forssk. (*H. tuberculatum*), sont choisies afin de mettre en évidence certaines de leurs activités biologiques par le biais de différents tests.

Les parties aériennes de *B. cinerea* et d'*H. tuberculatum* sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles (HEBC et HEHT), ainsi que pour la préparation d'extraits aqueux (EABC et EAHT) et hydroéthanoliques (EEBC et EEHT). Les huiles essentielles (HE) sont analysées par GC-MS, tandis que les extraits ont subi un dosage de leur teneur en polyphénols totaux (PPT), en flavonoïdes (FI) et en tanins condensés (TC), ainsi qu'une analyse par chromatographies en phase liquide. L'activité antioxydante est évaluée par 3 tests : DPPH, PRAP et CAT. L'activité antimicrobienne des HE est évaluée contre des bactéries (*S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* et *P. aeruginosa*) et des champignons (*A. niger*, *A. flavus*, *F. oxysporum* et *C. albicans*). De même, un test *in silico* est réalisé pour identifier les molécules susceptibles d'exercer cette activité antimicrobienne. Les extraits sont testés aussi pour leurs activités pharmacologiques par différents tests : pouvoir analgésique (test de contorsion abdominale), activité anti-inflammatoire (œdème induit par la carragénine), pouvoir de cicatrisation des plaies induites par des brûlures et la mesure de la toxicité aiguë de ces extraits. Les activités insecticides et répulsives sont évaluées en appliquant les HE obtenues sur l'insecte *Callosobruchus maculatus* (F.) (*C. maculatus*), insecte ravageur des graines de légumineuses.

Les résultats de l'enquête ethnobotanique montrent que 20 familles comprenant 32 espèces sont utilisées par la population interrogée, avec une dominance des Apiacées (VUF=0,0192) et des Astéracées (VUF=0,0166). L'analyse GC-MS montre la richesse du HEBC en monoterpènes oxygénés (89,03 %), tandis que l'HEHT est dominé par les sesquiterpènes (45,83 %). Le dosage phytochimique révèle que les extraits d'*H. tuberculatum* ont des niveaux élevés en PPT par rapport aux extraits de *B. cinerea*. D'autre part, les teneurs en FT et TC sont plus élevées dans les extraits de *B. cinerea* que dans les extraits d'*H. tuberculatum*. L'analyse par HPLC-DAD montre que tous les extraits contiennent de l'acide gallique. Pour les deux plantes, la Quercétine n'est identifiée que dans les extraits hydroéthanoliques. L'acide rosmarinique et le kaempférol sont détectés dans l'EEBC par LCTOFMS. La LC-MSMS a révélé que les extraits de *H. tuberculatum* contiennent un pourcentage élevé de flavonols glycosidiques (plus de 65%). Les tests de l'activité antioxydante montrent que les valeurs de CI_{50} et de CE_{50} pour HEHT (DPPH : $CI_{50} = 0,15$ mg/mL ; FRAP : $CE_{50} = 27,31$ mg/mL) sont inférieures à celles de l'HEBC. Pour les extraits, l'EABC est très actif contre DPPH ($CI_{50}=0,049$ mg/mL), D'autre part, le test FRAP révèle que l'EEBC a une capacité modérée de réduction du fer. En revanche, l'EEHT a la capacité antioxydante totale la élevée ($280,98 \pm 5,32$ mg EAA/g d'extrait). Les extraits étudiés ne présentent aucune toxicité, même à une dose de l'ordre de 2000mg/kg. L'EAHT a le plus fort pouvoir cicatrisant, tandis que l'activité analgésique la plus élevée est obtenue avec l'EABC. Tous les extraits ont une faible activité anti-inflammatoire par rapport au composé standard. L'HEBC est la plus active contre les souches microbiennes que l'HEHT. *C. albicans* était très sensible à l'HEBC (zone d'inhibition= 42,33 mm), *F. oxysporum* (%d'inhibition= 88,44%). *P. aeruginosa* est inhibé par une CMI de 0,0018 mg/mL. Les CMI obtenues en utilisant l'HEHT varient entre 3,66 et 6,72 mg/mL pour les bactéries et entre 20,53 et 76,26 mg/mL pour les champignons. L'HEBC possède un puissant effet insecticide contre *C. maculatus* (test par contact : $CL_{50} = 0,61$ μ L/L d'air : test par inhalation : $CL_{50}= 0,72$ μ L/L d'air après 24h), alors que, HEHT a marqué l'effet répulsif le plus important.

À la base des résultats précédents, il est devenu nécessaire d'intervenir pour protéger le patrimoine végétal de la région de Tata, afin d'assurer les besoins des générations futures en matière de plantes médicinales. Il est également important de réaliser des essais scientifiques approfondis visant à exploiter industriellement les extraits préparés à partir de *B. cinerea* et d'*H. tuberculatum*, notamment en ce qui concerne l'effet cicatrisant d'*H. tuberculatum* et l'effet insecticide des huiles de *B. cinerea* contre l'insecte ravageur *C. maculatus*.

Mots clés : *B. cinerea*; *H. tuberculatum*; Huile essentielle ; Polyphénols ; GC-FID-MS ; HPLC-DAD ; LC-MSMS ; LCTOFMS ; *In Silico*; Cicatrisation ; Toxicité ; Antioxydants ; antimicrobien; *C. maculatus*



Phytochemical characterization and biological activities of two species native to southeastern Morocco: *Brocchia cinerea* (delile) vis. and *Haplophyllum tuberculatum* (forssk.)

Abstract

The use of medicinal plants in Morocco holds significant importance among various populations. However, plant diversity is facing overexploitation and the challenges posed by climate change. To valorize indigenous plants in the Tata region, it is necessary to highlight the biological capacities of these plants through various biological tests. Based on the results of an ethnobotanical study, two herbaceous plants, *Brocchia cinerea* Del. (*B. cinerea*) and *Haplophyllum tuberculatum* Forssk. (*H. tuberculatum*), were selected to demonstrate some of their biological activities through different tests.

The aerial parts of *B. cinerea* and *H. tuberculatum* are used for the extraction of essential oils (HEBC and HEHT), as well as for the preparation of aqueous extracts (EABC and EAHT) and hydroethanolic extracts (EEBC and EEHT). The essential oils (EOs) are analyzed by GC-MS, while the extracts undergo quantification of their total polyphenol content (TPC), flavonoids (FI), and condensed tannins (CT), along with analysis by liquid chromatography. Antioxidant activity is evaluated through three tests: DPPH, FRAP, and CAT. The antimicrobial activity of EOs is assessed against bacteria (*S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, and *P. aeruginosa*) and fungi (*A. niger*, *A. flavus*, *F. oxysporum*, and *C. albicans*). Additionally, an *in silico* test is conducted to identify molecules with potential antimicrobial activity. The extracts are also tested for their pharmacological activities using different assays: analgesic power (abdominal contortion test), anti-inflammatory activity (carrageenan-induced edema), wound healing ability on burn-induced wounds, and the measurement of acute toxicity of these extracts. Insecticidal and repellent activities are evaluated by applying the obtained EOs on the insect *Callosobruchus maculatus* (F.) (*C. maculatus*), a pest of legume seeds.

The results of the ethnobotanical survey show that 20 families, including 32 species, are used by the surveyed population, with Apiaceae (FUV=0.0192) and Asteraceae (FUV=0.0166) being dominant. GC-MS analysis reveals the richness of HEBC in oxygenated monoterpenes (89.03%), while HEHT is dominated by sesquiterpenes (45.83%). Phytochemical quantification reveals that extracts of *H. tuberculatum* have higher levels of TPC compared to *B. cinerea* extracts. Furthermore, FT and CT contents are higher in *B. cinerea* extracts than in *H. tuberculatum* extracts. HPLC-DAD analysis shows that all extracts contain gallic acid. For both plants, quercetin is identified only in hydroethanolic extracts. Rosmarinic acid and kaempferol are detected in EEBC by LC-TOFMS. LC-MSMS reveals that *H. tuberculatum* extracts contain a high percentage of glycosidic flavonols (over 65%). Antioxidant activity tests show that the IC₅₀ and EC₅₀ values for HEHT (DPPH: IC₅₀ = 0.15 mg/mL; FRAP: EC₅₀ = 27.31 mg/mL) are lower than those for HEBC. For the extracts, EABC is highly active against DPPH (IC₅₀=0.049 mg/mL), while the FRAP test reveals that EEBC has a moderate iron-reducing capacity. On the other hand, EEHT has the highest total antioxidant capacity (280.98±5.32 mg EAA/g of extract). The studied extracts show no toxicity, even at a dose of approximately 2000 mg/kg. EAHT has the highest wound healing ability, while the highest analgesic activity is obtained with EABC. All extracts have low anti-inflammatory activity compared to the standard compound. HEBC is more active against microbial strains than HEHT. *C. albicans* was highly sensitive to HEBC (inhibition zone = 42.33 mm), and *F. oxysporum* (inhibition percentage = 88.44%). *P. aeruginosa* is inhibited with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.0018 mg/mL. The MICs obtained using HEHT vary between 3.66 and 6.72 mg/mL for bacteria and between 20.53 and 76.26 mg/mL for fungi. HEBC exhibits a potent insecticidal effect against *C. maculatus* (contact test: LC50 = 0.61 µL/L of air; inhalation test: LC50 = 0.72 µL/L of air after 24 hours), while HEHT has the most significant repellent effect.

Based on the aforementioned results, it has become necessary to intervene to protect the plant heritage of the Tata region to ensure the needs of future generations for medicinal plants. It is also important to conduct comprehensive scientific trials to industrialize the extracts prepared from *B. cinerea* and *H. tuberculatum*, especially concerning the wound healing effect of *H. tuberculatum* and the insecticidal effect of *B. cinerea* oils against the pest insect *C. maculatus*.

Keywords: *B. cinerea*; *H. tuberculatum*; Essential oil; Polyphenols; GC-FID-MS; HPLC-DAD; LC-MSMS; LC-TOFMS; *In Silico*; Wound healing; Toxicity; Antioxidants; Antimicrobial; *C. maculatus*.