

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA – Bejaia**

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie Physico-chimique*  
*Filière : Sciences Biologiques*  
*Option : Biochimie Appliquée*



Réf : .....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Optimisation de l'extraction des composés phénoliques et  
étude de l'activité antioxydante d'une plante médicinale  
en utilisant la méthodologie de surface de réponse**

Présenté par :

**BENTIFRAOUINE Inas & BERKANI Wissam**

Soutenu le : **25 Juin 2023**

Devant le jury composé de :

Mme Djoudad-kadji H.	Professeur	Présidente
Mr Tacherfiout M.	MCA	Promoteur
Mme Chaher-Bazizi N.	MCA	Examinatrice

**Année universitaire**

**2022/2023**

# Remerciement

*Nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage et la détermination pour mener à terme ce projet.*

*Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers notre promoteur **Mr TACHERFIOUT Mustapha** pour le temps accordé, le conseil donné et l'expertise partagé avec nous. Au long de notre projet, nous sommes reconnaissantes de son soutien inconditionnel et de sa patience qui ont été inestimables pour nous. Son encadrement été très motivant et enrichissant à la fois.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à **Mme Djoudad-kadji H.** d'avoir accepté de présider le jury ainsi que **Mme Chaher-Bazizi N.** d'avoir accepté d'examiner ce modeste mémoire.*

*Nous tenons également à remercier du fond du cœur l'ensemble des enseignants de la formation « **Biochimie Appliquée** » pour leurs engagements sans faille à nous former, ainsi que tous les enseignants de la faculté **SNV**.*

*Nous remercions aussi toute personne ayant participé du près et du loin à l'élaboration de ce projet, particulièrement l'ingénieur du labo **Mme Samia**.*

*Inas & Wissam*





# Dédicace

*Louange à Allah pour m'avoir accordé la grâce de réaliser ce mémoire*

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes chers parents « Smail » et « Karima »*

*Pour votre cœur qui m'a tant donné, Pour vous qui m'avez tant aimé*

*À vous maman et papa que je dois ma réussite*

*Je dédie ce travail à la mémoire de ma chère sœur Lydia qui nous a quitté très tôt, que Dieu*

*l'accueille dans ce vaste paradis*

*À mes très chères sœurs Sassa et Sylvia et à mes frères Karim et Racine*

*À mes beaux-frères Saad et Hanine*

*À ma tante Kahina*

*À mes deux familles Bentifraouine et Haddad et à tous mes cousins et cousines particulièrement*

*Katia, Maïssa et Létécia*

*Je rends Hommage à mon encadrant Mr Tacherfiout Mustapha, qui m'a aidé durant tout ce semestre pour réaliser ce travail. J'espère ce mémoire lui donnera pleine satisfaction*

*Que tous mes amis(es) et proches veuillent bien agréer l'expression de ma sincère reconnaissance pour leurs encouragements et conseils*

*Particulièrement : Benhabane Marouane pour son soutien et ses sacrifices*

*Lydia mon âme sœur, ma collègue et meilleure amie Wissam*

*Mes copines Fariza, Pélina et Sabiha*

*Et à toute la promo Biochimie Appliquée*

**Le véritable rêve n'est pas celui qu'on fait en dormant,**

**Mais plutôt ce qui nous empêche de dormir.**

**Arène SALAMERE**

*B. Inas*



# Dédicace

*Je rends grâce au Bon Dieu d'avoir illuminé ma voie vers la connaissance et le savoir*

*En signe de reconnaissance, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers*

*À ma mère « Hakima Tigrine », qui a enduré tant de souffrance sans jamais me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, merci infiniment pour tant d'années sacrifiées pour me voir un jour réussir*

*À mon père « Houreddine », mon offre au Dieu qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect*

*À ma sœur bien-aimée « Lamia » et son mari « Houreddine » ainsi qu'à mon frère estimé « Massi » et sa femme « Sarah » qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de mes études*

*Une dédicace particulière à mes nièces adorées « Eva » et « Annaëlle », pour qui je souhaite une vie remplie de succès et de bonheur*

*Je tiens à remercier vivement et chaleureusement mon encadrant « Tachoufiout Mustapha » pour son accompagnement, ses précieux conseils et son expertise durant la réalisation de ce travail.*

*Votre contribution a été inestimable et je suis très reconnaissante de vous voir comme mentor*

*À ma chère amie et binôme « Ines Bentifraouine »*

Tout vient à point à qui peut attendre

FRANÇOIS Rabelais

Wissam

# SOMMAIRE

# Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

I.1. Présentation de la plante .....	2
I.1.1. Introduction .....	2
I.1.2. Description botanique.....	2
I.1.3. Classification taxonomique .....	3
I.1.4. La composition chimique de <i>Paronychia argentea</i> .....	3
I.1.5. La pertinence ethno-pharmacologique .....	4
I.2. Les métabolites secondaires .....	4
I.2.1. Fonctions écologiques des métabolites secondaires .....	4
I.2.2. Classification des métabolites secondaires.....	5
I.2.3. La biosynthèse des métabolites secondaires.....	5
I.2.4. Les composés phénolique ou les polyphénols.....	6
I.2.5. La classification des polyphénols .....	6
I.2.6. La Biosynthèse des polyphénols.....	7
I.2.7. Les propriétés des composés phénoliques .....	7
I.3. Le stress oxydatif.....	8
I.3.1. Les radicaux libres .....	8
I.3.2. Les pathologies liées au stress oxydant .....	9
I.3.3. Origine des radicaux libres .....	9
I.3.4. Les antioxydants .....	10
I.4. Les plans d'expériences.....	10
I.4.1. Définition des plans d'expériences.....	10
I.4.2. Terminologie .....	11
I.4.3. Les avantages des plans d'expériences.....	11
I.4.4. Les plans de surface de réponse .....	11
I.4.5. Box Behnken .....	12

# Sommaire

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal.....	14
II.2. Equipements et produits chimiques.....	15
II.3. Optimisation de l'extraction des composés phénolique totaux de <i>Paronychia argentea</i> par macération dans un bain marie agitateur .....	15
II.3.1. Tests préliminaires .....	15
II.3.2. Application du plan de Box-Benhken .....	17
II.4. Dosages des polyphénols .....	18
II.4.1. Dosage des polyphénols totaux .....	18
II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	19
II.4.3. Dosage des flavones et flavonols .....	19
II.5. Activité antioxydante .....	20
II.5.1. Activité scavenger du radical DPPH.....	20
II.5.2. Activité scavenger du radical ABTS.....	20
II.6. Analyse statistique.....	21

## Chapitre III : Discussion et résultats

III.1. Optimisation des conditions d'extraction.....	22
III.1.1. L'influence du solvant sur le processus d'extraction .....	22
III.1.2. L'influence de la polarité du solvant sur l'extraction des CPT .....	22
III.1.3. L'influence du Temps sur l'extraction des CPT .....	24
III.1.4. L'influence de la température sur l'extraction des CPT .....	25
III.1.5. Influence du ratio sur l'extraction .....	25
III.2. Le plan d'expérience Box-Behnken.....	26
III.2.1. Analyse des résultats .....	26
III.2.2. Evaluation de la corrélation.....	28
III.2.3. Estimation des coefficients.....	29

## Sommaire

III.2.4. Modèle mathématique .....	31
III.2.5. Extrait optimal.....	31
III.3. Dosage des composés phénoliques et activité antioxydante .....	32
III.3.1. Dosage des polyphénols .....	32
III.3.2. Dosage de l'activité antioxydante .....	33
<b>Conclusion.....</b>	<b>37</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>38</b>



## Liste d'abréviations

---

### Liste d'abréviations

**°C** : Le degré Celsius

**ABTS** : 2, 2-azino-bis (acide 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic)

**Acétyl coA** : Acétyl coenzyme A

**ATP** : Adénosine triphosphate

**BBD** : Box-Behnken design

**CFT** : composés flavoniques totaux

**CPT** : composés phénoliques totaux

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

**EAG/g de MS** : équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

**EAG/g E** : équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

**EC/g de MS** : équivalent de catéchine par gramme de matière sèche

**EQ/g de MS** : équivalent de quercétine par gramme de matière sèche

**ERN** : espèces réactives de l'azote

**ERO** : Espèces réactives d'oxygène

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxydant Power

**h** : Heure

**H** : Proton

**HCl** : Acide Chlorhydrique

**IC50** : Concentration inhibitrice à 50%

**JMP7**: John's Macintosh Project 7

**min** : minute

**ml** : millilitre :

## Liste d'abréviations

---

**MSV** : Matière sèche végétale

**nm** : Nanomètre

***P. argentea*** : *Paronychia argentea*

**P-value** : probability value

**R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation

**RL** : Radicaux libres

**Rpm** : Rotation par minute

**RSM** : Méthodologie des surfaces de réponse

**S** : seconde

**UV** : Ultra-violet

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Photographie de <i>Paronychia argentea</i> (originale)	3
Figure 2	Schéma simplifié des principales voies métaboliques impliquées dans la biosynthèse de métabolites secondaires en lien avec les métabolites primaires	5
Figure 3	Structure de base des polyphénols	6
Figure 4	Classification des composés phénoliques	6
Figure 5	Propriétés des composés phénoliques	7
Figure 6	Schéma montrant le stress oxydant	8
Figure 7	Origine des radicaux libres	9
Figure 8	Espace de conception général de Box-Behnken pour trois facteurs	13
Figure 9	Différentes étapes de la préparation de la matière végétale	14
Figure 10	Réaction du complexe flavonoïdes – trichlorure d'Aluminium	19
Figure 11	L'influence du choix de solvant sur le rendement d'extraction des composés phénolique totaux de <i>P. argentea</i>	22
Figure 12	L'influence du choix du taux de la polarité du solvant sur la quantité d'extraction des polyphénols de <i>P. argentea</i>	23
Figure 13	L'impact du temps sur l'extraction des polyphénols de <i>P. argentea</i>	24
Figure 14	Effet de la température sur le taux de composés phénolique extraits de <i>P. argentea</i>	25
Figure 15	L'effet du ratio sur l'extraction des polyphénols de <i>P. argentea</i>	26
Figure 16	Plans de prédiction pour l'extraction des polyphénols de <i>Paronychia argentea</i>	28
Figure 17	Graphiques de surface de réponse présentant les interactions entre les facteurs étudiés	30
Figure 18	Diagramme représentant l'activité scavenger du radical DPPH• d'extrait méthanolique des parties aériennes de <i>P. argentea</i>	34
Figure 19	Diagramme représentant l'activité scavenger du radical ABTS d'extrait méthanolique des parties aériennes de <i>P. argentea</i>	35

## Liste des tableaux

---

### Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Plan de Box- Behnken pour 3 facteurs	13
II	Les équipements et les produits chimiques utilisés	15
III	Domaine de variation des paramètres pour le plan de Box- Behnken	17
IV	Matrice d'expérience donnée par le plan BBD	18
V	Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux par le plan d'expérience Box-Behnken de la poudre de <i>Paronychia argentea</i>	27
VI	Principaux coefficients de régression appliqué dans l'analyse statistique du modèle Box-Behnken	28
VII	Conditions optimales pour l'extraction des composés phénoliques de la poudre de <i>Pronychia argentea</i> et estimation des valeurs prédites et réelles des CPT	31
VIII	Les teneurs des polyphénols obtenues dans l'extrait optimale	32
IX	Concentration de l'extrait méthanolique de <i>P. argentea</i> qui inhibent 50% d'ABTS <sup>•+</sup> et DPPH <sup>•</sup> (IC50)	36

# INTRODUCTION

## Introduction

---

L'utilisation des plantes médicinales remonte à des temps immémoriaux, et reste encore très présente aujourd'hui (**Lovkova et al., 2001**). La recherche actuelle sur la découverte de médicament à partir de plantes médicinales implique une approche à multiples facettes, combinant des techniques botaniques, phytochimiques, biologiques et moléculaires. Cette approche a permis de découvrir des phytomédicaments pour prévenir diverses maladies notamment le cancer, la maladie d'Alzheimer, le paludisme et la douleur (**Balunas et Kinghorn, 2005**).

Par ailleurs, beaucoup de plantes sont très connues pour leurs grandes potentialités métaboliques de substances dites secondaires ; des composés synthétisés dans les différentes parties de la plante. Ces substances sont extrêmement complexes du point de vue structure et composition chimique. Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement ont des effets thérapeutiques (**Basli et al., 2012**).

*Paronychia argentea* est utilisée depuis longtemps comme médicament traditionnel pour le traitement du diabète, des calculs rénaux, des antimicrobiens et de nombreuses autres maladies humaines (**Veeraraghavan et al., 2020**). C'est une plante qui est largement répandue en Algérie ; elle appartient à la famille des Caryophyllacées et est communément appelée thé arabe (**Sait et al., 2015**). L'analyse phytochimique de la partie aérienne de *P. argentea* a révélé la présence de composés chimiques tels que les polyphénols qui sont divisés en plusieurs catégories et les plus connus sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (**Abou-Elkhair et al., 2010**), ces métabolites sont responsables des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes efficace (**Adjadj et al., 2016**) et qui font de cette plante un remède naturel.

Afin de maximiser le taux des polyphénols de *Paronychia argentea*, il est nécessaire de procéder à une extraction par macération de ces métabolites. Et pour améliorer cette extraction une méthodologie de surface de réponse basée sur le modèle Box-Behnken est appliquée. Cette approche utilise des techniques statistiques et mathématiques pour évaluer l'impact des facteurs clés et de leurs interactions sur la réponse obtenue (**Bai, et al. 2010**).

En effet le manuscrit est reparti en deux parties, en premier lieu, la synthèse bibliographique, qui comporte des notions clés sur la plante étudiée, les métabolites secondaires notamment les polyphénols et les plants d'expériences. Tandis que la deuxième partie est consacrée pour l'étude expérimentale ; elle est divisée en deux chapitres, le premier est la description du matériel et méthodes utilisés dans la réalisation de ce travail. Ainsi, le deuxième chapitre est une description des résultats obtenus et leurs interprétations.

SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE

## I.1. Présentation de la plante

### I.1.1. Introduction

Durant plusieurs siècles, les plantes sont utilisées à des fins médicinales et sont encore employées dans le monde entier comme remèdes maison et dans les services de soins de santé modernes (**Abu-Hamdah et al., 2005**). En Algérie, la diversité floristique est exceptionnelle, avec environ 3000 espèces différentes, y compris la *Paronychia argentea* (**Bouزيد et al., 2016**). Cette richesse botanique offre un potentiel important pour la recherche de nouveaux traitements médicaux ainsi pour l'étude de l'ethnobotanique, qui explore la relation entre les plantes et l'homme (**Bouزيد et al., 2016**).

*Paronychia argentea*, également connue sous les noms de Thé Arabe, Kassaret lahdjer, Fettat lahdjer ou Bissat El moulouk, figure parmi les plantes les plus communes de la médecine traditionnelle algérienne (**Adjadj et al., 2016; Arkoub-Hamitouche et al., 2020**), bien que cette herbe pousse principalement à l'état sauvage dans la région méditerranéenne, elle peut aussi être trouvée dans d'autres régions du monde (**Arkoub-Hamitouche et al., 2020b**). Les parties aériennes de cette plante contiennent des composés bioactifs tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins et des acides phénoliques qui possèdent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Elles servent à traiter diverses infections notamment les calculs rénaux, l'inconfort de la prostate, les ulcères et le diabète (**Adjadj et al., 2016**).

### I.1.2. Description botanique

*Paronychia argentea*, appartient à la famille des *Caryophyllaceae*, appelée aussi famille rose, connue par ses vertus médicinales (**Shatnawi et al., 2021**). Elle est caractérisée comme une herbe à croissance pérenne (**Braca et al., 2008**). Elle pousse dans les sols bien drainés, sablonneux et caillouteux (**Veeraraghavan et al., 2020**). La *Paronychia argentea* est une plante couchée, allongée qui peut atteindre jusqu'à 50 cm de hauteur, elle possède des feuilles linéaires, étroites et ovales avec des pointes aiguës mesurant environ 5 mm de long et 2 mm de large et elles sont de couleur vert argenté (**Afifi et al., 2005; Braca et al., 2008; Candolle, 1805**). Les lobes du calice sont de forme oblongue avec des marges membraneuses à capuchon (**Hamdan et Afifi, 2004**). Ses fleurs sont de petites grappes blanches avec 5 sépales. Cette plante fleurit généralement entre les mois d'avril et de juin (**Veeraraghavan et al., 2020**).





**Figure 1** : Photographie de *Paronychia argentea* (originale)

### I.1.3. Classification taxonomique

La classification botanique de *Paronychia* a été décrite et dénommée pour la 1<sup>ère</sup> fois en 1805 par Jean-Baptiste Lamarck (Veeraraghavan et al., 2020) :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Caryophyllales
<b>Famille</b>	Caryophyllaceae
<b>Genre</b>	<i>Paronychia</i>

### I.1.4. La composition chimique de *Paronychia argentea*

Des travaux biologiques ont démontré que *Paronychia argentea* est composée essentiellement des composés phénoliques notamment en flavonoïdes et des tannins (Al-Bakri et Afifi, 2007), comme elle contient aussi des stérols, des triterpènes, des huiles essentielles, des hydrates de carbones, et dépourvue des alcaloïdes, ce qui n'est pas surprenant car les

alcaloïdes se décomposent facilement avec le temps (Abou-Elkhair et al., 2010). Les flavonoïdes identifiés, appartenant aux flavones et aux flavanols. Onze entre eux ont été détectés dans une étude sur des extraits de *P. argentea* et certaines d'entre elles ont déjà été décrites dans la littérature, telle que la quercétine-3-O- (glucosyl) galactoside, quercétine-3-O- [(2 - acétyl) glucosyl] galactoside, quercétine-3-O-galactoside, isorhamnetin-3-O-glucoside et jaceosidin-7-O-glucoside (Sait et al., 2015).

### I.1.5. La pertinence ethno-pharmacologique

La phytothérapie est une pratique médicinale qui remonte à l'Antiquité et qui utilise les extraits des plantes pour prévenir et soigner les maladies. Dans les pays méditerranéens la médecine traditionnelle à base de *Paronychia argentea* est très répandue, notamment en Algérie. Sa partie aérienne est utilisée pour traiter plusieurs maladies tels que les calculs rénaux, les infections des voies urinaires (Abu-Irmaileh et Afifi, 2003), les problèmes circulatoires, les altérations de la tension artérielle, les varices et la dermatite (Benítez et al., 2010), elle a également été largement utilisée au Portugal comme remède carminatif et en Israël, en Jordanie et au Maroc pour traiter le diabète. Elle est utilisée également pour soigner les troubles de la prostate, les ulcères d'estomac, l'anorexie et elle agit comme un antimicrobien (Arkoub-Hamitouche et al., 2020).

## I.2. Les métabolites secondaires

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire une large gamme des substances naturelles. En effet, à côté des métabolites primaires courantes (glucide, protéides, lipides et acides nucléiques), elles ont tendance à accumuler des métabolites dites « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours claire. Cependant, ces métabolites représentent une source importante de composés utiles pour l'homme y compris dans les domaines de la pharmacologie, l'agroalimentaire et dans l'écologie (Hopkins, 2003; Macheix et al., 2005).

Ce métabolisme secondaire comprend des composés chimiques très diversifiés. Plus de 200 000 structures sont connues (Nascimento et Fett-Neto, 2010). Chaque espèce se distingue par un spectre caractéristique de composants chimiques, certains étant toujours présents, tandis que d'autres sont produits en réponse à des facteurs environnementaux biotiques ou abiotiques particuliers (Sonnewald, 2013).

### I.2.1. Fonctions écologiques des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ont plusieurs fonctions écologiques, comme :

- Agents de défense contre le stress environnementaux tels que la sécheresse ou le froid.
- Agents inhibiteurs contre d'autres espèces végétales concurrentes.
- Barrière de protection chimique.
- Communication entre plantes, micro-organismes ou animaux (hormones, phéromones).
- Protection contre les herbivores, les pathogènes et les rayonnements UV (**Sonnewald, 2013; Wink, 2010**).
- Responsables de l'attraction des insectes pollinisateurs (qui sont essentiels pour la reproduction) par les pigments isoprénoides et les parfums.

**I.2.2. Classification des métabolites secondaires**

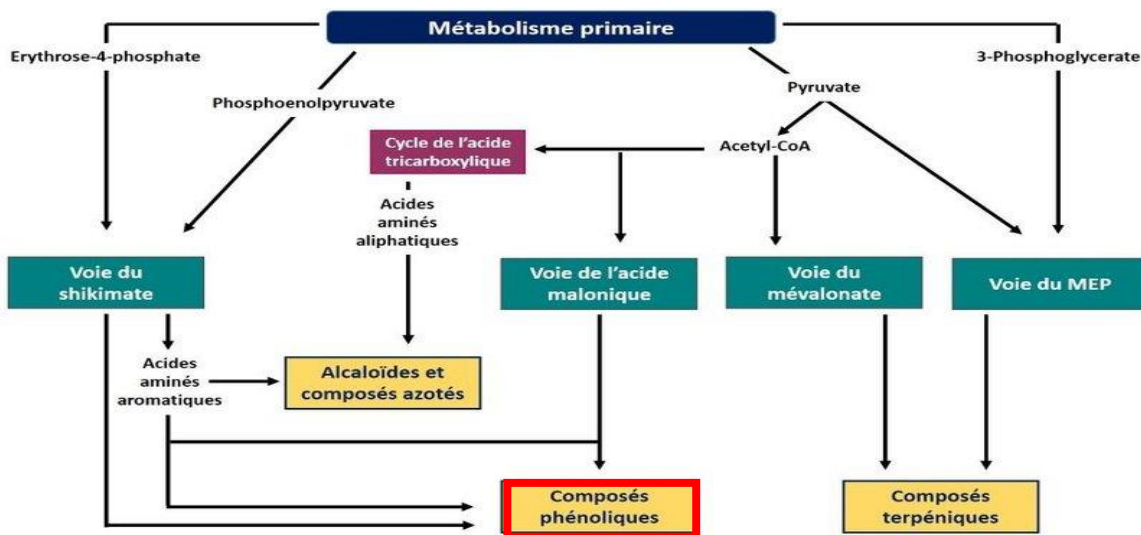
La diversité des métabolites secondaires résulte également de la présence de composés d'origine mixte. Il est assez courant de trouver des composés qui résultent de la combinaison d'intermédiaires dérivés de différentes voies métaboliques (**Nascimento et Fett-Neto, 2010**).

Les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes sont les composés phénolique, les terpènes et les alcaloïdes (**Annadurai et Sheeja, 1998; Macheix et al., 2005**).

**I.2.3. La biosynthèse des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont produits à partir de différents métabolites primaires ou de leurs intermédiaires selon différentes voies métaboliques (**Rubio, 2017**).

La biosynthèse de ces métabolites est représentée dans la figure ci-dessous



**Figure 2 :** Schéma simplifié des principales voies métaboliques impliquées dans la biosynthèse de métabolites secondaires en lien avec les métabolites primaires (**Rubio, 2017**).

Voie du MEP = Voie du méthylérythtol phosphate

### I.2.4. Les composés phénolique ou les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure (Amiot *et al.*, 2009). Ces métabolites sont des phytomicronutriments et généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (Edeas, 2008).

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique (figure 3) jusqu'aux tanins complexes, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (Chira *et al.*, 2008)

Ils regroupent différentes classes de molécules. Principalement les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins issus de la polymérisation des flavonoïdes mais aussi les lignanes et les stilbènes (Edeas, 2008; Menat, 2006).

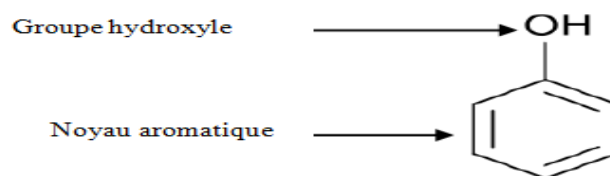


Figure 3 : Structure de base des polyphénols

### I.2.5. La classification des polyphénols

Les composés phénoliques sont subdivisés en groupes selon le nombre de noyaux phénoliques et les éléments structuraux qui relient ces cycles, on distingue les acides phénoliques, les flavonoïdes, les Stilbènes, les tanins, les lignanes et les lignines polymères.

Selon Paredes-López *et al.* (2010) les composés phénoliques sont classés comme suit :

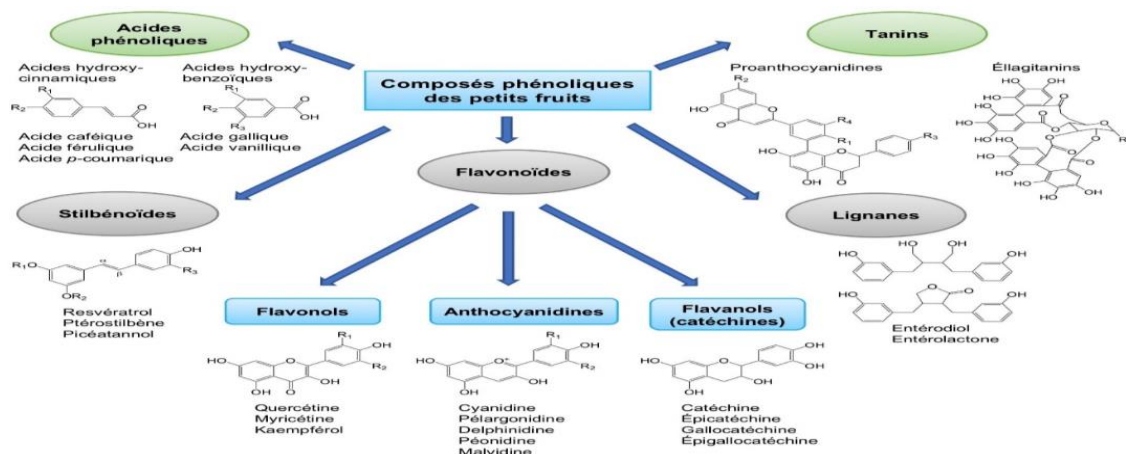


Figure 4 : Classification des composés phénoliques (Paredes-López *et al.*, 2010)

### I.2.6. La Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies métaboliques .

#### ➤ La voie shikimate

C'est la voie métabolique la plus courante pour la biosynthèse des composés phénoliques, elle débute par la conversion des oses en acides aminés aromatiques, tels que la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont ensuite désaminés pour former des acides cinnamiques, qui sont des précurseurs de nombreux composés phénoliques, tels que les acides benzoïques, les acétophénonnes, les lignanes, les lignines et les coumarines, ...etc. (Bruneton, 2008).

#### ➤ La voie malonate

La glycolyse et la  $\alpha$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse 1964, Richter 1993).

### I.2.7. Les propriétés des composés phénoliques

Les polyphénols sont des substances naturelles que l'on peut trouver dans notre alimentation, ils peuvent être sous diverses formes, telles que des vitamines A, C ou E ou des minéraux comme le sélénium et le zinc. Ces composés phénoliques ont plusieurs effets positifs sur notre santé, notamment en agissant comme des antioxydants.

La figure suivante représente les différentes propriétés des polyphénols :

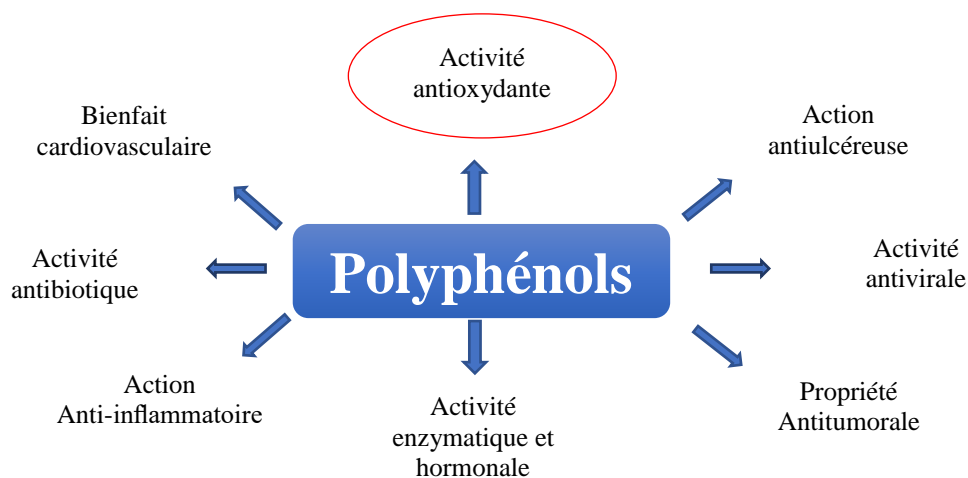


Figure 5 : Propriétés des composés phénoliques (Massaux, 2012)

### I.3. Le stress oxydatif

La production d'adénosine triphosphate (ATP) et l'équilibre énergétique des organismes aérobies dépendent de l'oxydation phosphorylante mitochondriale, et l'oxygène est indispensable pour cette réaction. Cependant, ce dernier est un élément très réactif qui peut endommager les molécules organiques. Pour cela les organismes vivants ont donc mis en place des systèmes de défense antioxydants puissants et une signalisation précise pour gérer l'utilisation de l'oxygène (**Leverve, 2009**).

Dans des circonstances normales, notre corps est capable de maintenir un équilibre entre les antioxydants et les prooxydants, mais si cette balance est perturbée cela peut conduire à un excès de radicaux libres appelé stress oxydatif (**Favier, 2003**). Le stress oxydatif se produit lorsque la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dépasse la capacité du réseau antioxydant à le neutraliser. Les habitudes de vie comme le tabagisme la consommation d'alcool, l'obésité ou l'exercice physique intense, ainsi que l'alimentation inadaptée contribuent à augmenter significativement la production des ERO dans notre organisme. Ceci est potentiellement associé à un risque accru de développer des pathologies liées au vieillissement telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Haleng et al., 2007**).



**Figure 6** : Schéma montrant le stress oxydatif (**Haleng et al., 2007**).

ERO : espèces réactives de l'oxygène ; ERN : espèces réactives de l'azote

#### I.3.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Ils peuvent être créés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire, ou par la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Les radicaux libres sont des espèces chimiques instables, très réactives avec une durée de vie extrêmement courte ( $10^{-9} - 10^{-6}$  s) (**Goudable et Favier, 1997; Tessier et Marconnet, 1995**).

De nombreux composants cellulaires tels que les protéines, les lipides, glucides et l'ADN sont sujettes à l'attaque radicalaire, provoquant ainsi un dysfonctionnement dans les activités vitales des cellules à l'origine du développement de diverses pathologies (Mohammedi, 2013).

**I.3.2. Les pathologies liées au stress oxydant**

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies, incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Mohammedi, 2013).

**I.3.3. Origine des radicaux libres**

Les radicaux libres sont des molécules instables qui se forme dans le corps lors de processus métaboliques normaux et en réponse à des facteurs environnementaux.

La figure suivante donne un aperçu des diverses sources des radicaux libres

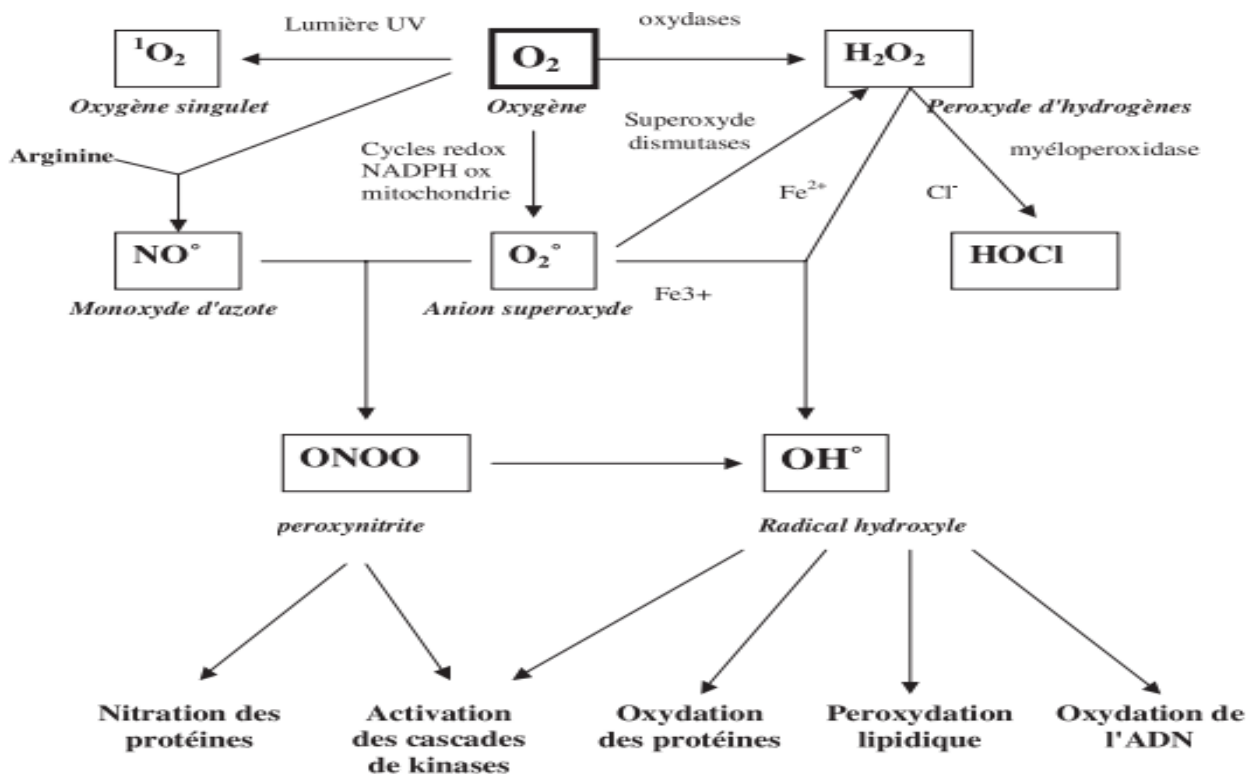


Figure 7 : Origine des différents radicaux libres (Favier, 2003)

### I.3.4. Les antioxydants

Autour de cette ambiguïté entre danger et nécessité de l'oxygène et des radicaux libres, la nature a développé de puissants systèmes de défenses antioxydantes permettant de contrôler et de maîtriser le plus précisément possible ce métabolisme (**Leverve, 2009**).

Les antioxydants se définissent comme des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non toxiques des RL. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes (**Vansant 2004**).

Les systèmes de défense contre les dommages induits par les RL sont classés en trois catégories : Les antioxydants préventifs qui suppriment la formation de radicaux libre, les antioxydants piègeurs de radicaux, qui inhibent ou empêchent le déclenchement des réactions en chaîne et arrêtent la propagation et les antioxydants impliqués dans des processus de réparation (**Mohammedi, 2013**).

## I.4. Les plans d'expériences

La recherche scientifique est devenue indispensable dans divers secteurs, à savoir l'agroalimentaire, la médecine, la cosmétique, ...etc. La croissance de cette recherche comporte deux handicaps : le coût et la durée des expériences. Pour cela, il est impossible de procéder à tous les essais nécessaires.

Afin de lever ces contraintes et d'améliorer le rendement des expérimentations, les chercheurs ont récemment mis l'accent sur l'utilisation d'une approche statistique pratique et informatisée appelée plans d'expériences. Cet outil vise à mieux organiser les expériences de façon optimale en réduisant au minimum le nombre d'essais et le temps élevé par rapport à l'approche conventionnelle (**Coutu, 2021**). Leurs objectifs sont d'apporter des solutions et des perspectives innovantes aux travaux de recherche actuels.

### I.4.1. Définition des plans d'expériences

Un plan expérimental est un ensemble de modalités selon lesquelles un programme expérimental doit être réalisé. Il s'agit de choisir les variantes (niveaux) d'un ou de plusieurs facteurs, ou des combinaisons de facteurs, à inclure dans l'expérience (**Alexis, 1995**). Les plans d'expérience constituent une stratégie de planification d'expériences qui permettent d'obtenir des résultats fiables de manière efficace et économique. le choix du plan d'expérience dépend de la nature des questions à traiter, du degré de généralité recherché pour les conclusions, et des ressources disponibles (**Dagnelie, 2000**).



### I.4.2. Terminologie

Pour mener une étude avec précision, il est crucial de définir avec rigueur la terminologie utilisée pour chaque terme et d'associer chaque terme à une variable expérimentale spécifique (Coutu, 2021). Quatre principaux termes sont utilisés :

- **Facteur** : Un facteur est un paramètre ou état d'un système étudié, qui peut avoir un impact sur son fonctionnement (Mihoubi Et *al.*, 2020).
- **Niveau de facteur** : est la valeur spécifique qui est donnée à ce facteur pour réaliser un essai (Goupy, 2006).
- **Domaine d'étude** : représente l'ensemble des valeurs possibles que peut prendre le facteur étudié, entre le niveau bas (-1) et le niveau haut (+1) (Goupy, 2006).
- **Réponse** : correspond au paramètre mesuré ou observé pour connaître l'effet des facteurs étudiés sur le système (Mihoubi Et *al.*, 2020).

### I.4.3. Les avantages des plans d'expériences

Les avantages de l'utilisation des plans d'expériences comprennent la réduction du nombre d'expériences, l'amélioration des interprétations statistiques : en particulier avec la disponibilité actuelle des logiciels statistiques et la réduction des exigences globales de temps de rétention. De plus, les effets d'interaction entre les paramètres peuvent être étudiés avec des plans d'expériences, ce qui serait impossible avec une approche univariée (Ragonese et *al.*, 2002). Cette approche présente aussi d'autres intérêts tels que :

- Détection des optimaux.
- Interprétation simplifiée et rapide des résultats.
- Minimisation des coûts tout en optimisant l'efficacité de l'étude.
- Modélisation de la réponse.
- Prédiction de nombreux phénomènes différents avec précision.

### I.4.4. Les plans de surface de réponse

La méthodologie de surface de réponse est l'un des exemples des plans d'expériences. Elle se définit comme étant une techniques de modélisation empirique qui exploite des méthodes mathématiques et statistiques pour étudier et de comparer les effets de facteurs sur une réponse, et évaluer la relation entre un ensemble de facteurs expérimentaux contrôlés et les résultats observés (Annadurai et Sheeja, 1998; Peasura, 2015), elle est souvent mise en œuvre pour obtenir une idée du profil local de la surface de réaction étudiée (Aziz et Aziz, 2018). Ces plans de surface de réponse sont particulièrement utiles pour optimiser les processus (Fadil et *al.*, 2015).

Trois types de plans de surface de réponse couramment utilisés sont les plans de Box-Behnken, les plans de Doehlert et les plans de composites centrés. Chacun de ces plans présente des caractéristiques spécifiques et adaptés à différents types d'expériences et de systèmes (**Fadil et al., 2015**).

#### I.4.5. Box Behnken

Le plan de Box-Behnken ou Box-Behnken Design (BBD) est une méthode de conception de plan de surface de réponse (RSM) qui a été proposé et développée à l'origine par Box et Behnken dans les années 60. Cette technique utilise une équation polynomiale de second ordre pour ajuster les données expérimentales en employant la méthode des moindres carrés des moyens (**Jeganathan et al., 2014; Kaiser et al., 2013**).

La forme générale de l'équation mathématique de la réponse quadratique est la suivante (**Kaiser et al., 2013**)

$$Y = A_0 + \sum_{i=1}^k A_i X_i + \sum_{i=1}^k A_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k A_{ij} X_i X_j$$

- $A_0, A_i, A_{ii}$  et  $A_{ij}$  : Représentent respectivement les coefficients de régression des termes constants, linéaires, quadratiques et d'interaction.
- $X_i, X_j$  et  $X_{ij}$  : Représentent les variables indépendantes
- $K$  : Représente le nombre de variables.

Le nombre d'expériences (N) requises pour le développement d'un BBD est défini comme  $N = 2k(k - 1) + C_0$  d'où  $k$  : est le nombre de facteurs et  $C_0$  : le nombre de points centraux (**Aslan et Cebeci, 2007**).

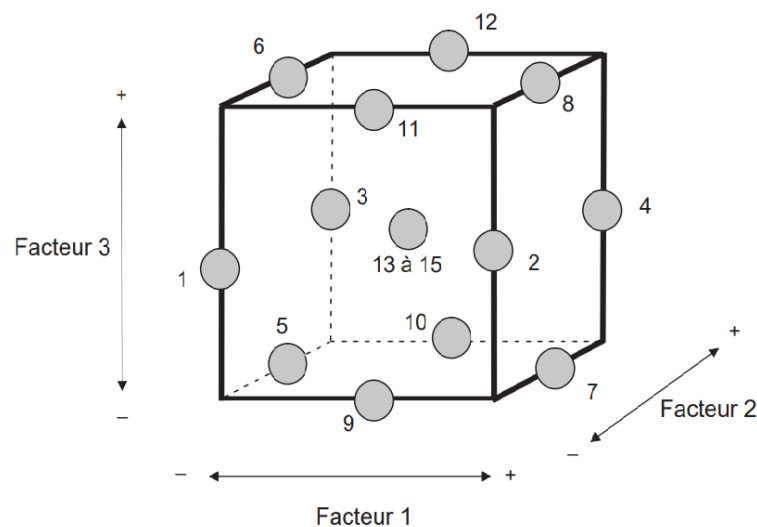
Donc un plan de Box-Behnken à trois facteurs possède  $12 + 3$  essais, soit 15 essais. On pourra remarquer qu'avec 4 points au centre au lieu de 3, on obtient un plan qui répond au critère de presque-orthogonalité (**Goupy and Creighton, 2006**)

**Tableau I :** Plan de Box- Behnken pour 3 facteurs (Goupy, 2006)

Le moins (-) représente la borne inférieure, le zéro (0) le point central et le plus (+) la borne supérieure.

n° essai	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	0	- 1	- 1
2	+ 1	0	- 1
3	0	+ 1	- 1
4	- 1	0	- 1
5	- 1	- 1	0
6	+ 1	- 1	0
7	+ 1	+ 1	0
8	- 1	+ 1	0
9	0	- 1	+ 1
10	+ 1	0	+ 1
11	0	+ 1	+ 1
12	- 1	0	+ 1
13	0	0	0

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est construit sur un cube (Aslan et Cebeci, 2007). Le plan pour quatre facteurs est construit sur un hypercube à quatre dimensions, donc On constate que la configuration Box-Behnken est un contour rond dont tous les foyers sont situés sur une sphère. En outre, la configuration n'a aucun point aux sommets de la région cubique formée par les limites supérieure et inférieure de chaque facteur (Aziz et Aziz, 2018).



**Figure 8 :** Espace de conception général de Box-Behnken pour trois facteurs (Goupy et Creighton, 2006).

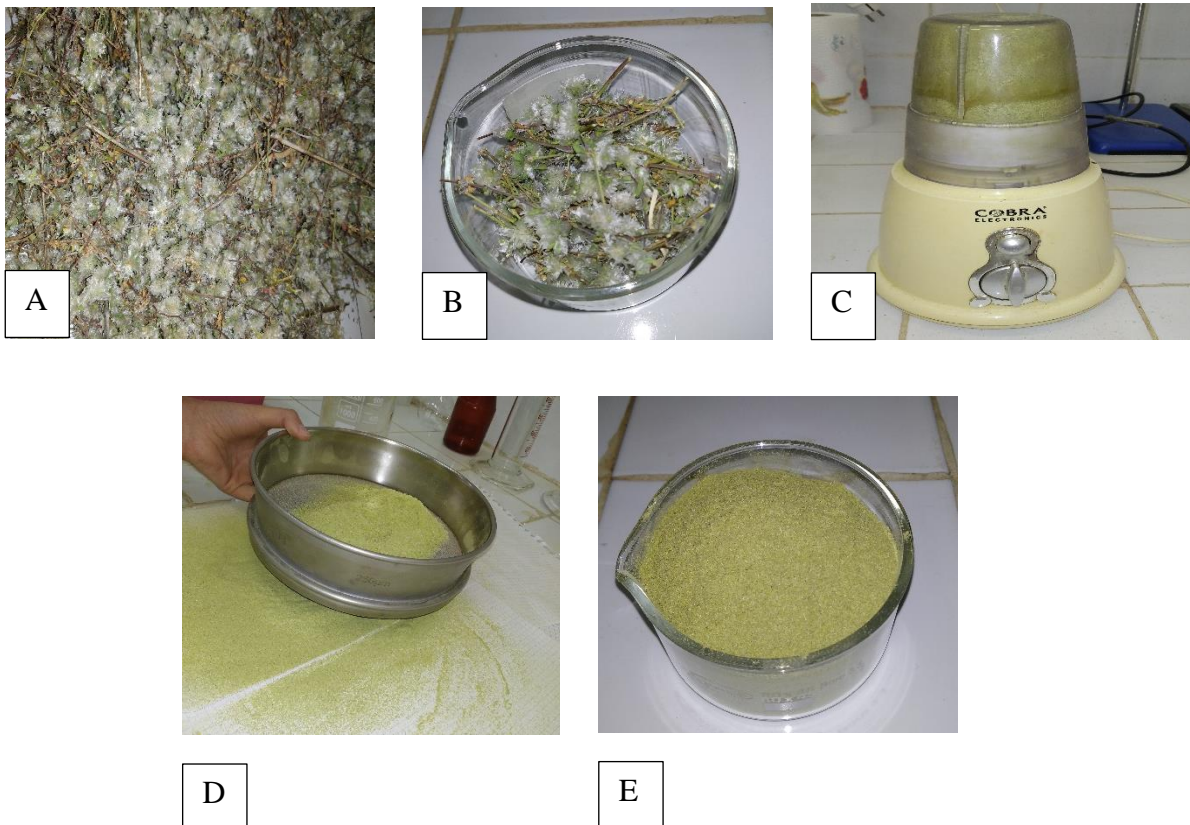
DEMRCHE  
EXPRIMENTALE

# MATÉRIEL ET MÉTHODES

## II.1. Matériel végétal

Cette étude a porté sur la partie aérienne de *Paronychia argentea* qui a été récoltée le 28 mars 2023 aux alentours de la commune de Seddouk wilaya de Bejaïa, où elle pousse spontanément.

- **Séchage** : Une fois récoltée, la plante a été bien nettoyée des impuretés et séchée dans une étuve ventilée à une température de 37°C pendant 10 jours.
- **Broyage** : La partie aérienne entièrement séchée a été mise dans un broyeur électrique à fin d'obtenir une poudre plus au moins fine.
- **Tamisage et conservation** : La poudre qui en résulte a été tamisée sur un tamis d'un diamètre de 250  $\mu\text{m}$  pour qu'elle soit homogène et conservée dans un bocal en verre bien fermé.



**Figure 9** : Différentes étapes de la préparation de la matière végétale

**A et B** : *P. argentea* séchée ; **C** : Broyage ; **D** : Tamisage ; **E** : Poudre végétale

## II.2. Equipements et produits chimiques

**Tableau II** : Les équipements et les produits chimiques utilisés

Equipements	Produits chimiques
○ Etuve ventilée	- Ethanol
○ Bain marie agitateur	- Méthanol
○ Réfrigérateur	- Acétone
○ Centrifugeuse	- Eau distillée
○ Spectrophotomètre	- Follin-Ciocalteu
○ Distillateur d'eau	- Carbonate de sodium
○ Broyeur électrique	- Acide Gallique
○ Balance de précision électrique	-Trichlorure d'aluminium
	-Acétate de sodium
	-Vanilline
	-Chlorure d'hydrogène (HCl)
	-Quercétine
	-Catéchine

## II.3. Optimisation de l'extraction des composés phénolique totaux de *Paronychia argentea* par macération dans un bain marie agitateur

### II.3.1. Tests préliminaires

Il est constaté dans la bibliographie que l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques totaux est influencée par plusieurs paramètres, notamment : la nature du solvant, la polarité du solvant, le temps d'extraction, la température, le ratio...etc. Ainsi, ces facteurs ont été sélectionnés dans les tests préliminaires pour optimiser l'extraction des composés phénoliques totaux de *Paronchiya argentea*.

#### II.3.1.1 Solvant d'extraction

Quatre solvants : l'éthanol, le méthanol, l'acétone et l'eau distillée ont été sélectionnés pour réaliser l'extraction des polyphénols à partir de *P. Argentea*. 10 ml de chaque solvant ont été

additionné à 0,5 g de la matière végétale. Les mélanges ont été agités dans un bain marie agitateur à une température de 25°C et à une vitesse d'agitation maximale de 150 rpm pendant 90 min. L'extrait a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min pour éliminer le culot et récupérer le surnageant. La quantification des polyphénols dans l'extrait a été déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu en se référant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique (Singleton, et al., 1999). La concentration des polyphénols est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/ g MS) (Ben Moussa, et al., 2022)

### **II.3.1.2. Polarité du solvant d'extraction**

A l'issue du test précédent, le choix du solvant est établi, en l'occurrence, le méthanol. L'influence de sa polarité a été testée. Cinq échantillons de différentes concentrations (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) ont été préparés et incubés dans un bain marie agitateur sous les mêmes conditions indiquées auparavant. Ensuite, le surnageant a été récupéré après avoir été centrifugé. Le dosage des composés phénoliques des différents extraits a été réalisé et exprimé en (mg EAG/ g MS).

### **II.3.1.3. Temps d'extraction**

Dès que le solvant ainsi que sa polarité (méthanol à 60%) ont été choisis, le test de la durée d'extraction a été entamé en définissant des temps différents (1h, 2h, 3h, 4h). L'extraction a été lancée dans le bain marie tout en respectant les mêmes conditions des tests précédents. Suivant les mêmes étapes jusqu'au dosage des polyphénols qui ont été exprimés en (mg EAG/ g MS).

### **II.3.1.4. Température d'extraction**

Afin de sélectionner la température optimale de l'extraction, les trois facteurs antérieurs ont été fixés. Le procédé a été lancé à des divers niveaux de température (25°C, 35°C, 45°C, 55°C et 65°C). Les surnageants ont été récupérés puis dosés de la même façon que précédemment, et la concentration des polyphénols a été exprimée en (mg EAG/ g MS).

### **II.3.1.5. Ratio**

Pour déterminer la masse de la matière végétale dont le rendement est le plus élevé, cinq échantillons ont été extraits avec 10 ml de solvant en faisant varier le poids de la poudre végétale (0.1g, 0.25g, 0.5g, 0.75g et 1g), les mélanges ont été placés au bain marie agitateur, puis



centrifugés et les composés phénoliques totaux dosés par la méthode du Folin-ciocalteu (mg EAG/ g MS).

### II.3.2. Application du plan de Box-Behnken

Après avoir choisi les paramètres d'extraction, l'optimisation a été réalisée par un plan factoriel complet à trois facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ), et à trois niveaux (-1, 0, +1), qui est appliqué pour étudier l'influence de ces paramètres sur le taux d'extraction des polyphénols. Les niveaux bas, moyens et hauts de chaque variable sont représentés dans le tableau suivant

**Tableau III :** Domaine de variation des paramètres pour le plan de Box-Behnken

Paramètres	Niveau Bas (-1)	Niveau Centré (0)	Niveau Haut (+1)
$X_1$ : Polarité (%)	50	60	70
$X_2$ : Température (°C)	35	45	55
$X_3$ : Temps (min)	90	120	150

Le modèle mathématique polynomial développé pour l'optimisation est un modèle du second degré, et la matrice d'expérience du plan Box-Behnken est représenté dans le tableau qui suit

Tableau IV : Matrice d'expérience donnée par le plan BBD.

N° d'essai	Configuration	Polarité (%)	Température (°C)	Temps (min)
1	--0	50	55	120
2	++0	70	55	120
3	0++	60	55	150
4	0-+	60	35	150
5	000	60	45	120
6	+00	70	35	120
7	000	60	45	120
8	0--	60	35	90
9	000	60	45	120
10	+0+	70	45	150
11	--0	50	35	120
12	+0-	70	45	90
13	0+-	60	55	90
14	-0+	50	45	150
15	-0-	50	45	90

## II.4. Dosages des polyphénols

### II.4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-ciocalteu. Ce dosage est basé sur les quantifications de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans l'extrait (**Ali-Rachedi et al., 2018**). Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Belkhodja et al., 2017**).

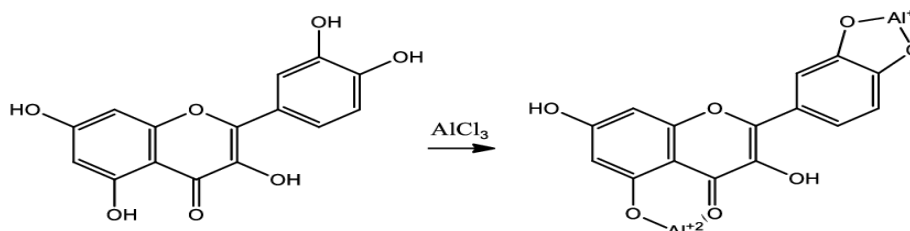
Une quantité de 125  $\mu$ L de l'extrait dilué est mélangée avec 625  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué). Après 5 min de réaction, 500  $\mu$ L de carbonate de sodium (6%) ont été ajoutés au mélange précédent. L'ensemble a été incubé à température

ambiante pendant 90 min et à l'obscurité et la lecture a été effectuée à 720 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-V. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS).

#### II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes totaux a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygènes présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

Cette quantification est réalisée en mélangeant 500  $\mu\text{l}$  d'extrait dilué avec 500  $\mu\text{l}$   $\text{AlCl}_3$  à 2%. Après 15 min d'incubation, la densité optique a été mesurée à une longueur d'onde  $\gamma = 438$  nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de matière sèches (mg EQ/g MS).



**Figure 10** : Réaction du complexe flavonoïdes – trichlorure d'Aluminium

#### II.4.3. Dosage des flavones et flavonols

Le dosage différentiel des flavones et flavonols est basé sur la chélation spécifique des flavonoïdes par les ions  $\text{Al}^{3+}$  (Alilou et al., 2014). Un volume de 250  $\mu\text{l}$  d'extrait est mélangé avec 1,4 ml d' $\text{H}_2\text{O}$ , 750  $\mu\text{l}$  d'éthanol, 50  $\mu\text{l}$  d' $\text{AlCl}_3$  et 50  $\mu\text{l}$  d'acétate de sodium à 10%. L'ensemble a été incubé pendant 15 min et l'absorbance a été mesurée à 420 nm. Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine et les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche (mg EQ/g MS).

#### II.4.4. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été dosés par la méthode à la vanilline dans un milieu acide. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de complexes rouges (Ali-Rachedi et al., 2018), cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline (Sun et al., 1998).

Un volume de 250 µl d'extrait sont additionnés à 625 µl d'une solution méthanolique de vanilline à 4%. Après homogénéisation, 625 µl d'HCl à 8% ont été additionnés, puis le mélange a été vigoureusement homogénéisé et incubé pendant 15 min dans un bain marie à une température de 50°C. Les absorbances sont mesurées au spectrophotomètre à 500 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage en utilisant la catéchine a été préparés dans les même conditions. Les résultats ont calculé en se référant à cette courbe d'étalonnage et exprimé en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

## II.5. Activité antioxydante

### II.5.1. Activité scavenger du radical DPPH

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Parejo et al., 2003**). Un volume de 100 µl de l'extraits à différentes concentrations ont été ajoutés à 900 µl de la solution méthanolique du DPPH. Le mélange et incubé pendant 30 min et l'absorbance est ensuite mesurée à 517 nm. Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante

$$\left[ \frac{(A1 - A2)}{A1} \right] \times 100$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait

### II.5.2. Activité scavenger du radical ABTS

Le principe du test de mesure de l'activité anti-radicalaire par la méthode ABTS est basé sur la diminution de l'absorbance du cation radicalaire ABTS<sup>•+</sup> (coloration bleu-vert) en présence d'un composé potentiellement anti-radicalaire qui réduit le radical cation. La diminution de la forme radicalaire d'ABTS<sup>•+</sup> entraîne une décoloration de la solution (**Lendoye et al., 2022**).

Le radical cation ABTS est généré en solubilisant 7 mM d'ABTS dans une solution de persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> à 2.45 mM. Le mélange est incubé durant 16h à l'abri de la lumière (**Dorman et Hiltunen, 2004**). La solution obtenue est diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance entre 0.7 et 0.8 à 734 nm. Un volume 950 µl de cette solution d'ABTS

diluée sont ajoutés à 50 µl d'extrait et l'absorbance a été mesurée à 734 nm après 7 min d'incubation.

### **II.6. Analyse statistique**

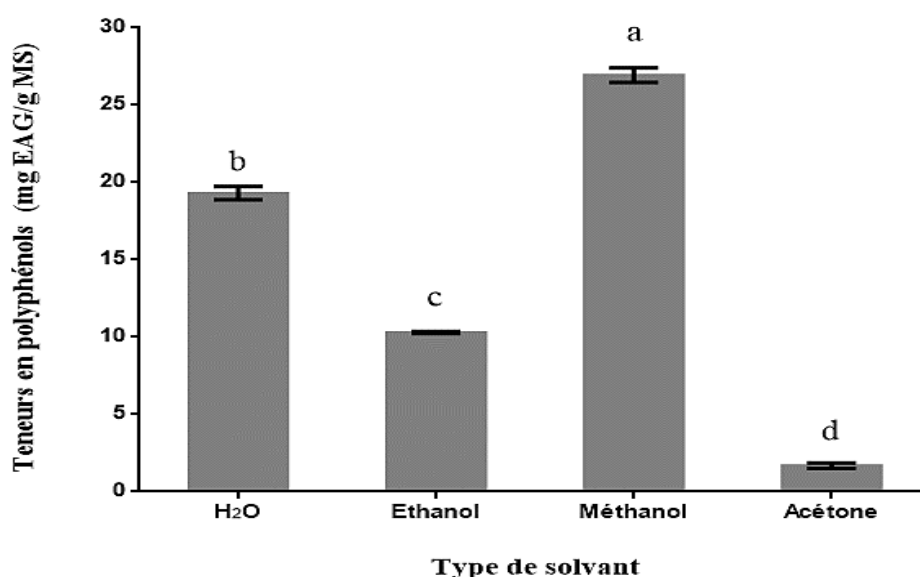
Les mesures ont été réalisés en triplicata (n=3) et les données sont exprimées en moyenne ± écart type. Les données obtenues ont été traitées par GraphPad Prism 6. Une étude statistique a été faite par l'analyse de la variance ANOVA *One way* suivi du test post-hoc de Tukey's. La différence significative est considérée à  $P < 0.05$ . Les résultats expérimentaux du model Box-Behnken ont été analysées à l'aide du logiciel JMP Pro14. Les IC50 ont été calculés par le logiciel origin.

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

### III.1. Optimisation des conditions d'extraction

#### III.1.1. L'influence du solvant sur le processus d'extraction

La première étape consiste à étudier l'effet des différents solvants d'extraction sur la teneur en composés phénoliques totaux, car il est crucial de choisir le solvant approprié pour obtenir une quantité maximale. Pour extraire les polyphénols de la partie aérienne de *P. argentea*, quatre solvants ont été utilisés à savoir l'eau distillée, l'éthanol, le méthanol et l'acétone. Les résultats sont illustrés dans la figure suivante



**Figure 11** : L'influence du choix de solvant sur le rendement d'extraction des composés phénolique totaux de *P. argentea*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type. L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA *One Way*, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P < 0.05$ .

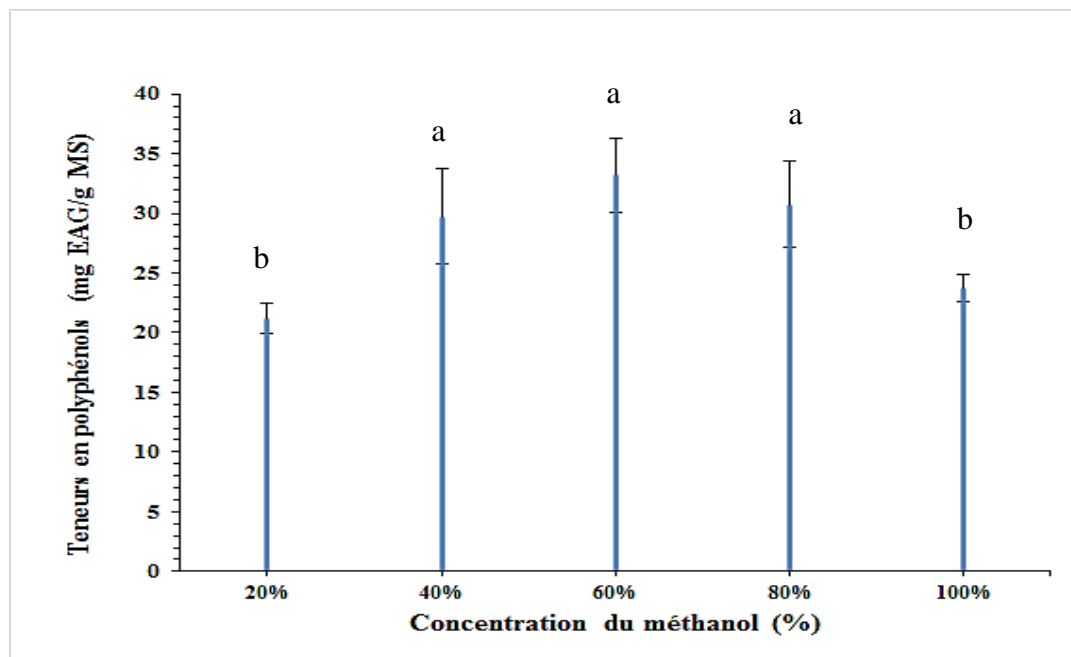
Les résultats de l'analyse statistique indiquent une différence significative entre les teneurs des polyphénols extraites par les 04 solvants. Ces teneurs varient de  $1.65 \pm 0.18$  à  $26.91 \pm 0.46$  mg EAG/g de MS, dont la quantité maximale des composés phénoliques a été donnée par le méthanol.

La nature du solvant joue un rôle crucial dans l'extraction sélective des molécules d'intérêt. En effet, les caractéristiques chimiques du solvant et la diversité de la structure et de la composition des produits naturels influencent le comportement de chaque solvant. Ainsi, le solvant doit avoir la capacité de dissoudre efficacement les molécules ciblées et présenter une forte affinité pour celles-ci (Al-Farsi et Lee, 2008; Marinova et Yanishlieva, 1997).

### III.1.2. L'influence de la polarité du solvant sur l'extraction des CPT

Le choix du méthanol comme solvant d'extraction pour obtenir le meilleur rendement doit être suivi de la sélection d'un taux de polarité optimal, qui est essentiel pour maximiser la teneur en polyphénols, pour cela 5 niveaux ont été choisis : 20%, 40%, 60%, 80% et à 100%.

Les résultats de cet essai sont représentés dans la figure ci-dessous



**Figure 12 :** L'influence du choix du taux de la polarité du solvant sur la quantité d'extraction des polyphénols de *P. argentea*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type. L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA *One Way*, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P < 0.05$ .

Les résultats de l'analyse statistique révèlent une différence significative entre les taux de polyphénols extraits par le méthanol à différentes polarités. Le taux le plus élevé a été enregistré avec le méthanol à 60% ( $33.19 \pm 3.1$  mg EAG/g) suivi respectivement par le méthanol à 80% et à 40% ( $30.7 \pm 2.08$  et  $29.7 \pm 2.29$  mgEAG/g MS). Enfin le plus faible taux a été observé avec le méthanol à 20% avec  $21,20 \pm 1,27$  mgEAG/g MS.

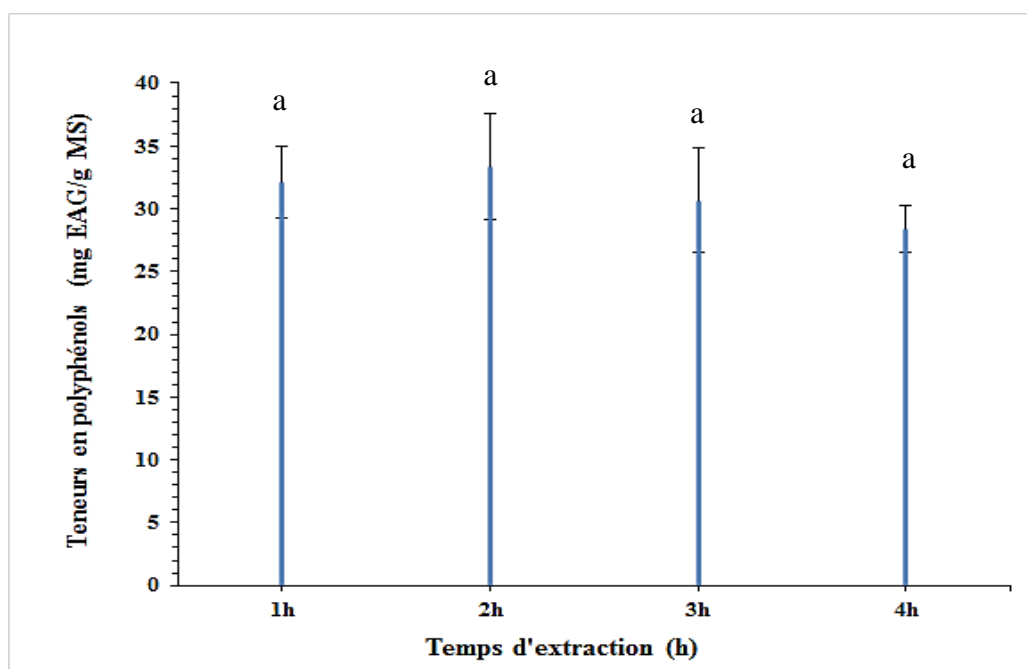
L'ajout d'eau au solvant d'extraction, comme le méthanol ou l'éthanol, peut améliorer l'extraction des composés phénoliques polaires. Cela est dû à la différence de polarité entre les solvants d'extraction, qui peut affecter la solubilité des constituants chimiques dans un échantillon et donc son rendement d'extraction. Ainsi, la sélection d'un système de solvants approprié est une étape essentielle pour optimiser la récupération des composés phénoliques



totaux, des composés flavonoïques totaux et d'autres composés antioxydants à partir d'un échantillon (Sulaiman *et al.*, 2011).

### III.1.3. L'influence du Temps sur l'extraction des CPT

Pour évaluer l'effet du temps d'extraction sur les teneurs en polyphénols, une autre extraction a été effectuée en maintenant les conditions précédentes et en variant le temps (1h, 2h, 3h, 4h).



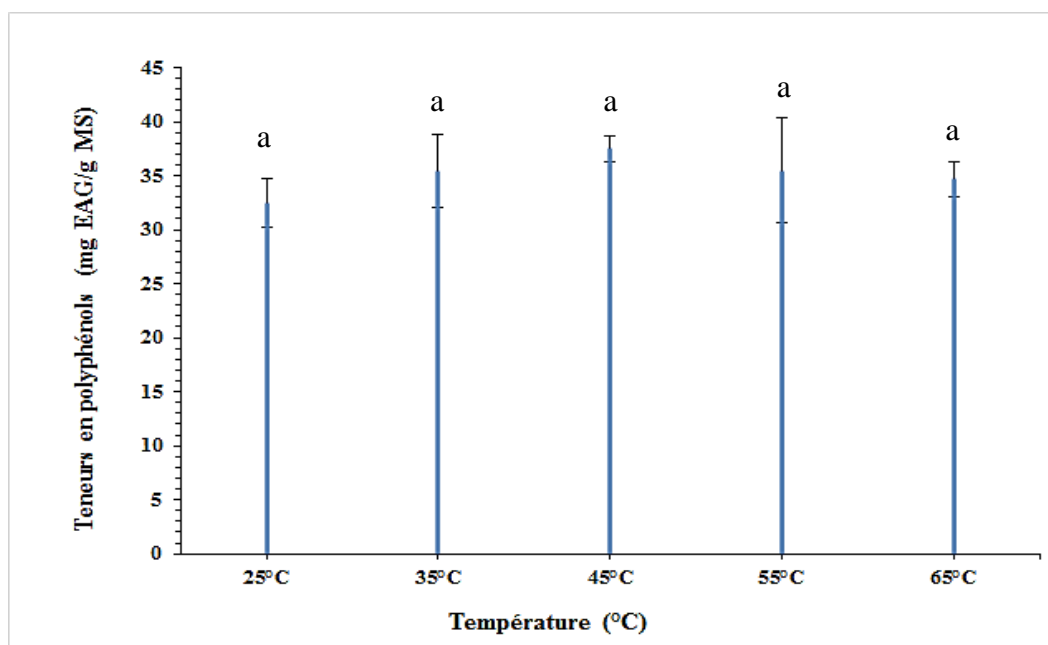
**Figure 13 :** L'impact du temps sur l'extraction des polyphénols de *P. argentea*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA *One Way*, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P < 0.05$ .

Selon les données présentées sur la figure ci-dessus, la plus forte teneur en polyphénols a été obtenue après une extraction de 2h avec une teneur de  $33.39 \pm 4.204$ , en revanche la plus faible teneur a été enregistrée après une extraction de 4h avec un taux de  $28,39 \pm 1,905$ .

Le temps d'extraction est un facteur important qui peut influencer sur la qualité et la quantité des composés phénoliques extraits. Une extraction prolongée peut entraîner une dégradation des composés phénoliques et une diminution de leur quantité. Cependant, une durée d'extraction insuffisante peut ne pas permettre d'extraire tous les composés phénoliques présents dans l'échantillon (Lucchesi *et al.*, 2007; Santos-Buelga *et al.*, 2012).

### III.1.4. L'influence de la température sur l'extraction des CPT

Après avoir opté pour le méthanol à une polarité de 60% pour récupérer le maximum des composés phénoliques, il est impératif d'étudier l'effet et de sélectionner la température adéquate pour poursuivre le processus.



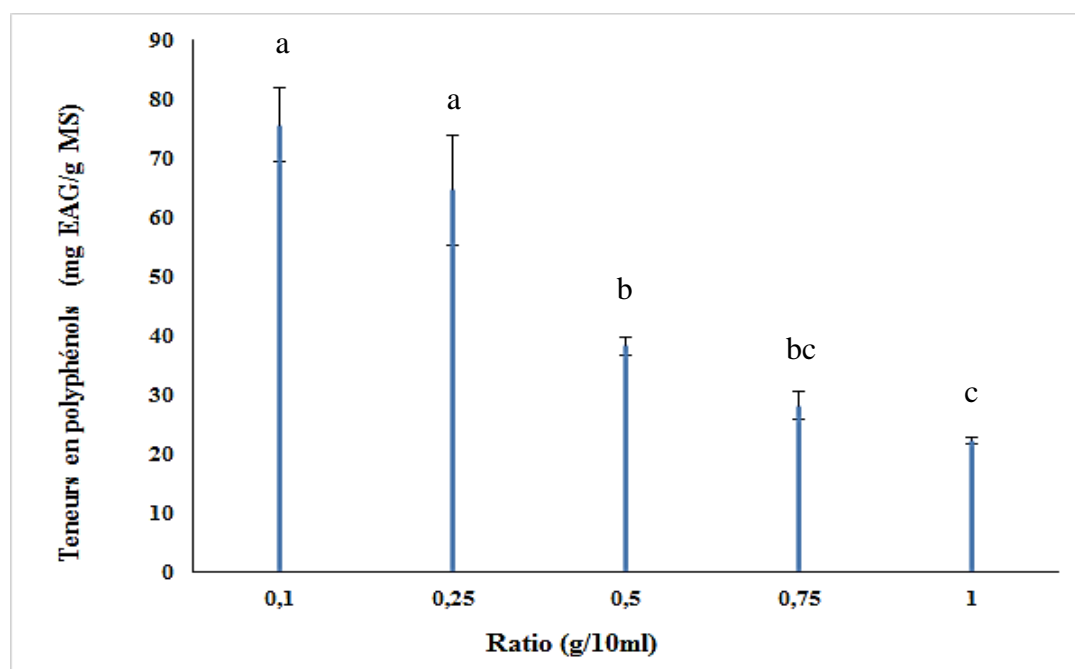
**Figure 14 :** Effet de la température sur le taux de composés phénolique extraits de *P. argentea*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA *One Way*, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P < 0.05$ .

Les résultats de ce test permettent de constater que l'extraction des polyphénols atteint un seuil de  $37.47 \pm 1.22$  mg EAG/g de MS à une température de 45°C. Au-delà de cette température, à 55°C et 65°C, les taux des polyphénols diminuent.

La température est un accélérateur d'extraction, elle augmente la solubilité des composés phénoliques dans le solvant. Toutefois, en raison de la sensibilité des composés phénoliques à la chaleur, une température trop élevée peut conduire à leur décomposition et leur dégradation (Routray et al., 2012; Wang et al., 2006).

### III.1.5. Influence du ratio sur l'extraction

Pour étudier l'impact du ratio sur l'extraction des polyphénols, 5 extractions ont été menées en maintenant les conditions précédentes (Méthanol à 60%, température à 45°C et le temps d'extraction à 2h) et en faisant varier la masse végétale dissoute dans le solvant.



**Figure 15 :** L'effet du ratio sur l'extraction des polyphénols de *P. argentea*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA *One Way*, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P < 0.05$ .

D'après les résultats de cette étude, il est évident que la quantité de la matière sèche végétale a un effet significatif sur le taux d'extraction des polyphénols. En effet, l'augmentation de la quantité de la matière sèche végétale se traduit par une diminution de la teneur en polyphénols extraits, comme illustre la **figure 15**. Ainsi, la plus forte teneur en composés phénoliques est obtenue avec le ratio le plus élevé. Ces résultats confirment une relation linéaire entre la quantité de la matière végétale et la teneur en CPT.

Le rapport solide/liquide est un facteur important pour l'extraction des composés phénoliques. Une réduction de ce rapport peut augmenter considérablement le rendement d'extraction, quelle que soit la nature du solvant utilisé (Silva *et al.*, 2007).

## III.2. Le plan d'expérience Box-Behnken

### III.2.1. Analyse des résultats

Les études antérieures suggèrent que la polarité a une efficacité sur la teneur des CPT. En revanche, la température et le temps d'extraction n'ont pas d'effet significatif lorsqu'ils ont été analysés séparément. Les résultats de l'analyse des effets de ces facteurs ainsi leurs

interactions sur le taux des CPT ont été examinées par BBD. Quinze extractions ont été réalisées et les 03 facteurs étudiés ainsi que leurs 03 niveaux sont comme suit

- **Facteur 1 (X<sub>1</sub>)** : Polarité (50, 60 et 70%)
- **Facteur 2 (X<sub>2</sub>)** : Température (35, 45 et 55°C)
- **Facteur 3 (X<sub>3</sub>)** : Temps d'extraction (90, 120 et 150 min)

Les résultats de cette analyse sont compilés dans le tableau ci-dessous.

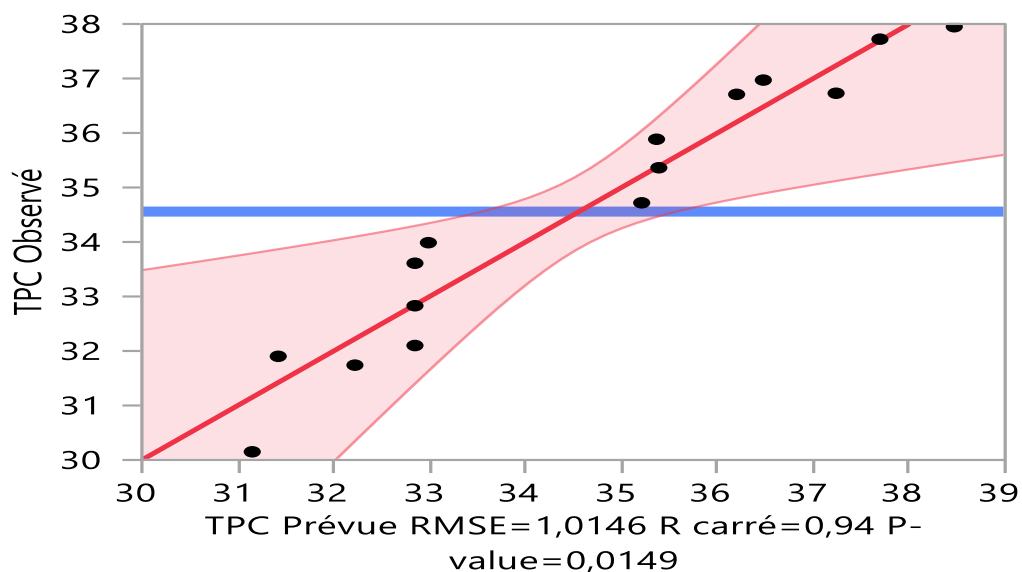
**Tableau V** : Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols par le plan d'expérience Box-Behnken de la poudre de *Paronychia argentea*

	<b>Configuration</b>	<b>Polarité (%)</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Temps (min)</b>	<b>Valeurs réelles CPT (mg EAG/ g MS)</b>	<b>Valeurs prédites CPT (mg EAG/g MS)</b>
<b>1</b>	--0	50	55	120	36,709	36,733
<b>2</b>	++0	70	55	120	37,95	40,104
<b>3</b>	0++	60	55	150	36,971	37,372
<b>4</b>	0-+	60	35	150	31,902	31,592
<b>5</b>	000	60	45	120	32,1	32,846
<b>6</b>	+00	70	35	120	36,729	36,704
<b>7</b>	000	60	45	120	33,61	32,846
<b>8</b>	0--	60	35	90	34,719	34,317
<b>9</b>	000	60	45	120	32,83	32,846
<b>10</b>	+0+	70	45	150	37,722	38,055
<b>11</b>	--0	50	35	120	35,885	36,620
<b>12</b>	+0-	70	45	90	33,987	34,412
<b>13</b>	0+-	60	55	90	31,74	32,049
<b>14</b>	-0+	50	45	150	30,15	33,984
<b>15</b>	-0-	50	45	90	35,362	35,028

Les résultats obtenus grâce au plan Box-Behnken ont mis en évidence l'influence des facteurs et leurs interactions sur le taux de polyphénols, qui varie entre 30,15 mg EAG/g de MS et 37,95 mg EAG/g de MS. En outre les valeurs prédites de CPT étaient proches des valeurs expérimentales réelles, ce qui prouve la fiabilité de ce logiciel pour prédire la teneur en polyphénols.

### III.2.2. Evaluation de la corrélation

Le  $R^2$  est un indice statistique qui mesure la qualité de l'ajustement du modèle de régression. Dans la méthode Box-Behnken, il permet d'évaluer la qualité de l'ajustement du modèle de réponse aux données expérimentales. Il mesure la proportion de la variation des données expliquées par le modèle de réponse. Plus la valeur  $R^2$  est proche de 1 plus le modèle empirique a une forte explication (Goupy, 2013; Jumbri et al., 2015). Le modèle présenté dans cette étude est hautement corrélé avec un  $R^2 = 0,94$ , car il indique 94% de la variation des données. En outre les 6% des variations non exprimés peuvent être attribués aux erreurs de manipulations.



**Figure 16 :** Plans de prédiction pour l'extraction des polyphénols de *Paronychia argentea*

Le modèle est satisfaisant grâce à la forte significativité de l'analyse statistique ANOVA qui a donné un  $P = 0,0149$ .

### III.2.3. Estimation des coefficients

Les valeurs P ont été utilisées comme mesure pour vérifier la signification de chaque coefficient. Lorsque P est faible le coefficient correspondant est plus significatif et l'effet d'interaction est grand (Bey *et al.*, 2013).

Le tableau ci-dessous récapitule les coefficients de régression du modèle de prédiction

**Tableau VI :** Les principaux coefficients de régression appliqués dans l'analyse statistique du modèle Box-Behnken.

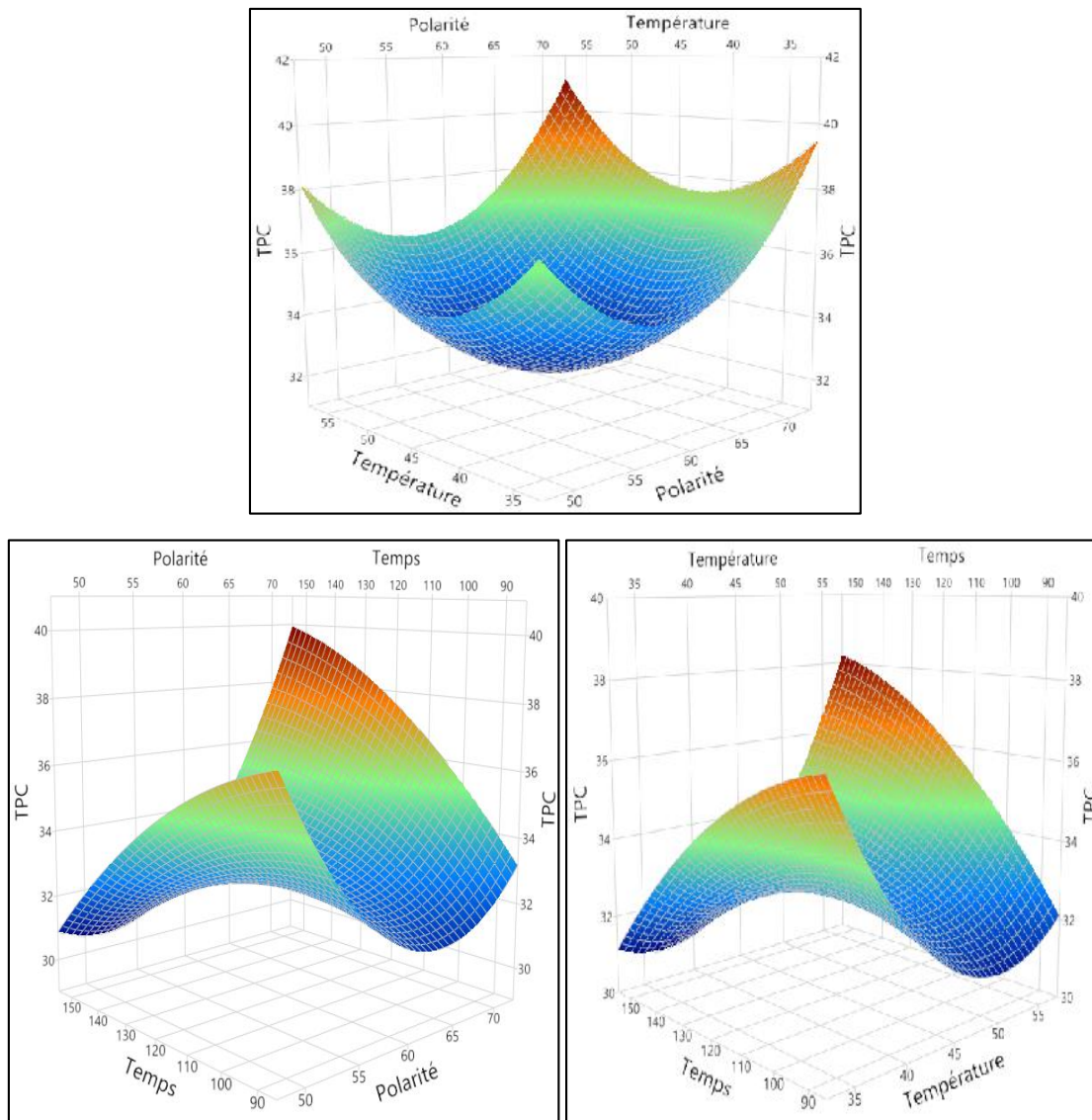
Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. >  t
<b>Constante</b>	32,846667	0,585763	56,08	<,0001*
<b>Linéarité</b>				
X <sub>1</sub> : Polarité	1,03525	0,358705	2,89	0,0343*
X <sub>2</sub> : Température	0,516875	0,358705	1,44	0,2092
X <sub>3</sub> : Temps	0,117125	0,358705	0,33	0,7573
<b>Interaction</b>				
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	0,09925	0,507286	0,2	0,8526
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	2,23675	0,507286	4,41	0,0070*
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	2,012	0,507286	3,97	0,0107*
<b>Quadratique</b>				
X <sub>1</sub> *X <sub>1</sub>	2,2219167	0,528	4,21	0,0084*
X <sub>2</sub> *X <sub>2</sub>	1,7496667	0,528	3,31	0,0212*
X <sub>3</sub> *X <sub>3</sub>	-0,763333	0,528	-1,45	0,2079

### III.2.3.1. Effet linéaire

Les données présentées dans le **tableau VI** mettent en évidence que la polarité ( $X_1$ ) est un facteur important dans l'extraction des polyphénols de *P. argentea* avec un impact significatif et une probabilité de 0,0343, tandis que la température ( $X_2$ ) et le temps ( $X_3$ ) ne semblent pas avoir d'effet significatif sur cette extraction.

### III.2.3.2. Effet d'interaction

D'après l'analyse des résultats, il ressort que les interactions entre la polarité et le temps ( $X_1 * X_3$ ), ainsi que celle entre la température et le temps ( $X_2 * X_3$ ), influencent significativement sur le taux des polyphénols extraits, avec des P-value de 0,0070 et 0,0107 respectivement, contrairement aux interactions entre polarité et la température ( $X_1 * X_2$ ) qui ne sont pas statistiquement significative.



**Figure 17 :** Graphiques de surface de réponse présentant les interactions entre les facteurs étudiés

### III.2.3.3. Effet quadratique

Les résultats obtenus révèlent que l'effet quadratique Polarité-Polarité ( $X_1 * X_1$ ) est hautement significatif avec P-value = 0,0084, et que l'effet quadratique Température-Température ( $X_2 * X_2$ ) est également significatif avec une P-value de 0,0212. Néanmoins, l'effet quadratique Temps-Temps ( $X_3 * X_3$ ) n'as pas été constaté comme significatif

### III.2.4. Modèle mathématique

Dans un système impliquant trois variables indépendantes significatives  $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ , la relation mathématique de la réponse sur ces variables peut être approximée par l'équation polynomiale quadratique (second degré) (Annadurai et Sheeja, 1998).

Après avoir identifié les facteurs et la réponse d'intérêt, il est envisageable de concevoir un plan d'expérience adapté pour mieux appréhender le phénomène étudié. Toutefois, le choix du plan d'expérience doit être précédé par la définition d'un modèle mathématique qui permettra de déterminer les relations entre les variables étudiées.

Le modèle mathématique retenu est donné par l'équation suivante

$$Y = 32,846667 + 1,03525X_1 + 2,23675X_1X_3 + 2,012 X_2X_3 + 2,2219167 X_1^2 + 2,2219167 X_2^2$$

### III.2.5. Extrait optimal

La présente étude a permis de déterminer que la température, le temps et la polarité sont des facteurs influençant sur l'extraction des polyphénols de *Paronychia argentea*. Les paramètres optimaux ont été obtenus en utilisant la méthode Box-Behnken, et ils sont représentés dans le tableau ci-dessous

**Tableau VII :** Conditions optimales pour l'extraction des composés phénoliques de la poudre de *Paronychia argentea* et estimation des valeurs prédites et réelles des CPT.

Variables	Valeur critique
Polarité (%) (50,70)	58,59
Température (°C) (35,55)	44,60
Temps (min) (90,150)	114,55
Valeur prévue à la solution (mg EAG/ g MS)	32,75
Valeur expérimentale (mg EAG/ g MS)	31,82



### III.3. Dosage des composés phénoliques et activité antioxydante

Une fois que le plan de Box-Behnken a été réalisé et l'extrait a été optimisé, des dosages des polyphénols notamment les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes totaux, les flavones et flavonols ainsi les tanins condensés et leur activité antioxydante ont été effectués.

#### III.3.1. Dosage des polyphénols

**Tableau VIII** : Les teneurs des polyphénols obtenues dans l'extrait optimale

Métabolites secondaires	Teneur $\pm$ l'écart type	Standard	$\lambda$ (nm)
<b>Polyphénols</b> (mg EAG/g MS)	31,829 $\pm$ 1,53	Acide Gallique	740
<b>Flavonoïdes totaux</b> (mg EQ/g MS)	6,052 $\pm$ 0,287	Quercétine	438
<b>Flavones et Flavonols</b> (mg EQ/g MS)	2,562 $\pm$ 0,266	Quercétine	420
<b>Tanins condensés</b> (mg EC/g MS)	5,198 $\pm$ 0,114	La catéchine	500

L'extrait optimale de *Paronychia argentea* a fait l'objet d'une évaluation de sa teneur en polyphénols au moyen de la méthode Folin-Ciocalteu, avec l'acide gallique comme étalon selon l'équation  $y = 0.0928x$  et avec un  $R^2 = 0.999$  (**Annexe 1**) (**Cliffe et al., 1994**). Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. argentea* a une teneur en composés phénoliques de  $31,82 \pm 1,5$  mg GAE/g MS, ce qui considérablement supérieur aux résultats rapportés par **Alali et al. (2017)** (15,5 mg GAE/g MS) et inférieurs au rendement rapporté par **Adjadj et al. (2016)**  $217.46 \pm 0.8715,5$  mg GAE/g E. Ces différences peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, tels que la saison de récolte, les conditions environnementales (**Arkoub-Hamitouche et al., 2020; Luczkiewicz et al., 2002**), ainsi que la méthode d'extraction et le solvant utilisé (**Hayouni et al., 2007; Sultana et al., 2007**).

Cependant, il est important de noter que le dosage par le réactif Folin-Ciocalteu peut présenter des problèmes d'interférence, car certains composés tels que les protéines, les sucres et les acides aminés peuvent également réagir avec ce réactif, ce qui peut entraîner une surestimation des teneurs en polyphénols (**Boulanouar et al., 2014**).

La méthode utilisée pour quantifier les flavonoïdes est la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ , qui permet de former un complexe stable de couleur jaune avec les groupements hydroxydes OH des phénols (Zbadi et al., 2018). Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en équivalent milligramme de quercétine et obtenues à partir d'une courbe d'étalonnage (Zbadi et al., 2018), Cette courbe suit une équation de type  $y = 0,0511 x$  avec un coefficient de détermination  $R^2$  de 0,9955 (Annexe 2).

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de *P. argentea* présente une teneur en flavonoïdes de  $6,05 \pm 0,286$  mg EQ/g de MS, ce qui est nettement inférieur à celui rapporté par (Adjadj et al., 2016), soit  $13,35 \pm 0,56$  mg Q-Eq / g E. Cette différence de teneur en flavonoïdes observée entre les deux études peut être attribuée à la variation naturelle de la teneur en flavonoïdes d'une plante à l'autre, qui peut être influencée par des facteurs tels que la solubilité des flavonoïdes dans les solvants d'extraction, leur distribution durant le développement de la plante ainsi que les conditions de conservation ou d'environnement (Falleh et al., 2008; Lapornik et al., 2005).

La quantité de flavones et flavonols est mesurée en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche, en utilisant une courbe d'étalonnage établie dans des conditions similaires. Cette courbe suit une équation de type  $y = 0.0662x$  avec un  $R^2 = 0.9995$  (Annexe 3). Les teneurs en flavones et flavonols ont été déterminées avec un extrait méthanolique, et ont été observées à une valeur de  $2,56 \pm 0,266$  mg EQ/g de MS, représentant ainsi 42,31% de la totalité des flavonoïdes précédemment mentionnés.

La teneur en tanins a été obtenue à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la catéchine comme standard selon l'équation  $y = 0.0069x$  avec un  $R^2 = 0.9969$  (Annexe 4) (Ali-Rachedi et al., 2018). Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, et sont exprimés en mg EC/g MS. L'analyse de l'extrait révèle une quantité de  $5,19 \pm 0,114$  EC/g de MS de tanins.

### III.3.2. Dosage de l'activité antioxydante

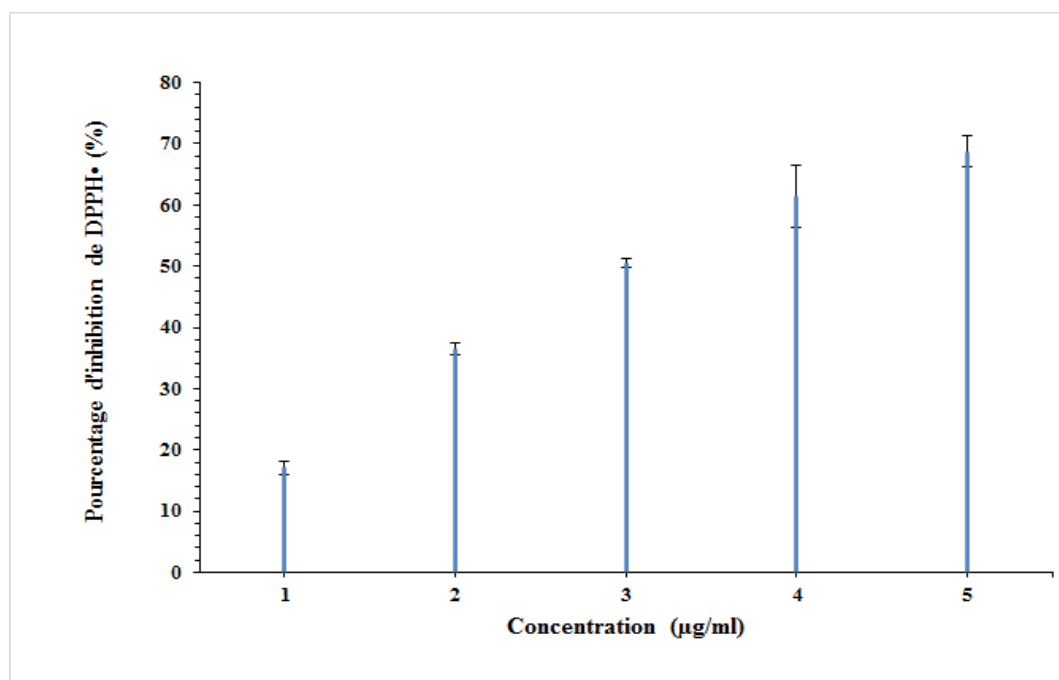
Différentes méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'activité anti-radicalaire des composés phénoliques (Arkoub-Hamitouche et al., 2020). Cependant, pour obtenir une indication précise de la capacité antioxydante d'un échantillon à tester, il est courant de combiner les réponses de tests différents et complémentaires (Popovici et al., 2009). Les tests les plus couramment utilisés comprennent le DPPH, l'ABTS, la réduction du fer (FRAP) (Adjadj et al.)

### III.3.2.1. Activité scavenger du radical DPPH

Le test DPPH est une méthode d'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes. Elle repose sur la capacité des extraits à donner des électrons ou des atomes d'hydrogène au radical stable DPPH, qui est utilisé comme modèle de radical libre (Adjadj et al., 2016). Cependant, ce radical stable ne représente pas parfaitement les radicaux instables responsables des dégradations des constituants cellulaires (Prior et al., 2003). Les résultats du test DPPH sont exprimés en comparaison avec ceux d'un antioxydant standard (M'Hiri, 2015).

L'étude a évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. argentea* et de l'acide gallique utilisée comme standard, en utilisant le test DPPH qui est accompagné par un changement de couleur de violet à jaune, qui est mesurable à 517 nm.

Les résultats de ce test sont illustrés dans la figure suivante



**Figure 18 :** Diagramme représentant l'activité scavenger du radical DPPH• d'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. argentea*.

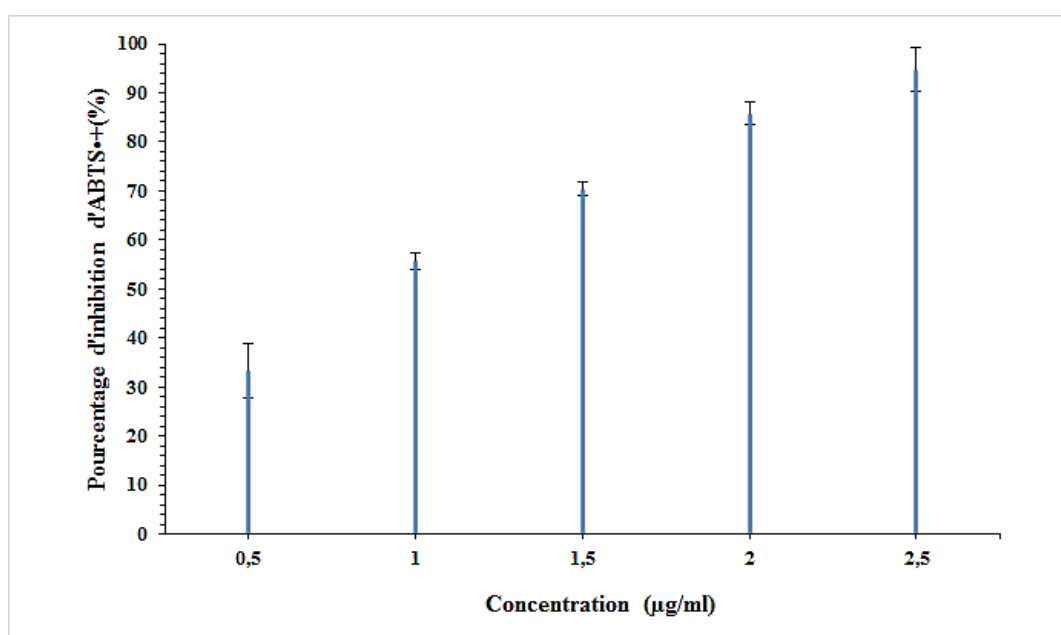
Les résultats indiquent que le pourcentage d'inhibition de DPPH• augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration d'extrait. La concentration la plus élevée 5 µg/ml, a montré un pourcentage d'inhibition de  $68,77 \pm 2,53$ .

Les composés phénoliques totaux présents dans les plantes ont été identifiés comme étant les principaux responsables de l'activité de piégeage des radicaux libres (Amessis-

Ouchemoukh et al., 2014). En outre, il a été observé que la quantité d'antioxydant dans le mélange réactionnel est proportionnelle à la réduction des radicaux libres (Ammar et al., 2008)

### III.3.2.2. Activité scavenger du radical ABTS

Le dosage de la capacité antioxydante est une méthode fiable et couramment utilisée pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres (Rice-Evans et Miller, 1994). Cette méthode repose sur le test de décoloration ABTS, dans lequel le mono-cation radicalaire bleu-vert préformé de l'acide 2,20-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est généré par l'oxydation de l'ABTS avec le persulfate de potassium et réduit en présence d'antioxydants donneurs d'hydrogène (Alali et al., 2007).



**Figure 19** : Diagramme représentant l'activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup> d'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. argentea*

D'après la figure 19, il a été observé que l'extrait méthanolique de *P. argentea* a une activité inhibitrice importante contre le radical ABTS<sup>•+</sup> avec un pourcentage d'inhibition de  $94,73 \pm 4,57\%$  à une concentration maximale de 2,5 µg/ml. En comparaison à l'acide gallique utilisé comme standard a montré un pourcentage d'inhibition de  $61,41 \pm 0,50 \%$  à une concentration de 2 µg/ml.

### III.3.2.3. La concentration inhibitrice à 50% (IC50)

L'IC50, ou concentrations inhibitrices à 50% est utilisée pour mesurer l'efficacité d'un composé en tant qu'antioxydant. Cette valeur représente la concentration de composé nécessaire pour inhiber 50% de l'activité antioxydante d'un échantillon.

**Tableau IX** : Concentration de l'extrait méthanolique de *P. argentea* qui inhibent 50% d'ABTS<sup>•+</sup> et DPPH<sup>•</sup> (IC50)

Test	IC50 (µg/ml)	IC50 (µg/ml) de l'acide gallique
ABTS	0,870 ± 0,04	0,80 ± 0,03
DPPH	2,940 ± 0,15	1,44 ± 0,086

Les IC50 de l'extrait méthanolique de la plante étudiée et de l'acide gallique obtenues sur le radical ABTS<sup>•+</sup>, sont  $0,87 \pm 0,04$  et de  $0,80 \pm 0,03$  µg/ml, respectivement. Ainsi, l'IC50 de l'extrait méthanolique de *P. argentea* sur le radical DPPH<sup>•</sup> est de  $2.94 \pm 0.15$  µg/ml en comparaison à l'acide gallique obtenu sur le même radical est de  $1,44 \pm 0,086$  µg/ml.

Ces valeurs sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important.

Les composés phénoliques de poids moléculaire élevé, présentent une capacité supérieure à piéger le radical ABTS<sup>•+</sup>. Cette efficacité est influencée par des facteurs tels que le poids moléculaire, le nombre d'anneaux aromatiques et la nature de la substitution des groupements hydroxyle, plutôt que par des groupes fonctionnels spécifiques (Siddhuraju et Becker, 2007).

Les résultats ont montré que les pouvoirs inhibiteurs avec le radical DPPH<sup>•</sup> étaient généralement inférieurs à ceux obtenus avec le radical ABTS<sup>•+</sup>. Cela pourrait être dû à la présence d'un grand nombre de substances dans l'extrait méthanolique des feuilles de *P. argentea* qui absorbent la lumière à la même longueur d'onde que le radical DPPH<sup>•</sup>. Cette absorption a entraîné une augmentation de la densité optique et a diminué le pouvoir inhibiteur (Sarr et al., 2015).

# CONCLUSION

## Conclusion

---

Une méthodologie de surface de réponse a été utilisée pour l'extraction des composés phénoliques totaux à partir de la plante médicinale *P. argentea* avec un meilleur rendement.

Le Box-Behnken a été utilisé avec succès pour optimiser les paramètres d'extraction dans la présente étude. Les résultats indiquent que la polarité de solvant méthanolique de 58,59% et la température de 44.60 °C pendant 114 min, sont les meilleures conditions pour extraire les polyphénols. Le rendement maximal en composés phénoliques était de  $31.82 \pm 1.53$  mg EAG/ g MS. Cette dernière était très proche à la valeur prédite par BBD, ce qui prouve la précision du modèle.

L'analyse des antioxydants a permis de déterminer les quantités de différents composés phénoliques présents dans l'extrait de *P. argentea*. Les résultats ont montré une teneur totale en polyphénols de 31.82 mg EAG/ g M, avec une teneur en flavonoïdes de  $6.05 \pm 0.28$  mg EAG/ g MS, en flavones et flavéoles de  $2.56 \pm 0.26$  mg EAG/ g MS, et en tanins condensés de  $5.19 \pm 0.11$  mg EAG/ g MS.

L'évaluation de l'activité anti radicalaire vis-à-vis le DPPH et l'ABTS à révéler d'IC50 de  $2.94 \pm 0.15$  µg/ml et  $0.87 \pm 0.04$  µg/ml respectivement. Ces valeurs témoignent d'une forte activité antioxydante de cette plante.

Dans le cadre de cette étude, il serait judicieux de mener des recherches futures pour confirmer les résultats obtenus et en apprendre davantage sur mécanismes d'activité antioxydante par d'autres tests tels que FRAP.

Enfin cette étude souligne l'intérêt de *Paronychia argentea* pour ses propriétés thérapeutiques en tant que source potentielle d'agents antioxydants, ce qui pourrait être exploité dans le développement de nouveaux médicaments et compléments alimentaires.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



## Références bibliographiques

---

-A-

**Abou-Elkhair, E., Fadda, H., Abu-Mohsen, U.,** 2010. Antibacterial activity and Phytochemical analysis of some medicinal plants from Gaza Strip-Palestine. Journal of Al-Azhar University-Gaza,(ICBAS Special Issue) 12, 45-54.

**Abu-Hamdah, S., Afifi, F.U., Shehadeh, M., Khalid,** 2005. Simple quality-control procedures for selected medicinal plants commonly used in Jordan. 43(1), 1-7.

**Abu-Irmaileh, B.E., Afifi, F.U.,** 2003. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. Journal of ethnopharmacology 89(2-3), 193-197.

**Adjadj, M., Baghiani, A., Boumerfeg, S., Noureddine, C., Khennouf, S., Arrar, L., Mubarak, M.S.,** 2016. Protective effect of *Paronychia argentea* L. on acetic acid induced ulcerative colitis in mice by regulating antioxidant parameters and inflammatory markers. Der. Pharma. Chemica 8(4), 207-218.

**Afifi, F., Al-Khalidi, B., Khalil, E.,** 2005. Studies on the in vivo hypoglycemic activities of two medicinal plants used in the treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine following intranasal administration. 100(3), 314-318.

**Alali, F.Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsen, S.J., Wheaton, W.D., Iii, J.O.F., Oberlies, N.,** 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG project. 21(12), 1121-1131.

**Al-Bakri, A.G., Afifi, F.,** 2007. Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. Journal of Microbiological Methods 68(1), 19-25.

**Alexis, J.,** 1995. Pratique industrielle de la méthode Taguchi: les plans d'expériences. Association française de normalisation.

**Al-Farsi, M.A., Lee, C.,** 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. 108(3), 977-985.

**Alilou, H., Bencharki, B., Hassani, L.I., Barka.,** 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens*subsp. *odorus*. 10(3).

**Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah.,** 2018. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L.

## Références bibliographiques

---

**Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P.L., Serralheiro, M.L., Araújo, M.,** Products, 2014. Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. 53, 6-15.

**Amiot, M.-J., Riollet, C., Landrier, J.-F.,** 2009. Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. Médecine des maladies métaboliques 3(5), 476-482.

**Ammar, R.B., Sghaier, M.B., Boubaker, J., Bhour, W., Naffeti, A., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L.,** 2008. Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. 174(1), 1-10.

**Annadurai, G., Sheeja, R.,** 1998. Use of Box-Behnken design of experiments for the adsorption of verofix red using biopolymer. 18, 463-466.

**Arkoub-Hamitouche, L., González-del-Campo, V., López-Oliva, M., Bedjou, F., Palomino, O.,** 2020a. *Paronychia argentea* Lam. protects renal endothelial cells against oxidative injury. Journal of ethnopharmacology 248, 112314.

**Aslan, N., Cebeci, Y.,** 2007. Application of Box–Behnken design and response surface methodology for modeling of some Turkish coals. 86(1-2), 90-97.

**Aziz, A., Aziz, S.,** 2018. Application of Box Behnken design to optimize the parameters for Kenaf-epoxy as noise absorber, IOP conference series: materials science and engineering. IOP Publishing, p. 012001.

### -B-

**Balunas, M.J., Kinghorn, A.D.,** 2005. Drug discovery from medicinal plants. Life sciences 78(5), 431-441.

**Basli, A., Chibane, M., Madani, K., Oukil, N.,** 2012. Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. Phytothérapie 10(1), 2-9.

**Belkhodja, H., Belmimoun, A., Meddah, B.,** 2017. Chemical characterization of polyphenols extracted from different honeys. 8(15), 78-82.

## Références bibliographiques

---

**Benítez, G., González-Tejero, M., Molero-Mesa, J.,** 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology* 129(1), 87-105.

**Bey, M.B., Louaileche, H., Zemouri, S.,** *Biotechnology*, 2013. Optimization of phenolic compound recovery and antioxidant activity of light and dark dried fig (*Ficus carica* L.) varieties. 22, 1613-1619.

**Boulanouar, B., Gherib, A.J.I.J.o.I., Studies, A.,** 2014. Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. 9(1), 167-172.

**Bouزيد, A., Chadli, R., Bouزيد, K.,** 2016. Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie* 15(6), 373-378.

**Braca, A., Bader, A., Siciliano, T., De Tommasi, N.,** 2008. Secondary metabolites from *Paronychia argentea*. 46(1), 88-93.

### -C-

**Candolle, A.P.L., Jean-Baptiste,** 1805. Flore française, ou, Descriptions succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France, disposées selon une nouvelle méthode d'analyse, et précédées par un exposé des principes élémentaires de la botanique.

**Chira, K., Suh, J.H., Saucier, C., Teissèdre, P.L.,** 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 6(2), 75-82.

**Cliffe, S., Fawer, M.S., Maier, G., Takata, K., Ritter, G.,** *Chemistry, F.*, 1994. Enzyme assays for the phenolic content of natural juices. 42(8), 1824-1828.

**Coutu, A.,** 2021. Conception de réacteurs de laboratoire et développement d'approches numériques pour l'optimisation du procédé de méthanisation en voie solide et discontinu: plans d'expériences mixtes et bootstrapping, modélisation couplée hydrodynamique et biochimique. Compiègne.

### -D-

**Dagnelie, P.,** 2000. La planification des expériences: choix des traitements et dispositif expérimental. 141(1-2), 5-29.

## Références bibliographiques

---

**Dorman, H., Hiltunen, R.,** 2004. Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. 88(2), 193-199.

-E-

**Edeas, M.,** 2008. Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie* 5(5), 264-270.

-F-

**Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S.,** 2015. Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology. 6(8), 2346-2357.

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C.,** 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. 331(5), 372-379.

**Favier, A.,** 2003. Le stress oxydant. *L'actualité chimique* 108(10), 863-832.

**Fleeger JL, Flipse IJ.,** 1964. Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.*47 (5), 535-8.

-G-

**Goudable, J., Favier, A.,** 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme* 11(2), 115-120.

**Goupy, J.,** 2013. Introduction aux plans d'expériences: avec applications," l'Usine nouvelle: Dunod. Paris.

**Goupy, J., Creighton, L.,** 2006. Introduction aux plans d'expériences-3ème édition-Livre+ CD-Rom. Hachette.

**Goupy, J.J.R.M.,** 2006. Les plans d'expériences-Tutoriel. 34.

-H-

**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., Chapelle, J.-P.,** 2007. Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège* 62(10).

## Références bibliographiques

---

**Hamdan, I., Afifi, F.,** 2004. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology* 93(1), 117-121.

**Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M.,** 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. 105(3), 1126-1134.

**Hopkins, W.G.,** 2003. *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.

### -J-

**Jeganathan, P.M., Venkatachalam, S., Karichappan, T., Ramasamy, S.,** Biotechnology, 2014. Model development and process optimization for solvent extraction of polyphenols from red grapes using Box–Behnken design. 44(1), 56-67.

**Jumbri, K., Al-Haniff Rozy, M.F., Ashari, S.E., Mohamad, R., Basri, M., Fard Masoumi, H.,** 2015. Optimisation and characterisation of lipase-catalysed synthesis of a kojic monooleate ester in a solvent-free system by response surface methodology. 10(12), e0144664.

### -K-

**Kaiser, S., Verza, S.G., Moraes, R.C., Pittol, V., Peñaloza, E.M.C., Pavei, C., Ortega, G.,** Products, 2013. Extraction optimization of polyphenols, oxindole alkaloids and quinovic acid glycosides from cat's claw bark by Box–Behnken design. 48, 153-161.

### -L-

**Lagnika, L.,** 2005. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. 280.

**Lapornik, B., Prošek, M., Wondra, A.,** 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. 71(2), 214-222.

**Lendoye, E., Makoyo, O., Bekale, S., Ndong, J.E., Edzang, R.N., Ngou-Milama, E.,** Disease, 2022. Évaluation de l'Activité Anti-oxydante du Sang Total, du Plasma, du Sérum et des Globules Rouges par Piégeage de l'Ion Radicalaire ABTS+. 23(2 Suppl 1).

**Leverve, X.,** 2009. Stress oxydant et antioxydants, *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 44(5), 219-224.

## Références bibliographiques

---

**Lovkova, M.Y., Buzuk, G., Sokolova, S., Kliment'eva, N.,** 2001. Chemical features of medicinal plants. *Applied Biochemistry and Microbiology* 37, 229-237.

**Lucchesi, M.E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F.,** 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. 79(3), 1079-1086.

**Luczkiewicz, M., Cisowski, W., Kaiser, P., Ochocka, R., Piotrowski, A.,** 2002. Comparative analysis of phenolic acids in mistletoe plants from various hosts. 1(5), 6.

-M-

**M'Hiri, N.,** 2015. Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone.

**Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C.,** 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

**Marinova, E., Yanishlieva, N.,** 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. 58(3), 245-248.

**Massaux, C.,** 2012. Polyphénols : des alliés pour la santé. Abeilles & Cie 149(4).

**Menat, É.,** 2006. Les polyphénols de thé, du vin et du cacao. *Phytothérapie* 4(S1), hs40-hs45.

**Mihoubi, I., Sebgag, S., Ouazine, L.,** 2020. Application de la méthode du plan d'expériences pour la modélisation du phénomène d'adsorption. universite Ahmed Draia-ADRAR.

**Mohammedi, Z.,** 2013. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie.

-N-

**Nascimento, N.C.d., Fett-Neto, A.G.,** 2010. Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview. *Plant secondary metabolism engineering: methods and applications*, 1-13.

-P-

## Références bibliographiques

---

**Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M.L., Vigna-Pérez, M., Hernández-Pérez, T.,** 2010. Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—a review. *Plant foods for human nutrition* 65, 299-308.

**Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M.A., Jiménez, A.M., Codina, C.,** 2003. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *73(13)*, 1667-1681.

**Peasura, P.,** 2015. Application of response surface methodology for modeling of postweld heat treatment process in a pressure vessel steel ASTM A516 Grade 70. 2015.

**Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B.,** 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *4(8)*.

**Prior, R.L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B., Jacob, R.,** chemistry, f., 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *51(11)*, 3273-3279.

-R-

**Rice-Evans, C., Miller, N.J.,** 1994. [241 Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods in enzymology*. Elsevier, pp. 279-293.

**Richter G.,** 1993. Métabolisme des végétaux. *Physiologie et Biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes. 322-323

**Routray, W., Orsat, V.J.F., Technology, B.,** 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *5*, 409-424.

**Rubio, B.,** 2017. Réponse d'*Arabidopsis thaliana* au Turnip mosaic virus (TuMV) en conditions extérieures et en conditions contrôlées : phénotypage fin de traits de maladie et métaboliques et architecture génétique associée. Bordeaux.

-S-

**Sait, S., Hamri-Zeghichi, S., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., Rigou, P., Brighenti, V., Prencipe, F.P., Benvenuti, S., Pellati, F.,** 2015. HPLC-UV/DAD and ESI-MSn analysis

## Références bibliographiques

---

of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 111, 231-240.

**Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., Gonzalez-Paramas, A.,** 2012. Extraction and isolation of phenolic compounds. 427-464.

**Sarr, S.O., Fall, A.D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., Diop, Y., Sciences, C.,** 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). 9(3), 1263-1269.

**Shatnawi, M., Osman, N.A.E., Shibli, R., Odat, N., Al-Tawaha, A.R., Qudah, T., Majdalawi, M.,** Technology, E., 2021. Effect of Heavy Metal on the In vitro Growth of *Paronchia argentea* and its Antimicrobial Activity. 22.

**Siddhuraju, P., Becker, K.,** 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. 101(1), 10-19.

**Silva, E., Rogez, H., Larondelle, Y.J.S., Technology, P.,** 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. 55(3), 381-387.

**Sonnewald, U.,** 2013. Physiology of Metabolism. 239-409.

**Sulaiman, S.F., Sajak, A.A.B., Ooi, K.L., Seow, E.,** analysis, 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. 24(4-5), 506-515.

**Sultana, B., Anwar, F., Przybylski, R.,** 2007. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees. 104(3), 1106-1114.

**Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I.,** chemistry, f., 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. 46(10), 4267-4274.

-T-

**Tessier, F., Marconnet, P.,** 1995. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & sports 10(1), 1-13.



## Références bibliographiques

---

-V-

**Vansant G.**, 2004. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone.

**Veeraraghavan, V.P., Hussain, S., Balakrishna, J.P., Mohan, S.K.**, 2020. Paronychia Argentea: A Critical Comprehensive Review on its Diverse Medicinal Potential and Future as Therapeutics. Pharmacognosy Journal 12(5).

-W-

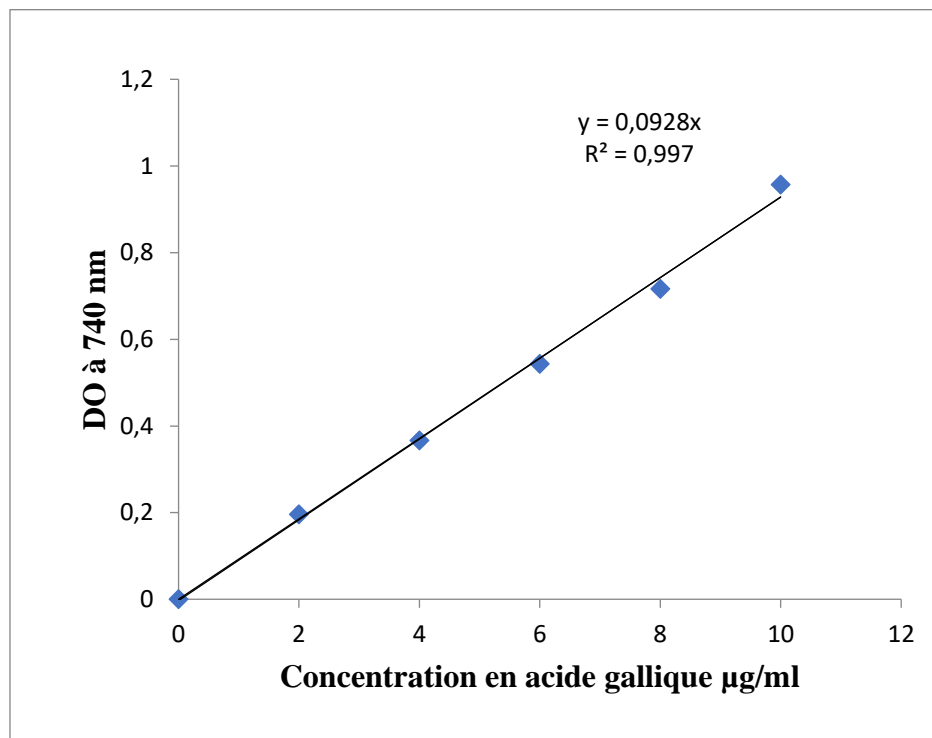
**Wang, L., Weller, C.**, Technology, 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. 17(6), 300-312.

-Z-

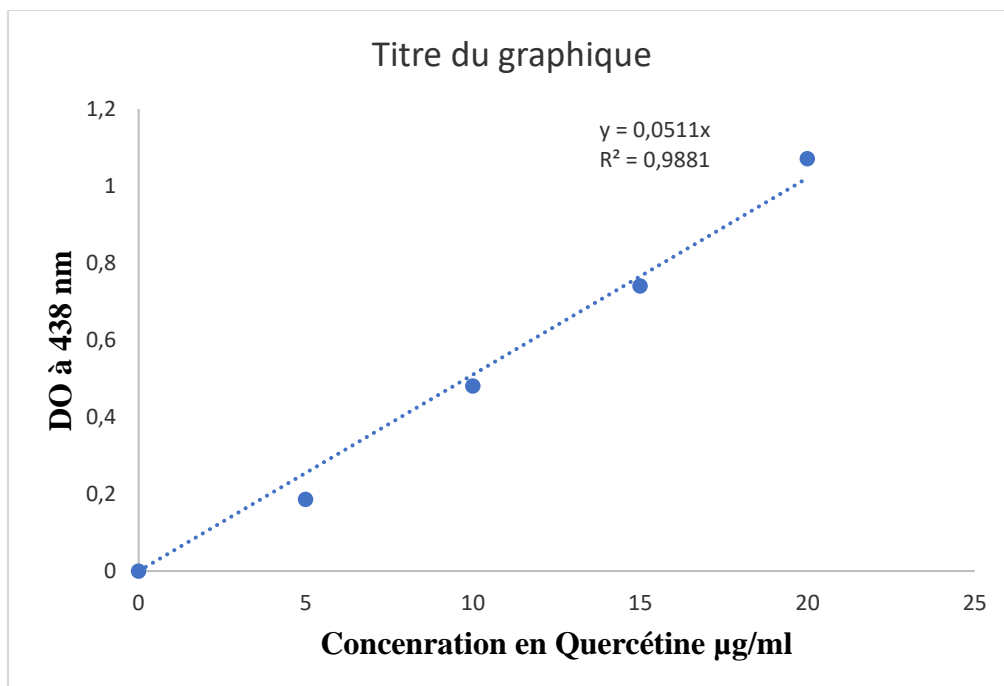
**Zbadi, R., Mohti, H., Moussaoui, F.**, 2018. Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. 24(2), 134-141.

# ANNEXES

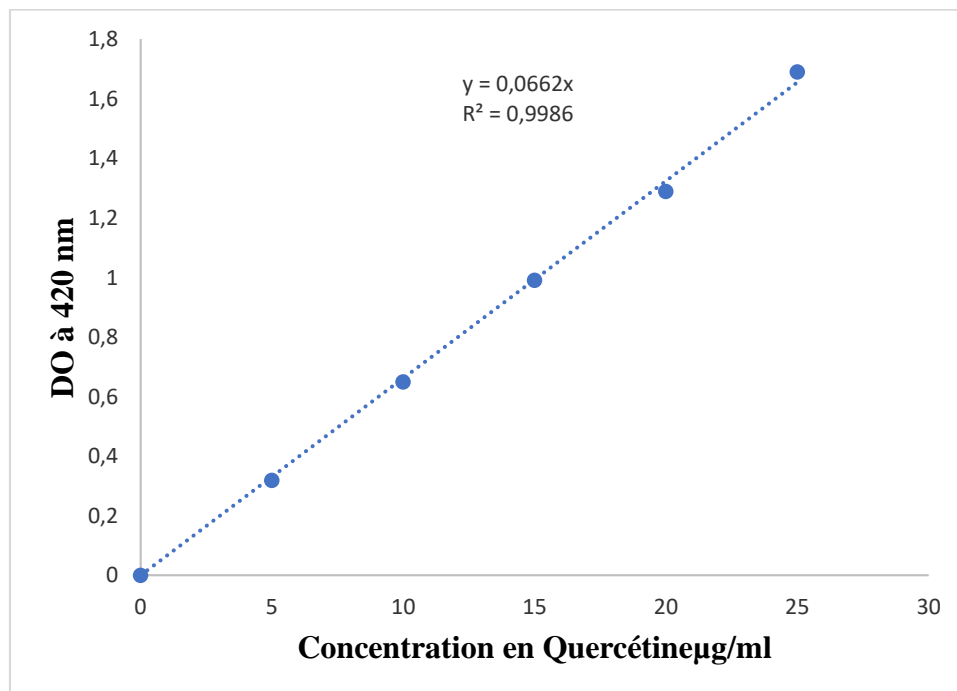
**Annexe 01** : La courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux en utilisant l'étalon polyphénolique l'acide gallique.



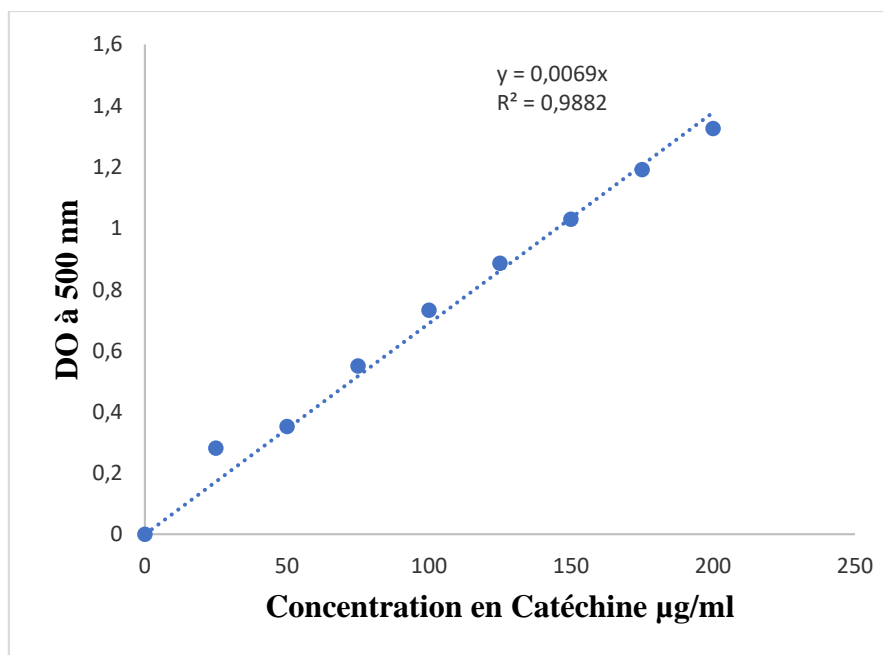
**Annexe 02** : La courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des composés flavonoïdes totaux, en utilisant la Quercétine comme étalon.



**Annexe 03** : La courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des flavones et flavonols en utilisant la Quercétine comme étalon.



**Annexe 04** : La courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des tanins condensés en utilisant la Catéchine comme étalon.



### Résumé

Une étude a été menée pour optimiser l'extraction des composés phénoliques totaux de *Paronychia argentea* par macération. Cette étude a utilisé un plan de surface de réponse pour déterminer les conditions opératoires optimales pour obtenir une teneur en polyphénols totaux maximale. Les résultats de l'étude ont montré qu'une polarité de solvant méthanolique de 58,59% et un temps d'extraction de 114 minutes à une température de 44,60°C étaient les conditions optimales pour obtenir un rendement maximum expérimental de 31,82 mg EA/g de MS. L'étude a prouvé l'efficacité de la méthodologie des plans d'expériences pour optimiser les paramètres opérationnels de l'extraction des composés phénoliques de *P. argentea* de manière économique et pertinente. La teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavones et flavonols, tanins d'extrait méthanolique optimisé des parties aériennes de *P. argentea* a été déterminée à partir des courbes d'étalonnage. De plus l'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes in vitro, à savoir piégeage de radical libre DPPH et ABTS.

**Mots clés :** RSM, Box-Behnken, *Paronychia argentea*, polyphénols totaux, activité antioxydante

### Abstract

A study was carried out to optimize the extraction of total phenolic compounds from *Paronychia argentea* by maceration. This study used a response surface design to determine the optimum operating conditions for obtaining maximum total polyphenol content. The results of the study showed that a methanolic solvent polarity of 58.59% and an extraction time of 114 minutes at a temperature of 44.60°C were the optimum conditions for obtaining an experimental maximum yield of 31.82 mg EA/g DM. The study demonstrated the effectiveness of design-of-experiments methodology in optimizing operational parameters for the extraction of phenolic compounds from *P. argentea* in a cost-effective and relevant manner. The content of total polyphenols, flavonoids, flavones and flavonols, and tannins in optimized methanolic extracts of *P. argentea* aerial parts was determined from calibration curves. In addition, antioxidant activity was assessed by two in vitro methods, namely DPPH and ABTS free radical scavenging.

**Keywords:** RSM, Box-Behnken, *Paronychia argentea*, total polyphenols, antioxidant activity.

### ملخص

تم إجراء دراسة لتحسين استخلاص المركبات الفينولية الاجمالية من نبات طبي يعرف باسم كسارات الحجر حيث يسمى علميا بارونيشيا ارجنتيه، بالاعتماد على طريقة الاستخلاص بالمذيب الميثانولي، اعتمدت هذه الدراسة على برنامج علمي حديث RSM لتحديد الظروف التي تسمح باستخلاص اقصى كمية من المركبات الفينولية الاجمالية. اظهرت نتائج هذه الدراسة ان الاستخلاص بالميثانول بتركيز 58.59 % لمدة 144 دقيقة في درجة حرارة 44.60 درجة مئوية هي الظروف المثلى للحصول على اقصى مقدار للمركبات الفينولية الاجمالية قدره 31.82 ملغ مكافئ للحمض الغاليك على واحد غرام من مسحوق المادة النباتية. منه أظهرت الدراسة فعالية منهجية التصميم التجريبي في تحسين العوامل المؤثرة. كما انه تم تحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد والفلافونول من مستخلص الميثانول الأمثل من الأجزاء الجوية من بارونيشيا ارجنتيه. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبار ABTS و DPPH .

**الكلمات المفتاحية:** نموذج بوكس- بهينكن، بارونيشيا ارجنتيه، المركبات الفينولية الاجمالية، نشاط مضادات الأكسدة ، برنامج RSM