

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Pharmacotoxicologie



Réf:.....

Mémoire de fin de cycle

Dans le but de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**L'extraction par optimisation et
l'évaluation des propriétés biologiques
des extraits d'une plante médicinale
locale**

Réalisé par :

BENKERROU Sonia & GUEHILIZ Feriel

Soutenu le : 03/07/2025

Membres de jury :

Mme BOUGOFFA-SADAoui Khalida	MCA	Présidente
Mme OURABAH-BOUDJOUAN Asma	MCB	Examinatrice
Mme YOUS Farah	MCB	Encadrante

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

On remercie le Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire

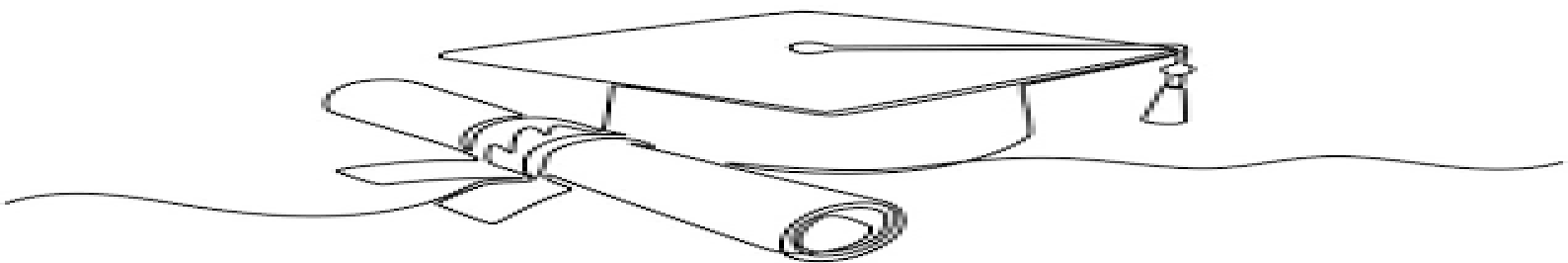
*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir vu le jour sans l'encadrement de **Mme YOUS Farah**, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de notre mémoire.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à **Mme BOUQOFFA** et **Mme OUIRABAH** pour le temps accordé à l'évaluation de ce travail, ainsi que pour l'attention et la bienveillance portées à notre démarche.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à **Mme MAMMAS Habiba**, ingénieure au laboratoire PBC4, pour son dévouement, sa disponibilité et sa bienveillance.*

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous les enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour la qualité de leurs enseignements et leurs accompagnements tout au long de parcours universitaire, dans un esprit de bienveillance et de partage.

Nous adressons de même nos remerciements sincères à nos amis ainsi qu'à toutes les personnes, de près ou de loin, ayant contribué à la réalisation de ce mémoire, merci à vous tous !



Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes chers parents,
pour leur amour inconditionnel, leur patience, leurs sacrifices,
et leur soutien sans faille tout au long de mon parcours.*

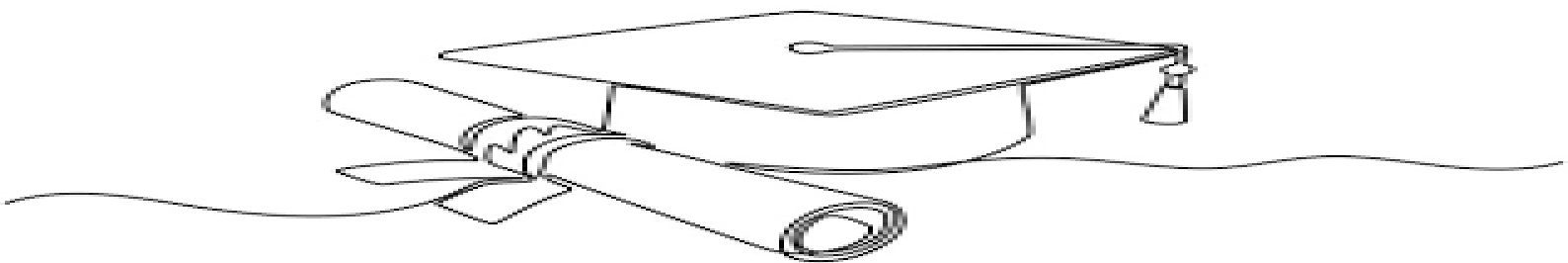
*À mes chers frères **Adil**, **Walid**, **Fateh** et **Nourddine** et mes chères sœurs **Nourdjoum**, **Dunissa** et ma
petite princesse **Malak**, ainsi que toute ma famille pour leur présence réconfortante et leurs encouragements
constants.*

*À mes amies fidèles, **Rakima**, **Yasmine**, **Yasmina**, **Alice** et **Yamina**,
pour leur bienveillance, leur écoute et leurs mots d'encouragement
qui ont rendu ce chemin plus léger.*

*A ma chère binôme **GUETHILIZ Feriel**, Merci pour ta précieuse collaboration, ton implication sans
faille, ton esprit d'équipe et ta bienveillance tout au long de cette aventure.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous mes amis que je n'ai pas cités, ainsi qu'à toutes les
personnes qui, de près ou de loin, m'ont accompagné, soutenue ou apporté leur aide précieuse tout au long
de ce travail.*

SONIA



Dédicaces

Grâce à Dieu le Tout-Puissant, qui a guidé mes pas, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie :

A mes chers parents, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, je suis en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant tout la période de mes études

*À ma seule et unique sœur **sabrina** pour son soutien, présence précieuse à chaque étape de ce parcours.*

*A mes copines **tinhiane, amel, fatima** et **louise** Pour leur amour, soutien inconditionnel et leur patience tout au long de ce parcours. Votre présence a été ma plus belle motivation.*

A mes chères cousines, pour leur soutien, leurs encouragements et tous les moments de joie partagés.

*À ma binôme, **sonia BENKERROU**, au-delà de la collaboration professionnelle, j'ai trouvé en toi une partenaire de confiance et une amie. Merci pour ton intelligence, ta persévérance et les innombrables moments où nous avons appris et ri ensemble. Ta présence a été essentielle à l'aboutissement de ce projet.*

À tous ceux qui ont cru en moi, Un immense merci

Feriel

Table des matières

Liste de figures

Liste des tableaux

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I Synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur <i>Lagunaria patersonia</i>.....	2
I.1.1 Position taxonomique du genre <i>Lagunaria</i>	2
I.1.2 Caractéristiques botaniques.....	3
I.1.3 Utilisation industrielle	3
I.1.4 Propriétés thérapeutiques	4
I.1.5 Composition chimique	4
I.2 Composés bioactifs présents dans la plante.....	5
I.2.1 Les polyphénols.....	5
I.2.2 Mécanismes de biosynthèse des composés phénoliques.....	5
I.2.3 Typologie des composés phénoliques	6
I.2.3.1 Acides phénoliques.....	6
I.2.3.2 Flavonoïdes.....	6
I.2.3.3 Tanins	8
I.3 Saponines et sucres totaux	9
I.3.1. Saponines	9
I.3.2 Sucres totaux	9
I.4 Généralités sur l'activité antioxydants	9
I.4.1 Catégories des antioxydants	10
I.4.1.1 Superoxydes dismutases (SOD)	10
I.4.1.2 Catalase.....	10
I.4.1.3 Glutathions peroxydases (GSH-Px).....	10
I.4.1.4 Glutathions réductases (GSH-R)	10
I.4.2 Radicaux libres.....	11
I.4.3 Espèces réactives d'oxygène (ERO)	11
I.4.4 Stress oxydatif.....	12
I.5 Généralités sur l'activité anti-inflammatoire.....	12
I.5.1 Inflammation	12
I.5.1.1 Types de l'inflammation.....	12

I.5.2 Agents anti-inflammatoires	13
I.5.3 Techniques d'évaluations <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire	13
I.6 Stratégies expérimentales.....	13
I.6.1 Plans de surface de réponse.....	14
I.6.1.1 Plans de Box-Behnken.....	14
I.6.2 Avantages des plans d'expériences	14

Chapitre II Matériel et méthodes

II.1 Matériel.....	15
II.1.1 Matériel végétale.....	15
II.1.2 Matériel de laboratoire	15
II.2 Méthodes.....	15
II.2.1 Préparation des poudres de calices et des épines	15
II.2.2 Optimisation.....	16
II.2.3 Décoction	16
II.2.4 Extraction.....	16
II.2.5 Evaluation du rendement d'extraction	17
II.2.6 Dosage des polyphénols totaux.....	17
II.2.7 Dosage des flavonoïdes et des flavonols	17
II.2.8 Dosage des tanins condensés	18
II.2.9 Dosage des tanins hydrolysables	18
II.2.10 Dosage des saponines	18
II.2.11 Dosage des sucres totaux	18
II.2.12 Evaluation de l'activité antioxydants	18
II.2.12.1 Test DPPH.....	18
II.2.12.2 Test ABTS.....	19
II.2.12.3 Test d'inhibition de l'auto oxydation pyrogallol.....	19
II.2.13 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	19
II.2.13.1 Test antitrypsine	19
II.2.13.2 Test d'oxyde nitrique NO.....	20
II.2.13.3 Inhibition de dénaturation protéique	20

Chapitre III Résultats et discussion

III.1 Traitement des échantillons.....	21
III.2 Conditions optimales	23
III.3 Rendements d'extraction	24
III.4 Evaluation de l'activité phytochimique	25

III.4.1 Teneur en polyphénols totaux.....	25
III.4.2 Teneurs en flavonoïdes	26
III.4.3 Teneurs en flavonols.....	27
III.4.4 Teneur en tanins condensés	27
III.4.5 Teneur en tanins hydrolysables	28
III.4.6 Teneur en saponines	28
III.4.7 Teneur en sucres totaux	29
III.5 Evaluation de l'activité antioxydants.....	30
III.5.1 Test DPPH	30
III.5.2 Test ABTS	31
III.5.3 Test d'inhibition de l'auto oxydation pyrogallol	32
III.6 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	33
III.6.1 Test antitrypsine	33
III.6.2 Test d'oxyde nitrique NO	34
III.6.3 Inhibition de la dénaturation protéique.....	34
Conclusion et perspectives.....	36
Références bibliographiques	37
Résumé	

Liste des figures

Figure 1 : Feuilles, fleurs, gousse, épines et graines de LP (Photographies originales).	3
Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes.....	7
Figure 3 : Structure de flavonol	7
Figure 4 : Structure de flavone.....	8
Figure 5: Structure de flavon-3-ol.....	8
Figure 6: Séchage de calices et épines de LP (Photographies originales).	15
Figure 7: Broyage des calices et des épines de LP (Photographies originales).	15
Figure 8: Procédure d'extraction à partir des calices et épines de LP (Photographies originales).....	16
Figure 9: Coefficient de détermination du protocole d'extraction des polyphénols et le pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour la poudre des épines de LP.....	21
Figure 10: Coefficient de détermination du protocole d'extraction des polyphénols et le pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour la poudre des calices de LP.	22
Figure 11: Profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode de décoction pour les épines.	23
Figure 12: Profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode de décoction pour les calices.....	24
Figure 13: Droites d'étalonnage des IC50 de DPPH pour les calices et les épines de LP	32
Figure 14: IC50 d'ABTS pour les calices et les épines de LP.....	33
La figure 15 : Droite d'étalonnage pour l'obtention des IC50 de NO de l'extrait des calices et des épines.....	35

Liste des tableaux

Tableau I: Pourcentage de rendement d'extraction des calices et d'épines de LP.	24
Tableau II: Taux de polyphénols totaux des calices et d'épines de LP.	25
Tableau III: Taux de flavonoïdes des calices et d'épines de LP.	26
Tableau IV: Taux de flavonols des calices et d'épines de LP.	27
Tableau V: Taux des tannins condensés des calices et des épines de LP.	27
Tableau VI: Taux des tannins hydrolysables des calices et des épines de LP.	28
Tableau VII: Taux d'extraction des saponines des calices et des épines de LP.	28
Tableau VIII: Taux d'extraction des sucres totaux.	29
Tableau IX: IC50 de DPPH de l'extrait des calices et des épines de LP.	30
Tableau X: IC50 de ABTS de l'extrait des calices et des épines de LP.	31
Tableau XI: Pourcentage d'inhibition de l'autooxydation de pyrogallol de l'extrait des calices et des épines de LP.	32
Tableau XII: Pourcentage d'inhibition de l'activité antitrypsine.	33
Tableau XIII: IC50 NO des calices et épines.	34
Tableau XIV: Pourcentages d'inhibition de dénaturation des protéines des extraits de calices et d'épines.	35

Liste des abréviations

- **ABTS** : 2,2'-Azino-Bis (3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulfonique)
- **AINS** : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
- **AIS** : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens
- **EECLP**: Extrait Ethanolique de calices de *Lagunaria patersonia*
- **EEELP**: Extrait Ethanolique d'épines de *Lagunaria patersonia*
- **ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène
- **SOD** : SuperOxyde Dismutase
- **LP** : *Lagunaria patersonia*
- **DPPH** : 2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyl

INTRODUCTION

Introduction

Selon l'OMS, 80% des populations des pays en développement utilisent principalement des traitements traditionnels pour leurs soins médicaux primaires. Cette dépendance souligne l'intérêt des ressources naturelles dans la satisfaction des besoins sanitaires à l'échelle mondiale, surtout là où l'accès à la médecine conventionnelle est limité (**Hadouchi et al., 2018**).

Grâce à sa richesse en métabolites secondaires, telles que les tanins, glucosides, mucilages, flavonoïdes, saponines, résines et gommes naturelles, le règne végétal est largement reconnu comme étant une source essentielle d'interaction et de contrôle avec l'environnement (**Eddouks et al., 2007**).

L'extraction des principes actifs végétaux présente une phase déterminante pour la recherche de nouvelles molécules bioactives (**Parham et al., 2020**). Ces composés, présentent de multiples propriétés thérapeutiques et fonctionnelles et ont un fort potentiel d'exploitation dans différents domaines industriels, surtout l'agroalimentaire, la cosmétique et la pharmaceutique (**Bahorun et al., 1994**).

Notre attention s'est portée sur *Lagunaria patersonia* (LP), un arbre dioïque ornemental et d'agrément lié à la famille Malvaceae, originaire d'Australie, (**Esmail et al., 2014**).

Dans la présente étude, notre travail vise à optimiser les paramètres d'extraction des calices et épines de LP. Pour cela, le plan d'expérience Box-Behnken a été exploité, une méthode qui nous a permis d'obtenir un rendement satisfaisant en composés phénoliques et en activité anti-radicalaire. D'autre part, la teneur en différents composés actifs et l'étude de leurs activités antioxydants et anti-inflammatoire ont été investigués.

Ce travail se divise en deux parties principales, la première, est une revue bibliographique qui explore la plante, l'optimisation de l'extraction, les composés phénoliques et leurs activités biologiques, antioxydants et anti-inflammatoire. La deuxième partie est focalisée sur l'expérimentation, détaillant la méthode d'extraction des échantillons, leurs teneurs en composés bioactifs, ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques.

CHAPITRE I

Synthèse

bibliographique

I.1 Généralités sur *Lagunaria patersonia*

Lagunaria patersonia est un arbre à feuillage persistant d'origine de la famille des Malvaceae (Mantia et al., 2015), caractérisé par de grandes fleurs solitaires de couleur rose, qui s'épanouissent abondamment durant la saison estivale (De Vilmorin, 1950). Désigné souvent comme arbre pyramidal, Hibiscus de l'île Norfolk ou chêne blanc de l'île Queen, elle possède une bonne résistance à la sécheresse et au vent (Esmail et al., 2014). En effet, cette espèce est issue de régions essentiellement caractérisées par des climats tempérés-chauds et subtropicaux humides, comme l'Afrique du Sud, la Floride, la Californie et les îles Hawaï (El Mokni et Iamónico, 2020).

En raison de sa belle floraison, qui rappelle celle des plantes ornementales du genre *Hibiscus Linnaeus*, ainsi que de sa forme élégante et sa forte tolérance au sel, cet arbre a été largement cultivé comme décoration dans de nombreuses zones côtières à travers le monde. De plus, elle pousse rapidement et peut devenir reproductivement mature en quatre années (Mantia et al., 2015).

Toutefois, sa plantation reste réduite en raison de la présence de poils très fins et fortement urticants à l'intérieur de l'enveloppe de ses fruits, ce qui présente un inconvénient principal pour sa manipulation et sa culture à grande échelle (Mantia et al., 2015). En outre, en Égypte, LP est envisagée comme une espèce végétale menacée. En raison d'infestations par des cochenilles et par des infections fongiques, surtout dues à *Rhizoctonia solani* (Esmail et al., 2014).

I.1.1 Position taxonomique du genre *Lagunaria*

La position taxonomique de LP parmi les Malvaceae reste incertaine. Elle a été représenté comme un genre intermédiaire entre les sous-familles Bombacoideae et Malvoideae. Les analyses phylogénétiques fondées sur des gènes chloroplastiques (*ndhF*, *rpl16*) et nucléaires (*rpb2*) prouvent qu'elle forme un clade bien soutenu avec *Howittia*, différent des *Bombacoideae* et apparenté aux *Malvoideae*, sans rapport direct avec *Hibisceae*. L'analyse du gène nucléaire *rpb2* présente deux copies du gène chez LP, comme chez *Howittia*, *Hibiscus*, *Pavonia* et *Urena*, et prouve l'association étroite entre LP et *Howittia*, les deux étant sœurs d'un clade centré sur *Hibiscus*, tous trois étant apparentés au reste des *Malvoideae* (Craven et al., 2006).

Notamment, le genre *Lagunaria* inclut deux taxons qui, jusqu'à peu, étaient classés comme sous-espèces en raison de certaines variations dans la morphologie du style : *Lagunaria G. Don subsp. Patersonia*, qui provient des îles Norfolk et de Lord Howe dans l'océan pacifique, et *Lagunaria Patersonia G Don subsp. Bracteata P. Green*, que l'on trouve dans les régions côtières et intérieures du Queensland, au nord-ouest de l'Australie (**Mantia et al., 2015**).

I.1.2 Caractéristiques botaniques

LP est capable d'atteindre 20 m de haut (**Wilcox et al., 2010**). Ses fleurs sont constituées de plusieurs étamines dont les filaments forment un tube épi-pétale monadelphé. La longueur des pétales varie de 40 à 46 mm, celle de la colonne staminale de 30 à 36 mm, alors que la section anthérifère mesure entre 13 et 20 mm (**El Mokni et Iamónico, 2020**).

Son fruit forme une capsule loculicide, un schizocarpe ou plus rarement, une baie. Quant aux graines, il sont réniformes ou ovoïdes et d'intérêt économique notable (**Said et al., 2018**). En ce qui concerne les feuilles, **Bentham (1863)** a distingué deux variétés de LP, une forme de l'île Norfolk aux feuilles plus larges, blanches en face inférieure, à épicalyx souvent caduc, et une forme du Queensland, différente mais trop variable pour être considérée comme espèce distincte (**De Vilmorin, 1950**).



Figure 1 : Feuilles, fleurs, gousse, épines et graines de LP (Photographies originales).

I.1.3 Utilisation industrielle

Les fibres des tiges sont utilisées pour la fabrication de cordes, sacs, papiers et textiles, alors que les fibres de graines sont employées pour le caoutchouc et les pneus. Quant aux pétales ils sont utilisés comme colorant naturel (**Said et al., 2018**). De plus, Son bois était utilisé avec de la calcarenite pour produire du ciment (**Wilcox et al., 2010**).

I.1.4 Propriétés thérapeutiques

Dans une récente étude, les extraits de LP ont prouvés une activité antifongique marquée. L'extrait de feuilles a bloqué de manière caractéristique la croissance de *Rhizoctonia solani*, alors que l'extrait de branches a exercé une forte activité contre *Alternaria solani* et *Bipolaris sp.* En outre, l'extrait de graines s'est révélé efficace contre *Fusarium oxysporum* et a également démontré une activité antibactérienne inhibitrice sur quatre espèces pathogènes, qui sont l'*Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora*, *Pectobacterium carotovorum* et *Ralstonia solanacearum* (Ibrahim et al., 2023). Quant aux racines, ils sont exploités en médecine, là où les pétales sont utilisés pour soulager la toux (Said et al., 2018).

I.1.5 Composition chimique

Les différentes parties de LP contiennent une large diversité de composés phénoliques et flavonoïdes :

- Graines : acide benzoïque, acide p-hydroxybenzoïque, naringénine, pyrogallol, acide rosmarinique, acide chlorogénique, kaempférol (Ibrahim et al., 2023).
- Cosse : est riche en composés phénoliques et flavonoïdes, contribuant à son potentiel antioxydants (Kuppusamy et al., 2016).
- Feuilles : resvératrol, acide benzoïque, acide rosmarinique, quercétine, rutine, myricétine, acide vanillique ;
- Branches: resvératrol, acide benzoïque, acide p-coumarique, catéchol, myricétine, rutine, quercétine ;

Ces composés sont renommés pour leurs propriétés antioxydantes et bioactives (Ibrahim et al., 2023).

Elle contient aussi des oligo-éléments essentiels comme le manganèse le cuivre, le fer et le nickel. Egalement des macronutriments primaires tels que le carbone, l'azote, le phosphore et le potassium, de même que des macronutriments secondaires comme le calcium, le magnésium, le soufre et le sodium. Ainsi que des traces de métaux toxiques comme l'aluminium et l'arsenic (Kuppusamy et al., 2016).

Les graines de LP constituent une composition lipidique particulière, dont l'acide oléique, l'acide palmitique en quantité notable, notamment des traces d'acide malvalique et de dihydro-sterculique. En outre, de leur richesse en lipides, elles sont également une source importante de protéines (**Rao et al., 1989**).

I.2 Composés bioactifs présents dans la plante

I.2.1 Les polyphénols

L'expression « polyphénols » désigne un large éventail de molécules, réparties en plusieurs catégories chimiques. Leur caractéristique commune est d'inclure au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbones, qui contient un nombre variable de groupe hydroxyle (OH). On classe les composés phénoliques en différentes catégories d'acides phénoliques, de flavonoïdes et de tanins, en fonction du nombre d'hydroxyles phénoliques présents dans les groupes et des structures reliant les cycles de benzènes (**Hennebelle et al., 2004**).

Ils affectent les propriétés sensorielles des aliments, spécifiquement, les tanins contribuent principalement à l'astringence des aliments (**Singh, 2017**). Les polyphénols ont la capacité de former des liaisons hydrogènes avec les groupes et les atomes d'hydrogènes des polysaccharides présents dans les parois cellulaires, ce qui entraîne la formation d'une structure gélatineuse capable d'envelopper les composés phénoliques, rendant leur extraction compliquée.

Ces composés jouent un rôle clé dans le système de défense inné des plantes, leur production étant activée par divers facteurs de stress comme les variations de température, l'exposition aux rayons UV et les attaques de pathogènes (**Faller et Fialho, 2010**).

I.2.2 Mécanismes de biosynthèse des composés phénoliques

La biosynthèse de polyphénols s'effectue par deux voies distinctes : la voie acétate (Anneau A) et la voie shikimate (Anneau B) et avec la chaîne de liaison (Anneau C) formant le composant C₆C₃ (**Nabavi et al., 2020**).

- **Voie shikimate**

La voie de l'acide shikimique nourrit le métabolisme des phénylpropanoïdes, qui induit la formation d'une large diversité de substances, comme les acides hydroxycinnamiques, les acides hydroxybenzoïques, flavonoïdes et la lignine. Elle débute par la condensation de l'érythrose-4-phosphate (E4P) et du phosphoénolpyruvate (PEP),

déterminée par la DAHP synthase, induisant à la formation du 3-désoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate (DAHP).

Ce dernier est transformé ensuite par deux réactions enzymatiques successives pour éliminer le phosphate et l'eau, ce qui effectue la formation de l'acide 3-déhydroshikimique (3-DHS), précurseur de l'acide gallique, des gallotanins et ellagitanins. Le 3-DHS est réduit par la shikimate déshydrogénase pour obtenir l'acide shikimique. Le chorismate est un intermédiaire principale, qui est transformé en phénylalanine et en tyrosine par un réarrangement structurel, puis une transamination et une déshydratation (**De La Rosa et al., 2019**).

- **Voie acétate**

La voie de l'acétate donne des unités de base à deux carbones servant à l'ensemble des structures polymériques complexes. Cette voie est la deuxième source fondamentale de la biosynthèse des différents métabolites secondaires naturels (**Nabavi et al., 2020**).

La glycolyse et la bêta-oxydation aboutissent à la formation d'acétyl-CoA, qui produise du malonate. La cyclisation des chaînes polycétidiques constituées par la condensation répétée d'unité acétate via la carboxylation de l'acétyl-CoA. L'acétyl-CoA carboxylase est l'enzyme responsable de cette réaction (**Boubekri, 2014**).

I.2.3 Typologie des composés phénoliques

I.2.3.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques(AP) offrent des caractéristiques sensorielles des fruits et légumes, et sont cruciaux pour la croissance reproductive des plantes (**Ghasemzadeh, 2011**). Ils appartiennent à une classe spécifique d'acides organiques naturels marqués par deux squelettes carbonés de base : les acides hydroxybenzoïque et les acides hydroxy-cinnamiques. Bien que leur structure de base soit conservé, la variété dépend du nombre et de la position des groupes hydroxyles sur l'anneau aromatique (**Robbins, 2003**).

I.2.3.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes, représentent une vaste classe des polyphénols de faible poids moléculaire, ils sont cruciaux dans la biosynthèse des parois cellulaires. Ils sont globalement existants en tant que glycosides plutôt qu'aglycones. Les chalcones sont constitués de deux noyaux benzéniques liés par une chaîne carbonée α , β -insaturé portant une fonction carbonyle, représentants (**Niaz et Khan, 2020**). De plus les flavonoïdes ont un squelette à 15 atomes de carbone dérivé de deux métabolites de base : le malonyl-CoA et le p-coumaroyl-CoA.

Structurellement, ils sont des dérivés de 1,3-diphénylpropan-1-one (C6-C3-C6) (**Martens et Mithöfer, 2005**).

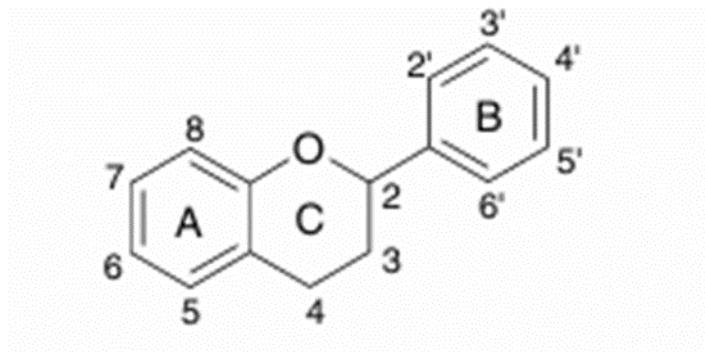


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (**Martens et Mithöfer, 2005**).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs sous-groupes :

➤ **Flavonols**

Les flavonols sont proche des flavones structurellement, avec juste un groupe oxo en position 4 avec une double liaison entre le carbone 2 et le carbone 3 de l'anneau C, favorisant la conjugaison des cycles A et B et influençant leur propriétés redox. Ils s'en distinguent aussi par l'existence d'un groupe hydroxyle en position 3 (**Barreca et al., 2021**). Leurs source principale étant les fruits et les légumes (**Aherne et O'Brien, 2002**).

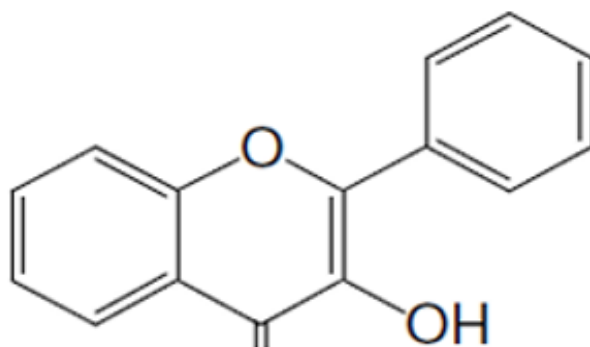


Figure 3 : Structure de flavonol (**Ghasemzadeh, 2011**).

➤ **Flavones**

Les flavones se subdivisent en divers sous-groupes, essentiellement définis par l'hydroxylation, l'O-méthylation, la C-méthylation, l'isoprénylation et la substitution méthylènedioxy. En plus de leurs formes aglycones, les glycosides O et C liés sont bien caractérisés. Les flavones sont généralement présents sous forme de 7-O-glycosides, même si d'autres groupes hydroxyles (**Martens et Mithöfer, 2005**).

Les flavones possèdent des propriétés antibactériennes, antioxydants et anti-inflammatoires (Abraham et al., 2025), et particulièrement des effets, anticancéreux, antiangiogéniques et antienstrogéniques. En plus, leur consommation n'entraîne pas de toxicité ou elle est négligeable (Martens et Mithöfer, 2005).

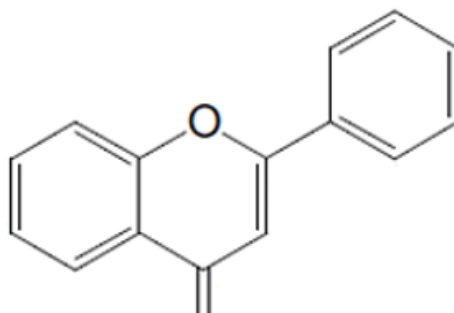


Figure 4 : Structure de flavone (Ghasemzadeh, 2011).

➤ **Flavan-3-ols**

Les flavan-3-ols sont une sous-classe des flavonoïdes incluant des monomères, des oligomères et aussi des polymères nommés proanthocyanidines. Les monomères de flavan-3-ols consistent deux centres chiraux aux positions C-2 et C-3, provoquant quatre isomères stéréochimiques (Niaz et Khan, 2020).

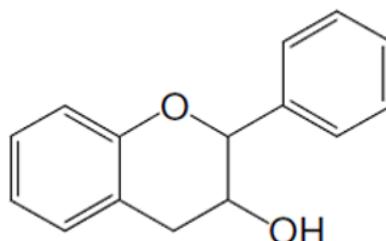


Figure 5: Structure de flavon-3-ol (Ghasemzadeh, 2011).

I.2.3.3 Tanins

Les tanins sont de masse moléculaire qui varie entre 500 à 3000 Da, associé à des polysaccharides, des alcaloïdes ou à des protéines. Ils sont abondants dans les téguments et ont un rôle crucial dans les mécanismes de défense de ces graines (Singh, 2017). Les tanins sont de deux types :

Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des dérivés des acides phénoliques comme l'acide gallique ou de l'acide hexa-hydroxydiphénique, ils sont liés par des liaisons esters à une unité d'hexose. Ils s'hydrolysent facilement à cause de la chaleur en milieu acide ou par des enzymes (McMahon et al., 2000).

➤ **Tanins condensés**

Les tanins condensés sont constitués par la polymérisation de flavane-3-ols (catéchine) ou de flavane-3,4-diols (proanthocyanidines), unis avec des liaisons C-C ou C-O-C, pour former des composés de poids moléculaire variable. Sauf un acide minéral chaud peut les faire dégrader (**McMahon et al., 2000**).

I.3 Saponines et sucres totaux

I.3.1. Saponines

Structuralement, les saponines ont une large diversité, elles se divisent en deux grandes classes : les triterpénoïdiennes et les stéroïdiennes, à propos de leur noyau lipophile, ainsi qu'en aglycones et glycosides, selon la présence ou l'absence d'une chaîne de sucre hydrophile lié au noyau, marqués par leur amphiphilicité et leurs propriétés tensioactives. Leur pouvoir de perturbation des membranes lipidiques explique leur emploi comme adjuvants vaccinaux et agent de transfection (**Eygeris et al., 2025**).

I.3.2 Sucres totaux

Les sucres totaux sont l'ensemble des sucres existants dans les plantes, séparément de leur source ou de leur nature chimique (**Azaïs-Braesco et Maillot, 2017**). Ce sont les principaux produits de la photosynthèse, ils ont un rôle dominant dans le métabolisme des plantes et sont activés dans diverses fonctions cellulaires ou disposés comme réserve énergétique (**Loreti, 2001**).

I.4 Généralités sur l'activité antioxydants

L'antioxydants désigne toute molécule à faible concentration relativement à celle d'un substrat oxydable et inhibe l'oxydation de ce dernier d'une façon significative (**Sehwag et Das, 2013**).

Les antioxydants sont divisés en deux vastes classes : les antioxydants primaires (préventifs) et les antioxydants secondaires retardant le processus de l'oxydation par différents procédés, comme l'élimination de substrat oxydable ou l'extinction du substrat singulet (**Antolovich et al., 2002**).

L'activité antioxydants des composés phénoliques est directement associée à leur structure chimique, particulièrement au degré de glycosylation, ainsi qu'au nombre et à la position des groupes hydroxyles en relation avec le groupe fonctionnel carboxyle (**Singh, 2017**).

I.4.1 Catégories des antioxydants

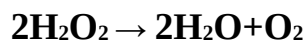
Les antioxydants dérivent surtout de deux origines différentes, une exogène qui est pourvue par l'alimentation, riche en composés comme les vitamines C et E, l'ubiquinone, les caroténoïdes, les flavonoïdes, le glutathion et l'acide lipoïque. L'autre est endogène, comportant un groupe d'enzymes parmi eux le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase et la catalase, ainsi que la ferritine, la transferrine, la céruloplasmine et l'albumine. À ceci se jointes le sélénium, le cuivre et le zinc ; qui sont des cofacteurs importants à l'activité de plusieurs enzymes antioxydants (**Haleng et al., 2007**).

I.4.1.1 Superoxydes dismutases (SOD)

Les SOD favorisent l'élimination des radicaux superoxydes par une voie de dismutation, les transformant en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Il se trouve plusieurs isoformes spécifiques, comme la Mn-SOD présente dans la mitochondrie et la CuZn-SOD située dans le cytosol et les érythrocytes (**Goudable et Favier, 1997**).

I.4.1.2 Catalase

La catalase est retrouvée dans les cellules animales et végétales (**Lück, 1965**), elle a un rôle clé dans la neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec une action complémentaire à celle de la glutathion peroxydase (**Sepasi Tehrani et Moosavi-Movahedi, 2018**) et déclenche la réactions suivante (**Lück, 1965**) :



I.4.1.3 Glutathions peroxydases (GSH-Px)

Les GSH-Px, sont des enzymes séléno-dépendantes lesquelles réduisent le peroxyde d'hydrogène elle utilise le glutathion réduit (GSH) comme un cofacteur, sur lequel elles transfèrent l'oxygène, conduisant à la formation de glutathion oxydé (GSSG).

La neutralisation efficace des espèces réactives de l'oxygène s'étend sur l'action complémentaire des superoxydes dismutases (SOD) et des GSHPx (**Goudable et Favier, 1997**).

I.4.1.4 Glutathions réductases (GSH-R)

La glutathion réductase représente une flavoprotéine qui catalyse la réduction de glutathion oxydé (GSSG) pour donner le glutathion réduit (GSH), à l'aide de NADPH comme un donneur d'électron (**Carlberg et Mannervik, 1985**).

I.4.2 Radicaux libres

Un radical libre présente une classe chimique, molécule, fragment de molécule ou atome, qui ont un ou plusieurs électrons célibataires sur une orbitale, ce qui lui donne une large réactivité chimique et une très courte demi-vie. En vue de stabilité, il vise à accrocher un électron au voisinage d'une molécule, produisant aussi une réaction d'oxydoréduction dans laquelle il se réduit alors que le donneur s'oxyde (**Goudable et Favier, 1997**).

I.4.3 Espèces réactives d'oxygène (ERO)

➤ Radical superoxyde ($O_2 \cdot^-$)

Le radical superoxyde est engendré à partir de l'oxygène moléculaire, spécialement par les neutrophiles, monocytes, macrophages et éosinophiles lors de l'élimination des virus et bactéries (**Goudable et Favier, 1997**). En effet, le dioxygène est susceptible de capter un seul électron, qui forme ainsi le radical superoxyde (**Barouki, 2006**).

➤ Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde est essentiellement produit à partir de l'anion superoxydes ($O_2 \cdot^-$) par l'action du superoxyde dismutase (SOD), qui catalyse sa dismutation. En outre, le H_2O_2 est le substrat pour la myéloperoxydase qui fabrique de l'hypochlorite (HOCl), un agent microbicide (**Goudable et Favier, 1997**).

➤ Radical hydroxyle ($OH\cdot$)

La réaction de fenton reste la voie fondamentale de formation du radical hydroxyle, qui implique le peroxyde d'hydrogène et l'ion ferreux (Fe^{2+}), comme cette réaction ci-dessous représente :



Le radical hydroxyle produit avec cette réaction est fortement réactif et oxydant. Il peut débiter des chaînes de peroxydation lipidiques, qui est le plus dangereux pour l'organisme (**Goudable et Favier, 1997**).

➤ Monoxyde d'azote (NO)

Le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) est généré par les cellules endothéliales par l'action des NO synthétases sur la L'arginine. C'est une molécule instable et diffusible, le $NO\cdot$ participe dans la régulation de plusieurs fonctions physiologiques, comme le maintien du tonus vasculaire, la neurotransmission et aussi le fonctionnement rénal (**Haleng et al., 2007**).

I.4.4 Stress oxydatif

Le stress oxydatif se produit dès qu'un déséquilibre se crée dans la cellule entre les espèces pro-oxydants et les systèmes antioxydants, en faveur des premières. Les substances biologiques contenant des doubles liaisons sont spécialement vulnérables à ces espèces réactives ce qui induit une forte réactivité envers les lipides, les protéines et l'ADN (Goudable et Favier, 1997) :



I.5 Généralités sur l'activité anti-inflammatoire

I.5.1 Inflammation

L'inflammation définit une réaction physiologique et protectrice contre les dommages tissulaires produits par un traumatisme physique, des agents chimiques toxiques ou des microorganismes dont les symptômes cliniques sont la rougeur, le gonflement, la douleur, la chaleur et la perte de fonction (Kumar et al., 2013).

Son rôle principal est de neutraliser l'infection ou de réparer les dégâts pour rétablir l'homéostasie. Toutefois, dans le cadre de quelques infections chroniques ou troubles inflammatoires, elle peut causer des lésions tissulaires plus importantes que l'agent déclencheur (Barton, 2008).

I.5.1.1 Types de l'inflammation

L'inflammation se divise en deux principales classes (Kumar et al., 2013) :

- **Inflammation aigue**

C'est la première réponse de l'organisme à une attaque, particularisée surtout par une augmentation du flux sanguin (Okoli et al., 2007), elle s'accompagne également, d'une infiltration capillaire et de la migration des leucocytes vers le site de l'inflammation (Kumar et al., 2013).

- **Inflammation chronique**

L'inflammation chronique est une réponse inflammatoire prolongée dans le temps (Eming et al., 2007), Elle se distingue par l'infiltration de cellules immunitaires mononucléaires comme les monocytes, les macrophages et les neutrophiles, également par l'activation des fibroblastes, la prolifération cellulaire (angiogenèse) et le développement de la fibrose (Kumar et al., 2013).

I.5.2 Agents anti-inflammatoires

La méthode thérapeutique anti-inflammatoire cherche à comprendre la réponse tissulaire non-spécifique élevée et à éviter le développement de l'inflammation aigue vers une phase chronique (Muster, 2005).

➤ Anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)

Les AINS composent un groupe de médicaments les plus employés dans le monde, en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques (Jouzeau et al., 2004). Les AINS classiques sont non-sélectifs, bloquant au même temps les isoformes COX-1 et COX-2. En revanche, les AINS sélectifs de la COX-2, nommé coxibs, ont été stimulés dans le cadre de réduire quelques effets néfastes, surtout gastro-intestinaux, avec le blocage de la COX-1 (Orliaguet, 2013).

➤ Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS sont des analogues de la cortisone endogène produite par les glandes surrénales. Cependant, un nombre de ces dernières sont aussi à l'origine d'effets secondaires comme le diabète. De plus, ils provoquent une suppression de la fonction surrénale par un mécanisme de rétrocontrôle négatif au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Muster, 2005).

I.5.3 Techniques d'évaluations *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire

Les tests *in vitro* sont en générale pratiqués sur des molécules ou des cellules engendrées dans les mécanismes de l'inflammation. Tel que l'évaluation de la dénaturation des protéines, la stabilisation des membranes cellulaires, aussi l'inhibition d'enzymes de médiateurs pro-inflammatoires (Seeman, 1967 ; Charlier et Michaux, 2003).

I.6 Stratégies expérimentales

Les plans d'expériences autorisent d'organiser les essais de recherche de manière à optimiser l'obtention d'informations tout en minimisant le nombre de simulations.

Ils se basent sur des règles mathématiques rigoureuses et reposent spécialement sur deux concepts fondamentaux, l'espace expérimental et la modélisation mathématique des variables étudiées (Goupy, 1990).

Pour qu'un plan d'expérience soit acceptable, il doit être orthogonal, condition nécessaire pour évaluer l'effet de chaque facteur (Gillon, 2004). Plusieurs types de plans expérimentaux existent pour s'adapter aux diverses situations expérimentales.

Ils incluent les plans factoriels complets ou fractionnaires, les plans à deux niveaux comme Plackett-Burman, Taguchi, les plans à plusieurs niveaux (carrés latins) et les plans pour les surfaces de réponse tels que Box-Behnken, Doehlert, composites (**Goupy, 1990**).

I.6.1 Plans de surface de réponse

La méthodologie de surface de réponse (RSM) présente une méthode d'optimisation intégrée aux plans d'expériences, visant à concevoir et analyser les effets de diverses variables indépendantes sur une ou plusieurs réponses. Elle se base sur une approche empirique qui fondé une relation entre les facteurs expérimentaux contrôlés et les réponses mesurées. Parmi les plans les plus fréquemment employé dans cette méthodologie, on trouve les plans de Box-Behnken, les plans de Doehlert et les plans composites centrés, chacun adapté à des configurations expérimentales spécifiques selon le nombre de facteurs et le type d'optimisation recherché (**Annadurai et Sheeja, 1998**).

I.6.1.1 Plans de Box-Behnken

Le plan Box-Behnken, élaboré par **George E. P. Box** et **Donald Behnken** en 1960, représente un plan de surface de réponse généralement pratiqué. Il est notamment adéquat pour explorer les relations de cause à effet entre plusieurs facteurs et les réponses mesurées dans le cadre d'expériences (**Szpisják-Gulyás et al., 2023**).

I.6.2 Avantages des plans d'expériences

La méthode des plans d'expériences permet de modéliser efficacement un système en munissant une représentation mathématique claire de ses réponses (**Gillon, 2004**). Elle a nombreux avantages majeurs : une réduction significative du nombre d'essais nécessaires, la détection des interactions entre les facteurs, une optimisation de la précision des résultats, la possibilité de modéliser les réponses en fonction des variables étudiées, ainsi que l'exploration simultanée de nombreux facteurs influents.

CHAPITRE II

Matériel et Méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétale

Calices et épines de *Lagunaria patersonia* (LP).

II.1.2 Matériel de laboratoire

Broyeur électrique (BRANDMANN5 (B20-2005AR1)), tamiseuse (Retsch), balance de précision, vortex (VELP Z× 3) bain Marie, pH-mètre (Hanna PH 211), centrifugeuse (Sigma 1-6), spectrophotomètre UV-visible (UV-9200), étuve (Binder), hotte (HSBP-180), appareil de séchage (Forher dehydrator GGJ-320A AC 220-240V/50Hz/240W).

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation des poudres de calices et des épines

La collecte des épines et calices de LP a eu lieu (Targa Ouzemour) en janvier et juin 2024 respectivement. Suite à la cueillette, les parties de plante ont été séchées à l'obscurité et à température ambiante afin de préserver leurs composés bioactifs.



Figure 6: Séchage de calices et épines de LP (Photographies originales).

Les calices ont été triturés à un intervalle de 10 secondes à l'aide d'un broyeur électrique, pour éviter toute montée de température lors du broyage, alors que, les épines ont été broyées avec un mortier et un pilon.



Figure 7: Broyage des calices et des épines de LP (Photographies originales).

Puis la poudre des calices a été tamisée avec un tamis de 250 μm de diamètre, suite à cela les poudres produites ont été stockées à une température de 4°C.

II.2.2 Optimisation

Afin de définir les conditions optimales d'extraction des composés phénolique présents dans les calices et les épines de LP, diverses recherches ont été menées en utilisant la décoction comme technique d'extraction.

II.2.3 Décoction

Des quantités spécifiques de poudre de LP ont été mélangées dans un volume d'éthanol à trois concentrations croissantes et à diverses températures (de 30 à 50°C). Par la suite, le mélange a été remué pendant des durées précises, après une centrifugation de 5 minutes à 2000 rpm a été effectuée. Ces paramètres ont été choisis dans le but d'obtenir une activité antioxydants et un contenu en polyphénols optimaux, grâce à l'exploitation du logiciel JMP pro 14.

II.2.4 Extraction

Suite à plusieurs essais pour perfectionner le procédé de l'extraction au laboratoire de BPC4, l'étape finale de décoction déterminée par le logiciel JMP pro 14 a été suivie. Ensuite, l'évaporation du solvant a été effectuée par l'utilisation d'un déshydrateur pour une meilleure conservation, puis, l'extract a été conservé à -20°C.

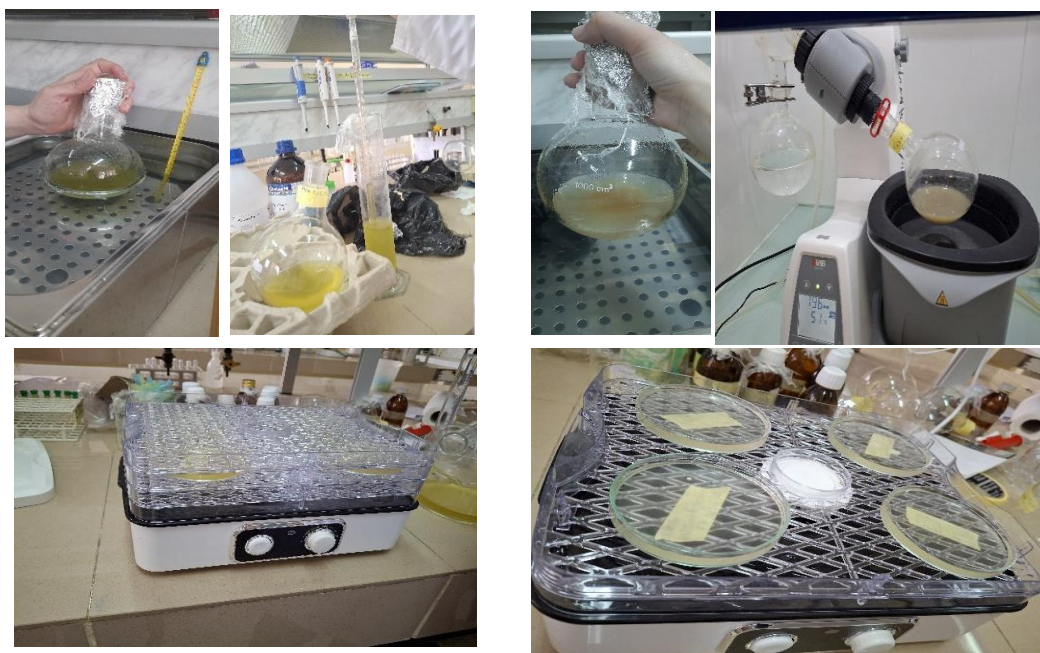


Figure 8: Procédure d'extraction à partir des calices et épines de LP (Photographies originales).

II.2.5 Evaluation du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction représente le pourcentage d'extrait sec par rapport à la masse initiale de la plante (**Moussa et al., 2022**). Le rendement est estimé à l'aide de la formule :

$$R(\%) = (mf / m0) \times 100$$

R : Rendement de l'extraction (%).

mf : masse de l'extrait sec (g).

m0 : masse de la matière végétale (g).

II.2.6 Dosage des polyphénols totaux

la méthode la plus employée pour la quantification des polyphénols est celle de Folin-Ciocalteu (**Attard, 2013**). Dans un milieu alcalin, les phénols réduisent le mélange de l'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique, produisant des oxydes bleus en tungstène et molybdène (**Blouin et al., 1972**). Dans la présente étude, le dosage des polyphénols a été effectué selon **Singleton et Rossi (1965)** avec quelques ajustements, comme décrit ci-dessous :

750 µl de Folin-Ciocalteu (1/10) ont été combinés avec des volumes d'EECLP ou d'EEELP. Puis des volumes de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5%) ont été additionnés. Après incubation la lecture a été réalisée à 765 nm. Les résultats ont été quantifiés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/gE).

II.2.7 Dosage des flavonoïdes et des flavonols

L'évaluation des flavonoïdes totaux a été réalisée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (**Mignanwandé et al., 2020**). La mesure a été réalisée par spectrophotométrie UV-Visible à 430 nm (**Masengo et al., 2023**). Le résultat a été exprimé en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/gE).

Pour les flavonoïdes, un volume de 600 µl de la solution de trichlorure d'aluminium (AlCl₃, 2%) a été mélangé avec un volume d'EECLP ou d'EEELP, la lecture a été réalisée à 430 nm. La quercétine a été utilisée comme molécule de référence.

En ce qui concerne les 600ul d'EECLP ou d'EEELP ont été ajoutés avec 1200 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) avec de l'acétate de sodium, 15 min plus tard, la lecture a été réalisée à 430 nm.

II.2.8 Dosage des tanins condensés

L'analyse à la vanilline est couramment utilisée pour quantifier les tanins condensés (**Price et al., 1978**). Cette procédure repose sur la capacité de la vanilline à interagir avec les unités des tanins condensés en présence de l'acide, générant ainsi un complexe coloré (**Mignanwandé et al., 2020**).

Dans la présente étude, le mélange réactionnel a été réalisé à partir de volume d'EECLP ou d'EEELP de vanilline (4%) dissoudre dans du méthanol, et d'acide chlorhydrique (HCl). Après incubation, la lecture a été réalisée à 550 nm.

II.2.9 Dosage des tanins hydrolysables

La méthode de **Mole et Waterman** en 1987, qui repose sur une réaction avec le chlorure de fer (FeCl_3), est employée pour quantifier les tanins hydrolysables durant laquelle un complexe coloré bleu est révélé.

Un volume de 875 μl de la solution FeCl_3 a été mélangé avec un volume d'EECLP ou d'EEELP, la lecture a été réalisée à 660 nm.

II.2.10 Dosage des saponines

La teneur totale en saponines a été mesurée par la méthode de vanilline-acide sulfurique (**Chen et al., 2014**).

Un mélange de volume d'EECPL ou EEEPL a été réalisé avec 125 μl de vanilline (8%) dissoute dans du méthanol, ainsi que 1250 μl d'acide sulfurique (72%). Puis la mesure a été effectuée à 544 nm.

II.2.11 Dosage des sucres totaux

Du Bois et al. (1956) ont introduit un test pour la quantification des sucres totaux au phénol/acide sulfurique, donnant un composé coloré (jaune-orangé) évaluable par spectrophotométrie.

Un volume d'EECPL ou d'EEEPL a été mélangé avec 750 μl acide sulfurique à 95%. Puis, 150 μl de phénol ont été additionnés, suite à cela, la lecture a été effectuée à 585 nm.

II.2.12 Evaluation de l'activité antioxydants

II.2.12.1 Test DPPH

Le test de DPPH est un test employé en générale pour une première évaluation de l'activité antioxydants (**Shahidi et Zhong, 2015**).

Le principe de cette méthode s'étend sur la réduction du radical libre DPPH•, de couleur violette, en une forme réduite DPPH-H de couleur jaune (Mignanwandé et al., 2020).

$$\% \text{ scavenging de radical DPPH}^\bullet = (Ac - Ae) / Ac \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle

Ae : absorbance de l'échantillon

II.2.12.2 Test ABTS

L'activité antioxydants a également été estimée par le test de décoloration du radical cation ABTS⁺ •obtenue à partir de l'ABTS (Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) en suivant la méthode de Khan et al. (2012).

Un volume de 1,5 ml de la solution d'ABTS, ont été mélangés avec un volume d'EECLP ou d'EEELP, et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 734 nm.

La formule utilisée pour calculer le pourcentage d'activité scavenging du radical ABTS⁺ • est :

$$\% \text{ Scavenging du radical ABTS} = ((Ac - Ae) / Ac) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

Ae : absorbance de l'échantillon.

II.2.12.3 Test d'inhibition de l'auto oxydation pyrogallol

À pH élevé, le pyrogallol s'auto-oxyde rapidement en solution aqueuse. Cette oxydation produit plusieurs intermédiaires, entraînant un changement de couleur de la solution qui devient jaune-brun (Marklund et Marklund, 1974).

Aux volumes d'EECLP ou d'EEELP 1000 µl de tris-HCl et 100µl de solution de pyrogallol, ont été additionnés, la lecture a été réalisée à 325 nm durant 3 min.

II.2.13 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

II.2.13.1 Test antitrypsine

L'activité protéolytique de la trypsine a été quantifiée dans différents systèmes, notamment par la méthode de caséinolyse selon la technique de Steinbuch, 1967.

Un volume de 300 µl de tris-HCl avec un volume d'EECLP ou d'EEELP ont été mélangés et incubés 5min, puis 300 µl de caséine ont été ajoutés après une autre incubation de 20 min, 600 µl d'acide perchlorique 70% ont été additionnés, après une centrifugation à 3000 rpm, La lecture a été réalisée à 340 nm.

II.2.13.2 Test d'oxyde nitrique NO

L'activité anti-inflammatoire a été estimée en quantifiant la production de monoxyde d'azote (NO), suivant le protocole de **Sousa et al. (2008)**. Ce test se repose principalement sur la capacité du nitroprussiate de sodium, en solution aqueuse à pH physiologique, à libérer spontanément du monoxyde d'azote (NO). Ce NO réagit par la suite avec l'oxygène pour former des ions nitrites (NO_2^-). Ces derniers sont après mesurés avec le réactif de Griess, qui forme un composé azoïque rose-violet quantifiable par spectrophotométrie (**Ebrahimzadeh et al., 2010**).

Dans cette étude un volume de 600 μl de solution de nitroprussiate de sodium a été mélangé avec un volume d'EECLP ou d'EEELP, puis le mélange a été incubé sous la lumière pendant 2h30min. Ensuite 1200 μl de réactif de Griess ont été additionnés. Le résultat a été lu à 562 nm.

II.2.13.3 Inhibition de dénaturation protéique

L'inhibition de la dénaturation des protéines est quantifiable en utilisant l'albumine de sérum bovin (BSA) ou l'albumine d'œuf comme modèle protéique (**Kamala Lakshmi et Valarmathi, 2020**).

Un volume d'EECLP ou d'EEELP a été mélangé avec 1250 μl PBS (6,4 pH) et 225 μl BSA, après incubation de 15min à une température de 37°C, les tests ont été incubés à 70°C pendant 5 min, après refroidissement la lecture a été réalisée à 255 nm.

II.3 Analyses Statistique :

Afin d'optimiser les conditions d'extraction des composés bioactifs à partir des fleurs de *L. patersonia*, une approche statistique fondée sur la conception d'expériences (Design of Experiments, DOE) a été appliquée à l'aide du logiciel JMP Pro14. Cette méthode a permis de planifier un ensemble d'essais expérimentaux de manière structurée, en couvrant efficacement l'espace des facteurs d'influence tels que la concentration du solvant, la température d'extraction et le temps d'infusion. Le plan expérimental retenu, de type factoriel, a été conçu pour évaluer à la fois les effets principaux, les interactions entre facteurs et les effets quadratiques. Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide d'outils statistiques intégrés, notamment l'analyse de variance (ANOVA), les modèles de régression, les graphiques de surface de réponse et les courbes de désirabilité. Ces analyses ont permis d'identifier les variables les plus influentes sur le rendement en polyphénols, avec un niveau de significativité fixé à $p < 0,001$.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1 Traitement des échantillons

Le présent travail est axé sur l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques totaux exhibant une activité antioxydants maximale, en utilisant la décoction comme méthode d'extraction. L'estimation du pouvoir antioxydants et le dosage des polyphénols totaux ont été réalisés sur les surnageant résultant de la décoction, après centrifugation.

Les facteurs recherchés impliquaient le pourcentage de solvant, la température et le temps en minutes. Le dosage des polyphénols totaux a été exprimé en mg équivalents d'acide gallique par gramme de poudre (mg EAG/g p), accompagné de la mesure de l'activité antioxydants après différents tests préliminaires.

L'analyse des données correspondantes au taux de polyphénols totaux et à l'activité antioxydants quantifiée par le test ABTS a été effectuée avec le logiciel JMP Pro 14. Les résultats, illustrés dans la figure10, représentent une corrélation significative entre les paramètres étudiés, avec des valeurs statistiquement significatives.

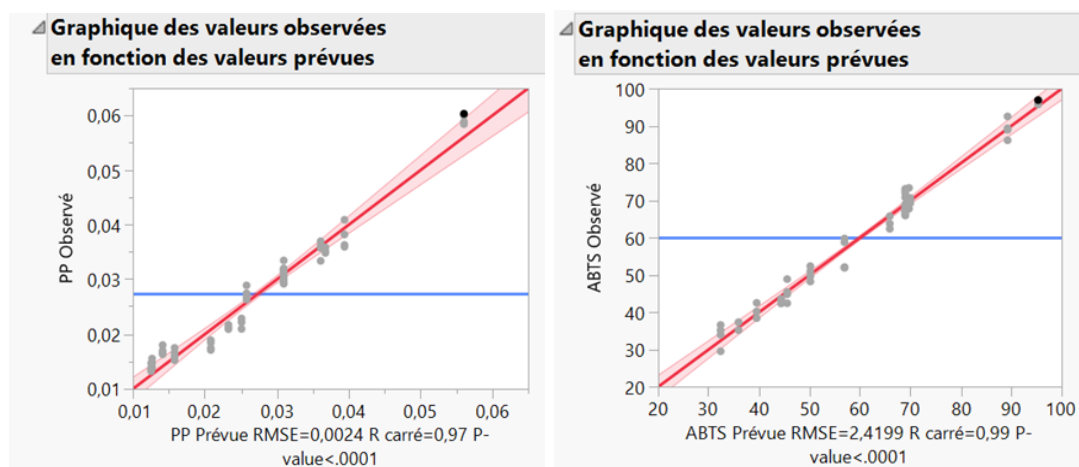


Figure 9: Coefficient de détermination du protocole d'extraction des polyphénols et le pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour la poudre des épines de LP.

Les graphiques prouvent la corrélation entre les valeurs observées et les valeurs prédites de la concentration en polyphénols et du pourcentage d'inhibition du radical ABTS. La racine de l'erreur quadratique moyenne (RMSE) a été quantifiée pour les extraits de calices et d'épines. Elle permet d'évaluer la précision des prédictions en calculant l'écart moyen entre les valeurs observées et celles prévues. Plus la RMSE est faible, plus le modèle de prédiction est performant.

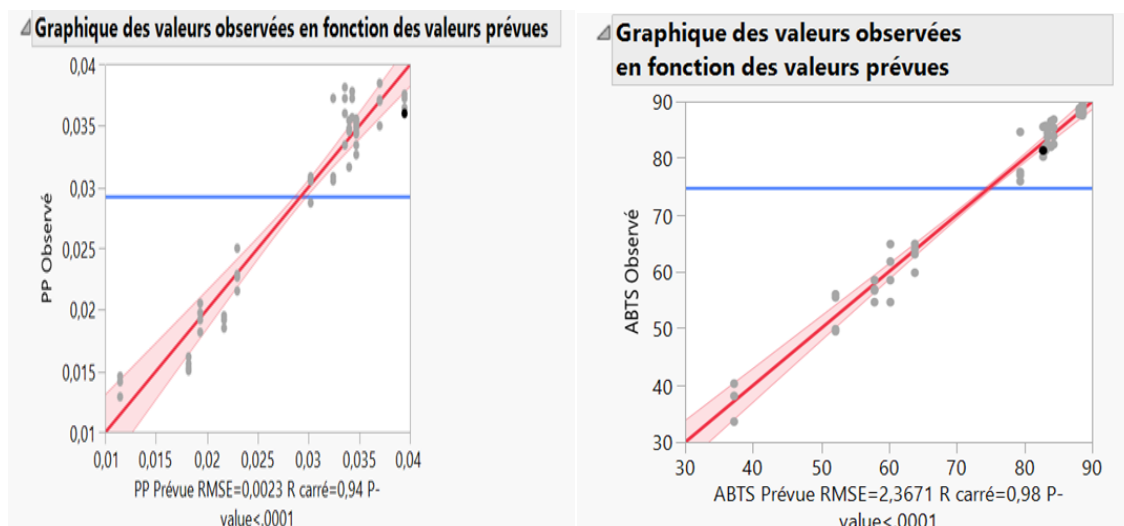


Figure 10: Coefficient de détermination du protocole d'extraction des polyphénols et le pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour la poudre des calices de LP.

L'analyse des résultats montre que, pour les épines, la racine de l'erreur quadratique moyenne est très faible (0,0024), ce qui indique que l'écart entre les valeurs prévues et observées est minime. Le coefficient de détermination est proche de un (0,97 PP et 0,99 ; ABTS), ce qui révèle une excellente corrélation entre les valeurs prévues et observées. Ceci indique que 97% et 99% de la variance de l'activité antioxydant est expliquée par le modèle. Ce dernier est statistiquement significatif avec une forte validité (P-value < 0.0001).

Pour les calices, Le coefficient de détermination (0,94 PP et 0,98 ; ABTS) indique que 94 % et 98 % de la variance des valeurs observées est expliquée par le modèle. Cela traduit une excellente qualité d'ajustement. La RMSE pour les PP est très faible (0,0023) désigne que l'écart entre les valeurs prévues et observées est minime. Alors que pour l'ABTS, la RMSE (2,3671) indique une faible dispersion des résidus entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales. La significativité statistique du modèle est très forte, ce qui confirme la validité du modèle prédictif (P-value < 0,0001).

Pour résumé, les extraits des calices et des épines de LP montrent une excellente précision (R^2 élevé, RMSE faible) et une forte significativité ($P < 0,0001$), confirmant leur fiabilité pour prédire l'activité antioxydants des extraits.

III.2 Conditions optimales d'extraction

Au terme de l'analyse par la méthodologie de surface de réponse, les équations de régression ont permis de déterminer les facteurs optimaux pour l'extraction. Ces conditions idéales sont montrées dans les figures 11 et 12 à travers les profileurs de prédiction, obtenus à partir du modèle expérimental de type Box-Behnken.

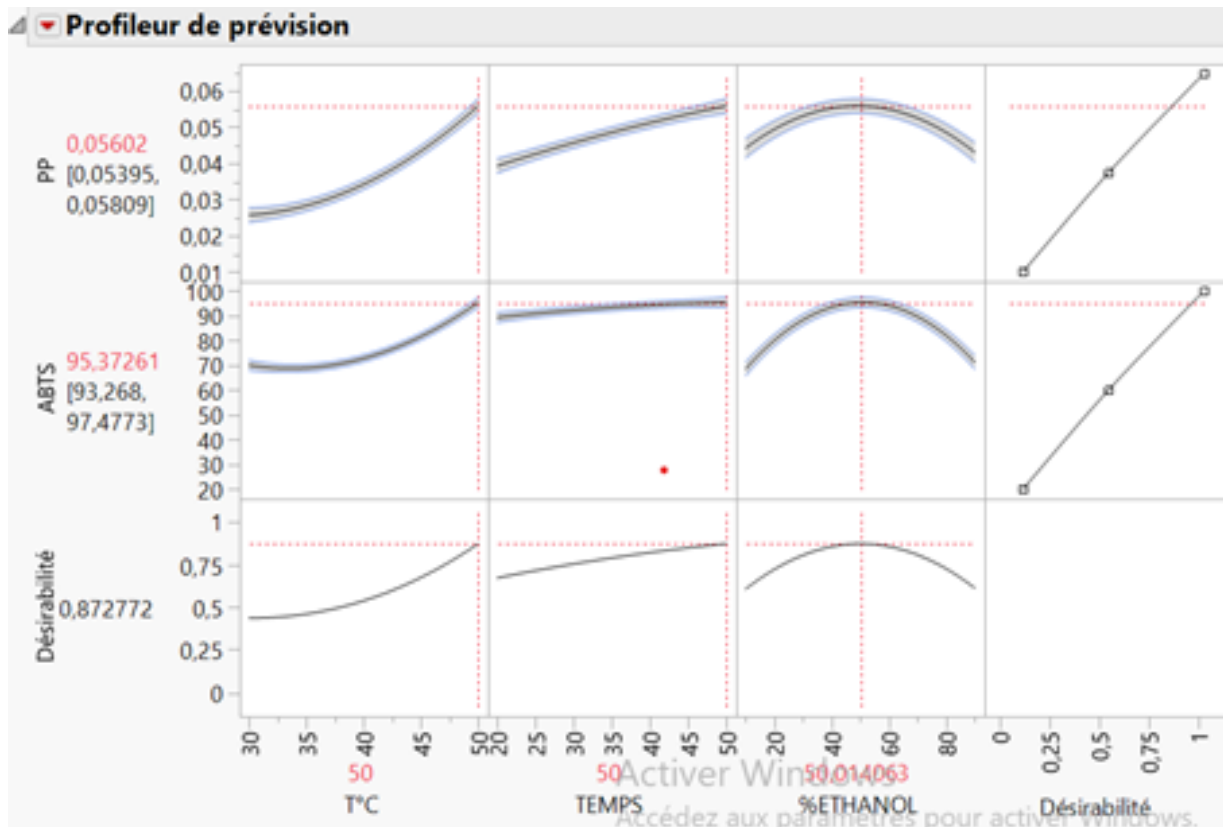


Figure 11:Profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode de décoction pour les épines.

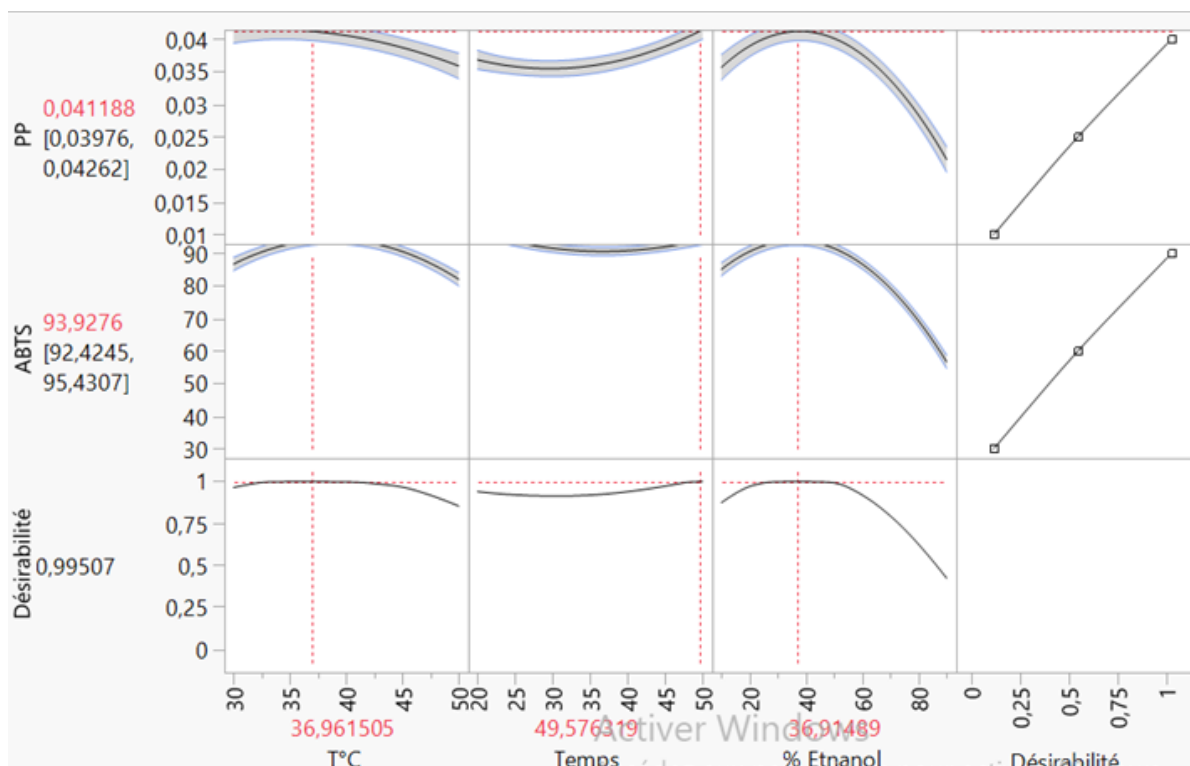


Figure 12: Profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode de décoction pour les calices.

Les figures ont met en évidence les paramètres optimaux d'extraction déterminés par le modèle. Ces derniers consistent à utiliser de l'éthanol 36,91%, puis à soumettre le mélange à un bain-marie sous agitation pendant 49,57 minutes, à une température de 36,96°C pour les calices. La même procédure pour les épines, à 50°C, 50 minutes, et 50% d'éthanol.

III.3 Rendements d'extraction

Les extraits des deux parties de LP ont été séchés en utilisant un déshydrateur. Le poids sec acquis a permis de comptabiliser le rendement d'extraction de chaque extrait. Les résultats sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : pourcentage de rendement d'extraction des calices et d'épines de LP.

Extraits	Pourcentage d'extraction
Calices	20.53%
épines	1.83%

Le pourcentage de rendement des calices (20,53%) est supérieur comparé aux épines (1,83%), censément à cause de la distinction de composition chimique entre les deux parties de la plante.

III.4 Evaluation de l'activité phytochimique

III.4.1 Teneur en polyphénols totaux

La méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu a été utilisée pour quantifier les niveaux de polyphénols totaux (TPT) dans l'extrait éthanoïque de LP.

Tableau II: Taux de polyphénols totaux des calices et d'épines de LP.

Extraits	Taux de polyphénols totaux (mg AG Eq/g ES)
Calices	8,28 ± 0,10
épines	66,21 ± 0,33

L'extraction optimisée des polyphénols totaux à partir des calices et des épines de LP a mené à l'obtention d'une teneur dont la valeur est présentée dans le tableau ci-dessus, les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

Les polyphénols sont essentiels pour maintenir une homéostasie saine du corps humain, en effet, ils sont capables de réduire le risque d'apparition de différentes pathologies, comme celles associées au vieillissement et aux lésions oxydatives, telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires ou bien les affections neuro-dégénératives (**Hennebelle et al., 2004**). Malgré le faible taux d'extraction des épines, cette partie de plante est huit fois plus riches en polyphénols totaux ($66,21 \pm 0,33$) que les calices ($8,28 \pm 0,10$).

Les résultats obtenus dans la présente étude sont plus élevés que ceux obtenus par l'étude réalisée par (**Akpo et al., 2024**), sur une plante appartenant à la même famille, *Hibiscus sabdariffa* L, en effet, où les concentrations mesurées sont de $3,6 \pm 0,07$ mg EAG/g d'extrait sec pour les feuilles, $1,15 \pm 0,04$ mg EAG/g ES pour les graines, et $1,45 \pm 0,14$ mg EAG/g ES pour les calices. Ces résultats restent inférieurs à ceux obtenus pour LP, bien que le même solvant d'extraction (éthanol) et la même méthode analytique aient été utilisés.

Cette différence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les conditions spécifiques d'extraction, la variabilité interspécifique, les changements saisonniers, ainsi que la polarité du solvant, qui sont autant d'éléments susceptibles d'influencer de manière significative la teneur en polyphénols des extraits végétaux (**Yous et al., 2018**).

Ces résultats prouvent l'intérêt pharmacologique des polyphénols présents dans les extraits de LP étudiés. Les polyphénols sont très connus pour leurs diverses activités biologiques, plus particulièrement leurs activités antioxydants, anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses.

Ils ont un rôle aussi dans la protection vasculaire, en réduisant la fragilité capillaire et en inhibant l'agrégation plaquettaire (Tabart et al., 2007), ainsi, les maladies cardiovasculaires ou bien les affections neuro-dégénératives (Hennebelle et al., 2004). Ces propriétés indiquent que la richesse en composés phénoliques contribue fortement à l'activité biologique observée chez LP.

III.4.2 Teneurs en flavonoïdes

Voici un tableau qui représente les taux des flavonoïdes

Tableau III: Taux de flavonoïdes des calices et d'épines de LP

Extraits	Taux de flavonoïdes (mg EQ/g ES)
Calices	1,22 ± 0,01
épines	0,39 ± 0,04

La teneur en flavonoïdes des calices de LP est trois fois plus élevée que celle des épines (tableau III). Les calices et les épines de LP sont plus riches en flavonoïdes par rapport au résultat de *X. americana* L. qui est de 0,069 mg en EqQ obtenu par Djamilatou et al. (2021).

Les résultats de flavonoïdes d'*Hibiscus sabdariffa* L. obtenues par Akpo et al. (2024) sont supérieurs (calices 30,07 ± 0,22 mg EQ/g, les feuilles 44, 54 ± 0,50 mg EQ/g et graines 12,27 ± 0,02 mg EQ/g) en comparant aux épines et aux calices de LP (Tableau III).

La cause de contraste entre LP et *l'Hibiscus sabdariffa* est peut-être due aux facteurs génétiques, à l'utilisation de méthanol dans l'extraction, alors que la même méthode a été utilisée dans les deux études.

Les flavonoïdes ont un rôle important dans la prévention du vieillissement cérébral et de ses conséquences, telles que l'altération de la mémoire, la confusion mentale, ou d'autres troubles cognitifs associés à la sénescence, ils ont des propriétés neurosédatives, antispasmodiques anti-inflammatoires et diurétiques (Hennebelle et al., 2004).

III.4.3 Teneurs en flavonols

Le tableau ci-dessous montre les résultats des taux des flavonols dans les calices et les épines.

Tableau IV : Taux de flavonols des calices et d'épines de LP

Extraits	Taux de flavonols (mg EQ/g ES)
Calices	0,206 ± 0,049
épines	1,90 ± 0,33

Les résultats montrent une différence marquée dans la teneur en flavonols entre les deux types d'extraits. Les épines ont une teneur beaucoup plus élevée en flavonols ($1,90 \pm 0,33$ mg/g d'extrait sec) comparativement aux calices ($0,206 \pm 0,049$ mg/g ES). Cette variation caractéristique suggère que les flavonols sont principalement concentrés dans les épines.

En conséquence, les épines de LP apparaissent comme une meilleure source potentielle de flavonols, des composés reconnus pour leurs propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreuses, renforçant ainsi leur intérêt dans le cadre de la valorisation thérapeutique ou nutraceutique de la plante, protection contre les attaques UV et microbiennes (**Barreca et al., 2021**)

III.4.4 Teneur en tanins condensés

. Les taux de tanins condensés pour les calices et les épines de LP sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau V: Taux des tanins condensés des calices et d'épines de LP.

Extraits	Taux de Tanins condensés (mg /g ES)
Calices	4,653 ± 0.022
épines	6,93 ± 0,83

Les données obtenues montrent que la teneur en tanins condensés varie selon l'organe végétal analysé. En effet, les épines de LP ont une concentration plus élevée ($6,93 \pm 0,83$ mg CE/g d'extrait sec) que les calices ($4,653 \pm 0,022$ mg CE/g ES). Toutefois, ces taux restent largement inférieurs à ceux des jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii*, qui ont une teneur de $23,33 \pm 0,94$ mg/g ES par **Kouamé et al., (2021)**.

Cela évoque que LP, malgré qu'elle contienne des tanins condensés, elle n'est pas une source spécialement riche comparée à certaines autres espèces de plantes médicinales, telle que *Piliostigma thonningii*, qui est une plante de la même classe que les malvaceae. Cependant, même à des concentrations modérées, les tanins peuvent contribuer à quelques propriétés biologiques telles que l'activité antioxydants, antimicrobienne ou astringente.

III.4.5 Teneur en tanins hydrolysables

Les tannins présentent des propriétés vasculo-protectrices, cicatrisantes, anti-diarrhéiques, de bons sédatifs cardiaques (**Hennebelle et al., 2004**).

Le tableau ci-dessous montre les taux des tannins hydrolysables :

Tableau VI : Taux des tannins hydrolysables des calices et d'épines de LP.

Extraits	Taux de Tanins hydrolysables (mg /g ES)
Calices	7,77 ± 0,52
Epines	14,96 ± 2,03

L'analyse des teneurs en tanins hydrolysables démontre une concentration nettement plus élevée dans les épines que dans les calices (**Tableau VI**). Ces valeurs sont bien supérieures à celle retrouvées dans les graines, les feuilles et les calices de l'*Hibiscus sabdariffa* atteignant 1,09 ± 0,03mg CE/g ES, 1,89 ± 0,00mg CE/g ES et 1,56 ± 0,05mg CE/g ES, respectivement (**Akpo et al., 2024**).

Ces résultats suggèrent une grande richesse en tanins hydrolysables chez LP, potentiellement reliée à des différences d'espèce, de structure tissulaire ou de fonctions écophysiologies, des facteurs génétiques propres à chaque espèce et les différences du protocole expérimental suivi.

III.4.6 Teneur en saponines

La teneur en saponines est présentée dans le tableau suivant :

Tableau VII : Taux d'extraction des saponines des calices et des épines de LP.

Extraits	Taux de Saponines (mg/g ES)
Calices	15,01 ± 5,39
Epines	327,60 ± 43,68

La différence de concentration en saponines est extrêmement marquée entre les deux organes étudiés, les épines de LP présentent une teneur exceptionnellement élevée ($327,60 \pm 43,68$ mg/g ES), soit plus de vingt fois supérieure à celle mesurée dans les calices ($15,01 \pm 5,39$ mg/g ES). Les deux extraits présentent une variabilité notable malgré que les deux parties étudiées se situent au niveau du même organe, en effet, les épines se distinguent par sa forte teneur en saponines, ce qui en fait l'organe le plus prometteur pour une valorisation biologique ou industrielle.

Les saponines jouent un rôle protecteur primordial, non seulement en contribuant à la vitalité globale de la plante, également, en bloquant le développement de pathogènes. Elles participent aussi à la régulation des interactions entre la plante et les agents pathogènes, favorisant ainsi une forme de modération dans la réponse biologique (**Hussain et al., 2019**).

Les saponines ont été abondamment étudiées pour leur diversité fonctionnelle, incluant des effets variés sur la santé humaine (bénéfiques ou indésirables), de même que pour leurs propriétés biologiques comme l'activité pesticide, insecticide, molluscicide et fongicide. Elles ont également un avantage organoleptique en raison de leur amertume ou douceur, et trouvent des applications industrielles en tant qu'agents moussants et tensioactifs (**Faizal et Geelen, 2013**).

Les saponines ont une activité cytotoxique, un effet antiprolifératif, elles ont principalement été évaluées pour leur activité anticancéreuse sur plusieurs lignées cellulaires tumorales, comme l'ostéosarcome, le laryngo-carcinome et le mélanome (**Gaceb-Terrak et Rahmania, 2012**).

III.4.7 Teneur en sucres totaux

Les taux de sucres totaux sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII : Taux d'extraction des sucres totaux.

Extraits	Taux de sucres totaux (mg ED-G/g ES)
Calices	$420,23 \pm 41,63$
Epines	$368,17 \pm 32,65$

L'analyse des teneurs en sucres totaux prouve que les calices présentent une concentration significativement plus élevée ($420,23 \pm 41,63$ mg/g ES) que celle mesurée chez les épines ($368,17 \pm 32,65$ mg/g ES).

Malgré une variabilité modérée observée entre les deux extraits, les données expérimentales montrent que les calices représentent l'organe contenant la concentration la plus élevée en glucides. Cette composition pourrait être interprétée comme le reflet d'un rôle physiologique de stockage ou de protection osmotique, ce qui positionne les calices comme des candidats privilégiés pour les applications nécessitant une forte densité glucidique, notamment dans les secteurs nutritionnel, phyto-cosmétique ou énergétique.

III.5 Evaluation de l'activité antioxydants

III.5.1 Test DPPH

Les résultats de l'activité antioxydants déterminés avec le test DPPH sont présentés dans les figures 13 avec le tableau IX ci-dessous :

Tableau IX: IC₅₀ de DPPH de l'extrait des calices et des épines de LP

Extrait	IC ₅₀ DPPH
Calices	4,97mg/ml
épines	4,64mg/ml

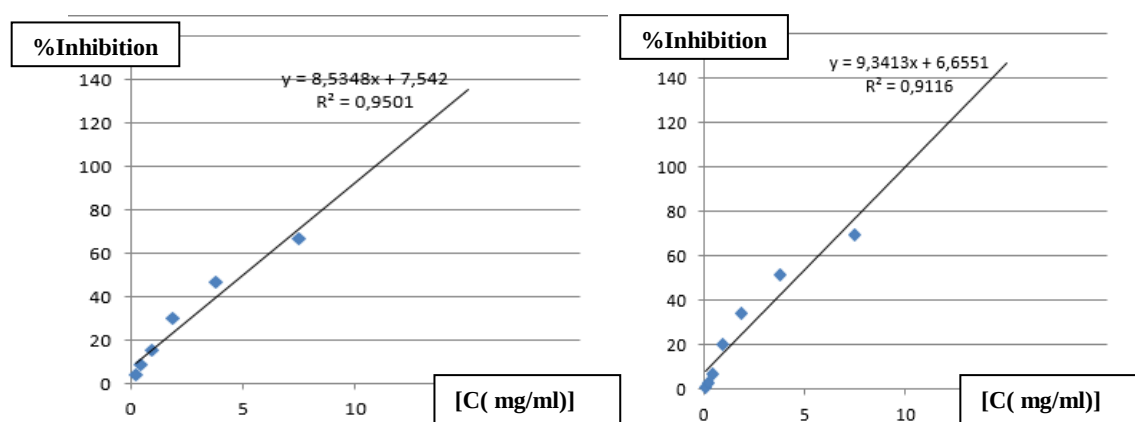


Figure 13: Droites des IC₅₀ de DPPH pour les calices et les épines de LP.

L'IC₅₀ (concentration inhibitrice 50 %) présente la quantité d'extrait nécessaire pour réduire 50 % des radicaux. Plus cette valeur est faible, plus l'activité antioxydant est élevée. L'extrait d'épines est plus efficace que celui des calices, car l'IC₅₀ des épines est inférieur à celle des calices (**tableau IX**). Ce résultat est approprié avec la teneur plus élevée en composés phénoliques et saponines observée dans cet organe, qui sont renommés pour leur Pouvoir réducteur et leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (**Dryden et al., 2005**).

Un coefficient de détermination élevé (**Figure 13**) est présenté par les deux courbes de régression, témoignant d'une relation linéaire entre la concentration des extraits et leur capacité à inhiber le radical DPPH•. Cela confère une fiabilité statistique aux données obtenues. Dans cet essai, les épines se distinguent comme l'organe le plus prometteur pour des applications antioxydants potentielles, spécialement en phytothérapie, cosmétologie naturelle ou dans le développement de compléments alimentaires.

En revanche, les résultats obtenus par **De Oliveira et al. (2012)** ont une activité antioxydants très inférieures, *Sida rhombifolia* (70,50 mg/mL) et *Herissantia crisa* (61,52 mg/mL) par rapport aux extraits de LP (**tableau IX**), alors que, *Wissadula periplocifolia* (20,52 ± 0,16 mg/mL) et *Sidatorium miscanthus* (24,7 ± 0,306 mg/mL) ont une activité modérée mais restent considérablement moins efficaces que LP, parce que elles nécessitent des concentrations plus élevées pour inhiber 50% des radicaux.

III.5.2 Test ABTS

Le tableau et la figure 14 ci-dessous résument les résultats de l'activité antioxydants obtenue par le test IC50 ABTS :

Tableau X : IC50 d'ABTS de l'extrait des calices et des épines de LP.

Extrait	IC50 ABTS
Calices	3,75mg/ml
Epines	0,57mg/ml

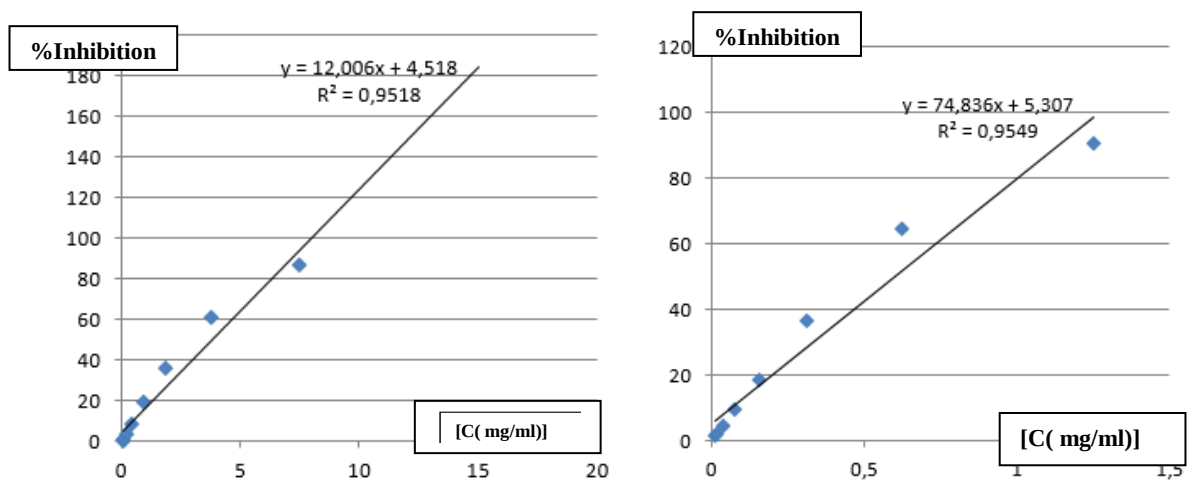


Figure 14: Droite pour IC50 d'ABTS pour les calices et les épines de LP

Le résultat des épines de LP (**Tableau X**) indique une forte activité antioxydants, nécessitant une faible concentration pour neutraliser les radicaux libres. Contre celle des calices qui révèle une activité antioxydant beaucoup plus faible que celle des épines.

L'extrait des épines est environ 6,5 fois plus actif que celui des calices selon le test ABTS. Cette différence évoque que les épines contiennent des composés antioxydants plus puissants ou en plus grande quantité, tels que certains polyphénols, flavonoïdes ou saponines.

La figure 14 montre une forte corrélation linéaire entre les valeurs observées et prédites de l'IC50 ABTS pour les calices et les épines de LP. Les coefficients de détermination proche de 1 ($R^2 = 0,9518$ pour les calices et $R^2 = 0,9549$ pour les épines) indiquent une excellente qualité d'ajustement et une grande précision prédictive du modèle. Malgré des pentes différentes, les deux modèles se montrent robustes et fiables pour estimer l'activité antioxydant des deux organes.

Les résultats des extraits de LP, surtout celui des épines ($IC_{50} = 0,57\text{mg/mL}$), présentent une activité antioxydants largement supérieure à celle des autres espèces de la famille des Malvaceae étudiées par **De Oliveira et al. (2012)**, telles que *Sida rhombifolia* (20,58 mg/mL), *Wissadula periplocifolia* (23,98 mg/mL) ou *Herissantia crispa* (27,12 mg/mL), même la plante *Sidastrum micranthum*, cependant assez actif (2,267 mg/mL), reste moins performante que l'épine de LP.

Ces résultats insinuent que la composition chimique spécifique à LP, surtout en polyphénols, flavonoïdes, saponines ou autres métabolites secondaires, accorder à ses extraits, spécialement ceux des épines, une forte capacité de piégeage des radicaux libres, ainsi un potentiel d'applications thérapeutiques importantes dans la prévention du stress oxydatif.

III.5.3 Test d'inhibition de l'auto oxydation pyrogallol

Le pourcentage d'inhibition de l'auto-oxydation de pyrogallol des calices et d'épines est présenté dans le tableau suivant :

Tableau XI1: Le pourcentage d'inhibition de l'auto-oxydation de pyrogallol de l'extrait des calices et des épines de LP

Extraits	Pourcentage d'inhibition de pyrogallol
Calices	84,32%
Epines	93,74%

L'extrait des épines de LP présente un pourcentage d'inhibition de (93,74%) de l'auto-oxydation de pyrogallol, Ce pourcentage élevé indique une activité antioxydants remarquable, montrant que l'extrait des épines est très efficace pour neutraliser les radicaux générés par le pyrogallol.

l'extrait des calices a également un pourcentage élevé (84,32%) mais reste inférieur à celui des épine, cette différence est censément liée à une plus grande richesse en composés antioxydants. Ainsi, l'extrait des épines apparaît comme une source plus prometteuse d'antioxydants que les calices.

III.6 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

III.6.1 Test antitrypsine

Le tableau ci-dessous représente le pourcentage de l'activité antitrypsine.

Tableau XII2: Pourcentage de l'activité antitrypsine.

Extraits	Pourcentage d'inhibition de l'activité antitrypsine
Calices	65,63 ± 3,42
Epines	80,28 ± 2,54

L'action de la trypsine est souvent associée à une activité anti-inflammatoire ou à un potentiel thérapeutique dans certaines pathologies digestives ou métaboliques, en effet, le dosage de l'activité antitrypsine repose sur la capacité d'un extrait à inhiber l'action de la trypsine sur un substrat protéique tel que la caséine. En présence d'inhibiteurs, la dégradation de la protéine par la trypsine est réduite (**Singh et Krikorian, 2002**).

Le pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique des épines (80,28 ± 2,54%) indique une forte activité antitrypsine. Egalement le pourcentage des calices est remarquable (65,63 ± 3,42%) montre une activité modérée, claire mais inférieure à celle d'épine. Cette différence prouve une plus grande richesse en inhibiteurs naturels de la trypsine dans les épines, renforçant son potentiel pour des applications anti-inflammatoires.

III.6.2 Test d'oxyde nitrique NO

Les résultats de l'inhibition de l'activité de l'oxyde nitrique sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau XIII : IC₅₀ NO des calices et épines

Extraits	IC ₅₀ NO
Calices	2,81 mg/ml
��pines	2,89 mg/ml

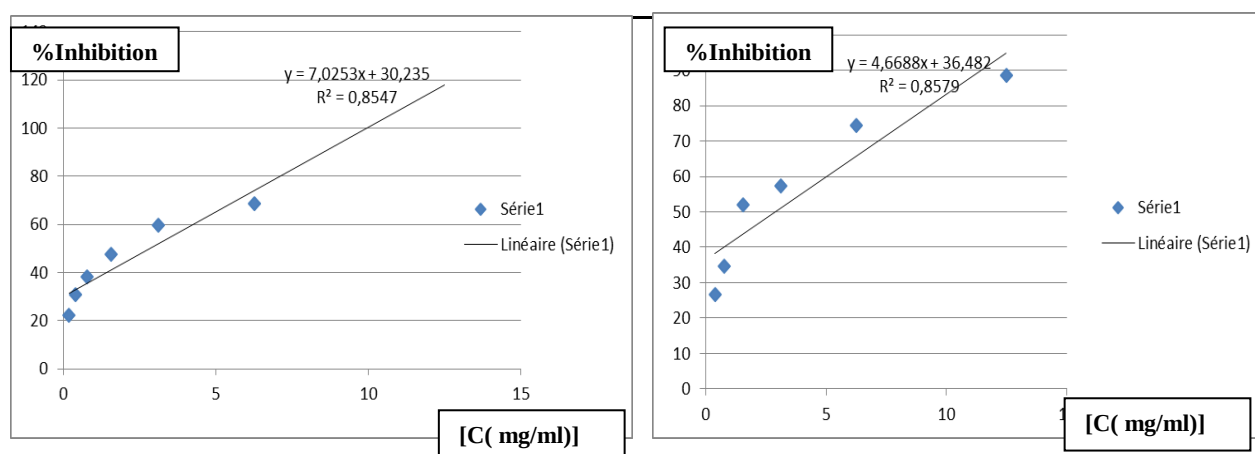


Figure15: Droite pour l'obtention des IC₅₀ de NO de l'extrait des calices et des épines.

La figure 15 montre la relation dose-réponse des extraits de calices et d'épines de LP envers radical oxyde nitrique (NO). L'IC₅₀ estimée est de 2,81 mg/mL pour les calices et 2,89 mg/mL pour les épines (**Tableau XIII**), indiquant des activités très proches. Ces résultats suggèrent que les deux organes possèdent un potentiel antioxydant comparable contre le radical NO, également anti-inflammatoire.

Les calices se distinguent très légèrement, mais sans écart marqué ; les deux extraits peuvent donc être considérés d'un intérêt similaire pour des applications ciblant la réduction du stress nitrosatif ou l'inflammation médiée par l'oxyde nitrique.

III.6.3 Inhibition de la dénaturation protéique

La dénaturation des protéines, qui représente une altération de leur structure tridimensionnelle, est impliquée dans déférentes maladies inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde, le diabète et le cancer. Inhiber cette dénaturation permet de limiter l'apparition de ces pathologies (**Kamala Lakshmi et Valarmathi, 2020**).

Les pourcentages d'inhibition de dénaturation des protéines sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau XIV: Les pourcentages d'inhibition de dénaturation des protéines des extraits de calices et d'épines.

Extraits	Pourcentage d'inhibition de dénaturation des protéines
Calice	39,05 ± 1,55
Epine	41,80 ± 2,22

La dénaturation des protéines est un mécanisme clé dans l'amplification des réponses inflammatoires. Egalement, les extraits végétaux capables d'inhiber ce phénomène sont fréquemment étudiés pour leur potentiel anti-inflammatoire (**Moualek et al., 2025**).

L'analyse du pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines prouve que les extraits de LP ont une activité inhibitrice moyenne. Cette capacité à bloquer la dénaturation de la BSA est un signe indirect d'activité anti-inflammatoire, à cause de l'implication de la dénaturation des protéines dans les réponses inflammatoires. Bien que l'extrait des épines indique une efficacité légèrement supérieure, la différence entre les deux résultats est relativement faible. Ces résultats prouvent que les deux parties de la plante contiennent des composés bioactifs capables de protéger les protéines contre les dénaturations thermiques, et pourraient également contribuer à des effets anti-inflammatoires dans des applications biologiques ou thérapeutiques.

Les extraits des calices et des épines de LP ont montré une capacité modique d'inhibition de la dénaturation des protéines, avec un pourcentage d'inhibition (Tableau XIV) équivalent à 39,05% et 41,80% respectivement. Cependant, les deux extraits sont moins actifs que le mélange de poudres des plantes (*Sida cardifolia*, *Solanum xanthocarpum* et *Psidium guajava*), qui atteint un taux d'inhibition de 60,9 %, indiquant une efficacité supérieure obtenu par **Thirumalai et al. (2024)**.

Malgré une efficacité inférieure à celle de l'extrait de référence, les extraits des calices et des épines de LP affichent une activité anti-inflammatoire notable, témoignant de leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques d'origine naturelle. Leur action pourrait être renforcée par une optimisation des conditions d'extraction ou par une synergie avec d'autres composés bioactifs.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de biomolécules d'intérêt thérapeutique, principalement des métabolites secondaires tels que les polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines et terpénoïdes.

Ces composés bioactifs possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques, surtout antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses. Leur utilisation comme alternatives aux agents synthétiques permet de développer des stratégies thérapeutiques plus biocompatibles, éco-soutenables et présentant un meilleur profil de tolérance biologique.

La présente étude s'est portée sur l'évaluation des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires de l'extrait hydro-éthanolique de *Lagunaria patersonia*, tout en optimisant les conditions d'extraction. L'optimisation, phase cruciale pour valoriser l'efficacité des composés bioactifs résultant des plantes médicinales, a été effectuée grâce au logiciel JMPpro 14. Ce dernier s'est décelé principalement performant à l'aide de son interface intuitive et ses outils d'analyse avancés, facilitant une optimisation rapide et précise.

L'analyse phytochimique de *Lagunaria patersonia* montre la richesse de ses calices et épines en composés phénoliques. Cette composition accorde aux extraits un fort potentiel antioxydants, comme l'indique les résultats obtenus aux tests de piégeage des radicaux libres (ABTS, DPPH) et à l'inhibition de l'autooxydation du pyrogallol.

En outre, leur activité anti-inflammatoire a été confirmée par l'inhibition saillante de la production de l'oxyde nitrique (NO), de l'activité antitrypsine et de la dénaturation des protéines. Ces propriétés soulignent le potentiel thérapeutique de ces extraits dans la prévention et le traitement de diverses affections inflammatoires.

Cependant, pour valider ces constatations et d'approfondir la compréhension des mécanismes impliqués, des recherches complémentaires sont nécessaires. Celles-ci devraient inclure des analyses phytochimiques plus approfondies, des tests antioxydants et anti-inflammatoires complémentaires, ainsi que des essais sur cultures cellulaires ou modèles cliniques.

Références bibliographiques

- Abraham, I. J., Huang, C., L, H., Yin, X., Park, J., Gao, Y., & Hur, J. (2025). Effects of dietary flavone on growth performance and Omics profiles of *Litopenaeus vannamei* under high-temperature. *Aquaculture and Fisheries*, S2468550X25000231. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2025.02.003>
- Aherne, S. A., & O'Brien, N. M. (2002). Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 18(1), 75–81. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00695-5](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00695-5)
- Akpo, J.M. K., Sangare-Oumar, M. M., Sacramento, I. T., Issotina, A. Z., Guinnin, F. F., & Houngbeme, A. (2024). 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. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(7), 2909–2924. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v17i7.24>
- Ghasemzadeh, A. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31). <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>
- Annadurai, G., & Sheeja, R. Y. (1998). Use of Box-Behnken design of experiments for the adsorption of verofix red using biopolymer. *Bioprocess Engineering*, 18(6), 463. <https://doi.org/10.1007/s004490050472>
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127(1), 183–198. <https://doi.org/10.1039/b009171p>
- Attard, E. (2013). A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols. *Open Life Sciences*, 8(1), 48–53. <https://doi.org/10.2478/s11535-012-0107-3>
- Azaïs-Braesco, V., & Maillot, M. (2017). Apports en sucres et principaux contributeurs dans la population française. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52, S58–S65. [https://doi.org/10.1016/S0007-9960\(17\)30199-2](https://doi.org/10.1016/S0007-9960(17)30199-2)
- Kamala Lakshmi B. & Valarmathi, S. (2020). In vitro anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Albizia lebbek* leaf (L.). *The Journal of Phytopharmacology*, 9(5), 356–360. <https://doi.org/10.31254/phyto.2020.9511>
- Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J., & Pinkas, M. (1994). Antioxidant Activities of *Crataegus monogyna* Extracts. *Planta Medica*, 60(04), 323–328. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959493>
- Barouki, R. (2006). *Stress oxydant et vieillissement*. 22.
- Barreca, D., Trombetta, D., Smeriglio, A., Mandalari, G., Romeo, O., Felice, M. R., Gattuso, G., & Nabavi, S. M. (2021). Food flavonols: Nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. *Trends in Food Science & Technology*, 117, 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.030>
- Barton, G. M. (2008). A calculated response: Control of inflammation by the innate immune system. *Journal of Clinical Investigation*, 118(2), 413–420. <https://doi.org/10.1172/JCI34431>

- Blouin, J., Llorca, L., Montreau, F. R., & Dufour, J. H. (1972). Etude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *OENO One*, 6(4), 405–413. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1972.6.4.2072>
- Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques*.
- Carlberg, I., & Mannervik, B. (1985). Glutathione reductase. In *Methods in Enzymology* (Vol. 113, pp. 484–490). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13062-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13062-4)
- Charlier, C., & Michaux, C. (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(7–8), 645–659. [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(03\)00115-6](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(03)00115-6)
- Chen, Y., Miao, Y., Huang, L., Li, J., Sun, H., Zhao, Y., Yang, J., & Zhou, W. (2014). Antioxidant activities of saponins extracted from Radix Trichosanthis: An in vivo and in vitro evaluation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 86. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-86>
- Craven, L. A., Miller, C., & White, R. G. (2006). A New Name, and Notes on Extra-Floral Nectaries, in Lagunaria (Malvaceae, Malvoideae). *Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 51(2), 345–353. <https://doi.org/10.3767/000651906X622283>
- De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic Compounds. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253–271). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>
- De Vilmorin, R. (1950). La flore exotique acclimatée sur la Côte d'Azur. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 97(10), 78–127. <https://doi.org/10.1080/00378941.1950.10834851>
- Djamilatou, Z. S., Djibo, A. K., Sahabi, B., & Seini, S. H. (2021). Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes antihypertensives du Niger. *European Scientific Journal, ESJ*, 17(17), 335. <https://doi.org/10.19044/esj.2021.v17n17p335>
- Dryden, G.W., Deaciuc, I., Arteel, G., McClain, C.J. (2005). Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy. *Current Gastroenterology Reports*, 7(4): 308–316.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, Fred. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., & Pourmorad, F. (2010). Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. 9(32), 5212–5217.
- Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5(4), 194–203. <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0252-4>

- El Mokni, R., & Iamónico, D. (2020). Nuevas alóctonas en Malvaceae para la flora africana del norte, con notas nomenclaturales. *Collectanea Botanica*, 39, e009. <https://doi.org/10.3989/collectbot.2020.v39.009>
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514–525. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700701>
- Esmail, N. M., Elshafei, A. A., Zakri, A. M., Al-Doss, A. A., & Barakat, M. N. (2014). Assessment of clonal fidelity of micro-propagated *Lagunaria patersonii* plants by TRAP and SSR markers.
- Eygeris, Y., Jozic, A., Henderson, M. I., Nelson, D., & Sahay, G. (2025). Exploring the Potential of Saponins as Adjuvants in Lipid Nanoparticle-based mRNA Vaccines. *Molecular Therapy Methods & Clinical Development*, 101495. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2025.101495>
- Faizal, A., & Geelen, D. (2013). Saponins and their role in biological processes in plants. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 877–893. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9322-4>
- Faller, A. L. K., & Fialho, E. (2010). Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.01.003>
- Fernandes De Oliveira, A. M., Sousa Pinheiro, L., Souto Pereira, C. K., Neves Matias, W., Albuquerque Gomes, R., Souza Chaves, O., Vanderlei De Souza, M. D. F., Nóbrega De Almeida, R., & Simões De Assis, T. (2012). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. *Antioxidants*, 1(1), 33–43. <https://doi.org/10.3390/antiox1010033>
- Mignanwandé, F. Z., Y, Hounkpatin, A. S., C, Johnson, R., Anato, D., H, Kpètèhoto, W., & O, Amoussa, M. (2020). Etudes ethnomédicinale, phytochimie et activité antioxydante de *Crateva adansonii* DC (Capparidaceae) dans les communes de Cotonou et de Dassa-Zoumè au Bénin. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 46(1), 8071–8089. <https://doi.org/10.35759/JAnmPlSci.v46-1.2>
- Gaceb-Terrak, R., & Rahmania, F. (2012). Détection et identification de saponines stéroïdes de type spirostane chez le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. (Arecaceae). *Acta Botanica Gallica*, 159(4), 477–483. <https://doi.org/10.1080/12538078.2012.758496>
- Gillon, F. (2004). *Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur à commutation électronique*.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115–120. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(97\)80058-1](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(97)80058-1)
- Goupy, J. L. (1990). *Étude comparative de divers plans d'expériences*.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). [Oxidative stress]. *Revue Médicale De Liege*, 62(10), 628–638.

- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>
- Hussain, M., Debnath, B., Qasim, M., Bamisile, B. S., Islam, W., Hameed, M. S., Wang, L., & Qiu, D. (2019). Role of Saponins in Plant Defense Against Specialist Herbivores. *Molecules*, 24(11), 2067. <https://doi.org/10.3390/molecules24112067>
- Ibrahim, K., El-Settawy, A., Salem, M., & Elsaeed, A. (2023). Antibacterial and Antifungal Activities of Extracts from Some Woody Trees on Some Plant Pathogenic Agents. *Alexandria Journal of Agricultural Sciences*, 68(2), 120–125. <https://doi.org/10.21608/alexja.2023.312704>
- Jouzeau, J.-Y., Daouphars, M., Benani, A., & Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 28, 7–17. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(04\)95274-8](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(04)95274-8)
- Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., & Soro, Y. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1), 97–105. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i1.9>
- Kumar, S., Bajwa, B., Kuldeep, S., & Kalia, A. (2013). *Anti-Inflammatory Activity of Herbal Plants: A Review*. 2.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Nirola, R., Lee, Y. B., & Naidu, R. (2016). Assessment of antioxidant activity, minerals, phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts. *Industrial Crops and Products*, 83, 630–634. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.060>
- Loreti, E. (2001). Why and How Do Plant Cells Sense Sugars? *Annals of Botany*, 88(5), 803–812. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1526>
- Lück, H. (1965). Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis* (pp. 885–894). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50158-4>
- Mantia, T. L., Badalamenti, E., & Pasta, S. (2015). Un nuovo caso di spontaneizzazione incipiente: *Lagunaria patersonia* (Andrews) G. Don (Malvaceae) in SICILIA.
- Marklund, S., & Marklund, G. (1974). Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), 469–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>
- Martens, S., & Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, 66(20), 2399–2407. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.07.013>
- Masengo, C. A., Ngbolua, K. N., Omeonga, S. L., Nzuzi, N. P., Ilumbe, G. B., & Mpiana, P. T. (2023). *Anti-inflammatoire, anti-drépanocytaire et cytotoxique des feuilles*.
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., Coulman, B. E., Wang, Y., & Cheng, K.-J. (2000). A review of the effects of forage

- condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469–485. <https://doi.org/10.4141/P99-050>
- Moualek, I., Benarab, K., & Houali, K. (2025). Evaluation of the in-vitro anti-inflammatory activity of *Malva sylvestris* leaves extract. *International Journal of Secondary Metabolite*, 12(1), 181–187. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1429643>
- Moussa, M. T. B., Cherif, A., Lekhal, S., & Hadeif, Y. (2022). *Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de Brocchia cinerea VIS de l'Algérie (Sud-Est)*. 04(01).
- Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC - Stomatologie*, 1(1), 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.emcsto.2005.01.005>
- Nabavi, S. M., Šamec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S., Suntar, I., Rastrelli, L., Daglia, M., Xiao, J., Giampieri, F., Battino, M., Sobarzo-Sanchez, E., Nabavi, S. F., Yousefi, B., Jeandet, P., Xu, S., & Shirooie, S. (2020). Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, 38, 107316. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.005>
- Niaz, K., & Khan, F. (2020). Analysis of polyphenolics. In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 39–197). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00003-2>
- Okoli, C. O., Akah, P. A., Nwafor, S. V., Anisiobi, A. I., Ibegbunam, I. N., & Erojikwe, O. (2007). Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D. Adams. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.037>
- Orliaguet, G. (2013). *Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens*. 17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pratan.2013.08.002>
- Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., RamaKrishna, S., & Berto, F. (2020). Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials. *Antioxidants*, 9(12), 1309. <https://doi.org/10.3390/antiox9121309>
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5), 1214–1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>
- Rao, K. S., Jones, G. P., Rivett, D. E., & Tucker, D. J. (1989). Cyclopropene fatty acids of six seed oils from malvaceae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(3), 360–361. <https://doi.org/10.1007/BF02653290>
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>
- Said, W. M., Mohamed, T. R., Elhalwagi, A. A., & Ahmed, Z. M. (2018). *Morphological and Anatomical Studies on Some Taxa of Sub Family Malvoideae (Malvaceae s.l)*.

- Seeman, P. (1967). Transient holes in the erythrocytes membrane during hypotonic hemolysis and stable holes in the membrane after lysis by saponin and lyssolecithin. *The Journal of Cell Biology*, 32(1), 55–70. <https://doi.org/10.1083/jcb.32.1.55>
- Sehwag, S., & Das, M. (2013). *Antioxidant Activity: An Overview*.
- Sepasi Tehrani, H., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2018). Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 140, 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.03.001>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Singh, B. (2017). *Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds_ A review*.
- Sousa, C., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R. M., & Andrade, P. B. (2008). Tronchuda Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC): Scavenger of Reactive Nitrogen Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(11), 4205–4211. <https://doi.org/10.1021/jf072740y>
- Steinbuch, M. (1967). Activité antiplasminique, antitrypsine et antithrombine de l'alpha-macroglobuline. *Transfusion*, 10(1), 103–120. [https://doi.org/10.1016/S0372-1248\(67\)80017-1](https://doi.org/10.1016/S0372-1248(67)80017-1)
- Singh, M. et Krikorian, A. D. (2002). *Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate (world)*. ACS Publications.
- Szpisják-Gulyás, N., Al-Tayawi, A. N., Horváth, Zs. H., László, Zs., Kertész, Sz., & Hodúr, C. (2023). Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. *Acta Alimentaria*, 52(4), 521–537. <https://doi.org/10.1556/066.2023.00235>
- Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J., & Dommes, J. (2007). Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*, 105(3), 1268–1275. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.005>
- Wilcox, M., Fraser, A., Major, C., Davidson, G., Young, M., & Rowe, S. (2010). *Norfolk Island—A record of the Auckland Botanical Society's visit, 4- 11 September 2010*.
- Yous, F., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaid, N., Cheraft, N., Sebaihi, S., Saidene, N., Benloukil, M., & Atmani, D. (2018). Anti-ulcerogenic and proton pump (H⁺, K⁺ ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. *South African Journal of Botany*, 119, 390–399. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.03>

Résumé

Ce travail a été consacré à l'optimisation de l'extraction et l'évaluation des propriétés bioactives des extraits de *Lagunaria patersonia*, une plante reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, polyphénols, flavonoïdes, saponines et sucres totaux. L'étude vise à utiliser le potentiel thérapeutique de cette plante en analysant ses propriétés antioxydants et anti-inflammatoires, notamment à travers des tests de piégeage des radicaux libres (ABTS, DPPH) et l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'optimisation des conditions d'extraction était réalisée à l'aide du logiciel JMP et du plan d'expérience Box-Behnken, facilitant d'obtenir un rendement élevé en composés phénoliques. Les résultats ont confirmé que les extraits d'épines et de calices sont riches en composés actifs, avec des activités antioxydants significatives, pouvant aider à réduire le stress oxydatif et l'inflammation. La recherche souligne également la nécessité de recherches complémentaires, notamment des analyses phytochimiques approfondies, des tests sur cultures cellulaires, et des essais cliniques pour confirmer leur efficacité. En conclusion, *Lagunaria patersonia* apparaît comme une source intéressante de composés bioactifs pouvant être intégrés dans le développement de traitements naturels, avec un potentiel à maximiser par l'optimisation des méthodes d'extraction et des synergies avec d'autres agents biologique.

Mots clés: Optimisation, *Lagunaria patersonia*, antioxydants, anti-inflammatoire, composés phénoliques.

Abstract

This work was devoted to the optimization of extraction and the evaluation of bioactive properties of *Lagunaria patersonia* extracts, a plant recognized for its richness in bioactive compounds, polyphenols, flavonoids, saponins and total sugars. The study aims to use the therapeutic potential of this plant by analyzing its antioxidant and anti-inflammatory properties, particularly through free radical scavenging tests (ABTS, DPPH) and protein denaturation inhibition. The optimization of extraction conditions was carried out using JMP software and the Box-Behnken experimental plan, facilitating obtaining a high yield of phenolic compound. The results confirmed that extracts of spines and calyces are rich in active compounds, with significant antioxidant activities, which can help reduce oxidative stress and inflammation. The research also highlights the need for further research, including extensive phytochemical analyses, cell culture tests, and clinical trials to confirm their effectiveness. In conclusion, *Lagunaria patersonia* appears as an interesting source of bioactive compounds that can be integrated into the development of natural treatments, with a potential to be maximized by optimizing extraction methods and synergies with other biological agents.

Keywords: Optimization, *Lagunaria patersonia*, antioxidants, anti-inflammatory, phenolic compound.

ملخص

تم تخصيص هذا العمل لتحسين الاستخلاص وتقييم الخصائص النشطة بيولوجيًا لمستخلصات *Lagunaria patersonia*، وهو نبات معروف بثرائه بالمركبات النشطة بيولوجيًا والبوليفينول والفلافونويدات والصابونين والسكريات الكلية. تهدف الدراسة إلى استخدام الإمكانيات العلاجية لهذا النبات من خلال تحليل خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات، وخاصة من خلال اختبارات إزالة الجذور الحرة (ABTS)، (DPPH) وتنشيط تحلل البروتين. تم إجراء تحسين ظروف الاستخلاص باستخدام برنامج JMP وخطة Box-Behnken التجريبية، مما يسهل الحصول على إنتاجية عالية من المركبات الفينولية. وأكدت النتائج أن مستخلصات الأشواك والكؤوس غنية بالمركبات النشطة، ذات الأنشطة المضادة للأكسدة الهامة، والتي يمكن أن تساعد في تقليل الإجهاد التأكسدي والالتهابات. ويسلط البحث الضوء أيضًا على الحاجة إلى إجراء المزيد من الأبحاث، بما في ذلك التحليلات الكيميائية النباتية المكثفة، واختبارات زراعة الخلايا، والتجارب السريرية لتأكيد فعاليتها. في الختام، تظهر *Lagunaria patersonia* كمصدر مثير للاهتمام للمركبات النشطة بيولوجيًا التي يمكن دمجها في تطوير العلاجات الطبيعية، مع إمكانية تعظيمها من خلال تحسين طرق الاستخراج والتآزر مع العوامل البيولوجية الأخرى.

الكلمات المفتاحية: التحسين، لاجوناريا باترسونيا، مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب، المركبات الفينولية.