

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale



Réf :

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

MASTER

Thème

**Évaluation des activités biologiques de l'extrait
éthanolique de *Lagunaria patersonia* après
optimisation de l'extraction**

Présenté par :

YAHIAOUI Sara & YOUSFI Wissem

Soutenu le 01/07/2024

Membre de jury :

Mme AGUERSSIF Nadia

Mr ZAIDI Hichem

Mme YOUS Farah

Mme SAIDANI Karima

MCB

MCB

MCB

MCA

Présidente

Examinatrice

Encadrante

Co-encadrante

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions Dieu pour la force qu'il nous a accordé pour accomplir ce travail.

*Nous exprimons notre sincère gratitude envers **Mme YOUS Farah** pour son encadrement de qualité, ses conseils précieux, ses orientations, ses encouragements et sa gentillesse. Son dévouement et sa patience ont été une source inestimable de motivation et de soutien. Merci de nous avoir inspiré à toujours donner le meilleur de nous-mêmes.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement **Mme SAIDANI Karima** et ses binômes pour leur aide continue au cours de la réalisation de la partie bactériologie pratique.*

*Nous exprimons notre sincère gratitude à **Mme AMARKHODJA, Mr ZAIDI Hicham, Mme SAIDANI** et **Mme YOUS** pour avoir consacré du temps à évaluer ce modeste travail.*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à **Mme IMADALOU Nadia**, ingénieure du laboratoire PBC4, pour son dévouement, son assistance, sa bonne humeur et ses conseils précieux.*

Nous sommes profondément reconnaissants envers tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, qui nous ont prodigué leurs enseignements pendant ces cinq années dans un esprit fraternel.

Enfin, nous souhaitons à exprimer notre gratitude à nos amis, et à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Merci à vous tous !

Dédicace



Au terme de toutes ces années d'étude je remercie Dieu et je dédie avec joie, fierté et respect ce modeste travail en signe de respect et de remerciement :

A mes chers parents ;

A notre promotrice Madame Yous Farah ;

A ma chère binôme Wissem Yousfi ;

A mes très cher frères Hicham et Toufik ;

A ma copine Tayma·k ;

Enfin je le dédie à toutes mes amies que je n'ai pas cité, tous ceux qui m'ont apporté de l'aide et à tous ceux qui me connaissent.

Sara

Dédicace



A l'aide de Dieu, le Tout-Puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu accomplir ce modeste travail que je dédie:

À mes parents, qui ont été ma source d'inspiration et de soutien tout au long de ce parcours académique.

À mes chers frères Salah et Anis, à ma chère belle-sœur Kahina.

À toute ma chère famille, et en particulier à ma grand-mère, je tiens à exprimer toute ma gratitude pour votre amour et vos encouragements. Que Dieu vous garde en bonne santé.

A mes chers amies, ma binôme Sara qui m'a accompagné tout au long de mon parcours universitaire.

Enfin, à tous ceux qui m'ont encouragé, aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Wissem

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction01

Chapitre 1 : synthèse bibliographique

I. *Lagunaria Patersonia*02

I.1. Généralités sur la plante02

I.2. Description botanique02

I.3. Classification taxonomique04

I.4. Synonymes et combinaison04

I.5. Usage traditionnelle04

I.6. Propriété thérapeutique05

I.7. Composition chimique05

II. Métabolites secondaires06

II.1. Polyphénols06

II.1.2. Composés phénoliques07

II.1.2.1. Définition07

II.1.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques07

II.1.2.3. Classification08

II.2. Saponines et sucres totaux12

III. Activités biologiques des extraits de la plante13

III.1. Activité antioxydants13

III.1.1. Radicaux libres14

III.1.2. Les espèces réactive de l'oxygène14

III.1.3. Stress oxydatif et ses conséquences biochimiques17

III.1.4. Types d'antioxydants18

III.1.4.1. Antioxydants enzymatique18

III.1.4.2. Antioxydants non enzymatique18

III.2. Activité anti-inflammatoire20

III.2.1. Difinition20

III.2.2. Types d'inflammation20

III.2.3. Inflammation et dénaturation protéique21

III.2.4. Anti inflammatoire21

III.2.5. Méthode d'études des l'activité anti inflammatoire in vitro22

III.3. Activité anti-bactérien22

III.3.1. Bactérie22

III.3.2. Les antibiotiques25

III.3.2.1. Difinition25

III.3.2.2. Classification des antibiotiques25

III.3.2.3. Résistance aux antibiotiques25

III.3.2.4. Mode d'action des antibiotiques26

III.3.2.5. Antibiogramme et méthode des disques26

IV. Plans d'expériences	27
IV.1. Principaux avantages des plans d'expériences	27
IV.2. Plans de surface de réponse	27
IV.2.1. Plans de Box-Behnken	28

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

I. Matériels	29
I.1. Matériels végétale	29
I.2. Matériels de laboratoire	29
II. Méthodes	29
II.1. Préparation de l'extrait éthanolique de feuilles et de graines	29
II.2. Optimisation	30
II.3. Extraction	31
II.4. Dosage des polyphénols totaux	32
II.5. Dosage des flavonoïdes.....	32
II.6. Dosage des tanins condensés	32
II.7. Dosage des tanins hydrolysables	33
II.8. Dosage des saponines	33
II.9. Dosage des sucres totaux	33
II.10. Evaluation de l'activité antioxydants	34
II.11. Evaluation de l'activité anti inflammatoire	34
II.12. Evaluation de l'activité anti bactérienne.....	35
III. Etude statistique	37

Chapitre 3 : Résultats et discussion

I. Traitement des échantillons	38
II. Conditions optimales	41
III. Rendements d'extraction	42
IV. Evaluation de l'activité phytochimique	43
IV.1 Teneur en polyphénols totaux	43
IV.2 Teneurs en flavonoïdes	44
IV.3 Teneur en tanins condensés	45
IV.4. Teneur en tanins hydrolysables	46
IV.5. La teneur des saponines	46
IV.6. La teneur des sucres totaux	47
V. Evaluation de l'activité antioxydant	48
VI. Evaluation de l'activité anti inflammatoire	49
VII. Evaluation de l'activité anti bactérienne	50
Conclusion et perspectives	54
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Feuilles, fleurs, gousse, poils et graines de <i>Lagunaria patersonia</i> . Morphologie pollinique de <i>Lagunaria patersonia</i> , prises à un grossissement de x1500.	03
02	Effets biologiques des polyphénols.	07
03	Structure de base des flavonoïdes.	11
04	Structure d'un tanin condensé (proanthocyanidol).	12
05	Structure de l'acide gallinique, de l'acide hexahydroxydiphénique et d'un tanin gallique.	12
06	Méthode des disques.	26
07	Séchage de feuilles et fruits de <i>Lagunaria Patersonia</i> .	29
08	Broyage de feuilles et des graines de <i>Lagunaria Patersonia</i> .	30
09	Tamisage de la poudre.	30
10	Délipidation de la poudre de graines.	30
11	Procédure d'extraction à partir des feuilles et graines de <i>Lagunaria Patersonia</i> .	31
12	Préparation de milieu de culture, disque et dépôt d'extrait de plantes.	37
13	Coefficient de détermination des protocoles d'extraction des polyphénols et du pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les feuilles (A) et les graines (B) de <i>Lagunaria Patersonia</i> .	40
14	Profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode de décoction.	42
15	Les rendements d'extraction en extrait sec des deux parties étudiée de <i>Lagunaria Patersonia</i> .	43
16	Droites d'étalonnages servant pour retrouver l'IC50 de l'ABTS d'EEGLP et EEFLP.	48
17	Droites d'étalonnages de l'IC50 de NO d'EEGLP et EEFLP.	50
18	Effet des différents EEGLP sur les souches bactériennes testées.	51
19	Effet des différents EEGLP sur les souches bactériennes testées.	51
20	Effet d'antibiotique (témoin positif) sur les souches étudiées.	52
21	Effet des différents EEFLP et EEGLP et des control positif et négatif sur les souches bactériennes testées par la méthode des spots.	52
22	Effet d'huile des graines de <i>Lagunaria patersonia</i> et des control positif et négatif sur les souches bactériennes testées.	52

Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
I	Principaux ERO et comparaison des pouvoirs oxydants.	16
II	Taux des polyphénols totaux des graines et des feuilles de <i>Lagunariapatersonia</i> .	43
III	Taux des flavonoïdes des feuilles et des graines de <i>Lagunaria patersonia</i> .	44
IV	Taux de tanins condensés des feuilles et des graines de <i>Lagunariapatersonia</i> .	45
V	Taux de tanin hydrolysable des feuilles et des graines de <i>Lagunaria patersonia</i> .	46
VI	Taux d'extraction des saponines.	46
VII	Taux d'extraction des sucres totaux.	47
VIII	IC50 de l'ABTS de l'extrait des graines et des feuilles de <i>Lagunaria patersonia</i> .	48
IX	Le taux de NO de l'IC50 de NO d'EEGLP et EEFLP.	50
X	Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition des différents extraits étudiés sur les souches bactériennes testées.	52

Liste des abréviations

- ABTS : 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- Ac : absorbance du contrôle
- Ae : absorbance de l'échantillon
- AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens
- AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens
- ATPase : adénosine triphosphatase
- CAT : catalase
- COX : enzymes cyclooxygénase
- EEFLP: Extrait Éthanolique de feuilles de *Lagunaria patersonia*
- EEGLP: Extrait Éthanolique de graines de *Lagunaria patersonia*
- ERO : espèces réactives de l'oxygène
- GPx : glutathion peroxydase
- iNOS : oxyde nitrique synthase inductible
- LDL : lipoprotéines de basse densité (low-densitylipoproteins)
- LPO : lipoxygénases
- MDA : malondialdéhyde
- MPO : myéloperoxydase
- NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
- NADP⁺ : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé
- NAFLD : stéatose hépatique non alcoolique
- NK : lymphocytes tueurs naturels (natural killer cells)
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PHGPx : phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase
- RO• : radical alcoyle
- ROS: espèces réactives de l'oxygène(ReactiveOxygenSpecies)
- SOD : superoxydedismutase

INTRODUCTION

Ces dernières années, l'utilisation des plantes médicinales a gagné en popularité (**Djeddi et al., 2015**). Selon l'OMS environ 65 à 80 % de la population des pays en développement, dépend des plantes médicinales pour leurs soins de santé primaires (**Haddouchi et al., 2018**). Ces plantes ont été étudiées pour les activités biologiques de leurs métabolites secondaires des principes actifs (**Ventrella et Marinho, 2008**), lesquels jouent un rôle important dans des activités antimicrobienne, antioxydants, anticancéreuse et anti-inflammatoire (**Balwinder et al., 2020**).

En Algérie, la médecine traditionnelle revêt une importance particulière dans le traitement des maladies. Ce pouvoir est dû à la richesse des plantes médicinales en tanins, terpénoïdes, alcaloïdes et en flavonoïdes (**Cowan, 1999**), synthétisés à des concentrations variables dans différentes parties du végétal (**Basli et al., 2012**).

En l'occurrence, la méthode d'extraction de leurs principes actifs constitue une étape cruciale pour l'isolement de nouvelles molécules bioactives (**Parham et al., 2020**). Ces dernières présentent de nombreux intérêts exploités dans diverses industries, notamment l'alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (**Bahorun, 1997**).

Lagunaria patersonii est une plante dioïque originaire d'Australie (**Kuruner et Shackleton, 2011**), connue pour sa résistance à une variété de conditions climatiques (**Mitchell, 1982**). Dans la littérature, ses extraits de feuilles, on démontré une forte activité antifongique, là où l'extrait de ses graines a exhibé une activité anti bactérienne contre certaines espèces bactériennes.

Dans ce contexte, notre travail s'inscrit dans le cadre d'optimiser les paramètres d'extraction des feuilles et graines de *Lagunaria Patersonia* en utilisant le plan d'expérience Box-Behnken, lequel permet d'obtenir un rendement satisfaisant en composés phénoliques et en activité anti-radicalaire. Nous avons évalués *in vitro* de la teneur des différents composés actifs et étudiés leurs activités antioxydants, antiinflammatoire et antibactérienne.

Au cours de ce travail, nous nous sommes s'intéressées dans la première partie à une étude bibliographique, relative au plantes étudiées, stress oxydatif, composés phénoliques, activités biologiques et plans d'expériences. La deuxième partie sera consacrée à l'étude expérimentale, dont on a cité la méthode d'extraction des deux échantillons étudiés, leurs teneurs en composés phénoliques, sucres totaux et saponines, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, antiinflammatoire et antibactérienne.

CHAPITRE 1:

Synthèse bibliographique

I. *Lagunaria Patersonia*

I.1. Généralités sur la plante

Hibiscus patersonii Andrews (*Lagunaria patersonii*) est une plante dioïque originaire d'Australie de la famille des *Malvaceae*, un arbre ornemental et d'agrément. Connu sous le nom d'arbre pyramidal ou chêne blanc de l'île Queen (**Gardner, 2006 ; Domingues de Almeida et Freitas, 2006 ; Mohamed et al., 2014**), elle est largement répandue en Nouvelle-Calédonie et sur l'île Norfolk Nouvelle-Zélande (**Botting Hemsley, 1896**).

Sur cette dernière, il est souvent désigné sous le nom d'hibiscus de l'île Norfolk, tandis qu'à Lord Howe, il est connu sous le nom de bois de sally, où il est remarquablement rare (**wilcox et al., 2010 ; Mohamed et al., 2014**). En revanche, la plante est présente en Afrique du Sud (**Kuruneru et Shackleton, 2011**), au nord de la Tunisie (**El Mokni et Iamónico, 2020**), ainsi qu'au Mexique (**Fryxell, 1988**) en tant qu'espèce étrangère.

Lagunaria patersonia montre une résistance remarquable à une variété de conditions climatiques (**Mitchell, 1982**). Néanmoins, elle est semi-tolérante au sel et à la sécheresse (**Nouri et al., 2013 ; Mohamed et al., 2014**). Notamment, dans les zones urbaines polluées, *Lagunaria patersonia* émerge comme un choix attrayant en raison de sa capacité éprouvée à résister efficacement au dioxyde de soufre (SO₂) (**O'Connor et al., 1974**). Également, Mr. Marsh a découvert lors de sa visite à Phillip Island que les lapins vivaient sous les racines de *Lagunaria patersonia* et se nourrissaient principalement de ses feuilles (**Watson, 1961**) ce qui peut révéler, en quelque sorte, sa propriété non toxique.

Toutefois, quelques arbres de *Lagunaria patersonia* risquent de mourir en raison d'infections causées par des insectes comme les punaises des graines de coton et des champignons tels que *Rhizoctonia solani* (**Mohamed et al., 2014**). De plus, cette espèce est une plante hôte pour *Tectocoris diophthalmus*, où les femelles de ces punaises déposent leurs œufs dans une couvée cylindrique autour des branches et des tiges (**Giffney et Kemp, 2014**).

I.2. Description botanique

Cet arbre est classé comme phanérophYTE et épOécophYTE selon la classification de Kornas en 1990 (**Domingues de Almeida et Freitas, 2006**) et est souvent retrouvé dans des environnements associés à une croissance basse (**Mueller et Fosberg, 1998**), dans les régions côtières près des pins ainsi que dans des endroits abrités et fertiles. Cet arbre peut avoir

plusieurs troncs, atteignant un diamètre basal de quelques mètres, tandis que les arbres tirés peuvent atteindre presque 30 mètres de hauteur (**Gardner, 2006**).

Lagunaria patersonia possède des feuilles semi-persistantes à grandes fleurs solitaires, roses qui fleurissent abondamment en été (**De Vilmorin, 1950**). La longueur des pétales est de 40-46 mm, la longueur de la colonne staminale est de 30-36 mm, et la longueur de la partie anthérifère est de 13-20 mm (**El Mokni et Iamónico, 2020**).

En outre, il est recommandé d'éviter de planter cette plante près des chemins ou des maisons en raison de ses propriétés allergènes (**Cariñanos et Casares, 2011**), bien que son degré d'allergie soit faible (**Cariñanos et al., 2016**). En effet, il est communément appelé l'arbre à démangeaisons de la vache, en raison de la présence de poils raides blancs dans ses gousses, qui facilitent la dissémination des graines mais peuvent provoquer des irritations cutanées chez les animaux et les humains (**Southcoli et Haggi, 1992 ; Borg, 2009**).

Ces graines ont une forme de rein de couleur brune (**Bailey, 1924**). Concernant ses grains de pollen (**Figure 01**), de forme colporate, leur taille est d'environ 45 à 50 μm , avec un diamètre de 7,5 μm (**Naggar, 2004**).



Figure 01 : Feuilles, fleurs, gousse, poils et graines de *Lagunaria patersonia* (Photographies originales). Morphologie pollinique de *Lagunaria patersonia*, prises à un grossissement de x1500 (**Naggar, 2004**).

I.3. Classification taxonomique

Classification taxonomique de *Lagunaria Patersonia* (Don, 1831).

Classification	
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Malvales</i>
Famille	<i>Malvaceae</i>
Genre	<i>Lagunaria</i>
Espèce	<i>Lagunaria Patersonia</i>

I.4. Synonymes et combinaisons (Cufodontis, 1959)

- *Hibiscus patersonii* R. Br (Brown, 1812).
- *Hibiscus patersonius* Andrews (Andrews, 1803).
- *Laguna patersonia* (Andrews) Sims (Sims, 1804).
- *Laguna squamea* Vent (Vent, 1805).
- *Solandra squamea* Poir (Poir, 18162).

I.5. Usage traditionnel

Les Aborigènes ont utilisé *Lagunaria patersonia* comme matière première pour créer une variété de produits, y compris des lignes de pêche et des filets, des sacs à provisions, des paniers, des filets pour animaux, ainsi que des cordes et des ficelles.

De plus, l'arbre produit un bois magnifiquement marqué, adapté à la fabrication d'armoires, d'étuis d'instruments de musique, de bâtons de marche et d'autres objets en bois similaires (Mitchell, 1982).

En 1792, John Doody a dessiné cette espèce, notant que son bois était utilisé dans la construction de bateaux, et que l'arbre produisait une gomme qu'il estimait presque aussi bénéfique que la gomme arabique. Toutefois, Maiden, (1904) a déclaré que ce bois était sans

valeur économique, sauf en tant que bois de chauffage de qualité inférieure, car il était peu utilisé sur l'île (Coyne, 2011).

I.6. Propriétés thérapeutiques

L'extrait des feuilles de *Lagunaria patersonia* a exhibé une forte activité antifongique, inhibant efficacement la croissance de *Rhizoctonia solani*. De même, son extrait de branche de a également démontré une forte activité antifongique contre les champignons *Alternaria solani* et *Bipolaris*. Par contre, son extrait de graines a montré une efficacité contre *Fusarium oxysporum* et a également exhibé des effets inhibiteurs sur quatre espèces bactériennes, notamment, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora*, *Pectobacterium carotovorum* et *Ralstonia solanaceum* (Ibrahim et al., 2023).

I.7. Composition chimique

La gousse de *Lagunaria patersonia* présente une composition chimique riche en différents composés, dont des phénols totaux et des flavonoïdes qui contribuent à son activité antioxydants. Elle possède également une gamme d'oligo-éléments essentiels, tels que le manganèse (Mn), le cuivre (Cu), le fer (Fe) et le nickel (Ni).

Notamment riche en éléments nutritifs essentiels, en plus des macronutriments primaires tels que le carbone (C), l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K), elle contient également des macronutriments secondaires, notamment le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le soufre (S) et le sodium (Na). Il convient également de noter la présence de certains métaux toxiques tels que l'aluminium (Al) et l'arsenic (As) (Kuppusamy et al., 2016).

En outre, les graines de *Lagunaria patersonia* possèdent une composition en acides gras unique, avec une prédominance de l'acide oléique. Elles contiennent également des quantités significatives d'acide palmitique, ainsi que des traces d'acide malvalique et de dihydrosterculique. De plus, elles sont également riches en protéines (Sundar et al., 1998).

Ces graines contiennent également plusieurs composés phénoliques et flavonoïdes. Parmi ces composés, on retrouve notamment l'acide benzoïque, l'acide p-hydroxybenzoïque, la naringénine, le pyrogallol, l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique et le kaempférol.

Les feuilles de *Lagunaria patersonia* contiennent divers composés phénoliques et des flavonoïdes, parmi ces composés, on trouve notamment le resvératrol, l'acide benzoïque, l'acide rosmarinique, la quercétine, la rutine, la myricétine et l'acide vanillique. Tandis que les

branche contiennent du resvératrol, de l'acide benzoïque, de l'acide p-coumarique, du catéchol, de la myricétine, de la rutine et la quercétine (**Ibrahim et al., 2023**).

II. Métabolites secondaires

II.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés phytochimiques naturels (**Pérez et Torres, 2011**). Ils sont très diversifiés et peuvent être classés en nombreuses classes et sous-classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins... (**Curtay et Robin, 2000 ; Siricha et al., 2010**).

Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées *in vitro* sur des enzymes pures, des cellules cultivées, ou des tissus isolés en utilisant des aglycones de polyphénols ou certains glycosides présents dans les aliments. Ils agissent aux interfaces eau-lipides et sont impliqués dans les voies de régénération par oxydation avec les vitamines C et E, car l'hydrophobicité des polyphénols est intermédiaire entre celle de la vitamine C (très hydrophile) et celle de la vitamine E (très hydrophobe).

La biodisponibilité des polyphénols vise à établir et à corrélérer les apports en polyphénols avec une ou plusieurs mesures précises de biodisponibilité, telles que les concentrations de métabolites bioactifs clés dans le plasma et les tissus, ainsi que leurs effets potentiels sur la santé dans des études épidémiologiques (**Manach et al., 2004**).

De plus, Les polyphénols jouent un rôle majeur dans la régulation de l'épigénome des mammifères grâce à des mécanismes et des protéines qui remodelent la chromatine. En occurrence, des approches thérapeutiques alternatives dans le cancer sont mises en évidence (**Rajendran et al., 2022**). En plus de propriétés mentionnées ci-dessus, les polyphénols ont d'autres effets biologiques (**la figure 02**).

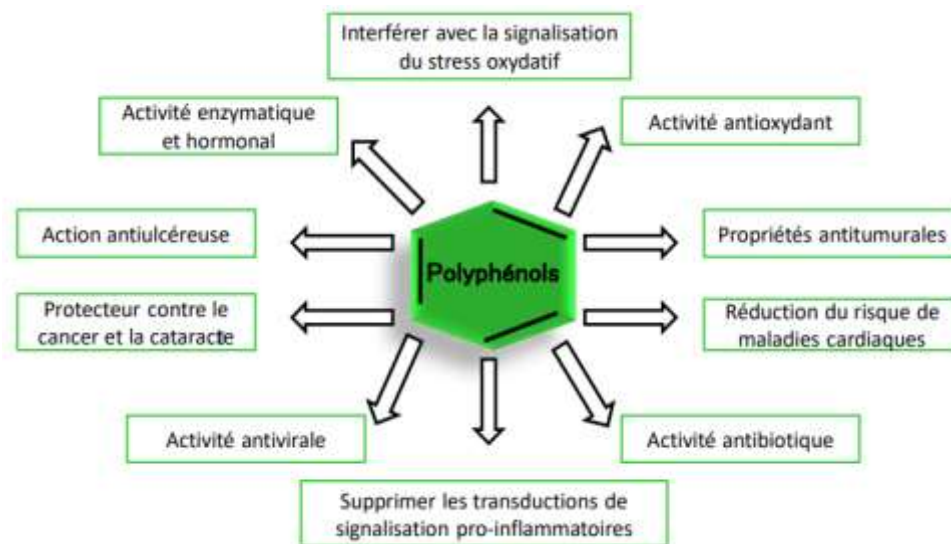


Figure 02 : Effets biologiques des polyphénols (Hollman *et al.*, 1996 ; Chung *et al.*, 1998 ; Martin et Andrantsitohaina, 2002 ; Patel *et al.*, 2011 ; Reis *et al.*, 2016 ; Zhang et Tsao, 2016).

II.1.2. Composés phénoliques

II.1.2.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires communs des plantes (Caliskan et Polat, 2011). Ils peuvent moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de récepteurs cellulaires (Manach *et al.*, 2004). Leur activité antioxydants est due principalement à leur propriété d'oxydoréduction, qui leur permet d'agir comme des agents réducteurs (Rice *et al.*, 1995).

II.1.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

La biogenèse des composés phénoliques des végétaux se fait par deux grandes voies principales d'élaboration de cycles aromatiques (Guignard, 2000) : la voie la plus importante, d'acide shikimique et la voie d'acétate (Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008 ; Boubekri, 2014).

La voie de shikimate

Elle conduit après transamination et désamination à la condensation de phosphoenol pyruvate et l'érythrose-4-phosphate. Il subit une série de réactions qui conduisent à la formation d'acide chorismique, lequel est réarrangé grâce à la chorismate mutase en acide préphénique (point d'embranchement pour la synthèse des acides aminés aromatiques qui sont les précurseurs des composés phénoliques). L'acide p-hydroxyphényl pyruvique se forme pour générer l'acide cinnamique après oxydation (Boubekri, 2014).

La voie d'acétate

La glycolyse et la bêta-oxydation conduisent à la formation d'acétyl-CoA, qui produit du malonate. Par cette voie qu'a lieu la cyclisation de la chaîne polycétide, obtenue par la condensation répétée d'unités « acétate » par carboxylation de l'acétyl-CoA. Par la suite, la réaction est catalysée par l'acétyl-CoA carboxylase (**Boubekri, 2014**). La biosynthèse des composés phénoliques permet la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulier (**Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008**).

II.1.2.3 Classification

La classification générale des composés phénoliques a été établie comme suit :

- **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont des composés organiques qui possèdent au moins une fonction carboxylique (**Bruneton, 1999**). Ils représentent un tiers des composés polyphénoliques de notre alimentation végétale, abondants dans les fruits au goût acide (**Pandey et Rizvi, 2009**). Ces molécules se caractérisent notamment par la présence d'un cycle benzénique, d'un ou de plusieurs groupes hydroxyles et/ou de méthoxyle (**Lourdes, 2013**).

Les deux groupes essentiels des acides phénoliques sont :

- Les acides hydroxybenzoïques : dérivent de l'acide benzoïque (C6-C1).
- Les acides hydroxy-cinnamiques : dérivent de l'acide cinnamique (C6-C3) (**Budić et Lovrić, 2002**).

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus répandu et commun de composés phénoliques végétaux. Leur structure typique est celle des diphenylpropanes (C6-C3-C6), composés de deux cycles aromatiques reliés par trois carbones (**Figure 03**), formant généralement un hétérocycle oxygéné (**Bravo, 1998**). Ils sont générés par une combinaison de deux mécanismes: l'anneau A provient de l'acétate avec une méta-hydroxylation, tandis que l'anneau B est issu du shikimate avec une hydroxylation en position 4' ou plus (**Singleton, 1981**).

Les flavonoïdes sont généralement présents sous forme de dérivés glycosidiques, bien qu'ils puissent parfois être trouvés sous forme d'aglycones (**Bravo, 1998**). Ils englobent plusieurs classes, telles que les anthocyanes, flavan-3-ols, flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, varient selon le degré d'oxydation du cycle hétérocyclique formé à partir de la

chaîne latérale à trois atomes de carbone de la partie phénylalanine, ainsi qu'un hydroxyle et de deux carbones de la partie phloroglucinol (**Singleton, 1981**).

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs sous-groupes:

1. Flavonols

Les flavonols représente l'une des classes de composés bioactifs les plus prometteuses (**Barreca et al., 2021**), constituent une sous-classe de flavonoïdes tout comme les flavones (**Barreca et al., 2020**), grâce à la présence d'une double liaison 2,3 sur le cycle C et d'un groupe oxo en position 4 (**Barreca et al., 2021**), ils se distinguent par leur structure moléculaire comprenant un squelette 2-phénylchromen-4-one, qui possède structurellement un groupe cétone en C4 et un groupe OH en position 3 du cycle. Ils sont omni présents dans les plantes (**Hichri, 2019**). Ils se concentrent dans les feuilles et les parties extérieures des plantes (**Herrmann, 1988**). Les plus connus étant la quercétine, la myricétine et le kaempférol (**Bravo, 1998**).

Les flavonols sont présents dans de nombreux fruits et légumes (**Aherne et O'Brien, 2002**), ils jouent un rôle significatif dans la croissance et le développement des plantes (**Daryanavard et al., 2023**). Ils sont connus pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé, telles que la prévention des troubles métaboliques, activité antibactérienne, activité anticancéreuse, activité antioxydante, activité anti-hypertensive, prévention des maladies cardiovasculaires, activité anti-diabétique, activité anti-obésité, activité anti-inflammatoire (**Barreca et al., 2021**), tandis que leur présence et leurs effets dans les aliments sont influencés par des facteurs tels que le type de plante, la saison, la lumière et le degré de maturité (**Aherne et O'Brien, 2002**).

2. Flavone

La plupart des flavones se trouvent sous forme de 7-oglycosides (**Crozier et al., 2009**), il existe de nombreuses options de substitution pour les flavones, telles que l'hydroxylation, la méthylation, la O - et C-glycosylation et l'alkylation (**Del Rio et al., 2013**). Récemment, la flavone a émergé comme une plateforme prometteuse pour la conception de nouveaux médicaments contre la dengue, une maladie considérée comme l'une des principales menaces pour la santé mondiale (**Patigo et al., 2022**).

3. Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols, contrairement à d'autres flavonoïdes, sont rarement présents dans les plantes sous forme de glycosides, ce qui en fait la sous-classe de flavonoïdes la plus complexe allant des simples monomères, la (+)-catéchine et son isomère l'(-)- épicatechine aux oligomères et polymères de proanthocyanidines, également appelés tanins condensés. Leur structure présente deux centres chiraux en C2 et C3 du flavan- 3-ol monomère (**Del Rio et al., 2013**), et Ils sont non planaires en raison de leur élément C3 saturé (**Crozier et al., 2009**).

4. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des métabolites secondaires importants aux multiples activités (**Sun et al., 2021**), ils font partie de la sous-classe des flavonoïdes des polyphénols (**Mehmood et al., 2021 ; Sun et al., 2021**). Ils sont largement présents dans les plantes, se trouvant dans leurs feuilles, fleurs et fruits, et sont responsable des couleurs violettes, rouges, bleues ou autres (**Jaakola, 2013**). Ce sont des pigments naturels hydrosolubles (**Sun et al., 2021**) qui existent sous forme de glycosides (**Bitasta et al., 2024**). Ils jouent un rôle important dans la tolérance au stress, notamment face à la sécheresse, à la lumière intense et à la privation de nutriments (**Sun et al., 2021**). En l'occurrence, offrent une diversité étendue de propriétés bénéfiques pour la santé (**Jaakola, 2013 ; Mehmood et al., 2021**).

En effet, des études ont montré que les anthocyanes présentent un potentiel significatif dans la lutte contre la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) (**Mehmood et al., 2021**). Il est intéressant de noter que l'accumulation d'anthocyanes dans les pétales attire efficacement les pollinisateurs, favorisant ainsi une pollinisation efficace (**Grotewold, 2006**). Les anthocyanes constitués d'une variété de types, parmi lesquels on trouve la delphinidine, la péonidine, la pétunidine, la pélargonidine et la malvidine (**Mehmood et al., 2021**).

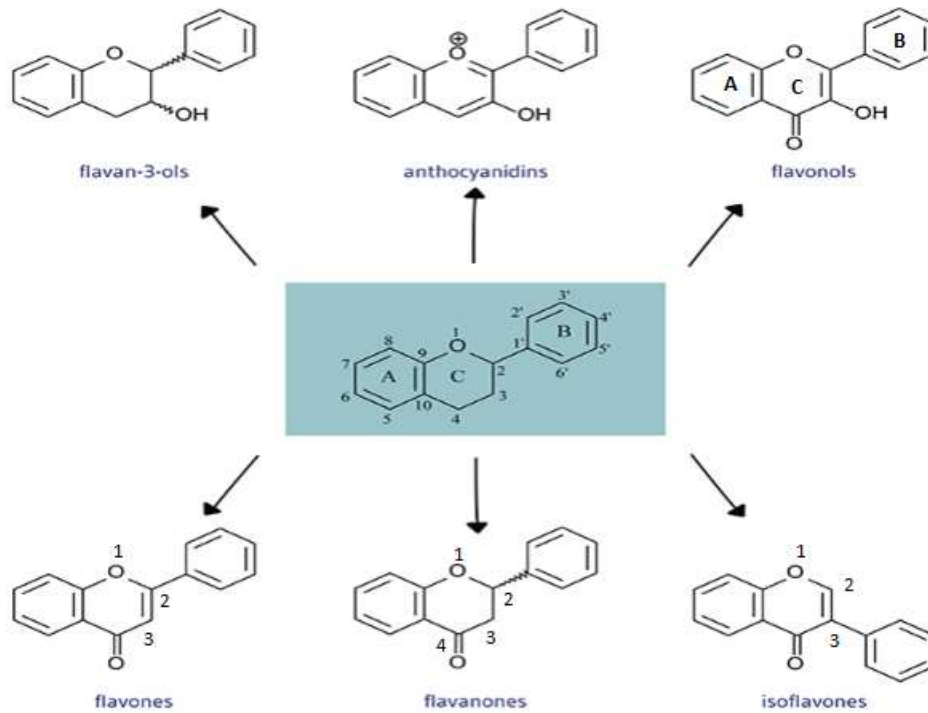


Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes (Del Rio *et al.*, 2013).

• Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques polaires d'origine végétale, de masse molaire comprise entre 500 et 3000 g/mol (Berthod *et al.*, 1999 ; LourdesReis Giada, 2013). Ils représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans des vacuoles (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008). Certains tanins présentent également des propriétés vitaminiques « P », l'ancien nom de la vitamine C2 (Derbel et Ghedira, 2005). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes (Figure 04) :

1. Les tanins condensés

Les tanins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Bruyne *et al.*, 1999 ; O'Connell et Fox, 2001). Cette classe de tanins est la plus présente dans le monde végétale (Zimmer et Cordesse, 1996).

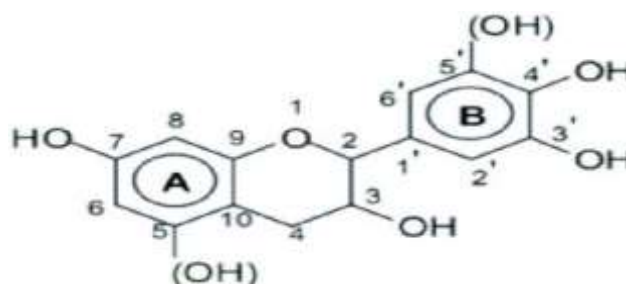
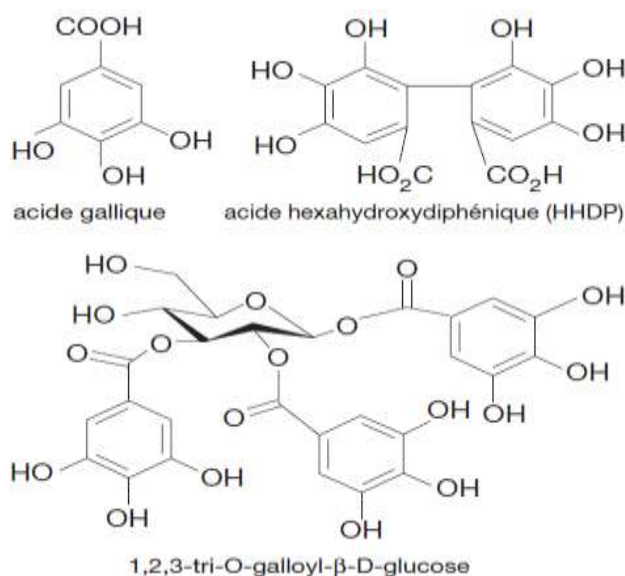


Figure 04: Structure d'un tanin condensé (**Derbel et Ghedira, 2005**).

2. Les tanins hydrolysables

Ce sont des esters d'acide gallique et des esters d'acide hexahydroxydiphénique. Par hydrolyse, les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique ou l'acide éllagique, à partir des tanins galliques et les tanins éllagiques respectivement (**Figure 05**) (**Zimmer et Cordesse, 1996**). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

**Figure 05 :** Structure de l'acide gallinique, de l'acide hexa-hydroxydiphénique et d'un tanin gallique (**Derbel et Ghedira, 2005**).

II.2. Saponines et sucres totaux

• Saponines

Les saponines sont des composés produits en tant que métabolites secondaires par diverses espèces végétales. Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon » en raison de leurs propriétés tensioactives. Ces propriétés leur permettent de former une mousse stable semblable à celle du savon lorsqu'elles sont agitées en solution aqueuse (**Barbosa, 2014**).

Les saponines sont des glycosides stéroïdiens ou triterpénoïdes courants dans de nombreuses plantes et produits végétaux essentiels pour l'alimentation humaine et animale (**Desai et al., 2009**). Elles possèdent une grande diversité structurale qui leur confère une

gamme de propriétés, notamment des propriétés biologiques, médicales et pharmacologiques telles que l'activité anti-hémolytique, antimicrobienne.

Elles sont également utilisées dans l'industrie pharmaceutique comme matière première pour la synthèse de médicaments stéroïdiens (**Barbosa, 2014**). De plus, les saponines présentent des propriétés pharmacologiques bénéfiques dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques comme l'asthme et la tuberculose (**Wu et al., 2012**). Elles sont connues pour leur activité analgésique, anti-nociceptive et antioxydants. De plus, elles peuvent altérer la digestion des protéines, provoquer une hypoglycémie et agir comme agents antifongiques et antiviraux (**Desai et al., 2009**).

- **Sucres totaux**

Les sucres totaux sont définis comme tous les sucres naturellement présents dans les parties de plantes (**Johnson et al., 2009**). Ils jouent un rôle crucial dans leurs vie, étant produits par la photosynthèse. Ils sont ensuite transportés vers les tissus profonds et stockés sous forme de composés de réserve tels que les lipides, le saccharose et l'amidon. La régulation de ce processus métabolique dépend de la concentration en sucres (**Loretti et al., 2001**). Certains sucres remplissent un rôle structural, tels que la cellulose et la chitine, tandis que d'autres ont une importance biologique en tant que signaux de reconnaissance, comme les glycanes présents dans les glycoprotéines et les glycolipides (**Well, 2001**).

III. Activités biologiques des extraits de la plante de *Lagunaria patersonia*

III.1. Activité antioxydants

Une alimentation déficiente en fruits et légumes, principale source d'antioxydants tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes et les polyphénols, entraîne une diminution de la capacité antioxydants. Bien que le stress oxydatif ne soit pas une maladie en soi, il crée un environnement propice au développement de diverses pathologies.

L'oxydation des lipides contribue à l'apparition des maladies cardiovasculaires, tandis que l'oxydation de l'ADN intervient dans plusieurs processus menant au développement du cancer. Ces antioxydants peuvent être synthétisés par le corps ou provenir de notre alimentation sous forme de fruits et légumes (**Haleng et al., 2007 ; Defraigne et Pincemail, 2008**).

III.1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules instables et toxiques agissant à la fois comme agents de défense et sources de dommages, en retirant des électrons d'autres molécules, les rendant instables et contribuant à des dommages cellulaires, néanmoins, ils sont essentiels pour combattre les éléments indésirables (**Sebbar *et al.*, 2023**).

Les radicaux libres peuvent être formés par oxydation ou par réduction (**Halliwell et Gutteridge, 2008 ; Dubois, 2015**). Cependant, une surproduction de radicaux libres peut causer des dommages tissulaires associés à diverses maladies, en effet, sans la présence de substances telles que des enzymes antioxydants dont la catalase ou le glutathion pour les neutraliser, ces radicaux libres exerceraient un effet très toxique sur les cellules (**Oueslati, 2017**).

- **Les radicaux libres endogènes**

Les radicaux libres endogènes peuvent émaner de diverses parties à l'intérieur des cellules. Même en situation d'hypoxie mitochondriale, la mitochondrie reste la principale source de ces radicaux (**Beaudeau *et al.*, 2006**). Le cytochrome P450 est une autre source potentielle de production de ces radicaux (**Goeptar *et al.*, 1995**).

Ces radicaux peuvent également être générés par diverses enzymes comme la xanthine oxydase, la NAD(P)H oxydase, les cyclooxygénases (COX-1 et COX-2), la NO synthase, les lipoxygénases (LPO) ou la myéloperoxydase (MPO) (**Beaudeau *et al.*, 2006**).

- **Les radicaux libres exogènes**

Les radicaux libres provenant de sources externes sont principalement générés par la consommation d'alcool, l'exposition à la fumée du tabac, les rayonnements tels que les rayons X ou Y, les solvants organiques, les pesticides, la pollution atmosphérique, l'exposition à des produits chimiques tels que les xénobiotiques (toxiques, médicaments), les carences nutritionnelles, l'amiante, les ultrasons, les micro-ondes et les métaux lourds (**Favier ; Morelle, 2003**).

Parmi les types les plus courants des espèces réactives de l'oxygène (ERO), il existe : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Sebbar *et al.*, 2023**).

III.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

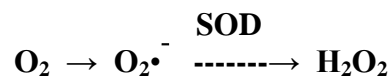
➤ **L'anion superoxyde ($O_2 \cdot^-$)**

L'oxygène (O_2), lorsqu'il est en contact avec des rayonnements, des métaux, des enzymes de type oxydase ou du complexe de la chaîne respiratoire, il capte un électron et former un radical superoxyde $O_2 \cdot^-$ (**Barouki, 2006**).

Il est synthétisé par les macrophages, les phagocytes polynucléaires selon les réactions suivantes : (**Morelle, 2003 ; WU *et al.*, 2009**).



Ce dernier est neutralisé en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) afin d'éviter la formation de dérivés plus toxiques comme la peroxyde nitrite ($ONOO^-$) ou le radical hydroxyle ($OH\cdot$) (**Afonso *et al.*, 2007**) selon les réactions suivantes :



Il joue un rôle très important dans les maladies rhumatismales en particulier et dans l'inflammation en général (**Henrotin *et al.*, 2005**). D'autres études ont mis en évidence le rôle thérapeutique de la SOD dans préservation du cartilage attaqué par l'ion super oxyde, grâce à l'introduction de l'enzyme SOD native d'origine bovine pathologique de l'ion superoxyde ($O_2 \cdot^-$) (**Goebel *et al.*, 1981**).

➤ **Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2**

Le H_2O_2 est l'une des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui peut se déplacer dans le cytoplasme et traverser les membranes. Il est synthétisé à partir de la transformation de l'anion superoxyde par la SOD (réaction de dismutation).



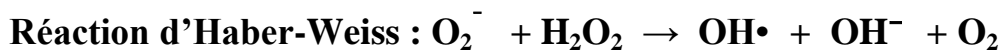
La SOD transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la glutathion peroxydase ou la catalase. C'est un produit plus stable, utilisé comme un agent oxydant très réactif (utiliser comme désinfectant et agent de blanchiment (**Afonso *et al.*, 2007; Lacolley, 2007**)).

➤ **Le radical hydroxyle $OH\cdot$**

Le radical hydroxyle est l'oxydant intracellulaire le plus puissant, il est extrêmement réactif et interagit de manière non sélective avec de nombreuses macromolécules biologiques,

telles que les sucres, les acides aminés, les phospholipides, les nucléotides et les acides organiques (Valentine et coll, 1998). Il peut réagir par échange d'électrons, addition sur les doubles liaisons ou arrachement d'un atome d'hydrogène (Lacolley, 2007).

Il est produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Haber-Weiss et la réaction de Fenton (Wink et al., 1994):



➤ Le monoxyde d'azote (NO)

C'est un composé naturel, stable et un radical libre. Il se forme par la réduction bactériologique des nitrates et nitrites dans le sol et l'eau, ainsi que par l'oxydation enzymatique de la L-arginine chez les animaux (Ducrocq et al., 2011). En effet, la NO synthase de type 2 (NOS2 ou iNOS) est une enzyme produite par les macrophages activés, qui génère de l'oxyde nitrique (NO) à partir de la L-arginine, aidant à contrôler ou à détruire les agents pathogènes intracellulaires (Bogdan et al., 2000).

Les effets du NO dans le système immunitaire sont multiples et variés. Il peut avoir des actions antivirales, antimicrobiennes, immunostimulantes, immunosuppressives, cytotoxiques et cytoprotectrices. La production de NO est essentielle au bon fonctionnement des lymphocytes NK et influence significativement la production de cytokines impliquées dans l'immunité innée. De plus, le NO peut avoir des effets anticancéreux, notamment en inhibant la progression des métastases et en favorisant la régression de certaines tumeurs (Bogdan, 2000).

Il existe d'autres types de ERO cités dans le tableau ci-dessus (Tableau I).

Tableau I : Principaux ERO (Crompton, 1999).

Nom	Symbole
Radical oxyde nitrique.	NO•
Radical alcoxyde.	RO•
Radical hydro peroxyde.	HOO•
Radical peroxyde.	ROO•
Peroxynitrite.	ONOO ⁻
Oxygène singulet.	¹ O ₂
Hypochlorite.	ClO ⁻

III.1.3. Stress oxydatif et ses conséquences

- **Définition**

Le stress oxydatif résulte de l'agression des cellules par des radicaux libres et son incidence augmente généralement avec l'âge. Il est crucial d'adopter une alimentation équilibrée et un mode de vie sain pour contrer ce phénomène. Dans certains cas, une supplémentation en antioxydants peut être conseillée, notamment en cas de carence ou de pratique sportive intense (Sebbar *et al.*, 2023).

La surproduction de radicaux libres entraîne des dommages directs aux molécules biologiques telles que l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides par oxydation. De plus, elle génère des métabolites cytotoxiques et mutagènes lors de l'oxydation des lipides, provoquant des lésions secondaires.

En réponse à ces composés anormaux, l'organisme peut produire des anticorps, qui, malheureusement, peuvent également être des auto-anticorps, entraînant ainsi une troisième vague de dommages biochimiques. En l'occurrence, le stress oxydatif peut accélérer le processus de vieillissement cellulaire, le cancer, les maladies cardiovasculaires ou les maladies neuro-dégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (Favier, 2003).

- **Ses conséquences biochimiques**

Peroxydation lipidique: Les acides gras polyinsaturés sont vulnérables à l'attaque des radicaux hydroxyles, qui arrachent un hydrogène des carbones entre deux doubles liaisons, formant ainsi des radicaux diènes conjugués. Ces radicaux sont ensuite oxydés en radicaux peroxydes, qui réagissent avec d'autres acides gras pour former de nouveaux radicaux diènes conjugués, appelés hydroperoxydes.

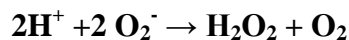
Ces derniers peuvent soit être neutralisés par la glutathion peroxydase, soit continuer à s'oxyder et se décomposer en aldéhydes, acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane), éliminés par les poumons. Les radicaux peroxydes peuvent libérer divers aldéhydes toxiques, tels que le malondialdéhyde (MDA). Cette réaction peut conduire à la formation de LDL oxydées, favorisant l'athérosclérose, et perturber la transduction des signaux cellulaires (Favier, 2003).

III.1.4. Types d'antioxydants

III.1.4.1. Antioxydants enzymatique

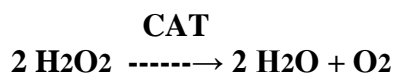
- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Ces métalloprotéines, agissant comme l'une des premières réponses face au stress oxydatif, contribuent à la neutralisation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en le convertissant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène par une réaction de dismutation. Il existe trois isoformes de la superoxyde dismutase (la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3) qui diffèrent par leurs localisation génomique, leur composition métallique, leur structure quaternaire, et leur localisation cellulaire (**Haleng et al., 2007**).



- **Catalase**

La catalase est une enzyme largement répandue chez les organismes eucaryotes et procaryotes (**Hertwig et al., 1992**), jouant un rôle essentiel dans la décomposition du peroxyde d'hydrogène (**Favier, 2006**). Son activité peut être affectée par des conditions telles que le stress thermique ou osmotique (**Hertwig et al., 1992**). Les catalases sont notamment présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques (**Favier, 2006**).



- **Glutathion peroxydase (GPx)**

Cette sélénoprotéine est composée de cinq isoformes, agit en réduisant les peroxydes en utilisant son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal est d'éliminer les peroxydes lipidiques générés par le stress oxydant agissant sur les acides gras polyinsaturés (**Haleng et al., 2007**).

Une autre forme de glutathion peroxydase, la phospholipide-hydro peroxyde glutathion peroxydase (PHGPx), est localisée dans la membrane mitochondriale et joue un rôle spécifique dans la réduction de la peroxydation lipidique (**Nomura et Imai, 2000**).

III.1.4.2. Antioxydants non enzymatique

- **Vitamine C**

La vitamine C ou l'acide ascorbique hydrosoluble (**Misset, 2019**), c'est un excellent piègeur des espèces réactives de l'oxygène (EOA) comme (radical hydroxyle HO[•] ou le superoxyde O₂^{•-}), elle agit en tant qu'antioxydants en inhibant la peroxydation lipidique et en régénérant la vitamine E à partir de sa forme radicalaire.

Ce dernier est formé de son interaction avec les radicaux lipidiques. En plus de ses propriétés antioxydants, la vitamine C joue un rôle essentiel dans le bon fonctionnement du système immunitaire, la production du collagène et des globules rouges, ainsi que dans les processus de métabolisation du fer (**Haleng et al., 2007**).

- **Vitamine E**

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, notamment l' α - et le γ -tocophérol. Leur nature hydrophobe leur permet de s'incorporer dans les membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils agissent comme des agents protecteurs en neutralisant les radicaux peroxydes (ROO⁻), formant ainsi un radical tocophéryle qui empêche la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al., 2007**). Plusieurs études suggèrent qu'elle joue un rôle préventif dans l'athérosclérose et réduit l'absorption des LDL oxydés (**Ricciarelli et al., 2000**).

- **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont généralement composés de deux unités tétraterpéniques liées par une liaison queue à queue. La plupart des caroténoïdes ont une ou deux structures cycliques (5 ou 6 chaînons) formées par la cyclisation des groupes à l'extrémité. Ils constituent un groupe de pigments végétaux présents dans de nombreux fruits et légumes (**Rao et Agarwal, 1999 ; Maiani et al., 2009**). Ils sont constitués d'une variété de types, parmi lesquels on trouve la Zéaxanthine, b-Cryptoxanthine, Échinénone, Lycopène et la b-carotène (**Somé et al., 2004**).

Il présentent un potentiel protecteur contre le développement de troubles cognitifs (**Feart et al., 2013**) ainsi que dans la réduction du risque de cancer (**Le Marchand et al., 1993**), des maladies cardiovasculaires (**Jha et al., 1995**) et du risque de développer une dépression (**Bardinet et al., 2023**).

- **Oligoéléments**

Les oligo-éléments, tels que le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc, sont des micronutriments essentiels agissant en tant que cofacteurs pour les enzymes antioxydants. En effet, leur rôle est crucial dans la protection de l'organisme contre les radicaux libres d'oxygène (**Leung, 1998 ; Haleng et al., 2007**).

III. 2. Activité anti-inflammatoire

III.2.1. Définition

L'inflammation représente une réaction naturelle de protection ou d'ajustement face à une agression, pouvant être causée par des microorganismes ou toute substance étrangère à l'organisme (**Pasquier, 1995**). Cette réponse se caractérise par divers symptômes locaux (rougeur, chaleur, enflure, douleur) et généraux (fièvre, fatigue, perte d'appétit, douleurs musculaires, léthargie...), et parfois même des complications potentiellement graves (comme l'occlusion ou la rupture d'une artère lors d'une vascularite (**Muster, 2005**)).

Le processus inflammatoire se compose de quatre phases distinctes : la détection des signaux de danger, le recrutement des cellules sur le site infecté, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation menant à la cicatrisation du tissu lésé (**Barton, 2008**).

Les médiateurs chimiques spécifiques diffèrent en fonction du type de processus inflammatoire et englobent des composés tels que la sérotonine, l'histamine, les prostaglandines et les kinines (**Vijayalakshmi, 2011**).

III.2.2. Types de l'inflammation

- **Inflammation aiguë**

Il s'agit d'une réaction immédiate à une agression, de courte durée (quelques jours ou semaines), qui survient souvent de manière brutale et se caractérise par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles en cas de destruction tissulaire importante (**Rousselet et al., 2005**).

- **Inflammation chronique**

Les inflammations chroniques sont caractérisées par une absence de guérison spontanée et une évolution persistante ou progressive sur plusieurs mois ou années. Elles peuvent survenir dans deux contextes principaux : d'abord, les inflammations aiguës peuvent évoluer vers des formes prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus ou lorsque des récurrences d'inflammation aiguë se produisent de manière répétée. Certaines inflammations peuvent se présenter d'emblée sous une forme apparemment chronique, où la phase aiguë vasculo-exsudative peut passer inaperçue en raison de sa brièveté ou de son caractère asymptomatique. C'est souvent le cas dans les maladies auto-

immunes, comme dans le cas de l'hépatite chronique active secondaire à une infection par le virus de l'hépatite B ou C (**Rousselet *et al.*, 2005**).

III.2.3. Inflammation et dénaturation protéique

L'inflammation peut induire une augmentation de la production de radicaux libres (**Morel, 1999**), entraînant ainsi une attaque des macromolécules cellulaires. Cette attaque peut conduire à la peroxydation des lipides, à l'oxydation de l'ADN et des protéines et divers dysfonctionnements cellulaires, notamment une hyperprolifération, une apoptose cellulaire, des dépôts lipidiques et des mutations, susceptibles de contribuer au développement de maladies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires ou les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (**Favier, 2003**).

III.2.4. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires, de par leur diversité chimique, agissent de manière symptomatique sur la réponse tissulaire non spécifique à une agression, et leur objectif est de prévenir la transition de l'inflammation aiguë vers une phase chronique (**Muster, 2005**).

- **Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) restent parmi les médicaments les plus couramment utilisés à l'échelle mondiale, que ce soit par prescription médicale ou en automédication. Leur popularité découle de leurs effets anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques (**Jouzeau *et al.*, 2004**). Ces médicaments, englobent diverses classes chimiques qui ne présentent pas de structure stéroïdienne (**Muster, 2005**).

Le risque principal associé à leur utilisation est les saignements gastro-intestinaux, mais ils peuvent également affecter la fonction rénale (**Lelong *et al.*, 2012**).

Leur principale caractéristique est leur capacité à inhiber les deux isoformes de la cyclo-oxygénase (COX1 et COX-2), réduisant ainsi la production de prostaglandines E2 et de thromboxane A2 à partir de l'acide arachidonique (**Fournier, 2008 ; Risser *et al.*, 2009**).

- **Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

Ces stéroïdes, analogues ou précurseurs de la cortisone produite naturellement par les glandes surrénales, possèdent diverses propriétés pharmacologiques, dont beaucoup peuvent

entraîner des effets indésirables tels que le diabète. Ils agissent en régulant les réponses inflammatoires et modulant divers processus métaboliques en influençant l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien et une corticothérapie à court terme peut parfois être appropriée (Muster, 2005 ; Philippe, 2008).

- **Anti-inflammatoires d'origine végétale**

Le règne végétal regorge d'une grande variété de composés phytochimiques, chacun avec un large spectre d'activités. Parmi eux, certains possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup agissent en bloquant les voies de la cyclooxygénase et de la lipooxygénase, ainsi que par d'autres mécanismes. D'autres enzymes ciblées incluent la phospholipase A2 et le monoxyde d'azote (NO)...ect (Barnes, 1998 ; Yattoo, 2018).

III.2.5. Méthodes d'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro

Les essais in vitro sont généralement réalisés sur les molécules ou les cellules impliquées dans les processus inflammatoires. Parmi ces tests, on peut mentionner celui de la dénaturation des protéines, de la stabilité membranaire, et de l'inhibition des enzymes et molécules pro-inflammatoires... (Seeman, 1967 ; Charlier et Michaux, 2003).

Le monoxyde d'azote (NO) est un composé naturel, stable et radical libre. Il se forme par l'oxydation enzymatique de la L-arginine chez les animaux (Ducrocq *et al.*, 2011).

III.3. Activité antibactérienne

III.3.1. Les Bactéries

- **Définition**

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Elles mesurent généralement entre 0,5 et 10 micromètres de longueur et peuvent avoir des formes variées : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), et plus ou moins spiralées (spirilles). Le poids d'une bactérie est d'environ 10^{-12} g, et elle contient 70 % d'eau par rapport à son poids sec (Hart et Shears, 2006).

Les bactéries sont présentes partout dans la nature. Chez l'homme, on estime qu'environ 10^{12} bactéries colonisent la peau, 10^{10} la bouche et 10^{13} l'intestin. La plupart de ces bactéries sont inoffensives ou même bénéfiques pour notre organisme. Cependant, certaines espèces bactériennes sont pathogènes et responsables de maladies infectieuses telles que le choléra et la tuberculose (Chevalier *et al.*, 2008 ; Carlet *et al.*, 2012).

- **Structure et composition de la cellule bactérienne**

Dans la cellule bactérienne, on peut identifier des éléments constants, présents chez toutes les espèces bactériennes, ainsi que d'autres éléments facultatifs qui ne se trouvent que dans certaines espèces (**Chevalier et al., 2008 ; Carlet et al., 2012**).

Membrane cytoplasmique

Elle se compose d'une membrane trilamellaire formée d'une double couche de phospholipides, dont les pôles hydrophobes sont face à face. Cette membrane est associée à des protéines, telles que les perméases, qui jouent un rôle essentiel dans les échanges de substances. D'autres protéines interviennent dans la synthèse du peptidoglycane et servent de liaisons aux pénicillines. De plus, certaines protéines sont impliquées dans la respiration cellulaire ou la production d'énergie (ATPase). Contrairement aux eucaryotes, la membrane cytoplasmique des bactéries ne contient pas de stérols (**Carlet et al., 2012**).

Paroi

La paroi bactérienne est une enveloppe rigide qui assure l'intégrité de la bactérie et lui confère sa forme caractéristique. Elle protège la bactérie contre des conditions contraignantes telles que les variations de pression osmotique (5 à 20 atmosphères) et la température. Cependant, ce composé essentiel est absent chez les Mollicutes (*Mycoplasma*) (**Cabeen et Jacobs, 2005**). En excluant les bactéries halophiles et thermophiles, qui sont souvent des archéobactéries, le peptidoglycane (ou muréine) est un élément commun à toutes les parois bactériennes. Il constitue l'enveloppe la plus interne (**Rodrigues et al., 2017**).

- **Bactéries à Gram positif**

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (Gram positif) (**Huda, 2013**) est un agent pathogène virulent fréquemment identifié comme une cause des infections du site opératoire (**Matza et al., 2019**) pouvant entraîner des infections cutanées superficielles, des infections des tissus plus profonds et même la septicémie.

Il peut également causer des maladies gastro-intestinales. Cependant, la présence de souches résistantes aux antibiotiques diminue l'efficacité des traitements (**Kane et al., 2018**). Le *S. aureus* résistant à la méthicilline. En outre, *S. aureus* peut également être trouvé chez les chiens et les chats (**Weese et van, 2010**).

Bacillus subtilis

Bacillus subtilis, une rhizobactérie (Sonenshein *et al.*, 2001) étudiée depuis longtemps, joue un rôle de premier plan dans la recherche sur les bactéries Gram-positives (Moszer *et al.*, 2002). Sa capacité à intégrer l'ADN extracellulaire en fait un outil précieux pour les manipulations génétiques. Elle est également connue pour son processus de sporulation.

Les spores en état de dormance ont la capacité de résister à des conditions extrêmes. Elles peuvent également échapper à la prédation par d'autres micro-organismes et par des macro-organismes (Kovács, 2019). Également, cette bactérie contribue significativement à renforcer la réponse immunitaire face aux troubles gastro-intestinaux et hépatiques, tout en ayant un effet régulateur sur la flore intestinale (Lin *et al.*, 2021).

- **Bactéries à Gram négatif**

Escherichia coli

Le genre *Escherichia*, nommé en l'honneur du pédiatre allemand Theodore Escherich, comprend des bacilles à Gram négatif facultatifs et anaérobies, faisant partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (Edwards et Ewing, 1986). Parmi les micro-organismes les plus étudiés, il peut déclencher des diarrhées, toutefois, il est responsable des infections sanguines et des infections des voies urinaires (Sannes *et al.*, 2004 ; Gomeset *et al.*, 2016).

La résistance aux antibiotiques menace l'efficacité du traitement des infections à *E. coli*. En effet, on observe une augmentation de la prévalence de ses souches multirésistantes à l'échelle mondiale, principalement due à la diffusion d'éléments génétiques mobiles comme les plasmides (Allocati *et al.*, 2013).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa est un type de bacille à Gram négatif qui a une capacité de s'adapter à différents milieux et d'utiliser une variété de composés pour survivre. Capable d'infecter pratiquement tous les types de tissus, dans les brûlures, les infections pulmonaires et les infections oculaires (Williams et Worsey, 1976).

Ce pouvoir est attribué à une gamme variée de facteurs de virulence. Parmi ces facteurs figurent les pili, les flagelles, les lipopolysaccharides, les protéases, le quorum sensing, l'exotoxine A, ainsi que les exoenzymes sécrétées par le système de sécrétion de type III (Lyczak *et al.*, 2000).

III.3.2. Les Antibiotiques

III.3.2.1. Définition

Un antibiotique est un composé chimique créé par des micro-organismes qui peut arrêter la croissance ou d'éliminer les bactéries et d'autres micro-organismes (**Bentley et Bennett, 2003**). L'usage des antibiotiques a marqué un tournant dans le traitement des maladies, réduisant ainsi les taux de mortalité et de maladies à l'échelle globale (**Goossens et al., 2005**).

III.3.2.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon divers critères :

- **Origine** : Ils peuvent être naturels, produits par des organismes vivants ou synthétisés artificiellement grâce à la chimie.
- **Composition chimique** : Ils peuvent être des composés dérivés d'acides aminés, de structures hétérosidiques, ou de molécules polycycliques.
- **Type d'activité** : Leur action peut être dirigée contre les bactéries, les champignons, ou les cellules en division.
- **Mode d'action** : Ils peuvent agir en fonction de l'antibiotique spécifique.
- **Modalité d'action** : Ils sont qualifiés de bactériostatiques s'ils inhibent simplement la croissance des bactéries, ou de bactéricides s'ils entraînent la mort des bactéries (**Senhadji, 2019**).

III.3.2.3. Résistances aux antibiotiques

- **Les résistances naturelles**

La résistance naturelle se produit quand toutes les souches d'une espèce bactérienne sont insensibles à un antibiotique donné. Cela est dû à des traits héréditaires communs à toute l'espèce, qui rendent certains antibiotiques inefficaces. La structure unique de leur paroi cellulaire, qui bloque l'accès des antibiotiques à leurs cibles, ou l'absence de la cible elle-même, sont des exemples de facteurs qui contribuent à cette résistance innée (**Normak et Normak, 2002**).

- **Les résistances acquises**

La résistance acquise aux antibiotiques se produit quand certaines bactéries d'une espèce, initialement sensibles, deviennent résistantes par mutations ou échanges génétiques. Les antibiotiques, bien qu'ils ne soient pas mutagènes, favorisent la sélection de mutants

résistants en éliminant les bactéries sensibles, ce qui facilite leur multiplication. En l'occurrence, l'usage massif d'antibiotiques en médecine humaine est le principal facteur de l'augmentation de cette résistance (Goossens *et al.*, 2006).

III.3.2.4. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques fonctionnent de deux manières principales : certains, comme les tétracyclines, phénicolés et macrolides, sont bactériostatiques et bloquent la croissance des microbes, tandis que d'autres, tels que les bêta-lactamines, aminosides et polypeptides, sont bactéricides et tuent les germes. Chaque antibiotique a un mécanisme d'action unique (Garnier, 1992 ; Khiati, 1998).

III.3.2.5. Antibiogramme et méthode des disques

- **Antibiogramme**

Un antibiogramme est un test qui évalue si une bactérie responsable d'une infection est sensible ou résistante à différents antibiotiques (Jehl *et al.*, 2015).

- **Méthode des disques**

La méthode des disques pour l'antibiogramme consiste à déposer des disques d'antibiotiques sur une gélose où l'on a cultivé des bactéries (Figure 06). L'antibiotique se diffuse dans la gélose, créant une zone sans croissance bactérienne (Pariente Ichou, 2011). On mesure le diamètre de cette zone pour chaque bactérie avec un antibiotique spécifique et on le compare à des valeurs seuils pour déterminer la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique (Marcel, 2005).

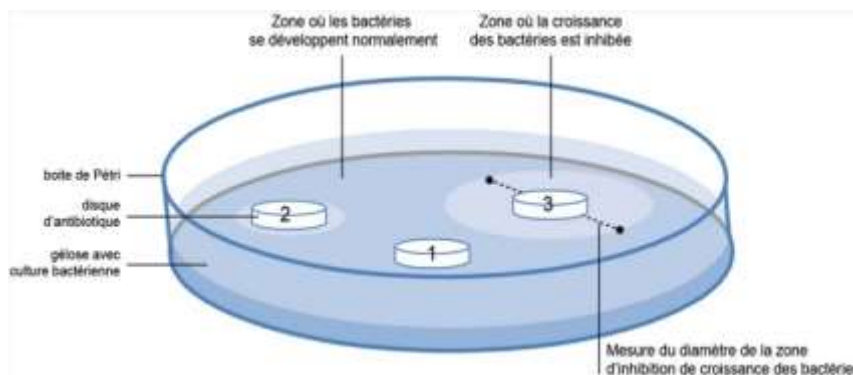


Figure 06 : Méthode des disques (Raynaud J., 2006).

IV. Plans d'expériences

Les plans d'expériences organisent les essais de recherche pour maximiser les informations avec le moins de simulations possible, en suivant des règles mathématiques strictes. Leur compréhension repose sur deux notions clés : l'espace expérimental et la modélisation mathématique des variables étudiées (**Goupy, 2006**).

Pour être utilisable, un plan d'expérience doit remplir la condition d'orthogonalité, essentielle pour calculer l'effet d'un facteur (**Gillon, 1997**). De nombreux plans d'expériences sont disponibles pour répondre à toutes les situations rencontrées par un expérimentateur (**Goupy, 2006**) :

- Plans factoriels complets à deux niveaux.
- Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux.
- Autres plans à deux niveaux (plans de Koshal, plans de Rechtschaffner, plans de Plackett et Burman, tables de Taguchi, plans sursaturés).
- Plans à plusieurs niveaux (plans complets à trois niveaux, plans à niveaux mixtes, carrés gréco-latins, carrés latins, carrés de Youden).
- Plans pour surfaces de réponse (plans composites, plans de Box-Behnken, plans de Doehlert, plans de Mozzo, plans hybrides).

IV.1. Principaux avantages des plans d'expériences

La méthode des plans d'expériences offre une interprétation claire et directe en fournissant un modèle expérimental précis du système étudié (**Gillon, 1997**). Ses principaux avantages comprennent:

- Réduction du nombre d'essais requis.
- Détection des interactions entre les facteurs.
- Obtention de résultats précis de manière optimale.
- Modélisation des réponses analysées.
- Exploration de nombreux facteurs potentiels.

IV.2. Plans de surface de réponse

La méthodologie de surface de réponse est une approche utilisée dans les plans d'expériences pour l'optimisation des méthodes de recherche. Elle repose sur une modélisation empirique qui évalue comment un ensemble de facteurs expérimentaux contrôlés est lié aux résultats observés (**Annadurai et Sheeja, 1998**).

Il y a trois types principaux de plans de surface de réponse largement utilisés : les plans de Box-Behnken, les plans de Doehlert et les plans composites centrés.

IV.2.1. Plans de Box-Behnken

En 1960, Box et Behnken ont introduit ces plans qui permettent de construire des modèles du second ordre en utilisant des variables ajustées à trois niveaux (-1, 0 et +1) (**Chagnon, 2005**).

Ce modèle est essentiel pour analyser les interactions entre les différents facteurs et déterminer leurs concentrations optimales. Les plans de Box-Behnken offrent une alternative aux plans composites en utilisant seulement 3 niveaux pour chaque facteur, ce qui permet de modéliser une surface de réponse du deuxième degré (**Benoist et al., 1994**).

CHAPITRE 2 :
Matériel et méthodes

I. Matériels

I.1. Matériels végétale

Feuilles et graines de *Lagunaria Patersonia*.

I.2. Matériels de laboratoire

- **Réactifs**

Eau distillée, ABTS, quercétine, acide gallique, hexane, éthanol, réactif de Folin Ciocalteu, carbonate sodium (Na_2CO_3), chlorure d'aluminium (ALCL_3), vaniline, acide chlorhydrique, chlorures ferriques (FeCl_3), acide sulfurique, phenol, réactif de Griess, sodium nitroprusside.

- **Appareillages**

Centrifugeuse (Sigma 1-6), PH-mètre (Hanna PH 211), spectrophotomètre UV-visible (UV-9200), broyeur électrique (BRANDMANN5 (B20-2005AR1)), tamiseuse (Retsch), balance de précision (balance de précision), vortex (VELP Z×3), bain Marie, étuve (Binder), appareil de séchage (Fohere dehydrator GGJ-320A AC 220-240V/50/Hz/240W), appareil photo (Oppo A12), auto clave, four Paster, hotte (HSBP-180).

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait éthanolique de feuilles et de graines

- **Récolte**

Les feuilles et les graines ont été récoltées au niveau de l'université de Bejaïa (Targa Ouzemour) au mois du Janvier 2024.

- **Séchage**

Après la récolte, les feuilles et les fruits de *Lagunaria Patersonia* ont été séché à l'obscurité dans une étuve ventilée à 35°C afin de protéger leurs composés phénoliques contre l'humidité et la lumière. Après le séchage des gousses, leurs fruits ont été récupérés (**Figure 07**).



Figure 07 : Séchage de feuilles et fruits de *Lagunaria Patersonia* (Photographies originales).

- **Broyage**

Les feuilles et les graines ont été broyées avec un broyeur électrique chaque 10 secondes pour prévenir toute élévation de la température lors du broyage (**Figure 08**).



Figure 08 : Broyage de feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia* (Photographies originales).

- **Tamisage**

Les feuilles ont été tamisées jusqu'à obtention d'une poudre de 125 μm et moins (**Figure 09**). Par contre, la poudre des graines a été soumise à une délipidation en utilisant de l'hexane la poudre des graines suspendue dans l'hexane a été laissée à sécher dans une hotte appropriée jusqu'à obtention d'une huile de couleur jaune (**Figure 10**).



Figure 09 : Tamisage de la poudre.

Figure 10: Délipidation de la poudre de graines.

- **Conservation**

L'huile et les poudres obtenues ont été conservées à 4°C.

II.2. Optimisation

Pour déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques contenus dans les graines et les feuilles de *Lagunaria Patersonia*, différentes études ont été réalisées par l'utilisation de la décoction comme méthode d'extraction.

Décoction

Il s'agit de mélanger des masses spécifiques de poudre dans un volume d'éthanol à diverses concentrations d'éthanol/eau (de 20 à 80%) à différentes température (30 à 50°C). Ensuite, le mélange a été agité pendant des durées variables (10 minutes allant à 40 minutes), suivi d'une centrifugation pendant 5 minutes à 1000 rpm.

Ces paramètres ont été sélectionnés pour obtenir une activité ABTS et un taux de polyphénols optimaux grâce à l'utilisation du logiciel JMP Pro14.

II.3. Extraction

Après diverses tentatives visant à améliorer le processus d'extraction menée au sein du laboratoire de BPC4, l'étape finale optimale de décoction a été identifié par le logiciel JMP14. Par la suite, l'évaporation du solvant, a été réalisée grâce au processus d'évaporation d'eau à l'aide d'un déshydrateur, ce qui a permis d'obtenir l'extrait éthanolique de *Lagunaria Patersonia* (**Figure 11**). Pour conserver ses principes actifs, on stocke cet extrait dans des boîtes de pétri en verre à une température de moins de 20°C.

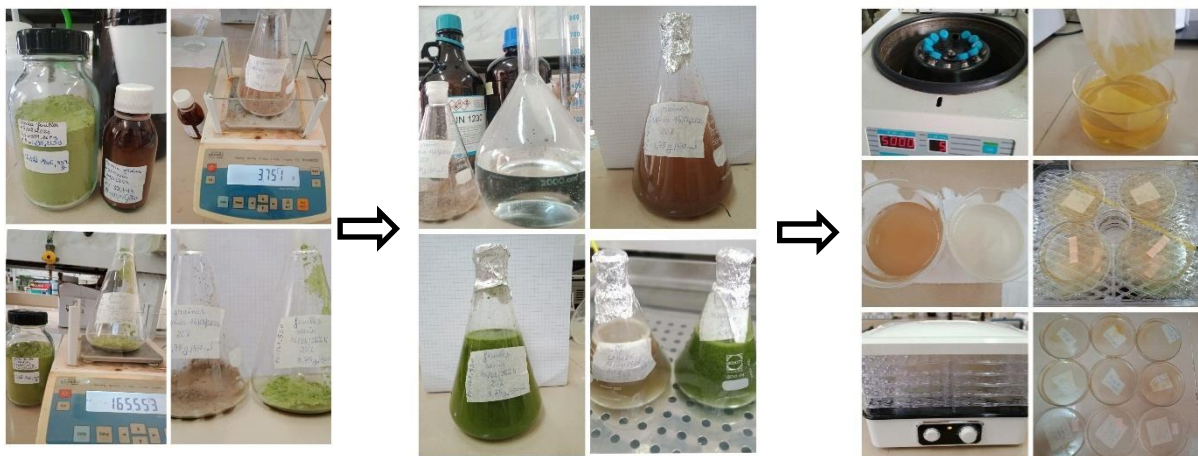


Figure 11 : Procédure d'extraction à partir des feuilles et graines de *Lagunaria Patersonia*.

- **Détermination du rendement d'extraction**

Le rendement des extraits éthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la poudre utilisée (**Owen et Johns, 1999**).

Il a été exprimé en pourcentage selon la formule suivante:

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P_s}{P_p} \times 100$$

Où :

Ps: Poids de l'extrait sec en gramme (g).

Pp : Poids de la poudre en gramme (g).

II.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique des graines du *Lagunaria patersonia* (EEGLP) et de l'extrait éthanolique des feuilles du *Lagunaria patersonia* (EEFLP), a été déterminé par spectroscopie par la méthode de Folin Ciocalteu décrite par **Ribéreau-Gayon (1970)**, un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune (**Moutounet, 1981**).

Le principe de ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait polyphénolique, donnant un complexe de couleur bleu composé de l'oxyde de tungstène et de molybdène (**Ali-Rachedi, 2018**).

Selon la méthode décrite par **Singleton et Ross en 1965**, le dosage des polyphénols a été réalisé avec quelques modifications, comme suite :

Des volumes de l'EEGLP et de l'EEFLP ont été mélangés avec 750 µl Folin Ciocalteu (1/10). Après 5 minutes à l'obscurité, 675 µl de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5%) a été additionné. Après 2 heures d'incubation, la lecture a été effectuée à 765 nm. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E).

II.5. Dosage des flavonoïdes

Le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes dans l'EEGLP et de l'EEFLP (**Bahorun et al., 1994**). Lorsque les flavonoïdes réagissent avec l'AlCl₃, le mélange acquiert une couleur jaune intense ou jaune orangé. Le taux de ce dernier a été exprimé en milligramme d'équivalents Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/gE).

Le protocole expérimental a été réalisé comme suit :

Des volumes de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 1200 µl de chlorure d'aluminium (ALCL₃) (1/10). Le mélange a été incubé 15 minutes à température ambiante et à l'obscurité. Une lecture au spectrophotomètre a été effectuée à 430 nm.

II.6. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés dans l'EEGLP et de l'EEFLP a été déterminé par la méthode de **Hagerman et Butler (1978)**. Le principe de cette méthode est basé sur la formation d'un complexe de couleur rouge, mesurée par spectrophotométrie, entre la vanilline et les molécules des tanins en présence de l'acide chlorhydrique.

Le protocole expérimental a été réalisé selon les étapes suivantes :

Un volume de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 1500 μ l de vaniline dissoute dans le méthanol et 750 μ l d'acide chlorhydrique (HCl). Après incubation, la lecture a été effectuée à 550 nm. Le taux de tanins a été exprimé en milligramme d'équivalent Catéchine par gramme d'extrait (mg EC/gE).

II.7. Dosage des tanins hydrolysables

La quantification des tanins hydrolysable de l'EEGLP et de l'EEFLP a été réalisée en utilisant la méthode de chlorure ferrique rapportée par **Mole et Waterman, (1986)**. Le principe de cette méthode est basé sur la formation d'un complexe d'une couleur bleue mesurée par spectrophotométrie grâce à la formation d'un complexe entre les molécules des tanins hydrolysables réagissant avec le chlorure ferrique (**Mamadou, 2002**).

Un volume de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 1750 μ l de chlorures ferriques (FeCl_3). Après incubation, une lecture été effectuée à 660 nm. Le taux des tanins hydrolysables a été exprimé en milligramme d'équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/gE).

II.8. Dosage des saponines

Le dosage des saponines de l'EEGLP et l'EEFLP a été effectué selon la méthode de (**Shiau et al., 2009**). Le protocole suivi pour faire le dosage des saponines a été réalisé comme suit :

Un volume de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 125 μ l vaniline et 1025 ml acide sulfurique. La lecture a été effectuée à 544 nm. Le taux des saponines a été exprimé en milligramme d'équivalent diosgénine par gramme d'extrait (mg ED/g E).

II.9. Dosage des sucres totaux

La quantification des sucres totaux de l'EEGLP et de l'EEFLP a été réalisée en utilisant la méthode de phénol / acide sulfurique introduite par (**Dubois et al., 1956**). Le principe de cette méthode est basé sur la formation des chromophores de couleur jaune-orange mesurée par le spectrophotomètre (**Mamadou, 2002**).

Un volume de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 150 µl acide sulfurique à 95 % et bien l'agiter. Puis, 30 µl phénol ont été additionnés, après incubation à 90°C avec bouchons fermés, la lecture a été effectuée à 585 nm.

Le taux des sucres totaux a été exprimé en milligramme d'équivalent D- glucose par gramme d'extrait (mg EDG/g E).

II.10. Evaluation de l'activité antioxydants « Test ABTS »

Pour évaluer l'activité scavenger du radical ABTS⁺, la solution ABTS⁺ a été préparée suivant le protocole décrit par (**Re et al., 1999**). Ce test repose sur la capacité d'un antioxydants à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ de couleur bleu-vert en le convertissant en ABTS incolore par capture d'un proton. La diminution de l'absorbance due à l'antioxydant reflète sa capacité à piéger le radical libre.

Un volume de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 2ml de solution d'ABTS. Après 60 min d'incubation, la lecture a été effectuée à 734 nm contre un blanc sans extrait.

Le pourcentage de l'activité scavenging du radical ABTS est déterminé selon la formule suivante:

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

A_c : absorbance du contrôle.

A_e : absorbance de l'échantillon.

Afin de déterminer la valeur IC50, une droite d'étalonnage a été réalisées avec plusieurs pourcentages d'inhibition d'ABTS.

II.11. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Dosage d'oxyde nitrique NO

Pour évaluer l'activité anti inflammatoire par le dosage du NO, le protocole développée par (**Sousa et al., 2008**) a été suivi. Le principe de cette méthode est basé sur le fait que, le nitroprussiate de sodium en solution aqueuse à pH physiologique génère spontanément le NO, qui interagit avec l'oxygène pour produire des ions nitrites qui peuvent être estimés en utilisant le réactif de Griess (**Ebrahimzadeh et al., 2010**).

Un volume de l'EEGLP et de l'EEFLP a été mélangé avec 500 µl du sodium nitroprusside. Le mélange a été incubé à la lumière pendant 150 min (25°C), puis, 1000 µl réactif de Griess a été additionné. Une lecture au spectrophotomètre a été effectuée à 562 nm contre un blanc sans extrait.

Le pourcentage d'inhibition du radical NO a été calculé selon la formule suivante :

Où

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_c - A_e) / A_c] * 100$$

Ac : l'absorbance de contrôle.

Ae : l'absorbance de l'échantillon.

Afin de déterminer la valeur IC50, une droite d'étalonnage a été réalisée avec plusieurs pourcentages d'inhibition.

II.12. Evaluation de l'activité antibactérien (Antibiogramme)

Afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits de plante de *Lagunaria patersonia* et l'huile des graines, 4 souches bactériennes ont été utilisées (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*). Ces souches ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Université de Bejaia.

La méthode utilisée a été adaptée à étudier l'action d'un extrait donné sur la croissance bactérienne. Après l'incubation de 24 h, la lecture a été réalisée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse (**Rota et al., 2008**).

II.12.1. Les extraits utilisés

- L'huile des graines.
- Extrait des feuilles et graines à différent concentration (100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml et 10 mg/ml).

II.12.2. Les contrôles utilisés

- L'eau distillée comme témoin négatif.
- Antibiotique de référence comme témoins positifs.

II.12.3. Préparation des milieux de culture

Pour préparer la gélose de Muller Hinton, 38 g de poudre a été dissoute dans un litre d'eau distillée, puis elle a été mise sur un agitateur magnétique chauffant pendant 1 heure jusqu'à dissolution complète. Le ph a été fixé à 7,3, par la suite la gélose a été transvasée dans des flacons, ensuite stérilisés dans l'autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Après refroidissement à 47°C, la gélose a été coulée (20 ml) dans des boites de pétri stériles devant le bec Bunsen, après gélification, elles ont été mise au réfrigérateur (**Rota et al., 2008**). (Figure 13)

II.12.4. Préparation des disques :

La préparation des disques de papier Whatman N°2 découpés à un diamètre de 6 mm et stérilisés à 180°C pendant 30 minutes par le four Paster (**Bonnet et al., 2013**) (Figure 13).

II.12.5. Préparation des suspensions bactériennes

Pour chaque type d'espèces bactériennes concernées, une colonie a été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml d'eau physiologique, puis mélangée avec un vortex et son absorbance a été mesurée à 625nm, faire des dilutions à 10^6 ($10^8 \rightarrow 10^7 \rightarrow 10^6$) avec une absorbance qui doit être entre (0,08 – 0,1) (CA-SFM, 2003).

II.12.6. Ensemencement par écouvillonnage

Les ensemencements au niveau des boîtes de pétri stériles ont été réalisés par étalage à l'aide d'un écouvillon de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries (Rota *et al.*, 2008).

II.12.7. Application des disques

Les disques stérilisés ont été déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile devant le bec Bunsen. Pour chaque boîte de bactérie, 04 disques ont été déposés pour les 04 différentes concentrations d'EEGLP et l'EEFLP, 01 disque pour le témoin positif et un autre pour le témoin négatif (Bonnet *et al.*, 2013). En fin d'expérience, on devrait avoir un double pour chaque boîtes de pétrie (Figure 12).

II.12.8. Dépôt des extraits éthanoliques et de l'huile

A l'aide d'une micropipette, 10 μ l d'EELP ont été déposés sur chaque disque, et 10 μ l de contrôle positif et négatif. Après 2 heures au réfrigérateur à 4° C, ils ont été incubés dans l'étuve à 37°C. Dans cette étude, la méthode des spots pour l'huile des graines et les EELP a également été utilisée (Figure 12).

II.12.9. Lecture

Après 24 h d'incubation à 37° C la lecture a été réalisée. Dans le cas où y aura une activité bactérienne, les zones d'inhibitions seront mesurées à l'aide d'un pied de coulisse ou règle en (mm) (Mehani et Segni, 2014).

Les diamètres de la zone d'inhibition peuvent être considérés comme:

- Non sensible ou résistante si le diamètre <8mm.
- Sensible si le diamètre est entre 9 à 14mm.
- Très sensible si le diamètre est entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible si le diamètre est supérieur à 20mm.



Figure 12 : Préparation de milieu de culture, disque et dépôt d'extrait de plantes.

III. Etude statistique

Afin de mener une étude statistique d'optimisation robuste pour notre étude, nous avons utilisé les outils de conception d'expériences (DOE) dans JMP Pro 14 pour planifier un ensemble d'essais qui couvrent de manière efficace l'espace des facteurs en utilisant des fonctionnalités d'analyse de JMP Pro 14 pour explorer les relations entre les variables d'entrée et les résultats. Cela inclut des analyses de variance (ANOVA), des graphiques de dispersion, des analyses de régression et d'autres outils statistiques pour identifier les facteurs qui ont le plus d'impact pour la partie optimisation de l'extraction des polyphénols. p -value < 0,001.

Chapitre 3:
Résultats et discussion

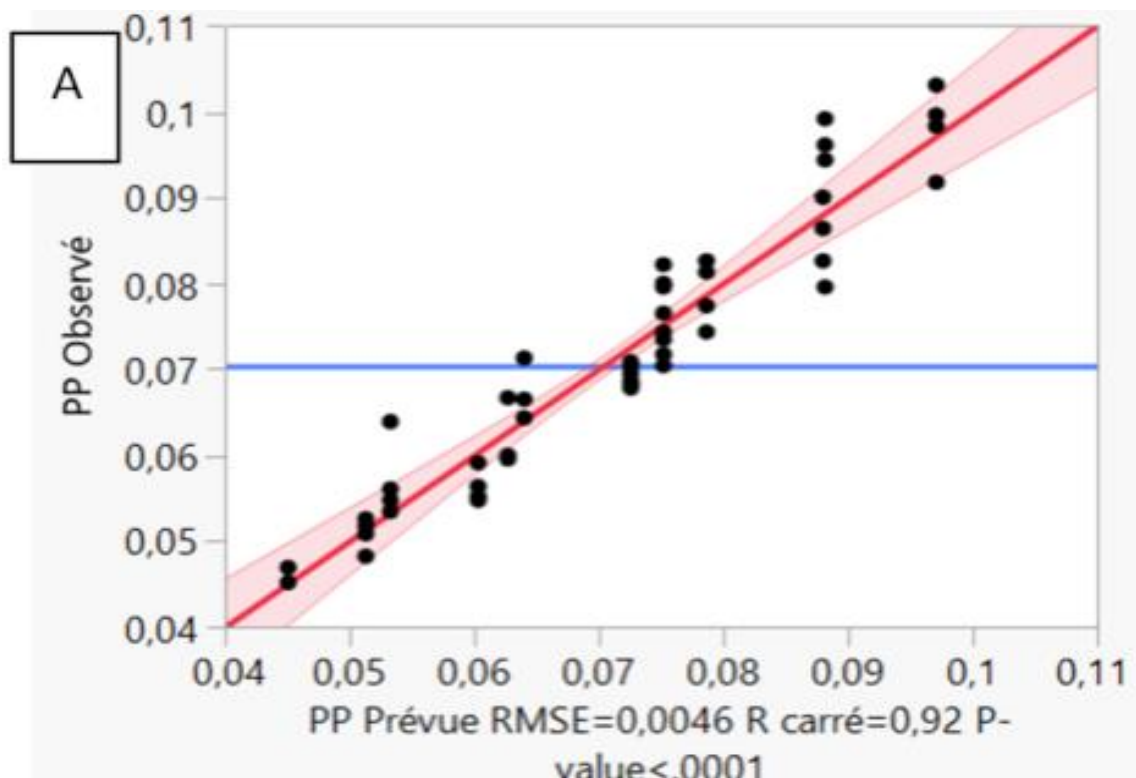
I. Traitement des échantillons

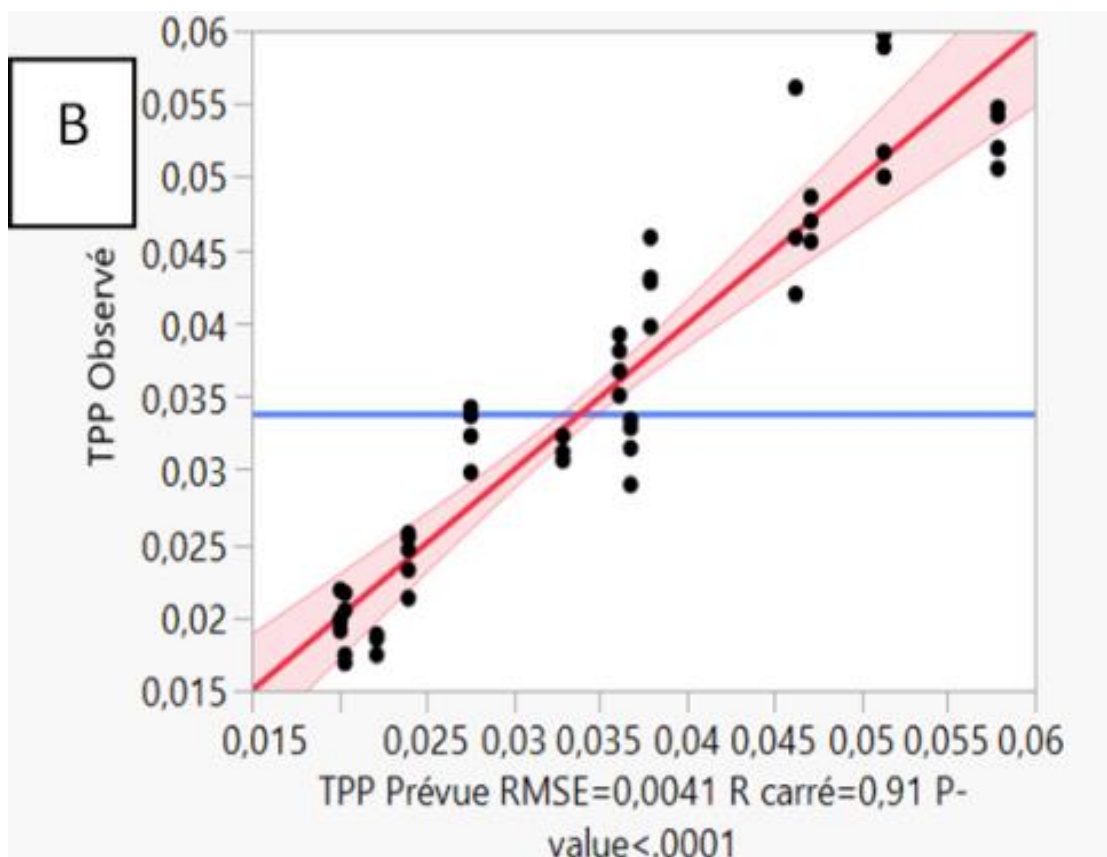
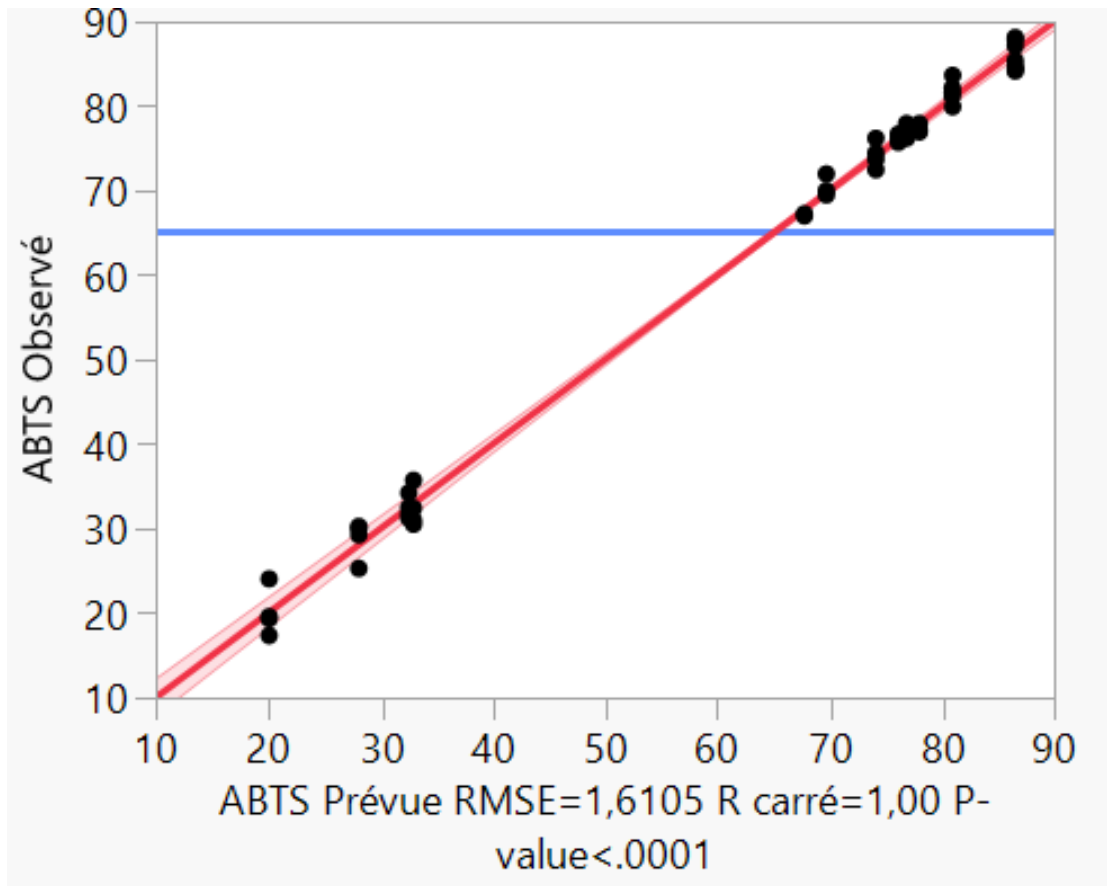
Les deux poudres des feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia* ont été obtenues après avoir été mises à température ambiante, dans un endroit aéré et ombragé afin d'éliminer toute trace d'eau. Cette méthode prévient la détérioration des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2004). De plus, le respect de ces conditions augmente la durée de vie des molécules bioactives et évite leur contamination (Bourkhis *et al.*, 2009).

Suite à cette procédure, le dosage du taux des polyphénols ainsi que le pouvoir antioxydants ont été réalisés sur chaque volume de surnageant obtenus à partir des décoctions et après centrifugation. En l'occurrence, ce travail vise à optimiser l'extraction des composés phénoliques totaux optimaux ayant une activité antioxydants en utilisant la méthode de décoction.

Ensuite, les résultats ont été soumis au logiciel JMP pro 14. Pour rappel les paramètres étudiés, incluent le pourcentage de solvant, le temps et la température. Le dosage des polyphénols totaux, a été exprimé en mg équivalents d'acide gallique par gramme de poudre (mg EAG/g p). Plusieurs essais de tâtonnement, ont été nécessaires pour obtenir une activité antioxydants mesurables.

Suite à l'intégration des résultats de taux de PP et le pourcentage d'inhibition du test d'ABTS dans le logiciel JMP pro 14, les résultats obtenus sont présentés dans **la figure 13** avec des valeurs statistiques significatives.





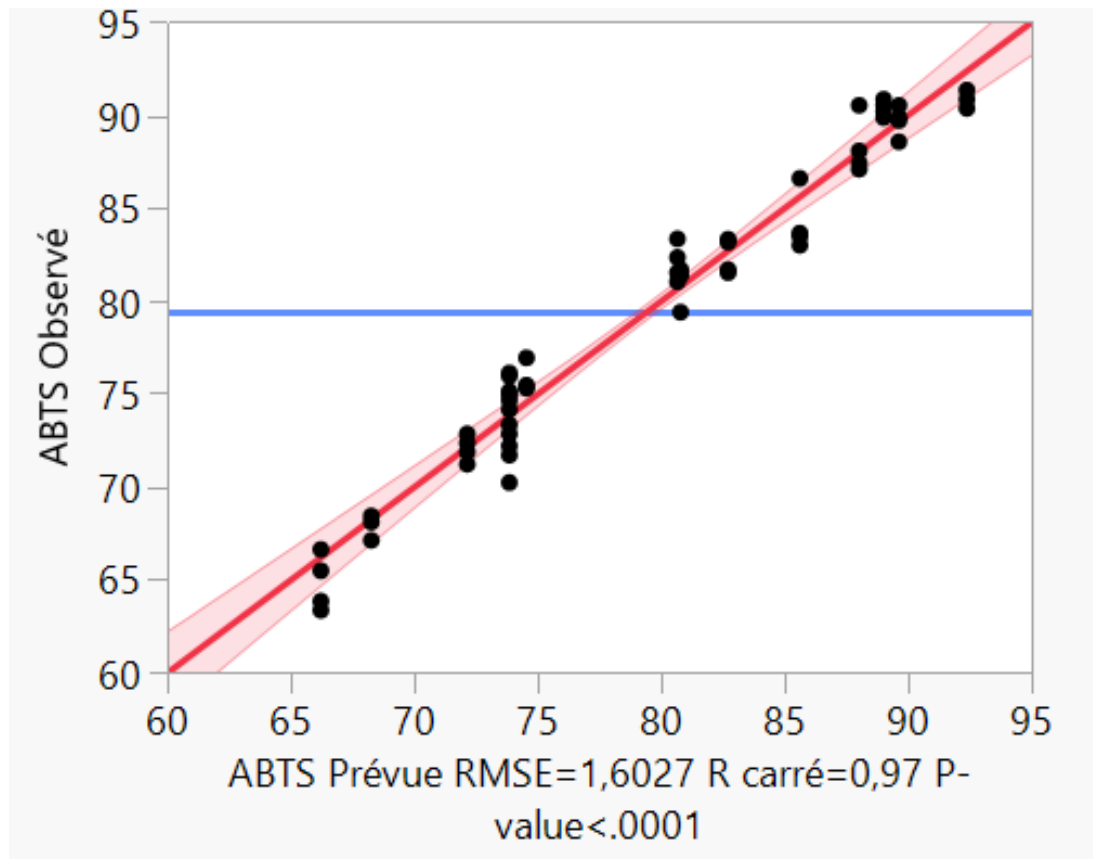


Figure 13: Coefficient de détermination des protocoles d'extraction des polyphénols et du pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les feuilles (A) et les graines (B) de *Lagunaria Patersonia*.

Les graphiques montrent la relation existante entre la concentration prédit (PP, ABTS) et la racine de l'erreur quadratique moyenne (RMSE) des feuilles et des graines. Ce dernier est une mesure de l'erreur entre les valeurs prédites et les valeurs réelles.

Pour les feuilles, l'analyse montre qu'il existe une forte corrélation positive entre le revenu prédit et l'erreur quadratique moyenne de racine des feuilles. Cela indique que le modèle n'est pas très précis lorsqu'il s'agit de prédire le revenu des feuilles.

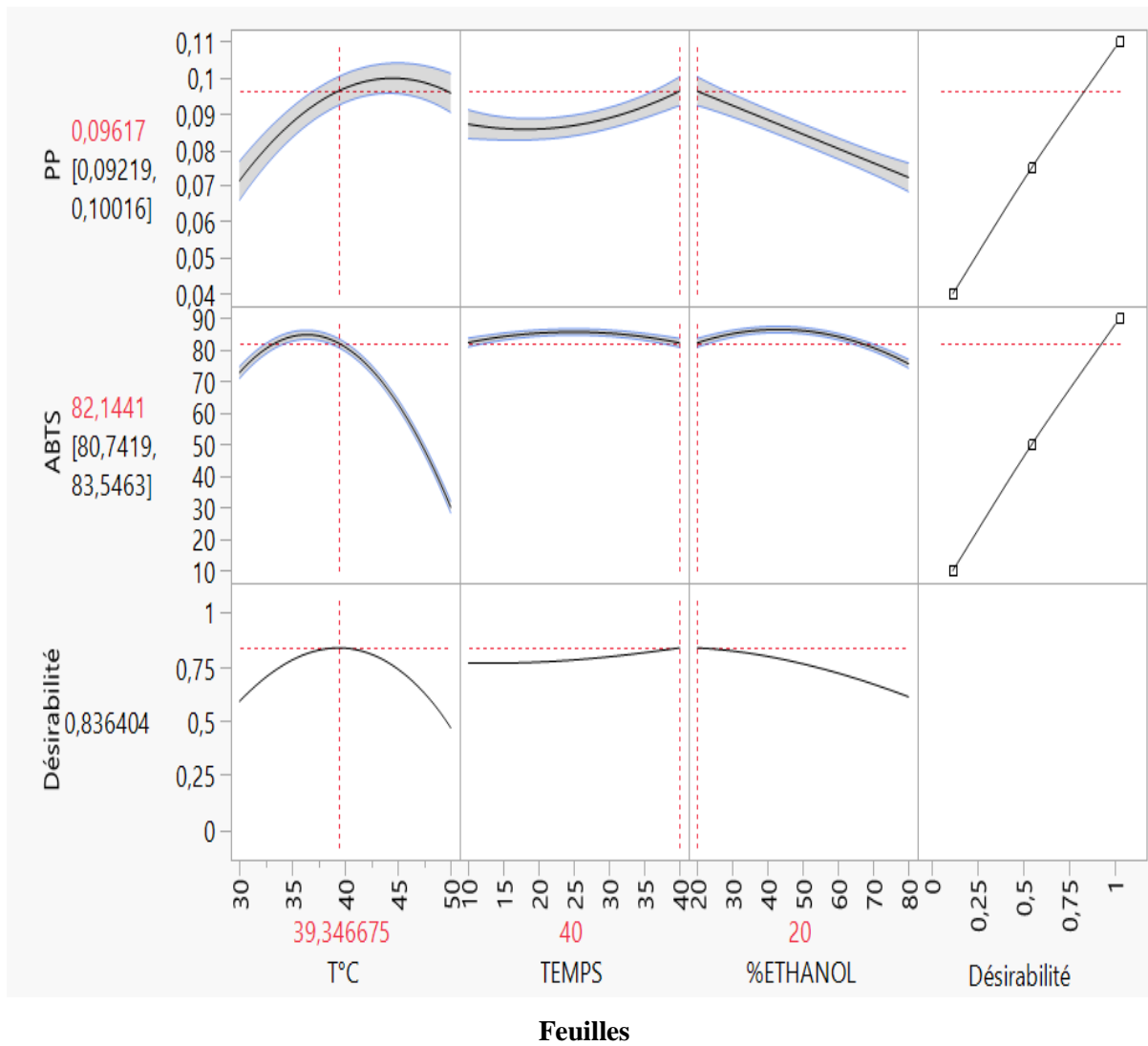
Le graphique montre que le R carré est de 0,92 pour le PP et de 1 pour l'ABTS qui sont très élevé, ce qui indique que le modèle est bon pour expliquer la variance du revenu des feuilles.

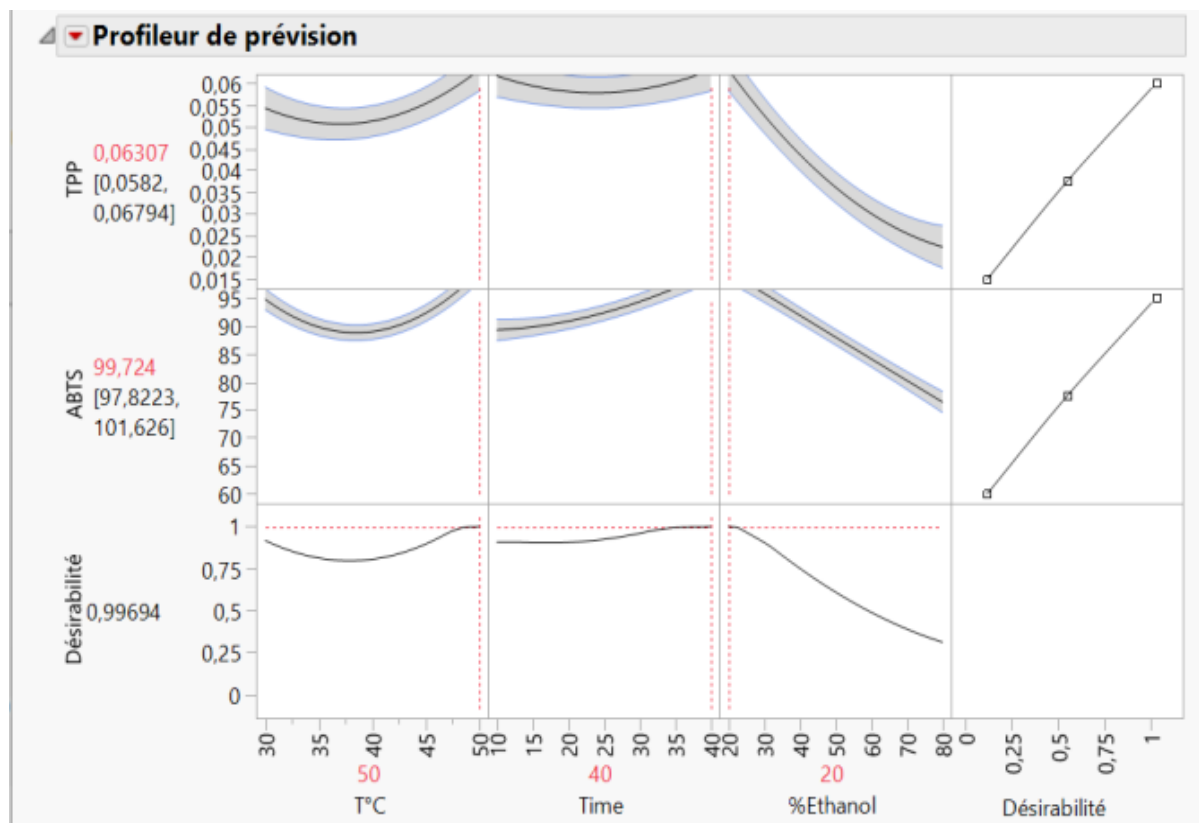
Dans ce cas, la valeur p est faible de $< 0,0001$. En l'occurrence, lorsque le R carré est élevé et la valeur p est faible, cela indique que le modèle est statistiquement significatif.

Pour le graines, l'analyse montre que le RMSE est faible de 0,0041, ce qui indique que le modèle est très précis, le R carré est élevé (0,91) et la valeur p est très faible, cela indique que les résultats sont statistiquement très significatifs et le modèle peut être utilisé un haut degré de confiance.

II. Conditions optimales

Les conditions optimales de l'extraction ont été obtenues en utilisant les équations de régression de la méthodologie de surface de réponse. **La figure 14** montre le profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par le modèle Box-Behnken.





Graines

Figure 14 : Profil de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode de décoction.

D'après les résultats obtenus dans **la figure 14**, on constate que les conditions finales à suivre sont de macérer 3,75 g de poudre dans de l'éthanol, puis à placer le mélange dans un bain-marie, en le maintenant sous agitation à 40°C pour les feuilles et 50°C pour les graines pendant 40 minutes.

Les comparaisons entre les valeurs prédites et expérimentales des composés phénoliques et de l'activité antioxydant révèlent une absence de différence significative, confirmant ainsi la pertinence du plan d'expérience utilisé.

Le protocole de l'extraction suivi nous a permis d'obtenir un extrait pur des deux parties de plantes (graines et feuilles) dans le but de quantifier les composés phytochimiques de *Lagunaria Patersonia* et de tester ses activités biologiques.

III. Rendements d'extraction

A l'aide de l'appareil de séchage (Fohere dehydrator), l'évaporation des extraits des deux parties de la plante a été effectuée. Le poids sec de chaque extrait a été pris afin de calculer le

rendement d'extraction de chaque extrait, les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 15** ci-dessous :

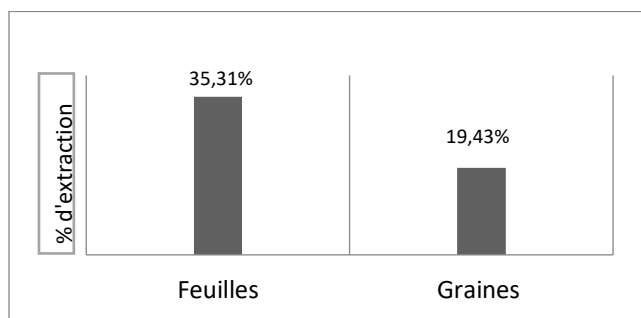


Figure 15 : Les rendements d'extraction en extrait sec des deux parties étudiée de *Lagunaria Patersonia*.

Les résultats obtenus montrent que le rendement en extrait sec éthanolique des feuilles de *Lagunaria Patersonia* (35,31 %) est supérieur à celui des graines (19,43 %). Cette différence est sûrement liée à la nature des composants de chaque partie de la plante.

IV. Evaluation de l'activité phytochimique

IV.1. Teneur en polyphénols totaux

Les niveaux de polyphénols totaux (TPT) dans l'extrait éthanolique de *Lagunaria Patersonia* ont été mesurés en se basant sur la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu.

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec). De ce fait, l'extraction optimisée des polyphénols totaux à partir des feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia* a conduit à une valeur qui est indiquée dans le tableau ci-dessous:

Tableau II: Taux des polyphénols totaux des graines et des feuilles de *Lagunaria Patersonia*.

Extrait	polyphénols totaux (mg AG Eq/g ES)
Feuilles	22,66 ± 0,001
Graines	11,83 ± 0,001

Les analyses ont révélé que les feuilles de *Lagunaria Patersonia* contiennent un taux de polyphénols plus élevé par rapport aux graines (**Tableau II**), environ deux fois plus riches en polyphénols que les graines.

Les résultats obtenus dans notre étude sont supérieurs à ceux de (**Kuppusamy et al., 2016**) pour les gousses de *Lagunaria Patersonia* (5,2 ± 0,6 mg AG Eq/g extrait sec), en particulier

dans les feuilles. En effet, la majorité des extraits de feuilles séchées présentaient de plus grandes quantités de composés phénoliques par rapport à d'autres parties des plantes ou des arbres (gousses, écorces et fleurs).

Une étude menée sur quatre espèces différentes de la même famille (*Malvaceae*) par (Oliveira *et al.*, 2021) a révélé un taux de polyphénols totaux supérieurs à nos résultats : *Sidastrum micranthum* ($39,37 \pm 2,54$ mg AG Eq/g extrait sec), *Wissadula periplocifolia* ($45,68 \pm 0,58$ mg AG Eq/g extrait sec), *Sida rhombifolia* ($38,22 \pm 0,43$ mg AG Eq/g extrait sec) et *Herissantia crispa* ($56,25 \pm 0,83$ mg AG Eq/g extrait sec), il est possible que les différences de valeurs soient attribuables à la variabilité du protocole utilisé.

Par contre, les teneurs en polyphénols d'une autre plante de la même famille, *Hibiscus sabdariffa L.*, ont également été examinées dans cette étude : les feuilles ($3,6 \pm 0,07$ mg AG Eq/g ES), les graines ($1,15 \pm 0,04$ mg AG Eq/g ES) et les calices ($1,45 \pm 0,14$ mg AG Eq/g ES) ont été analysés par (Akpo *et al.*, 2024). Ces résultats sont inférieurs à ceux de *Lagunaria Patersonia*, malgré l'utilisation du même solvant d'extraction (éthanol) et de la même méthode. Cette différence est probablement due aux conditions d'extraction utilisées, à la diversité des espèces, aux variations saisonnières et à la polarité du solvant, qui peuvent influencer de manière significative le taux de polyphénols des extraits de plantes (Yous *et al.*, 2018).

En outre, la teneur en composés phénoliques d'une plante dépend des facteurs génétiques et des conditions géographiques, climatiques, de la période de récolte, des conditions de stockage, et de la maturité de la plante (Falleh *et al.*, 2008 ; Cheurfa et Allem, 2016).

En effet, il a été démontré que les polyphénols protègent les tissus des plantes contre les effets nocifs des rayons solaires (Gehin *et al.*, 2006). Ainsi, plus un organe est exposé au soleil, plus il a tendance à produire des polyphénols.

IV. 2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats du taux de flavonoïdes sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau III : Taux des flavonoïdes des feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia*.

Extrait	Flavonoïdes (mg EQ/g ES)
Feuilles	$3,05 \pm 0,01$
Graines	$3,58 \pm 0,0009$

Les résultats obtenus ont démontré que les graines de *Lagunaria Patersonia* contiennent un taux de flavonoïdes légèrement plus élevé que les feuilles (**Tableau III**). Les rendements obtenus dans cette étude sont inférieurs à ceux signalés par (**Kuppusamy et al., 2016**) pour la gousse de *Lagunaria Patersonia* ($4,2 \pm 1,2$ mg EQ/g extrait sec). Néanmoins, la valeur de l'écartype obtenu durant ce test est trop élevée pour que ce résultat soit pris en considération.

En outre, les gousses semblent être la partie de la plante la plus riche en flavonoïdes, suivies par les graines et ensuite les feuilles. Cela pourrait s'expliquer par la méthode d'extraction utilisée (directe ou successive) ainsi qu'à des facteurs intrinsèques comme le climat et la nature du sol (**Kouamé et al., 2021**).

L'étude menée par (**Akpo et al., 2024**) a révélé que le taux de flavonoïdes dans les feuilles de LP est bien inférieur à celui d'*Hibiscus sabdariffa L* ($44,54 \pm 0,50$ mg EQ/g). De même, pour les graines, *Lagunaria Patersonia* présente un taux de flavonoïdes beaucoup plus bas que celui des graines d'*Hibiscus sabdariffa L* ($12,27 \pm 0,02$ mg EQ/g).

Les valeurs plus élevées de flavonoïdes dans *Hibiscus sabdariffa L*. comparées à celles de *Lagunaria Patersonia* peuvent probablement être attribuées à l'ajout de méthanol dans la méthode d'extraction, bien que les deux études aient utilisé une méthode similaire. De plus, les différences inter-espèces malgré leur appartenance à la même famille botanique, peuvent également contribuer à ces différences.

IV.3. Teneur en tanins condensés

Les résultats obtenus à partir de la droite d'étalonnage pour l'extrait de feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia* sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Tableau IV : Taux de tanins condensés des feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia*.

Extrait	Tanins condensés (mg CE/g ES)
Feuilles	$189,28 \pm 0,01$
Graines	$124,48 \pm 0,0009$

Le taux de tanins condensés est nettement plus élevé dans les feuilles de *Lagunaria Patersonia* que dans les graines (**tableau IV**).

Une étude menée par (**Akpo et al., 2024**) a révélé que pour les graines, *Lagunaria Patersonia* affiche un taux de tanins condensés plus faible que *Hibiscus sabdariffa L*. ($316,39$

$\pm 8,70$ mg CE/g ES). De même, pour les feuilles, *Lagunaria Patersonia* présente un taux de tanins condensés plus faible qu'*Hibiscus sabdariffa L.* ($548,61 \pm 0,00$ mg CE/g ES).

Ces différences dans les résultats de dosage des tanins condensés entre *Lagunaria Patersonia* et *Hibiscus sabdariffa L.*, bien qu'appartenant à la même famille botanique (*Malvaceae*), peuvent être attribuées à des variations génétiques et environnementales propres à chaque espèce, ainsi qu'à des différences dans le protocole utilisé, telles que l'utilisation de méthanol comme solvant d'extraction. Néanmoins, la qualité des tanins obtenus dans notre étude pourrait avoir plus de pouvoir dans différentes activités biologiques.

IV.4. Teneur en tanins hydrolysables

En utilisant une droite d'étalonnage d'acide tannique à différentes concentrations préétablies, les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalents acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g ES).

Tableau V : Taux de tanin hydrolysable des feuilles et des graines de *Lagunaria Patersonia*.

Extrait	Tanins hydrolysables (mg EAT/g ES)
Feuilles	$31,16 \pm 0,01$
Graines	$6,59 \pm 0,0009$

Dans la présente étude les taux de tanins hydrolysables sont nettement plus élevés dans les feuilles de *Lagunaria Patersonia* que dans les graines (**Tableau V**). Cette répartition inégale des composés peut s'expliquer par le fait que les feuilles sont plus exposés au soleil que les graines, qui sont protégées par des enveloppes (**Evenamede et al., 2017**).

Les tanins hydrolysables confèrent à *Lagunaria Patersonia* diverses activités biologiques : antimicrobiennes (**Mekhoukhe, 2008**), antioxydants, antivirale, antifongique (**Jarrige et al., 1995**) anti-inflammatoire, cicatrisante, anti diarrhéique, antiseptique (**Moss et al., 1988**) et anticoagulante (**Hui et al., 1998**).

IV.5. La teneur des saponines

Tableau VI : Taux d'extraction des saponines.

Extrait	Saponines (ED mg/g ES)
Feuilles	$24,12 \pm 0,06$
Graines	$382,25 \pm 0,03$

Les résultats de dosage des saponines (**Tableau VI**) indiquent que le taux d'extraction des graines de *Lagunaria Patersonia* est plus élevé que les feuilles, cette différence observée dans les taux d'extraction des saponines peut suggère une distribution variable de leurs composés actifs selon les parties de la plante. Cette variabilité peut être due à des différences dans les mécanismes de biosynthèse, d'accumulation et de stockage des métabolites par des facteurs environnementaux tels que le sol, le climat, l'exposition à la lumière, ainsi que des facteurs génétiques propres à la plante. Ces facteurs peuvent moduler l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse des saponines, entraînant des variations dans les taux de ces composés.

Par conséquence on pourrait suggérer que les graines de *Lagunaria Patersonia* est une sources très riches en monosaccharides (**Barr et al., 1998**).

Les saponines sont bénéfiques pour la santé selon **Fenwick et al. (1991)** et également impliquées dans des activités biologiques (**Rezgui et al., 2016**). Ils sont également largement utilisées dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire et cosmétique en raison de leurs propriétés moussantes (**Sparg et al., 2004**). Leurs applications s'étendent également à l'agriculture, où elles sont utilisées pour l'assainissement des sols (**Chan et al., 2008**) et comme pesticides naturels (**Chen et al., 2007**).

Cela n'exclut pas l'utilisation des graines de *Lagunaria Patersonia* dans tels domaines en raison de sa richesse en saponines.

IV.6. La teneur des sucres totaux

Tableau VII: Taux d'extraction des sucres totaux.

Extrait	Sucres totaux (mg ED-G/g ES)
Feuilles	92,005 ± 0,02
Graines	955,64 ± 0,015

Les résultats de dosage des sucres totaux de l'EELP (**Tableau VII**) indiquent que les graines ont un taux supérieur aux feuilles. Cette différence significative entre les taux d'extraction des graines et des feuilles pourrait indiquer une répartition différente des composants entre les deux parties de la plante, comme il est possible que les graines de *Lagunaria Patersonia* aient un métabolisme différent des feuilles nécessitant une quantité différente de sucres, qui jouent un rôle fondamental dans la composition de l'acide

désoxyribonucléique (ADN) et de l'acide ribonucléique (ARN), ainsi que dans la structure des coenzymes et des vitamines. En particulier, ces glucides sont impliqués dans des processus de reconnaissance, tels que la présence de glycolipides et de glycoprotéines (Well, 2001).

V. Evaluation de l'activité antioxydants

Test de l'ABTS

Les résultats de l'activité antioxydants déterminés à l'aide du test ABTS sont résumés dans les **figures 16** et le **tableau VIII** ci-dessous:

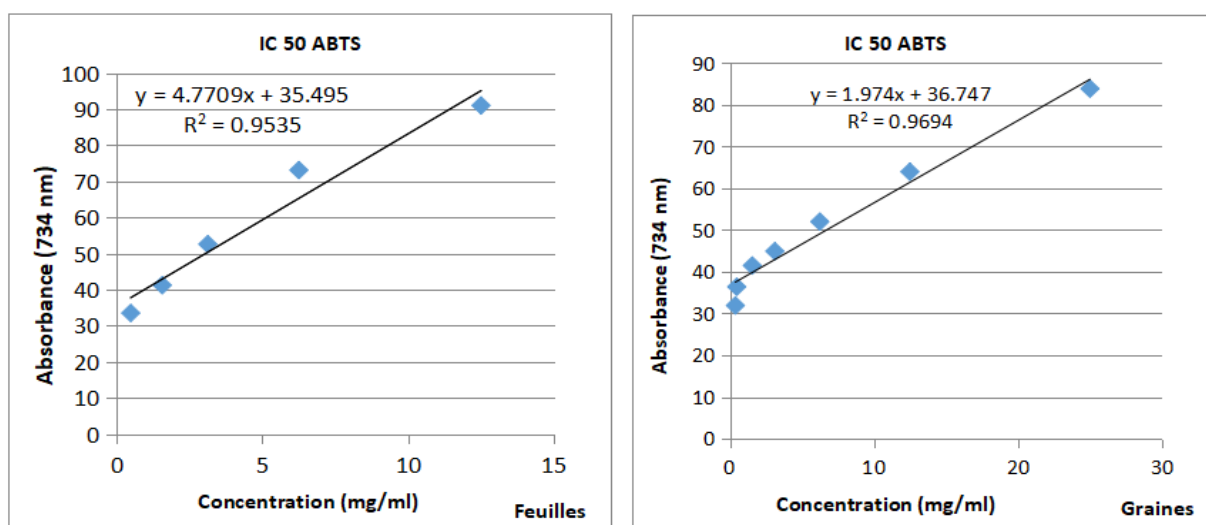


Figure 16 : IC₅₀ de l'ABTS d'EEGLP et EEFLP.

Tableau VIII : IC₅₀ de l'ABTS de l'extrait des graines et des feuilles de *Lagunaria Patersonia*.

Extrait	IC ₅₀ ABTS
Feuilles	3,041 mg/ml
Graines	6,717mg/ml

L'extrait des feuilles de *Lagunaria Patersonia* présentent un IC₅₀ ABTS beaucoup plus faible (3,041 mg/ml) comparée aux graines (6,717mg/ml). Un IC₅₀ plus faible indique une activité antioxydants plus élevée. Ainsi, les feuilles ont une activité antioxydants supérieure à celle des graines.

Donc les extraits de *Lagunaria Patersonia* pourraient être utilisés comme médicament pour traiter les maladies causées par les radicaux libres, dont les maladies inflammatoires, les cancers...

Une étude menée sur 4 espèces différentes de la même famille (*Malvaceae*) par **(Oliveira et al., 2021)** a révélé des IC50 de l'ABTS inférieurs ou similaires à nos résultats : *Sidastrum micranthum* ($35,54 \pm 0,95$ mg/ml), *Wissadula periplocifolia* ($75,42 \pm 0,44$ mg/ml), *Sida rhombifolia* ($75,70 \pm 1,45$ mg/ml) et *Herissantia crispa* ($80,84 \pm 1,04$ mg/ml).

Ce qui conforte les résultats que nous avons obtenus dans la présente étude. Il est possible que les différences de valeurs soient attribuables à la variabilité des méthodes d'extraction, telles que la macération ou la durée d'incubation, ainsi qu'à l'utilisation de persulfate de potassium dans leur protocole, en sont des exemples. D'autres facteurs potentiels incluent la variation de l'accumulation de substances dans les tissus et les cellules sous l'influence de facteurs environnementaux externes (saisonnalité, nutriments, profondeur, lumière) et de facteurs intrinsèques tels que le type de tissus, la taille et l'âge **(Hutzler et al., 1998)**, ainsi que les variations entre les espèces **(Yous et al., 2018)**.

Lagunaria Patersonia est reconnu comme une source naturelle d'antioxydants, comme l'ont souligné **(Kuppusamy et al., 2016)**. Ces antioxydants réduisent les risques de maladies et favorisent la santé en protégeant le corps contre le stress oxydatif et des maladies telles que l'Alzheimer, le cancer et les maladies cardiovasculaires **(Shahidi et Zhong, 2015)**. En effet, la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'autres molécules réactives impliquées dans la progression des maladies, les plantes dotées d'une forte capacité de piégeage des ROS présentent un intérêt particulier pour leurs potentiels bienfaits pour la santé **(Gonçalves et al., 2018)**. De plus, selon **Moure et al. (2001)**, les antioxydants naturels présentent souvent un pouvoir antioxydants inférieur à celui des antioxydants synthétiques.

VI. Evaluation de l'activité anti inflammatoire

Cette technique repose sur la réaction de Griess, permettant le dosage des nitrites résultant de l'oxydation spontanée du NO. L'activité anti-inflammatoire de l'EEGLP et l'EEFLP a été testée via un test de piégeage des radicaux libres NO, et les résultats de test sont représentés dans la **figure 17** et le tableau ci-dessous:

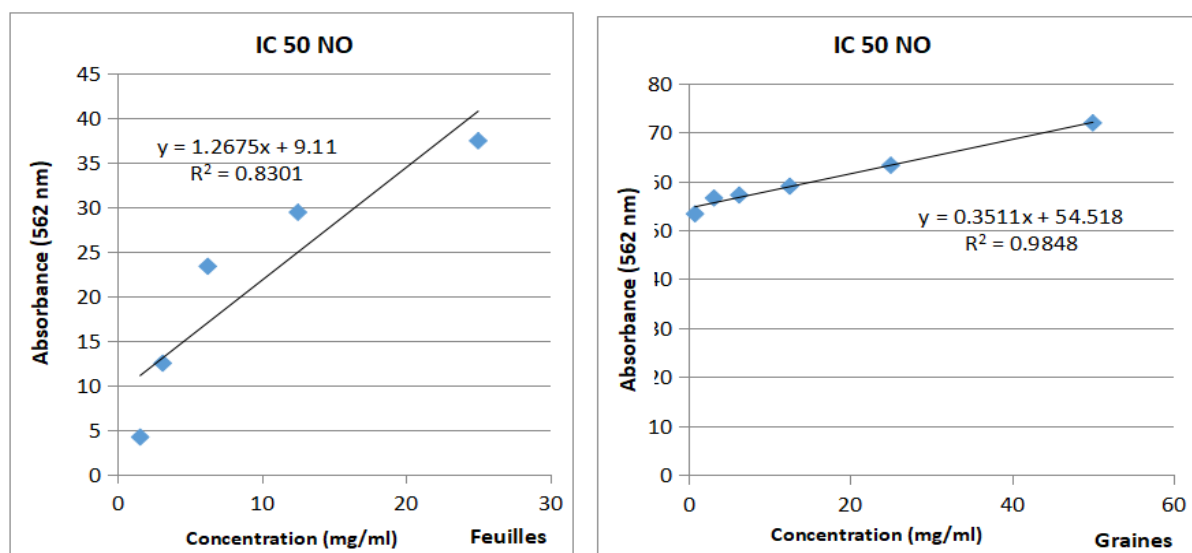


Figure 17 : IC50 de NO d'EEGLP et EEFLP.

Tableau IX : Le taux de NO de l'IC50 de NO d'EEGLP et EEFLP.

Extrait	NO
Feuilles	22,34mg/ml
Graines	67,62mg/ml

L'EEGLP presque a exhibé le tiers du résultat de l'EEFLP (**Tableau IX**). Ce qui correlle avec la teneur plus élevée en composés phénoliques dans ce dernier. En effet, les composés phénoliques sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et autres bénéfiques pour la santé. Cela justifie que l'EEGLP et l'EEFLP peuvent être utilisés dans la médecine traditionnelle pour le traitement des maladies inflammatoires.

VII. Evaluation de d'activité antibactérienne

Très peu de travaux ont été réalisés concernant l'activité antibactérienne de *Lagunaria Patersonia*. Lors de cette étude, nous avons testé l'action de l'huile des graines et les extraits éthanoliques à différentes concentrations de deux parties (graines et feuilles) de cette espèce végétale vis-à-vis de quatre souches bactériennes.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les résultats attendus dans ce test d'antibiogramme sont l'apparition d'une zone (halo) au tour des disques reflète le degré d'inhibition, plus la zone d'inhibition est grande plus la sensibilité des souches est élevée. Les résultats de notre travail ont été comme suite :

Méthode des disques

Cette méthode est basée sur la diffusion des EEFLP et EEGLP à partir des disques sur un milieu solide. Les résultats obtenus sont représentés sur la **figure 18 (A ; B ; C et D)**.

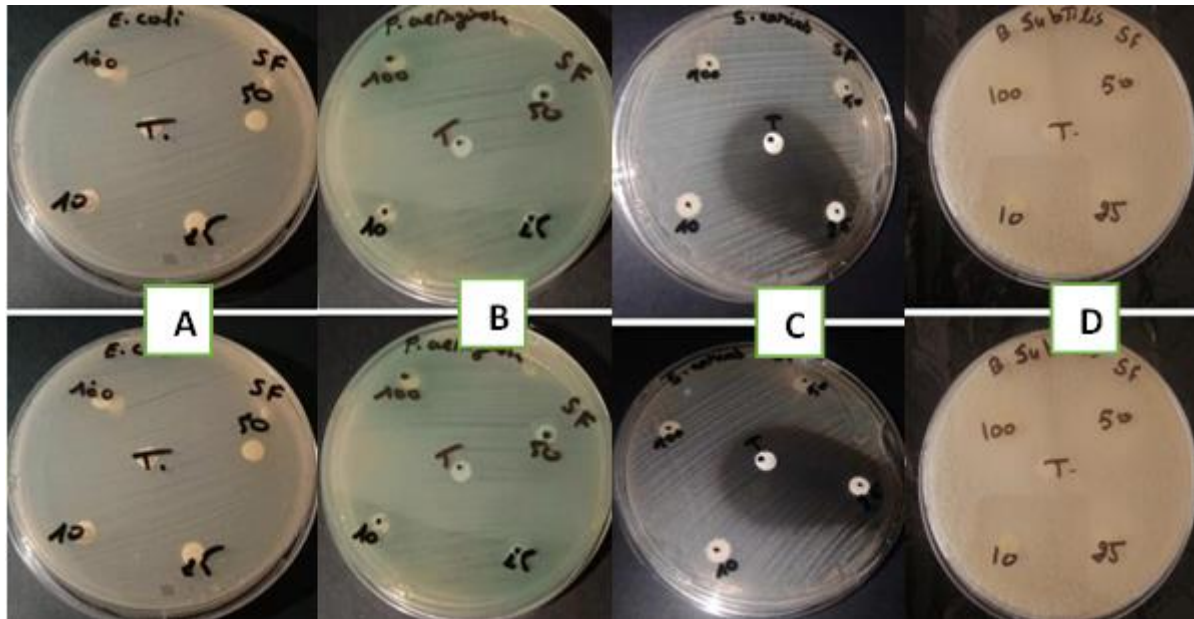


Figure 18 : Effet des différents de l'EEFLP sur les souches bactériennes testées. (SF: Patersonia feuilles, T : eau distillée, A : *Escherichia coli*, B : *Pseudomonas aeruginosa*, C : *Staphylococcus aureus*. D : *Bacillus subtilis*).

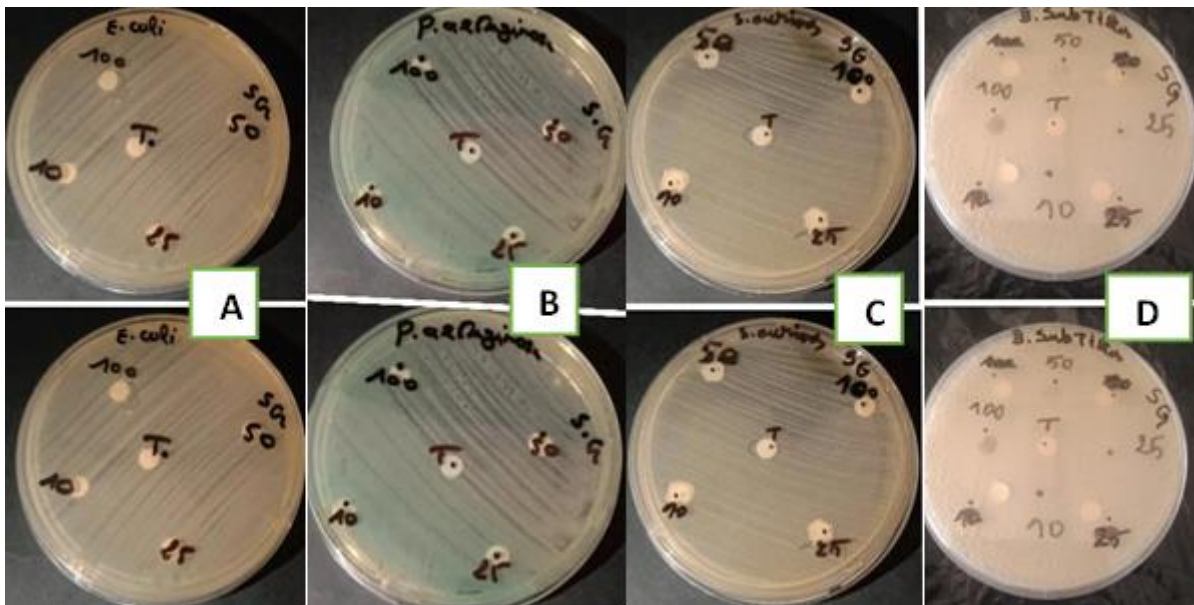


Figure 19 : Effet des différents EEGLP sur les souches bactériennes testées. (SG : Patersonia graines, T : eau distillée).

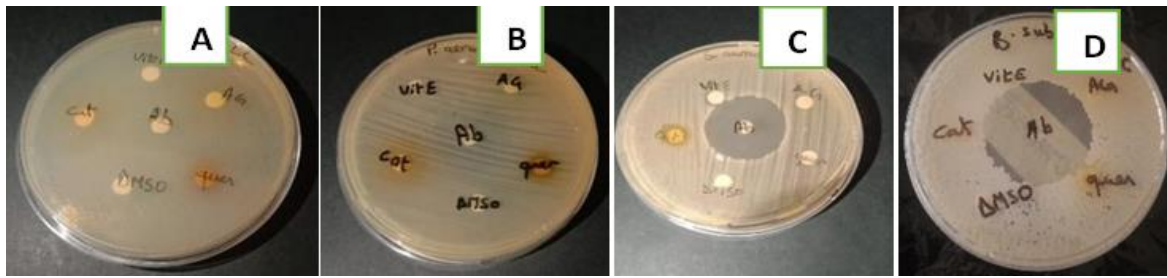


Figure 20 : Effet d’antibiotique (témoin positif) sur les souches étudiées. (**Ab** : antibiotique : Amoxicilline).

Méthode des spots

Les résultats obtenus par la méthode des spots sur des extraits éthanoliques et l’huile sur les bactéries étudiées sont représentés sur **la figure 21 et 22 (A ; B ; C et D)** respectivement.

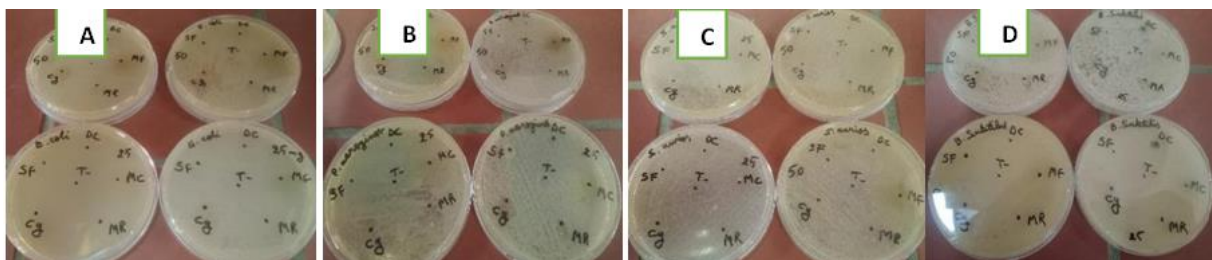


Figure 21: Effet des différents EFLP et EGLP et des control positif et négatif sur les souches bactériennes testées par la méthode des spots. (**SF** : *Patersonia* feuilles, **Ab** : antibiotique, **T** : eau distillée).

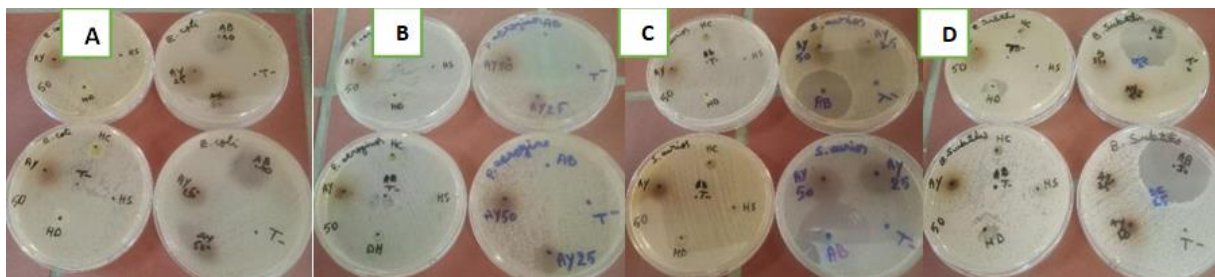


Figure 22 : Effet d’huile des graines de LP et des control positif et négatif sur les souches bactériennes testées. (**HS** : Huile de *Patersonia* graine, **Ab** : antibiotique, **T** : eau distillée).

Tableau X : Valeurs des diamètres de la zone d’inhibition des différents extraits étudiés sur les souches bactériennes testées.

Extraits testés		Diamètre (mm)			
		Souches bactériennes testées			
		Gram -		Gram +	
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
Extraits éthanoliques	Feuilles	00	00	00	00
	Graines	00	00	00	00
Huile	Graines	00	00	00	00
Témoin +	AMX25 : Amoxicilline	20	00	32	37
Témoin -	Eau distillée	00	00	00	00

D'après les résultats obtenus dans le **tableau X** et les **figures 18, 19, 20, 21** et **22** nous noté que l'EEFLP et l'EEGLP n'ont eu aucun effet sur les souches testées et là où une résistance du l'antibiotique (Amoxicilline) vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* a été observée. Cela peut être dû aux concentrations choisies des extraits de *Lagunaria Patersonia* qui sont très faibles (**macheix et al, 2005**), à la qualité de polyphénols extrait par la décoction ou le solvant utilisé pour l'extraction.

Nous pouvons conclure que les extraits testé ne possède aucune activité antibactérienne vis-à-vis de toutes les souches bactériennes utilisées ni avec la méthode des spots ni avec celle des disques.

En outre, la sensibilisation des bactéries vis-à-vis de cette plante varie d'une souche à une autre et d'une famille, genre et espèce d'une plante à une autre, c'est ce qu'il a prouvé **Ibrahim et al. (2023)** qui ont étudié l'effet antibactérien de l'extrait de graines de *Lagunaria patersonia* à une concentration du 5000 µg/mL a montré des effets inhibiteurs sur quatre espèces de bactéries, notamment *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora*, *Pectobacterium carotovorum* et *Ralstonia solanacerum* avec 11,67, 14,67, 14,33 et 10,00 mm respectivement.

La concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les extraits de la plante étudiée (éthanolique, huile) n'ont eu aucun effet antibactérien. C'est pour cela que la CMI n'a pas été réalisée.

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales continuent d'être une source précieuse et fiable de composés actifs. Le bassin méditerranéen, avec sa riche biodiversité, reste un foyer important pour leur découverte et leur utilisation.

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à obtenir des conditions d'extraction optimales des composés phénoliques et de leurs effets antioxydants à partir des feuilles et des graines de *Lagunaria patersonia* par décoction. L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude *in vitro* sont satisfaisants et prometteurs, fruit d'une longue et fructueuse recherche scientifique.

L'étude phytochimique indique la richesse des deux parties de *Lagunaria patersonia* en composés phénoliques totaux et surtout en saponines et sucres totaux, ce qui procure un pouvoir antioxydant remarquable prouvé par les résultats obtenus dans le test de piégeage du radical libre (ABTS), il possède également, aussi un fort pouvoir anti inflammatoire grâce à la capacité d'inhiber l'oxyde nitrique (NO). Ces résultats appuient la capacité de ces extraits dans la prévention ou le traitement de diverses pathologies humaines.

En revanche, les extraits des feuilles et des graines ainsi que l'huile des graines n'ont eu aucune activité antibactérienne. Par contre, l'extrait des graines de *Lagunaria Patersonia* a pu inhiber la croissance de certaines bactéries, à l'exception de celle que nous avons étudiée.

Dans le but de compléter ce travail, il serait ainsi souhaitable de l'enrichir en appliquant les perspectives suivantes :

- Utiliser d'autres techniques d'extraction.
- Etudier des tests d'activité antioxydants tels que Test DPPH, Test FRAP.
- Evaluation *in vivo* de l'activité antioxydants des extraits de la plantes étudiées.
- Poursuivre l'étude antibactérienne avec d'autres espèces pathogènes.
- Faire des analyses phytochimique par HPLC préparative.
- Mesurer d'autres paramètres anti inflammatoire comme le test d'inhibition de la COX2.

*Références
bibliographiques*

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105:121–126.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales [Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases]. *Revue du Rhumatisme.* 74 : 636–643.
- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela-Torres, E., Aguilar, C.N. (2008). Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagic tannins. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 78: 189-199.
- Aherne, S. Aisling, O'Brien, N. M. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition.* 18(1): 75–81.
- Akpo, J. M. K., Sangare-Oumar, M. M., Sacramento, I. T., Issotina, A. Z., Guinnin, F. F., Hounbeme, A. (2024). Analyse phytochimique des extraits éthanoliques de la variété blanche d'Hibiscus sabdariffa Linn (Malvaceae) et évaluation de toxicité aiguë par voie orale chez des rats Wistar. *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* 17 (7): 2909-2924.
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah, S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* 87: 13-21.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 10(12): 6235-6254.
- Andrews. (1803). In: *Bot. Repos.* 4: t. 286.
- Annadurai, G., Sheeja, R.Y. (1998). Use of Box-Behnken design of experiments for the adsorption of verofix red using biopolymer. *Bioprocess engineering.* 18: 463-466.
- Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J., Pinkas, M. (1994). Antioxidant Activities of *Crataegus Monogyna* Extracts. *Planta Medica.* 60 (4): 323-328.
- Bailey, L. H. (1924). *Manual of cultivated plants.* The Macmillan Company (New York) et Macmillan & Co., Limited. (Londres). P: 1-851.
- Balwinder, S., Jatinder, P. S., Amritpal, K., Narpinder, S. (2020). Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel. *Food research international.* 132:109114.
- Barr, I. G., Sjölander, A., Cox, J. C. (1998). ISCOMs and Other Saponin Based Adjuvants. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 32(3): 247-71.
- Barbosa, A. P. (2014). An overview on the biological and pharmacological activities of saponins. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 6(8): 47-50.
- Bardinet, J., Pouchieu, C., Chuy, V., Helmer, C., Samieri, C., Delcourt, C., Cougnard-Grégoire, A., Berr, C., Carriere, I., Féart, C. (2023). Caroténoïdes plasmatiques et risque de symptomatologie dépressive au sein d'une cohorte de personnes âgées. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 37(2): 54.
- Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science.* 94(6): 557-572.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine Sciences.* 22(3): 266-272.
- Barreca, D., Trombetta, A., Smeriglio, G., Mandalari, O., Romeo, M.R., Felice, G., Gattuso, S.M. Nabavi. (2021). Food flavonols: nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. *Trends in Food Science & Technology.* 117: 194–204.
- Barreca, D., Mandalari, G., Calderaro, A., Smeriglio, A., Trombetta, D., Felice, M. R., Gattuso, G. (2020). Citrus flavones: An update on sources, biological functions and health promoting properties. *Plants.* 9(3): 288.

- Barton, G. M. (2008). A Calculated Response: Control of Inflammation by the Innate Immune System. *The Journal of Clinical Investigation*. 118(2): 413-420.
- 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.
- Beaudeau, J-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose oxidative stress in atherosclerotic process. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 21(3): 144-150.
- Bentley, R., Bennett, J.W. (2003). What Is an Antibiotic? Revisited. *Advances in Applied Microbiology*. 52: 303-331.
- Benoist, D., Tourbier, Y., Germain-Tourbier, S. (1994). Plans d'expériences : construction et analyse. Paris : Technique Et Documentation. 700.
- Berthod, A., Billardello, B., Geoffroy, S. (1999). Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation. *Analisis*. 27:750-757.
- Bitasta, M., Rakesh, D., Sandip, M. (2024). Anthocyanins: Potential phytochemical candidates for the amelioration of non-alcoholic fatty liver disease. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 82(3): 373-391.
- Bogdan, C., Rollingshoff, M., Diefenbach, A. (2000). The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunological Reviews*. 173(1): 17-26.
- Bogdan, C. (2000). The function of nitric oxide in the immune system. In: *Nitric Oxide*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. P: 443-92.
- Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J., Chardon, H., Chidia, C., Courvalin, P., Lambert, T. (2013). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. 1-60.
- Borg, J. (2009). Maltese Masterpiece. *Historic Gardens Review*. 21: 26-29.
- Botting-Hemsley, W. (1896). The Flora of Lord Howe Island. *Annals of Botany*. 10(2): 221-284.
- Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Biskra : Université Mohamed Khider.
- Bourkhis, M., Hnach, M., Bourkhis, M., Chaouc, A., Satrani, B. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agrosolutions*. 20(1): 44-48.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56(11): 317-333.
- Brown, R. (1812). In: Aiton Hort. *Kewensis*. ed. II. 4: 224.
- Bruneton, J. (1999). "Pharmacognosie." *Phytochimie. Plantes médicinales*, édition Technique et documentation, Paris.
- Bruneton, J. (2008). Acides phénoliques. Dans: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed: Technique et documentation- Lavoisier, Paris. P: 198-260.
- Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H. and Vlietink, A. (1999). Condensed vegetable tannins: bioavailability and effects on health. *Journal of Natural Product Reports*. 26: 1001-1043.
- Budić, L. I., Lovrić, T. (2002). "Identification of phenolic acids and changes in their content during fermentation and ageing of white wines Pošip and Rukatac. *Food Technology and Biotechnology*. 40(3) : 221.
- Cabeen, M., Jacobs-Wagner, C. (2005). Bacterial cell shape. *Nature reviews. Microbiology*. 3(8): 601–610.
- Çalişkan, O., Polat, A. A. (2011). Phytochemical and antioxidant properties of selected fig

- (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Scientia Horticulturae*. 128(4): 473-478.
- Cariñanos, P., Casares-Porcel, M. (2011). Urban green zones and related pollen allergy: A review. Some guidelines for designing spaces with low allergy impact. *Landscape and Urban Planning*. 101(3): 205-214.
 - Cariñanos, P., Adinolfi, C., Díaz de la Guardia, C., De-Linares, C., Casares-Porcel, M. (2016). Characterization of Allergen Emission Sources in Urban Areas. *Journal of Environmental Quality*. 45(1): 244–252.
 - Carlet, J., Rambaud, C., Pulcini, C. (2012). Alliance contre les bactéries multi résistantes : sauvons les antibiotiques ! *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 31(9): 704-708.
 - Chagnon, P. (2005). Les plans d'expériences. *Avis d'expert statistique*. 97-100.
 - Charlier, C., Catherine, M. (2003). Dual Inhibition of Cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-Lipoxygenase (5-LOX) as a New Strategy to Provide Safer Non-Steroidal AntiInflammatory Drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 38 (8): 645-659.
 - Cheurfa, M., Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. *Phytothérapie*. 14(3): 181-187.
 - Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., Lin, Y. (1998). Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38 (6): 21-464.
 - Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
 - Coyne, P. (2011). In: *Norfolk Island's Fascinating Flora*. 1ère éd. Belconnen: Petaurus Press. P: 5-92.
 - Crompton, M. (1999). The mitochondria permeability transition pore and its cell death. *Journal of Biochemical*. 341: 233-249.
 - Crozier, A., Jaganath, I. B. and Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolic: chemistry, bioavailability and effects on health. *Journal of Natural Product Reports*. 26(8): 1001- 1043.
 - Cufodontis, G. (1959). *Enumeratio Plantarum Aethiopiae Spermatophyta (Sequentia)*. Bulletin du Jardin botanique de l'État à Bruxelles. 29(1): 533-584.
 - Curtay, J. P., Robin, J. M. (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info* : 4.
 - Daryanavard, H., Postiglione, A. E., Muhlemann, J. K., Muday, G. K. (2023). Flavonols modulate plant development, signaling, and stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*. 72: 102350.
 - De Vilmorin, R. (1950). La flore exotique acclimatée sur la Côte d'Azur. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 97(10): 78-127.
 - Derbel, S., Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. 3(1): 28-34.
 - Desai, S. D., Desai, D. G., Kaur, H. (2009). Saponins and their Biological Activities. *Pharma Times*. 41(3): 13-16.
 - Djeddi, S., Djahoudi, A.G., Benchalia, N., Himour, H. (2015). Antibacterial activity of *Calycotum villosa* (Poiret) Link extracts. *Article original Biologie*. 3(1): 30-33.
 - Domingues d'Almeida, J., Freitas, H. (2006). Exotic naturalized flora of continental Portugal – A reassessment. *Botanica Complutensis*. 30: 117-130.
 - Dubois, B. (2015). Implication du stress oxydant Dans Plusieurs Affections Du cheval Athlete : *Revue Bibliographique*. Thèse de doctora de L'Unvarsity Claud-Bernard-Lyon I(Médecine - Pharmacie). 188.
 - Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*. 28: 350-356.

- Ducrocq, C., Servy, C., Cudic, M., Blanchard, B. (2011). Intervention du monoxyde d'azote, NO, et de ses dérivés oxydés, particulièrement chez les mammifères. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 79(2):95-102.
- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M. (2010). Pourmorad F. Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 9: 5212-5217.
- Edwards, P. R., Ewing, W. H. (1986). Identification of Enterobacteriaceae. 4th ed. New York: Elsevier. P: 1-282.
- El Mokni, R., Iamonic, D. (2020). Nouveaux exotiques dans les Malvacées pour la flore nord-africaine, avec note nomenclaturale. *Collectanea Botanica*. 39.
- Evenamedé, K. S., Kpegba, K., Simalou, O., Boyodé, P., Agbonon, A., Gbeassor, M. (2017). Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassiasieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 11(6): 2924-2935.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. (270): 108-115.
- Falleh, H., Ksouri, R., chaieb, k., karray-bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cyanaracardunculus* L, organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*. 331 : 372-379.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*.64(6): 390-396.
- Feart, C., Letenneur, L., Helmer, C., Schalch, W., Etheve, S., Delcourt, C., Barberger-Gateau, P. (2013). P193 Caroténoïdes plasmatiques et risque de démence dans une population âgée française : étude 3-Cités. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 27(1):151–152.
- Fenwick, G. R, Price, K. R, Tsukamoto, C, et al. (1991). Saponins. In: Mello FJPD, Duffus CM, Duffus JH, editors. *Saponins in Toxic Substances in Crop Plants*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. 285–327.
- Fournier, P. E., Leal, S., Ziltener, L. J. (2008). Anti-inflammatoires non stéroïdiens: utilisation en médecine du sport. *Revue Médicale Suisse*. (4): 1702-1705.
- Fryxell, P.A. (1988).Malvaceae of Mexico. *Systematic Botany Monographs*. 25: 1-522.
- G. Don. (1831).In: *Gen. Syst*. 1: 485.
- Gardner, R. (2006). Some Norfolk Island plant record. *Auckland Botanical Society Journal*. 61(2): 108–112.
- Garnier, D. (1992). Dictionnaire des termes de médecine. 30e éd. Editions Maloine, Paris. P: 1-1096.
- Gehin, A., Guyon, C., Nicod, L. (2006). Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental toxicology and pharmacology*. 22: 27-34.
- Gillon, F. (1997). Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur a commutations électroniques. Thèse de doctorat : Génie électrique. Lille : L'université des sciences et technologies de Lille, 42-43 p.
- Goebel, K.M., Storck, U., Neurath, F. (1981). Intrasyovial orgotein therapy in rheumatoid arthritis. *Lancet*. 317 (8228): 1015-1017.
- Goepfer, A. R., Scheerens, H., Vermeulen, N. P. (1995). Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome P450. *Critical Reviews in Toxicology*. 25(1): 25-65.

- Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C. A., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M. F., Ferreira, L. C. S., Martinez, M. B. (2016). Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*.47: 3-30.
- Gonçalves, S., Moreira, E., Andrade, P. B, Valentão, P., Romano A. (2019). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the total phenolic contents and antioxidant activity of wild Mediterranean edible plant extracts. *European Food Research and Technology*. 245(3): 753-762.
- Goossens, H., Guillemot, D., Ferech, M., Schlemmer, B., Costers, M., van-Breda, M., Baker, L. J., Cars, O., Davey, P. G. (2006). National campaigns to improve antibiotic use. *European journal of clinical pharmacology*. 62(5): 373-379.
- Goossens, H., Ferech, M., Vander-Stichele, R., Elseviers, M. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet*. 365(9459): 579–587.
- Goupy, J. (2013). Les plans d'expériences. *Tutoriel*. (34): 74-116.
- Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review of Plant Biology*. 57(1): 761–780.
- Guignard, J. L. (2000). Les aromatiques aromatiques. In: *Biochimie végétal*. 2éme éd. P: 161-217.
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Halla, N. (2018). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. 16(1): 254-262.
- Hagerman, A., Larry, G. B. (2002). Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins. *American Chemical Society*. 123-126.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*. 62(10): 628-638.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2008). In: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth Edition, Oxford University Press, Oxford. 905.
- Hart, T., Shears, P. (2006). *Atlas de poche de microbiologie*. Médecine-Sciences-Flammarion. 1-317.
- Henrotin, Y., Kurz, B., Aigner, T. (2005). Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: friends or foes? *Osteoarthritis and Cartilage*. 13: 643-54.
- Herrmann, K. (1988). On the occurrence of flavonol and flavone glycosides in vegetables. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* .186(1): 1–5.
- Hertwig, B., Streb, P., Feierabend, J. (1992). Light Dependence of Catalase Synthesis and Degradation in Leaves and the Influence of Interfering Stress Conditions. *Plant Physiology*. 100(3): 1547–1553.
- Hichri, I. (2019). Optimisation de l'extraction des polyphénols sans pesticides ainsi que leurs caractérisations dans les extraits d'oignon jaune et rouge. Université laval.
- Huda, M. (2013). L'effet du miel sur la croissance des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*). *Jurnal Analisis Kesehatan*. 2(2).
- Hutzler, P., Fischbach, R., Heller, W., Jungblut, T. P., Reuber, S., Schmitz, R., Veit, M., Weissenbock, G., Schnitzler, J. P. (1998). Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Experimental Botany*. 49(323): 953–965.
- Ibrahim, K. M. E. M., El-Settawy, A. A., Salem, M. Z. M., Elsaeed, A. A. M. (2023). Antibacterial and Antifungal Activities of Extracts from Some Woody Trees on Some Plant Pathogenic Agents. *Alexandria Journal of Agricultural Sciences*. 68(2): 120-125.

- Jaakola, L. (2013). New insights into the regulation of antho cyanin biosynthesis in fruits. *Trends Plant Science*. 18(9): 477–483.
- Jarrige, R., Yves, R. (1995). *Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion*. Editions Quae. 56-58.
- Jehl, F., Chabaud, A., Grillon, A. (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? Antibiotic susceptibility testing: Diameters or MICs? *Journal des Anti-infectieux*. 17(4): 125-139.
- Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., Yusuf, S. (1995). The antioxidant vitamins and cardiovascular disease: a critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Annals of Internal Medicine*. 123(11): 860-872.
- Johnson, R. K., Appel, L. J., Brands, M., Howard, B. V., Lefevre, M., Lustig, R. H., Sacks, F., Steffen, L. M., Wylie-Rosett, J. (2009). Dietary Sugars Intake and Cardiovascular Health: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 120(11): 1011-1020.
- Jouzeau, J. Y., Daouphars, A. M., Benani, A., Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin Biol*. (28): 7-17
- Kane, T., Carothers, K., Lee, S. (2018). Virulence factor targeting of the bacterial pathogen *Staphylococcus aureus* for vaccine and therapeutics. *Current drug targets*. 19(2): 111-127.
- Karp, G. (2010). *Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts and experiments*. Edition De Boeck Supérieur. P: 35.
- Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., Soro, Y. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpinaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 15(1): 97-105.
- Kovács, Á. T. (2019). *Bacillus subtilis*. *Microbe of the month*. 27(8): 724-725.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Nirola, R., Lee, Y. B., Naidu, R. (2016). Assessment of antioxidant activity, minerals, phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts. *Industrial Crops and Products*. 83: 630-634.
- Kuruneri-Chitepo, C., Shackleton, C. M. (2011). The distribution, abundance and composition of street trees in selected towns of the Eastern Cape, South Africa. *Urban Forestry & Urban Greening*. 10(3): 247– 254.
- Lacolley, P. (2007). *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*. Edition John Libbey Eurotext. P: 312.
- Le Marchand, L., Hankin, J. H., Kolonel, L. N., Beecher, G. R., Wilkens, L. R., Zhao, L. P. (1993). Intake of specific carotenoids and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomark & Prevention*. 2(3): 183–187.
- Lelong, H. C., Blacher, J. (2012). Risque cardiovasculaire des antiinflammatoires non stéroïdiens: Cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Médecine des maladies métaboliques*. 6(1): 19-24.
- Leung, F. Y. (1998). Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 9(6): 304- 307.
- Lin, D., Song, Q., Zhang, Y., Liu, J., Chen, F., Du, S., Xiang, S., Wang, L., Wu, X., Sun, X. (2021). *Bacillus subtilis* Attenuates Hepatic and Intestinal Injuries and Modulates Gut Microbiota and Gene Expression Profiles in Mice Infected with *Schistosoma japonicum*. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 9: 766205.
- LORETTI, E., DE-BELLIS, L., ALPI, A., PERATA, P. (2001). why and how do plant sense sugars. *Annal of botany*. 88(5): 803-812.

- Lourdes, R. G. M. (2013) . Food Phenolic Compounds : Mains classes, Sources and Their Antioxydant Power. In : José A. Morales-González. Oxydative stress and chronic degenerative diseases - a role for antioxidants : 87-112.
- Lyczak, J. B., Cannon, C. L., Pier, G. B. (2000). Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes Infect.* 2(9): 1051–1060.
- Machail, M. K., Hope, G. S., Anderson, A. (2001). Polynesian plant introductions in the Southwest Pacific: initial pollen evidence from Norfolk Island. *Records of the Australian Museum, Supplement.* 27: 123–134.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des Végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes. 1: 192.
- Macheix j j, Fleuriet a, Sarni-manchado y. (2004). composé phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, repartition et role. in: les polyphénols en agroalimentaire. paris : edition technologie et document. P: 380-398.
- Maiani, G., Caston, M. J. P., Catasta, G., Toti, E., Cambrodon, I. G., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Bohm, V., Mayer-Miebach, E., Behnsilian, D., Schlemmer, U. (2009). Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition and Food Research.* 53(1613-4125): 194-218.
- Manach,C., Scalbert,A ., Morand,C., Rémésy,C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition.*79(5):727-747.
- Marcel, J. P. (2005). L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques.* 7(1): 53-58.
- Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanisme de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'angiologie.* 51 : 304-315.
- Matza, L. S., Kim, K. J., Yu, H., Belden, K. A., Chen, A. F., Kurd, M., Lee, B. Y., Webb, J. (2019). Health state utilities associated with post-surgical *Staphylococcus aureus* infections. *The European Journal of Health Economics.* 20(6): 819-827.
- Mehani, M., Segni, L. (2014). Effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus camadulensis* sur certaines bactéries pathogènes. *Proteus, Annales des Sciences et Technologie.* 6(1): 84-88.
- Mehmood, A., Zhao, L., Wang, Y., Pan, F., Hao, S., Zhang, H., Iftikhar, A., Usman, M.(2021). Dietary anthocyanins as potential natural modulators for the prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: A comprehensive review. *Food Research International.* 142: 110180.
- Mitchell, A. S. (1982). Economic aspects of the malvaceae in Australia. *Economic Botany.* 36(3): 313-322.
- Mohamed-Esmail, N., Elshafei, A. A., Zakri, A. M., Al-Doss, A. A., Barakat, M. N. (2014). Assessment of clonal fidelity of micro-propagated *Lagunaria patersonii* plants by TRAP and SSR markers. *Journal of Food, Agriculture & Environment.* 12 (2): 916-921.
- Mole, S., Peter, G., Waterman. (1986). Tannic Acid and Proteolytic Enzymes: Enzyme Inhibition or Substrate Deprivation?.*Phytochemistry.* 26 (1): 99-102.
- Morel, Y., Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* 342(3): 481-496.
- Morelle, J. (2003). L'oxydation des aliments et la santé. Paris : Editions Francois-Xavier de Guibert. P: 257.

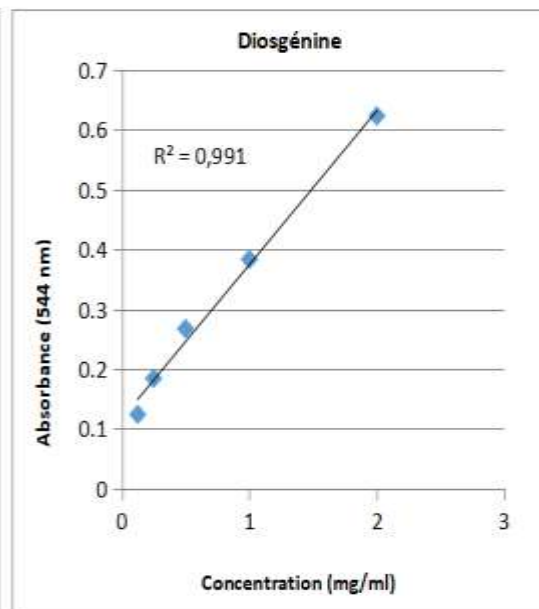
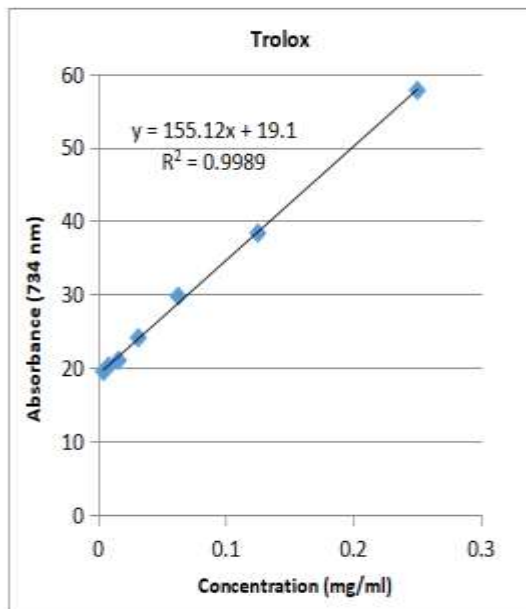
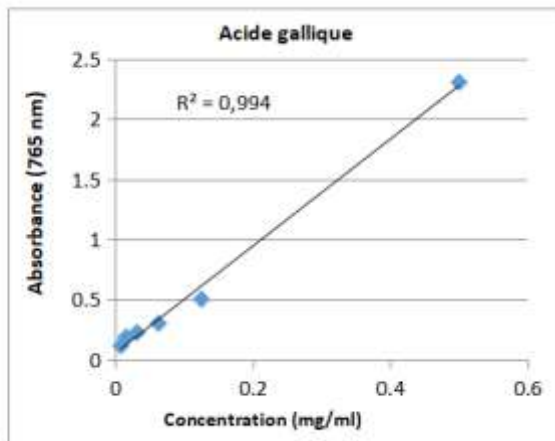
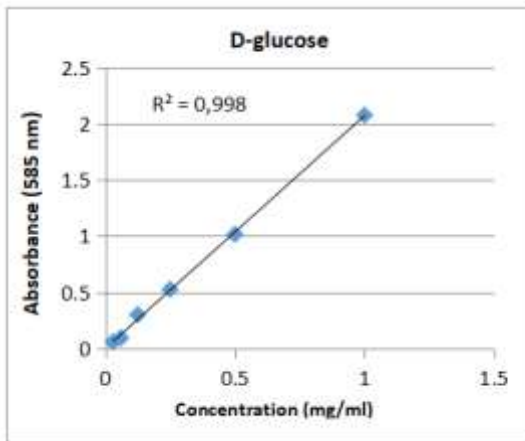
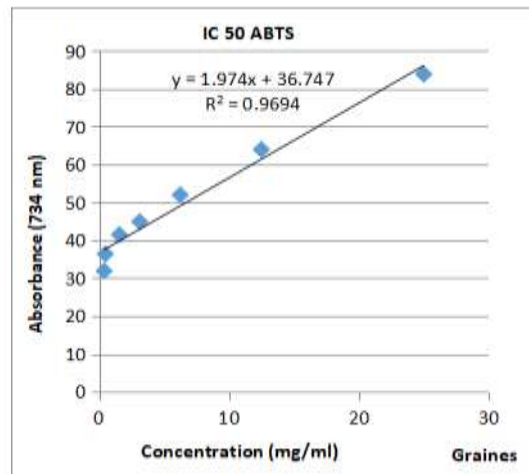
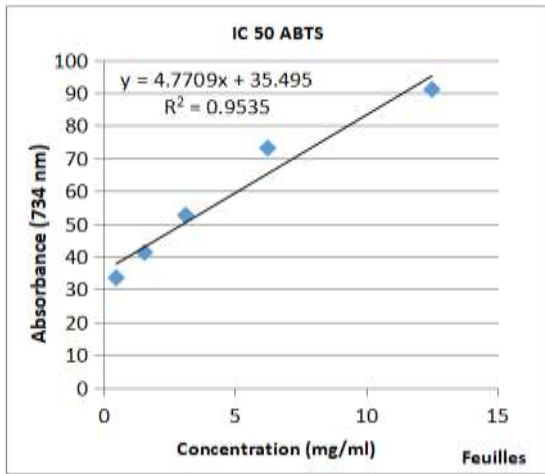
- Morelle, J. (2003). L'oxydation des aliments et la santé. Paris : Editions Francois-Xavier de Guibert. P: 257.
- Moszer, I., Jones, L. M., Moreira, S., Fabry, C., Danchin, A. (2002). SubtiList: the reference database for the *Bacillus subtilis* genome. *Nucleic acids research*. 30(1): 62–65.
- Moutounet, M. (1981). Dosages des polyphénols des mouts de raisin. *Connaissance Vigne vin*. 15(4) : 287-301.
- Mueller-Dombois, D., Fosberg, F. R. (1998). The Subtropical Islands in the New Zealand Region. In: *Vegetation of the Tropical Pacific Islands*. Norfolk Island: Springer New York. P: 182- 194.
- Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation Anti-inflammatory drugs. *EMC - Stomatologie*. 1(1): 21-29.
- Naggar, S. M. El. (2004). Pollen Morphology of Egyptian Malvaceae: An Assessment of Taxonomic Value. *Turkish Journal of Botany*. 28(1-2): 227-240.
- Nomura, K., Hirotaka, I., Koumura, T. (2000). Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. *Journal of biochemical*. 351: 183-193.
- Normak, H. B., Normak, S. (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of internal medicine*. 252(2): 91-106.
- Nouri, H., Beecham, S., Hassanli, A. M., Kazemi, F. (2013). Water requirements of urban landscape plants: A comparison of three factor-based approaches. *Ecological Engineering*. 57: 276–284.
- O'Connell, J.E., Fox, P.F. (2001). Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products. *Journal of a review International Dairy*. 11: 103-120.
- O'Connor, J. A., Parbery, D. J., Strauss, W. (1974). The effects of phytotoxic gases on native Australian plant species: Part 1. Acute effects of sulphur dioxide. 7(1): 7-23.
- Oliveira, A. M. F. de., Pinheiro, L. S., Pereira, C. K. S., Matias, W. N., Gomes, R. A., Chaves, O. S., Souza, M. de. F. V. de., Almeida, R. N. de., Assis, T. S. de. (2021). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. *Antioxidants*. 1(1): 33-43.
- Oueslati, K. (2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton en milieu mimétique de la viande (Doctoral dissertation de Sciences des aliments, Université Clermont Auvergne), Français. P: 239.
- Pandey, K. B., Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphénols as dietary antioxydants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2(5) : 270-278.
- Parham, S., Zargar-Kharazi, A., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., RamaKrishna, S., Berto, F. (2020). Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties. *Antioxidants*. 9(12): 1309.
- Pariente-Ichou, F. (2011). *Microbes, mi-démons*. Paris : Société des Ecrivains. P: 234.
- Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des Laboratoires*. (276): 87-92.
- Patel, A. R., Seijen-ten-Hoorn, J., Velikov, K. P. (2011). Colloidal complexes from associated water soluble cellulose derivative (methylcellulose) and green tea polyphon (Epigallocatechin gallate). *Journal of Colloid and Interface Science*. 364 (2): 317–323.
- Patigo, A., Hengphasatporn, K., Cao, V., Paurat, W., Vijara, N., Chokmahasarn, T., Maitarad, P., Rungrotmongkol, T., Shigeta, Y., Boonyasuppayakorn, S., Khotavivattana, T.

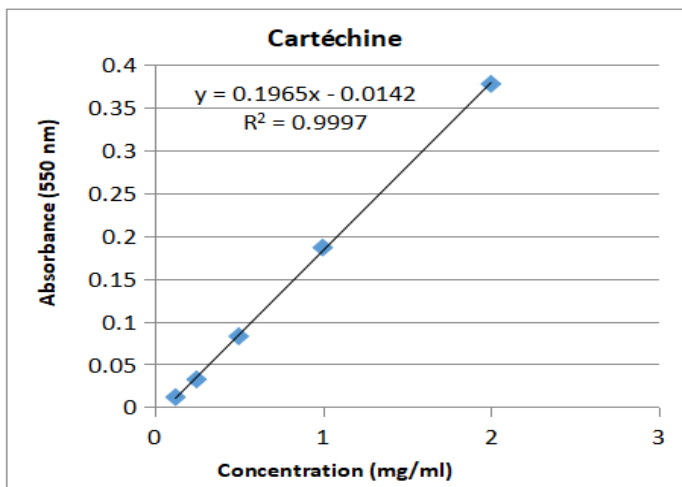
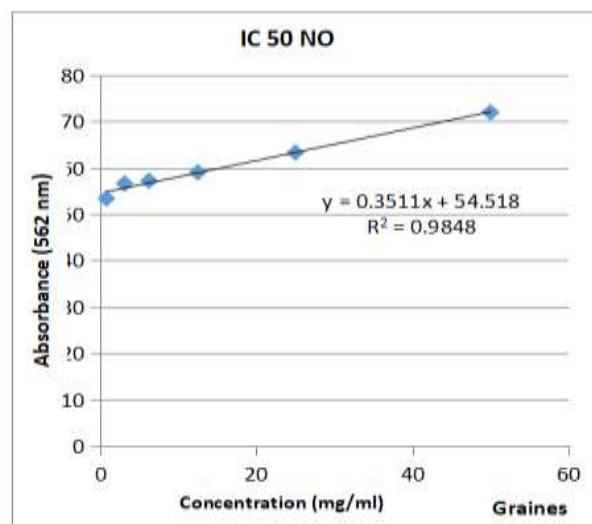
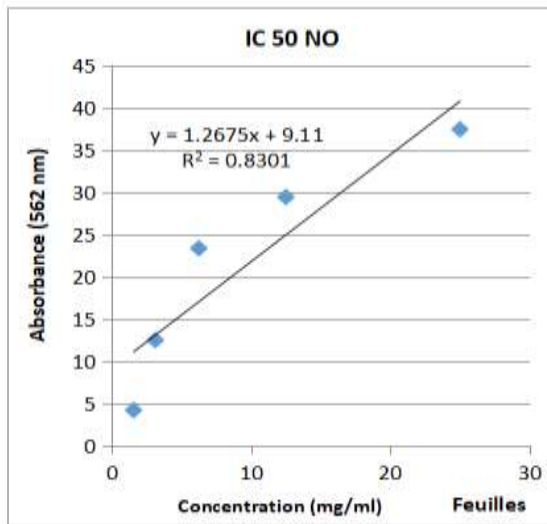
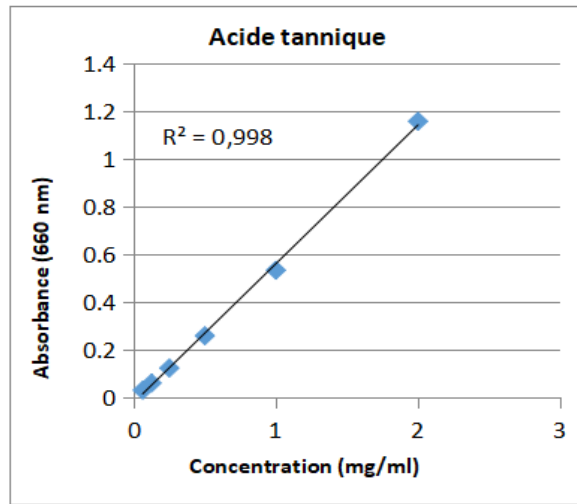
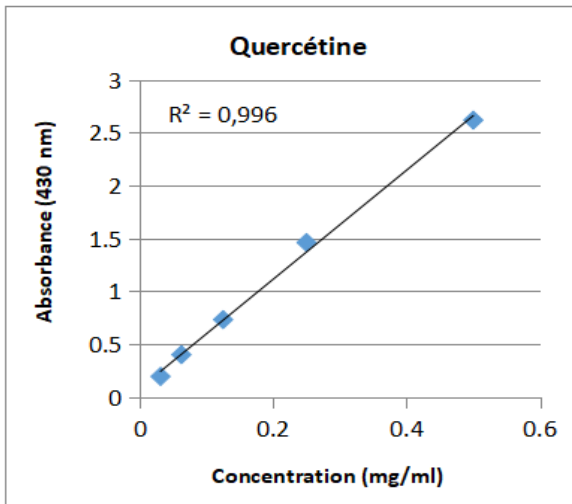
- (2022). Design, synthesis, in vitro, in silico, and SAR studies of flavone analogs towards anti-dengue activity. *Scientific Reports*. 12(1): 21646.
- Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L. (2011). Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: The current state of the art. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(24) : 12713–12724.
 - Philippe, V. (2008). Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou Corticoïdes. IFSI Bichat / René Auffray : 6.
 - Poir. (1816). In: *Encycl.*
 - Raelene, A. G., Darrell, J. K. (2014). Does it Pay to Care?: Exploring the Costs and Benefits of Parental Care in the Hibiscus Harlequin Bug *Tectocoris diophthalmus* (Heteroptera: Scutelleridae). *Ethology*. 120(6): 607-615.
 - Rajendran, P., Abdelsalam, S. A., Renu, K., Veeraraghavan, V., Ben Ammar, R., Ahmed, E. A. (2022). Polyphenols as potent epigenetic agents for cancer. *International journal of Molecular sciences*. 23(19) : 11712.
 - Rao, A. V., Ph. D., Agarwal, S., Ph. D. (1999). Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. *Nutrition Research*. 19(2): 305-323.
 - Raynaud, J. (2006). Prescription et conseil en aromathérapie. Edition Technique Et Documentation, Lavoisier. P: 247.
 - Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free radical biology and medicine.26: 1231-1237.
 - Reis, J. F., Monteiro, V. V. S., Gomes, R. de S., do Carmo, M. M., da Costa, G. V., Ribera, P. C &Monteiro, M. C. (2016). Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: A systematic review of animal and human studies. *journal of translation medicine* .14 : 315.
 - Rezgoui, A., Anne-Claire, M., Tomofumi, M., Chiaki, T., Stéphanie, D., Patrick, D., Marie-Aleth, L. (2016). Oleanolic Acid and Hederagenin Glycosides from *Weigela Stelzneri*. *Phytochemistry*. 40-47.
 - Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Dunod. Paris : 317-436.
 - Ricciarelli, R., Zingg, J., Azzi, A. (2000). vitamin e reduces the uptake of oxidized ldl by inhibiting cd36 scavenger receptor expression in cultured aortic smooth muscle cells. *Circulation*. 102(1): 82-87.
 - Rice-evans .C. A., Miller. N . J., Bolwell .P.G., Bramley.P. M., Pridham .J. B. (1995) . The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic Flavonoids. *Free Radical Research*. 22(4): 375-383.
 - Risser, A., Donovan, D., Heintzman, J., Page, T. (2009). NSAID prescribing precautions. *American family physician*. 80 (12):1371-1378.
 - Rodrigues-Oliveira, T., Belmok, A., Vasconcellos, D., Schuster, B., Kyaw, C. M. (2017). Archaeal S-layers: overview and current state of the art. *Frontiers in microbiology*. 22(8): 2597.
 - Rota, M., Herrera, A., Martinez, R., Soto-Mayor, J., Jordán, M, (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*. 19(7): 681-687.
 - Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire (Chapitre 3). Copyright AFECAP.1-75.
 - Sannes, M. R, Kuskowski, M. A, Owens, K., Gajewski, A., Johnson, J. R. (2004). Virulence factor profiles and phylogenetic background of *Escherichia coli* isolates from veterans with

- bacteremia and uninfected control subjects. *The Journal of infectious diseases*. 190: 2121–2128.
- Sebbar, E., Naji, I., El-Mezgueldi, I., Choukri, M. (2023). Le stress oxydatif, une agression cellulaire [Oxidative stress, a cellular aggression]. *Actualités pharmaceutiques*. 62(626): 36-37.
 - Seeman, P. (1967). Transient holes in the holes in the erythrocyte membranbe during hypotonic hymolysis and stable holes in the membrane after lysis by saponin and lysolecithin. *Journal of Cell Biology*. 32 (1): 55-70.
 - Senhadji, I. (2019). Cours de pharmacologie. Les antibiotiques : Généralités. Faculté de médecine. Université Oran 1. P: 38.
 - Shahidi, F., Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 18: 757-781.
 - Shiau, I. L., Shih, T. L., Wang, Y. N., Chen, H. T., Lan, H. F., Lin, H. C., Yang, B. Y., Ko, C. H., Murase, Y. (2009). Quantification for Saponin from a Soapberry (*Sapindus mukorossi* Gaertn) in Cleaning Products by a Chromatographic and two Colorimetric Assays. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*. 54(1) : 215 – 221.
 - Sims. (1804). In: *Bot. Mag. t. 769, Pers. Syn. 2: 259*.
 - Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16 : 144-158.
 - Singleton, V. L. (1981). Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Advances in Food Research*. 27:149-242
 - Sirisha, S., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., Chetty, C. M. (2010). Antioxidant properties of *Ficus* species: a review. *International Journal of Pharmacy and Technical Research*. 2 (4): 2174-2182.
 - Smith, J., Lill, A. (2008). Importance of eucalypts in exploitation of urban parks by Rainbow and Musk Lorikeets. *Emu - Austral Ornithology*. 108(2), 187-195.
 - Somé, I. T., Zagré, M. N., Kafando, P. E., Bendeck, M. A., Baker, S. K., Deslile, H., Guissou, P. I. (2004). Validation d'une méthode de dosage des caroténoïdes par CLHP : application à la détermination de teneur en caroténoïdes dans dix variétés de patates douces (*Ipomea batata*). *Comptes rendus chimie*. 7 (10): 1063-1071.
 - Sousa, C., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R. M., Andrade, P. B. (2008). Tronchuda cabbage (*Brassica oleraceae* L. var. *costata* DC): scavenger of reactive nitrogen species. *Journal. Agric. Food Chem*. 56: 4205–4211.
 - Staniszewska M., Kula J, (2001). Composition of the essential oil from wild carrot. *L. ssp. carota* growing in Poland, *J Essent Oil Res*, 13: 439-441.
 - Sundar-Rao, K., Jones, G. P., Rivett, D. E., Tucker, D. J. (1998). Cyclopropene fatty acids of six seed oils from Malvaceae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 66(3): 360-361.
 - Sun, X., Zhang, Q., Zhou, H. (2021). Anthocyanins: from biosynthesis regulation to crop improvement. *Botany Letters*. 168(4): 546-557.
 - Vent. (1805). In: *Jard. Malm. t. 42*.
 - Ventrella, M. C., Marinho, C. R. (2008). Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordiaverbenacea* D-C. (*Boraginaceae*) leaves. *Brazilian Journal of Botany*. 31(3):457-467.
 - Vijayalakshmi, A., Ravichandiran, V., Malarkodi, V., Hemalatha, S., Sudharani, G., Jayakumari, S. (2011). Anti-Anaphylactic and Anti-Inflammatory Activities of a Bioactive Alkaloid from the Root Bark of *Plumeria Acutifolia* Poir. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1(5): 401-405.

- Watson, J. S. (1961). Feral Rabbit Populations on Pacific Islands. *Pacific Science*. 15(4): 591-593.
- Weese, J. S., van-Duijkeren, E. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary microbiology*. 140(3-4): 418-429.
- Well, J. H. (2001). *biochimie générale*. 183.
- Williams, P.A., Worsey M.J. (1976). Ubiquity of plasmids in coding for toluene and xylene metabolism in soil bacteria: evidence for the existence of new TOL plasmids. *Journal of Bacteriology*. 125(3): 818-828.
- Winks, L., Mccosker. T. (1994). Phosphorus nutrition of beef cattle in northern Australia. Department of Primary Industries, Queensland. P: 86.
- Wu, J., Hecker, J. G., Chiamvimona, N. (2009). Antioxidant enzyme gene transfer for ischemic diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 61(4): 351-363.
- Wu, J., Yang, G., Zhu, W., Wen, W., Zhang, F., Yuan, J., An, L. (2012). Anti-atherosclerotic Activity of Platycodin D Derived from Roots of *Platycodon grandiflorum* in Human Endothelial Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 35(8): 1216-1221.
- Yattoo, M. I., Arumugam, G., Archana, S., Oveas, R. P., Noore, A. T., Sandip, C., Ruchi, T., Kuldeep, D., Hafiz, M. N. I. (2018). Anti-Inflammatory Drugs and Herbs with Special Emphasis on Herbal Medicines for Countering Inflammatory Diseases and Disorders. *Recent patents on inflammation and allergy Drug Discovery*. 12(1): 39-58.
- Yous, F., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Cherift, N., Sebaihi, S., Saidene, N., Benloukil, M., Atmani, D. (2018). Anti-ulcerogenic and proton pump (H⁺, K⁺ ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. *South African Journal of Botany*. 119 : 390-399.
- Zhang, H., Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*. 8: 33-42.
- Zimmer, N., Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*. 9(3): 167-179.

Annexes





Annex 01 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes, tanins hydrolysables, tanins condensés, ABTS, saponine, NO et les sucres totaux.

Résumé:

Lagunaria patersonia appartient à la famille des *Malvaceae*, connue par une forte activité antifongique et antibactérienne.

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales locales, nous nous sommes intéressés au cours de cette étude à évaluer la teneur en composés phytochimiques après optimisation et en mesurant les activités antioxydantes, anti-inflammatoire et anti-bactérienne de EEGLP et EEFLP. Les teneurs en polyphénols étaient de $11,83 \pm 0,001$ mg/g, $22,66 \pm 0,001$ mg/g. Les flavonoïdes de $3,58 \pm 0,0009$ mg/g et $3,05 \pm 0,01$ mg/g. Les sucres totaux de $955,64 \pm 0,015$ mg /g et $92,005 \pm 0,02$ mg /g. Les saponines de $382,25 \pm 0,03$ mg/g, $24,1245 \pm 0,067$ mg/g. Les tanins condensés $124,48 \pm 0,0009$ mg/g, $189,28 \pm 0,01$ mg/g. Les tanins hydrolysables de $6,59 \pm 0,0009$ mg/g, $31,16 \pm 0,01$ mg/g. L'activité antioxydante a été confirmée par le test d'ABTS avec un IC50 d'ordre de $6,717$ mg/ml pour les graines et $3,041$ mg/ml pour les feuilles. L'activité anti-inflammatoire a été confirmée par le test d'inhibition de NO avec un IC50 d'ordre de $67,62$ mg/ml pour les graines et $22,34$ mg/ml.

Tous ces résultats confirment la richesse de l'EEGLP et l'EEFLP en composés bioactifs secondaires et leurs pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoire, des résultats confirmant l'utilité de l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle.

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

Abstract :

Lagunaria patersonia belongs to the *Malvaceae* family, known for its strong antifungal and antibacterial activity. As part of the valorization of local medicinal plants, during this study we were interested in evaluating the content of phytochemicals after optimization and by measuring the antioxidant, anti-inflammatory and anti-bacterial activities of EEGLP and EEFLP. The polyphenol contents were 11.83 ± 0.001 mg/g, 22.66 ± 0.001 mg/g. The Flavonoids of 3.58 ± 0.0009 mg/g and 3.05 ± 0.01 mg/g. The total sugars of 955.64 ± 0.015 mg /g and 92.005 ± 0.02 mg /g. The saponins of 382.25 ± 0.03 mg /g, 24.1245 ± 0.067 mg/g. The condensed tannins are 124.48 ± 0.0009 mg/g, 189.28 ± 0.01 mg/g. The hydrolyzable tannins are 6.59 ± 0.0009 mg/g, 31.16 ± 0.01 mg/g. The antioxidant activity has been confirmed by the ABTS test with an IC50 of about 6.717 mg/ml for the seeds and 3.041 mg/ml for the leaves. The anti-inflammatory activity was confirmed by the NO inhibition test with an IC50 of about 67.62 mg/ml for the seeds and 22.34 mg/ml. All these results confirm the richness of EEGLP and EEFLP in secondary bioactive compounds and their antioxidant and anti-inflammatory powers, results confirming the usefulness of the use of this plant in traditional medicine.

Key words: Optimization, *Lagunaria patersonia*, antioxidants, anti-inflammatory, polyphenols.

ملخص

تنتمي لاغوناريا باترسونيا إلى عائلة مالفاصي، المعروفة بنشاطها القوي المضاد للفطريات والبكتيريا. كجزء من تثمين النباتات الطبية المحلية، كنا مهتمين خلال هذه الدراسة بتقييم محتوى المركبات الكيميائية النباتية بعد التحسين وقياس الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والمضادة للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي من بذور وأوراق اللاغوناريا باترسونيا. كانت محتويات البوليفينول 11.83 ± 0.001 مجم / جم، 22.66 ± 0.001 مجم / جم. فلاونويدات 3.58 ± 0.0009 مجم/مجم و 3.05 ± 0.01 مجم/مجم. إجمالي السكريات 955.64 ± 0.015 ملجم / جم و 92.005 ± 0.02 ملجم / جم. الصابونين 382.25 ± 0.03 ملجم/مجم، 24.1245 ± 0.067 ملجم/مجم. العفص المكثف 124.48 ± 0.0009 مجم / جم، 189.28 ± 0.01 مجم / جم. العفص القابلة للتحلل المائي 6.59 ± 0.0009 مجم / جم، 31.16 ± 0.01 مجم / جم. تم تأكيد نشاط مضادات الأكسدة من خلال اختبار ABTS مع IC50 بحوالي 6.717 مجم/مل للبذور و 3.041 مجم/مل للأوراق. تم تأكيد النشاط المضاد للالتهابات من خلال اختبار تثبيط NO مع IC50 بحوالي 67.62 مجم/مل للبذور و 22.34 مجم/مل.

كل هذه النتائج تؤكد غنى المستخلص الإيثانولي من بذور وأوراق اللاغوناريا باترسونيا بالمركبات الثانوية النشطة بيولوجيا وقدرتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات، وهي نتائج تؤكد فائدة استخدام هذا النبات في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: الأمثل، لاغوناريا باترسونيا، مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب، البوليفينول.