



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Intitulé

**Dosage des composés phénoliques et détermination de  
l'activité antioxydante de *Malva sylvestris* L.**

Présenté par: BENKADDOUR Selma

BEN ABD ALLAH Souhila

Soutenu le: 09 Juillet 2019;

Devant le jury:

Président :

M<sup>me</sup> FELLAH Fahima

MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Encadrant :

M<sup>me</sup> SIOUDA Wafa

MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Examineur :

M<sup>lle</sup> BOUSSAHEL Soulef

MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2018/2019

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail A ;*

*Ma mère qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.*

*Mon père, et a toute ma famille.*

*Mes frères, qui ont été mon ombre durant toutes les années d'études, et qui ont veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mes grandes admirations, mes considérations et mes sincères affections pour vous. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi.*

*Mes amis et mes collègues pour les moments sympathiques qu'on a partagés.*

*Toutes personnes qui sont trop cher pour moi.*

*Ma copine Souhila qui me partage ce mémoire.*

*Selma*

*Dieu tout Puissant merci pour le pouvoir et le courage que vous nous a donné pour compléter ce travail.*

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :*

*A toute ma famille, pour votre amour, votre patience et encouragement durant toutes mes études, je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et de mon éternel amour.*

*A mon cher grand père, paix a son âme, tes prières ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études.*

*A mes chers Hocine, Hafsa et Saadia, école de mon enfance, symboles de courage et de volonté, trouve à travers ce modeste travail, récompense de votre affection, de vos sacrifices, de vos efforts et de votre patience. Que dieu vous donne longue vie.*

*A mes chères et adorables Sana et Rania qui ont toujours été à mes côtés pour m'apporter leurs aides et leurs encouragements. Que dieu vous protègent.*

*A mon petit adorable frère Djalel*

*A ma chère binôme Selma et sa famille.*

*A tous mes amis que j'ai vécus avec eux des beaux moments à l'université.*

*Souhila*

## Remerciements

En premier lieu, nous remercions notre Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la foi qui nous a guidés jusqu' à la réalisation de ce projet.

Nous désirons exprimer notre profond remerciement à M<sup>me</sup> FELLAH Fahima d'avoir accepté de présider le jury chargé d'évaluer ce travail, à notre encadreur M<sup>me</sup> SIOUDA Wafa d'avoir accepté de nous encadrés, et à M<sup>lle</sup> BOUSSAHEL Soulef d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Sans oublier d'exprimer nos vifs remerciements et toute notre gratitude à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation pendant cinq ans, et surtout M<sup>lle</sup> DEHIMI Khadidja qui nous a aidé beaucoup et nous a encouragé avec patience.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement pour l'aboutissement de ce travail.

## Résumé

*Malva sylvestris* connue sous le nom vernaculaire « Khobiz ou Amedjir » est une plante médicinale de la famille des Malvaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle à l'échelle mondiale. Le but de ce travail est le dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de *Malva sylvestris* L. à partir des feuilles et des (tiges + pétioles), en utilisant deux solvants de différentes polarités: l'éthanol (70%) et l'hexane (70%). Dans cette étude, il y'avait la mise en évidence de la détermination de la teneur en eau, puis l'investigation des composés phytochimiques, qui a montré la présence des composés phénoliques dans les extraits éthanoliques et leurs absences dans les extraits hénaniques. Concernant les résultats de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux ont constaté que l'extrait éthanolique des feuilles présente la teneur la plus importante ( $17,27 \pm 0,21$  mg EAG/g de poudre, et  $9,09 \pm 2,12$  mg EQ/g de poudre). L'étude quantitative a prouvé que l'extrait éthanolique des feuilles présente un pourcentage d'inhibition le plus efficace vis à vis du radical DPPH. Alors que, dans le test  $\beta$ -carotène/acide linoléique, la capacité inhibitrice la plus élevée est enregistrée dans l'extrait hénanique des tiges + pétioles qui est égale à 71,70%. En conclusion, cette étude a prouvé une certaine supériorité des feuilles et de l'extraction éthanolique, en polyphénols et flavonoïdes totaux et au piégeage du radical DPPH, tandis que, l'extrait hénanique des tiges +pétioles a démontré une forte inhibition dans le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique.

**Mots clés:** *Malva sylvestris*, extrait éthanolique, extrait hénanique, polyphénols, DPPH,  $\beta$ -carotène.

## Abstract

*Malva sylvestris* is known by the common name "Khobiz or Amedjir" which is a medicinal plant from Malvaceae family, used widely in traditional medicine across the world. The aim of this research is the determination of polyphenols and flavonoids content, and the evaluation of the antioxidant activity of *Malva sylvestris* L. from leaves and (stems + petioles), using two solvents with different polarity: the ethanol (70%) and hexane (70%). In this work, the percentage of humidity was evaluated, then an investigation of the phytoconstituents, which provided the presence of phenolic compounds in the ethanolic extracts and their absence in the hexane extracts. The results of the content of total polyphenols and flavonoids showed that the ethanolic leaves extract had the highest content ( $17.27 \pm 0.21$  mg EAG / g of powder, and  $9.09 \pm 2.12$  mg EQ / g powder). The quantitative estimation revealed that the ethanolic leaves extract has the most effective percentage of inhibition for the DPPH radical. Whereas, in the  $\beta$ -carotene / linoleic acid test, the highest inhibitory capacity was recorded in the hexane extract of the stems + petioles which is equal to 71.70%. In conclusion, this study proved some superiority of leaves and extraction by ethanol for total polyphenols and flavonoids and DPPH scavenging; while, the hexane extract of stems + petioles showed a strong inhibition in the  $\beta$ -carotene/linoleic acid test.

**Key words:** *Malva sylvestris*, ethanolic extract, hexanic extract, polyphenols, DPPH,  $\beta$ -carotene.

*Malva sylvestris*، والمعروف بالاسم الشائع "الخبيز أو أمجير" هي نبتة طبية من عائلة Malvaceae، وتستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في جميع أنحاء العالم. يهدف هذا العمل إلى دراسة قيمة عديدات الفينول، وتقييم نشاط مضادات الأكسدة *Malva sylvestris* في المستخلصات المحضرة من الأوراق و(السيقان+الأعناق) باستخدام مذيبين من قطبية مختلفة الايثانول (70%) والهكسان (70%). في هذه الدراسة، تم تحديد نسبة الماء، ثم التحقيق في المركبات الكيميائية النباتية، مما يدل على وجود عديدات الفينول في مستخلصات الايثانول وغيابها في مستخلصات الهكسان. النتائج المتحصل عليها لمحتوى عديدات الفينول والفلافونويد الكلية أظهرت أن مستخلص الايثانول للأوراق يحتوي على أعلى قيمة ( $17,27 \pm 0.21$  مغ EAG / غ من المسحوق، و  $9.09 \pm 2.12$  مغ EQ / غ من المسحوق). كشفت الدراسة الكمية أن مستخلص الايثانول للأوراق يحتوي على نسبة التثبيط الأكثر فعالية للجذر الحر DPPH. بينما في اختبار البيتا كاروتين / حمض اللينوليك، تم تسجيل أعلى قدرة مثبتة في مستخلص الهكسان للسيقان + أعناق أي ما يعادل 71.70%. في الختام، توضح هذه الدراسة تفوقاً للأوراق والنقع بواسطة الايثانول لعديدات الفينول والفلافونويدات الكلية ومحاصرة ال DPPH الجذري. بينما يظهر مستخلص الهكسان للسيقان والأعناق تثبيطاً قوياً في اختبار البيتا كاروتين / حمض اللينوليك.

**الكلمات المفتاحية:** *Malva sylvestris*، مستخلص الايثانول، مستخلص الهكسان، عديدات الفينول، DPPH، البيتا كاروتين.

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique.</b>	
<b>I.1 Présentation de la plante</b> .....	2
I.1.1 Généralité.....	2
I.1.2 Caractéristique botanique.....	2
I.1.3 Classification botanique.....	3
I.1.4 Nomenclature et appellation.....	4
I.1.5 Répartition géographique.....	4
I.1.6 Culture et récolte.....	4
I.1.7 Principaux constituants chimiques.....	5
I.1.8 Utilisation traditionnelle.....	5
I.1.8.1 Usages humains traditionnels.....	5
I.1.8.2 Usages vétérinaires traditionnels.....	6
I.1.9 Activités de <i>Malva sylvestris</i> .....	6
I.1.9.1 Activité antioxydante.....	6
I.1.9.2 Activité anti-inflammatoire .....	6
I.1.9.3 Activité antibactérienne et antifongique.....	6
I.1.9.4 Activité Antiproliférative.....	7
I.1.9.5 Activité hypoglycémiante.....	7
I.1.9.6 Effet antiulcéreux colique et laxative.....	7
I.1.9.7 Action de protection rénale.....	7
I.1.9.8 Action de protection nerveuse.....	7
I.1.9.9 Action de protection hépatique.....	7
I.1.9.10 Action de protection cardiaque.....	7
I.1.9.11 Action anti-acétylcholinestérase.....	8
I.1.9.12 Action cicatrisante.....	8
I.1.10 Toxicité.....	8
<b>I.2 Activité antioxydante</b> .....	8
I.2.1 Radical libre.....	8
I.2.2 Rôles biologiques des radicaux libres.....	9
I.2.3 Stress oxydant.....	9

I.2.4 Stress oxydant et pathologies humaines.....	10
I.2.5 Antioxydant.....	10
I.2.6 Composés phénoliques comme des antioxydants.....	11
I.2.6.1 Métabolites secondaires.....	11
I.2.6.2 Composés phénoliques.....	12
I.2.6.3 Mécanisme d'action des polyphénols.....	12

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

<b>II.1 Matériel.....</b>	<b>14</b>
II.1.1 Matériel végétal.....	14
II.1.2 Séchage, broyage et tamisage.....	15
<b>II.2. Méthodes.....</b>	<b>16</b>
II.2.1 Détermination de la teneur en eau (test d'humidité).....	16
II.2.2 Extraction et Préparation des extraits.....	16
II.2.3 Screening phytochimique.....	17
II.2.3.1 Polyphénols.....	17
II.2.3.2 Flavonoïdes.....	18
II.2.3.3 Tanins.....	18
II.2.3.4 Saponines.....	18
II.2.3.5 Sucres réducteurs.....	18
II.2.4 Dosage de quelques métabolites secondaires.....	18
II.2.4.1 Dosage des polyphénols totaux.....	18
II.2.4.2 Dosage des flavonoïdes totaux.....	19
II.2.5 Etude de l'activité antioxydante des extraits étudiés.....	19
II.2.5.1 Piégeage du radical DPPH.....	19
II.2.5.2 Test de $\beta$ carotène/acide linoléique.....	21
II.2.6 Analyse statistique.....	22

## **Chapitre III : Résultats et Discussion.**

<b>III.1 Détermination de la teneur en eau (test d'humidité).....</b>	<b>23</b>
<b>III.2 Screening phytochimique.....</b>	<b>24</b>
<b>III.3 Dosage de quelques métabolites secondaires.....</b>	<b>25</b>
III.3.1 Dosage des polyphénols totaux.....	26
III.3.2 Dosage des flavonoïdes Totaux.....	27
<b>III.4 Etude de l'activité antioxydante des extraits étudiés.....</b>	<b>28</b>

III.4.1 Piégeage du radical DPPH.....	29
III.4.2 Test de $\beta$ -carotène/acide linoléique.....	31
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>35</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>37</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>46</b>

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Figure qui représente <i>Malva sylvestris</i> L.	3
2	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	10
3	Structure du noyau phénol.	12
4	Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes.	13
5	La plante <i>Malva sylvestris</i>	14
6	Localisation géographique de la région de récolte.	15
7	Les parties récoltés de <i>Malva sylvestris</i>	15
8	Schéma d'extraction des extraits de <i>Malva sylvestris</i> .	17
9	Réduction du radical DPPH par un antioxydant.	20
10	Taux d'humidité (H <sub>2</sub> O %) et de matière sèche (MS %) de <i>Malva sylvestris</i> .	21
11	Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH• par les extraits.	29
12	Résultats du test DPPH	30
13	Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β-carotène	32

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I	Classification botanique de <i>Malva sylvestris</i> L.	3
II	Les noms vernaculaires de <i>Malva sylvestris</i> .	4
III	Les différents radicaux libres.	9
IV	Les différents mécanismes de l'activité antioxydante.	11
V	Pourcentage d'humidité dans les parties de <i>Malva sylvestris</i> .	21
VI	Analyse phytochimique des différents extraits et des deux parties étudiées de <i>Malva sylvestris</i> .	25
VII	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de <i>Malva sylvestris</i> .	26

## Liste des abréviations

$\text{AlCl}_3$  : Chlorure d'aluminium.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

DPPH : 2,2'-diphénylpicrylhydrazyl.

EOA: Espèces oxygénées activées

ERA : Espèces réactives de l'azote.

ERO : Les espèces réactives de l'oxygène.

$\text{FeCl}_3$  : Chlorure de fer.

$\text{H}_2\text{O}_2$  : Peroxyde d'hydrogène.

IC50 : Concentration d'inhibition 50%.

JC : Jésus Christ.

LDL : Low density lipoprotein .

NADPH oxydase: Nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate oxydase.

NO: Nitric oxide.

NOS : Nitric oxide synthase.

$\text{O}_2^-$  : Anion superoxyde.

$\text{OH}\cdot$  : Radical hydroxyle.

$\text{O}_2\cdot$  : Oxygène singulet.

RNS : Reactive nitrogen species.

$\text{ROO}\cdot$  : Radical peroxyde.

ROS : Reactive oxygen species.

SOD: Superoxyde dismutase.

UV/V: Ultra-violet/ Visible.

# **Introduction**

## **Introduction**

Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager et guérir ses maux, En fait, les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques, grâce à la présence de centaines, composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires (**Bouguerra A., 2011**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2008, plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé primaires, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Pierangeli G. et al., 2009**).

La valeur thérapeutique de la plante est due à ses métabolites secondaires, spécifiquement les composés phénoliques. La concentration de ces molécules peut varier d'un organe à l'autre de la même plante. Grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé, les études sur les composés phénoliques connaissent une importance croissante. En effet, ils interviennent dans la prévention et le traitement de maladies liées au stress oxydatif tels que les cancers, l'athérosclérose, le diabète, l'hypertension artérielle, les maladies neurodégénératives, l'arthrite...etc. (**Suhaj M., 2006**).

L'Algérie possède une flore riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve la famille des Malvacées. De nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules dotées d'effets thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Malva sylvestris*. Cette plante est largement utilisée pour traiter en générale les complications hépatiques et digestifs (**Hussain L. et al., 2014**).

L'objectif de notre travail vise à :

- ✓ La préparation des extraits à partir des feuilles et des (tiges + pétioles) de *Malva sylvestris* et la comparaison entre eux dans les polyphénols et l'activité antioxydante.
- ✓ Screening phytochimique des extraits.
- ✓ Affirmer la richesse de notre plante en polyphénols et en flavonoïdes.
- ✓ L'étude du pouvoir antioxydant des extraits de la plante par le test au DPPH, et le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique.

**Chapitre I :**  
**Synthèse**  
**bibliographique**

## **I.1 Présentation de la plante**

### **I.1.1 Généralité**

Les Malvacées sont des plantes dicotylédones, dialypétales thalamiflores, méristémones. C'est une famille cosmopolite mais présente surtout dans les régions chaudes des tropiques, bien que l'on trouve aussi des représentants des Malvacées dans les régions tempérées. Ainsi, le nombre de Malvacées diminue graduellement à mesure que l'on va vers le nord. Les Malvacées peuvent être des herbes ou des arbustes (**Flores M., 2011**). Les genres composant la famille des Malvacées sont nombreux (une centaine selon Delaveau, 2003; 85 selon Encyclopaedia universalis, 1999; 84 selon Echevin, 1964) (**Flores M., 2011**).

### **I.1.2 Caractéristique botanique**

*Malva sylvestris* (**Figure 1**), est une plante bisannuelle vivace, herbacée de la famille des *Malvaceae*. Elle a une racine pivotante et pulpeuse (**Quezel P. et Santa S.,1963; Greuter W. et al., 1989**).

Les feuilles sont penta lobées, crénelées et dentelées sur les bords à pétiole souvent plus court ressemblant un peu à celles du lierre avec une couleur verte foncée. La tige est étalée de 30 à 60 cm de long et le fruit est une capsule de graines réniformes avec un mode de dissémination barochore (**Quezel P. et Santa S.,1963; Greuter W. et al., 1989**).

La répartition des sexes des organes reproducteurs est hermaphrodite avec d'une part un type d'inflorescence racème de cymes unipares hélicoïdes et d'autre part un type de pollinisation entomogame et autogame(**Quezel P. et Santa S.,1963; Greuter W. et al., 1989**).

Les fleurs présentent un calice soudé à 5 lobes pubescents, et doublé d'un calicule de 3 pièces libres. Les pétales, de couleur rose violacée, cunéiformes et échancrés sur leur bord supérieur, possèdent une pilosité basale blanche et sont parcourus de veines foncées. Les étamines sont soudées par leur filet en un tube terminé par les anthères libres (**Salhi C., 2018**). La floraison de *Malva sylvestris* se produit entre Mai-Juin et Septembre (**Flores M., 2011**).



Figure 1: *Malva Sylvestris* L. (Tela botanica)

### I.1.3 Classification botanique

Tableau I: Classification botanique de *Malva sylvestris* L. (Ghédira K. et Goetz P., 2016).

Règne	Plantae (plante)
Super division	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina (Spermatophytes)
Classe	Dicotylédones
Ordre	Malvales
Famille	Malvaceae
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva sylvestris</i> L.

### I.1.4 Nomenclature et appellation

**Tableau II:** Les noms vernaculaires de *Malva sylvestris* L.

Nom scientifique	<i>Malva sylvestris</i>	Références
<b>Français</b>	Mauve des bois, Grande Mauve, Mauve sauvage, Fromageon	<b>(Ghédira K. et Goetz P., 2016)</b>
<b>Anglais</b>	Blue Mallow, High Mallow	
Nom kabyle	Amedjir	
<b>Arabe</b>	بريةخبازة	
<b>Synonyme(s) du nom scientifique</b>	<i>Malva erecta</i> Gilibert, <i>Althaea silvestris</i> Garcke	<b>(Hyppa)</b>

### I.1.5 Répartition géographique

Cette plante est originaire d'Europe, d'Afrique du Nord, d'Asie du Sud-ouest (**Mahin E. et al., 2015**). On la trouve surtout dans les terrains vagues, ainsi que sur le bord des chemins et des cultures (**Bonnier G. et Douin R., 1912-1935**).

Elle se présente partout à l'état sauvage dans les prairies, les pâturages, les lisières des forêts et dans les clairières (**Kolev M., 1976; Ozenda P., 1983**). La mauve se développe dans les régions humides, par contre elle redoute la chaleur de l'été, en général elle se développe dans les climats tempérés et dans les terres de consistance moyenne légèrement argileuse avec un habitat de type friches vivaces xérophiles (**Quezel P. et Santa S., 1963**).

Elle est nitrophile et préfère les sols pollués par les nitrates (**Fournier P., 1934-1940**). Son habitat de prédilection est le sol remanié des friches et des champs abandonnés ainsi que le bord des cultures. C'est une plante rudérale, elle croit dans les décombres. Elle peut pousser jusqu'à 1500 cm d'altitude (**Fournier P., 1934-1940; Fletcher N., 2007**).

### I.1.6 Culture et récolte

La culture des mauves réussit dans tous les sols, argileux ou calcaires. Elle préfère cependant les terres légères, riches en matières organiques et bien drainées. Lorsque le terrain est trop argileux, les feuilles jaunissent et les fleurs se développent moins (**Maghami P., 1979**). La propagation de la mauve est assurée à partir de graines récoltées l'année précédente. Le pouvoir germinatif des graines ne dure que 3 ans au plus (**Maghami P., 1979**).

La récolte des fleurs au fur et à mesure de leur épanouissement, au jour le jour et à la main. Les feuilles peuvent être ramassées pendant toute la durée de vie de la plante. Mais si elles sont atteintes de rouille, il est recommandé de ne pas les consommer (**Flores M., 2011**).

Les feuilles et les fleurs doivent être séchées rapidement à l'ombre et à l'air en couche mince pour éviter leur agglomération. Les fleurs de la mauve bleussent lors de la dessiccation, alors que les fleurs de la mauve à feuilles rondes restent violacées. Le séchage doit être rapide pour assurer la stabilité des mucilages uroniques et faire cesser l'activité des enzymes intracellulaires (**Canonne P., 1984; Ticli B., 1999**).

Les mauves doivent être conservées dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et doivent être consommées dans l'année, car elles ne se conservent pas plus de 12 mois (**Ticli B., 1999**).

### **I.1.7 Principaux constituants chimiques**

Les principaux composants sont:

- ✓ Mucilage qui donne la naissance après hydrolyse à plusieurs molécules, aux propriétés émoullientes et pectorales, ils sont généralement présents dans le tégument externe des graines et jouent un rôle important dans le processus de germination.
- ✓ Des flavonoïdes (fleurs et feuilles), tanins (feuilles), anthocyanosides et anthocyanidines contenus dans les fleurs.
- ✓ D'autres éléments tels que le calcium, phosphore, fer, potassium, magnésium et des vitamines A, B1, B2, B3 et C qui sont contenus dans les jeunes feuilles de la mauve (**Razavi M. S., 2011**).

### **I.1.8 Utilisation traditionnelle**

#### **I.1.8.1 Usages humains traditionnels**

Parmi les nombreuses espèces utilisées dans la médecine traditionnelle, *Malva sylvestris* se distingue par la variété de ses utilisations, sa consommation remontant à 3000 ans av. J.C. Dans la région de la Syrie, des études archéologiques ont montré l'existence des graines de *Malva sylvestris* dans le calcul dentaire des fossiles humains. Les chercheurs ont conclu que la consommation de cette espèce est ancienne, à la fois en tant que plante comestible et en raison de ses propriétés médicinales possibles (**Henry A. G. et Piperno D. R., 2008**).

Les utilisations comestibles concernent la gastronomie populaire et les utilisations généralement incluses dans l'alimentation dite mineure (**Barros L. et al., 2010; Guarrera P. M., 2003**), les jeunes feuilles sont consommées crues dans les salades, les feuilles et les

pousses sont consommées dans les soupes et sous forme de légumes bouillis. Les fruits immatures sont sucés ou mâchés par des enfants, des bergers et des chasseurs (**Barros L. et al., 2010; Neves J. M. et al., 2009**).

La mauve est traditionnellement utilisée par voie orale comme traitement symptomatique de la toux, adjuvant de la composante douloureuse des troubles fonctionnels digestifs, traitement asymptotique de la constipation (**Salhi C., 2018**). En usage local, elle est traditionnellement utilisée comme traitement d'appoint adoucissant et antiprurigineux des affections dermatologiques, trophique protecteur dans le traitement des crevasses, écorchures, gerçures et contre les piqûres d'insectes, antalgique dans les affections de la cavité buccale et/ou du pharynx, et en cas d'irritation ou de gêne oculaire (**Salhi C., 2018**).

### **I.1.8.2 Usages vétérinaires traditionnels**

*Malva sylvestris* est la plante la plus utilisée en médecine vétérinaire avec quinze utilisations différentes. Elle est utilisée principalement pour traiter les affections dermatologiques, les troubles digestifs et des problèmes respiratoires (**Akerreta S. et al., 2010**).

### **I.1.9 Activités de *Malva sylvestris***

#### **I.1.9.1 Activité antioxydante**

L'extrait méthanolique des feuilles de mauve présente une forte activité antioxydante avec piégeage des radicaux libres et s'oppose à la peroxydation lipidique dans les liposomes et les homogénats des cellules cérébrales. Les polysaccharides des feuilles de mauve ont un puissant effet de suppression de l'activité du 2,2'-diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) et des radicaux hydroxyles (**Ghédira K. et Goetz P., 2016**).

#### **I.1.9.2 Activité anti-inflammatoire**

L'extrait aqueux de mauve et la sulfadiazine amènent à une diminution des cellules inflammatoires au niveau d'une plaie (**Afshar M. et al., 2015**) et l'extrait hydroalcoolique des feuilles exerce une activité anti-inflammatoire par voie locale évaluée par inhibition de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris (**Conforti F. et al., 2008**).

#### **I.1.9.3 Activité antibactérienne et antifongique**

Ces dernières années, plusieurs études se sont efforcées de démontrer l'activité antibactérienne des mauves. L'extrait méthanolique inhibe la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* (**Flores M., 2011**). Aussi, l'extrait des fleurs a un fort pouvoir antibactérien contre *Staphylococcus aureus*, *S. agalactiae* et *Enterobacter faecalis* (**Razavi M. S. et al., 2011**). Les extraits aqueux obtenus à partir des feuilles de *Malva sylvestris* ont inhibé totalement la

croissance d'*Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp et *Fusarium culmorum* (Magro C. et al., 2006).

#### **I.1.9.4 Activité Antiproliférative**

L'extrait hydroalcoolique des feuilles est responsable d'une réduction significative de la prolifération des lignées cellulaires cancéreuses B16 et A375 (Daniela A. et al., 2007).

#### **I.1.9.5 Activité hypoglycémiante**

L'extrait de *Malva sylvestris* inhibe l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase, ce qui fait de ses fleurs une source d'antioxydant antidiabétique (Loizzo M. R. et al., 2015).

#### **I.1.9.6 Effet antiulcéreux colique et laxative**

Les polysaccharides de *Malva sylvestris* réduisent efficacement les signes d'inflammation dans la colite ulcéreuse, en particulier à titre préventif (Hamedi A. et al., 2015), et l'extrait aqueux de ses fleurs augmente la fréquence de défécation, diminution la constipation et le nombre de selles dures (Elsagh M. et al., 2015).

#### **I.1.9.7 Action de protection rénale**

Une décoction *Malva sylvestris* diminue la peroxydation lipidique, l'oxydation et les effets histopathologiques du parenchyme rénal engendrés par le méta vanadate (Marouane W. et al., 2011).

#### **I.1.9.8 Action de protection nerveuse**

Une étude a conclu que le traitement par la mauve sylvestre améliorait considérablement le dysfonctionnement cognitif en réduisant la neurodégénérescence et l'astrocytose dans les tissus cérébraux en diminuant le stress oxydatif et l'inflammation des cellules neuronales (Qin H. et al., 2017).

#### **I.1.9.9 Action de protection hépatique**

L'extrait méthanolique de *Malva sylvestris* peut protéger le foie de manière dose-dépendante des effets néfastes du paracétamol en diminuant considérablement les taux sériques de marqueurs enzymatiques hépatiques. La diminution des taux sériques de ces enzymes était en outre accompagnée d'une amélioration de l'histologie du foie chez les souris traitées par *Malva sylvestris*, qui présentaient remarquablement les effets hépatoprotecteurs (Hussain L. et al., 2014).

#### **I.1.9.10 Action de protection cardiaque**

La supplémentation en extrait de *Malva sylvestris* dans l'alimentation de rats traités au lithium a amélioré les altérations histologiques du groupe intoxiqué au lithium et réduit les

lésions cardiaques, ce qui pourrait être attribué aux propriétés antioxydantes de l'extrait de *Malva sylvestris* (Saad A. B. *et al.*, 2017).

#### **I.1.9.11 Action anti-acétylcholinestérase**

L'huile essentielle (issue des parties aériennes) inhibe l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase de 28% à une concentration de 0,1 mg/ml d'huile essentielle. Quant au décocté, il est responsable d'une inhibition de cette enzyme de 25% à une concentration de 5 mg/ml de décocté (Ferreira A. *et al.*, 2006).

#### **I.1.9.12 Action cicatrisante**

Il a été démontré que la racine de mauve en pommade accélère la cicatrisation des brûlures chez les rats. On observe ainsi au niveau des plaies traitées par *Malva sylvestris* une augmentation structurée des fibres de collagène, une augmentation des fibroblastes et la présence de seulement quelques cellules de l'inflammation. Les plaies présentent aussi une réduction de taille significative par rapport aux groupes témoins et une réépithélisation (Pirbalouti A. G. *et al.*, 2009).

#### **I.1.10 Toxicité**

Dans de très nombreux livres, on peut lire que *Malva sylvestris* ne présente aucune toxicité même à forte dose. Il n'y a donc pas d'effets indésirables, pas de contre-indication, ni d'interactions médicamenteuses à l'utilisation de la mauve sylvestre. C'est en partie pour cette raison qu'elle peut être utilisée chez les enfants et les personnes âgées (Wichtl M., 2003; Valnet J., 1992).

Cependant au Liban, l'usage populaire, veut que l'on évite la mauve sylvestre chez les patients anémiques. Car on la dit anémiante. Il n'existe actuellement pas de preuves scientifiques se référant aux effets anémiants d'espèces de Malva (Jeambey Z. *et al.*, 2009).

Certains auteurs déconseillent la mauve sylvestre aux femmes enceintes à cause de l'activité ocytotique des feuilles (Duraffourd C. et Lapraz J. C., 2002).

## **I.2 Activité antioxydante**

### **I.2.1 Radical libre**

Il s'agit d'un atome ou d'une molécule qui contient un (ou plusieurs) électron(s) non apparié(s), comme conséquence de la perte d'un (ou plusieurs) électron(s) de l'orbite externe, aboutissant à la formation d'une demi-liaison qu'il faut satisfaire par un pillage local d'électron(s) (Halliwell B. et Gutteridge J. M. C., 1999). Le tableau ci-dessous résume les différents radicaux libres.

**Tableau III:** les différents radicaux libres.

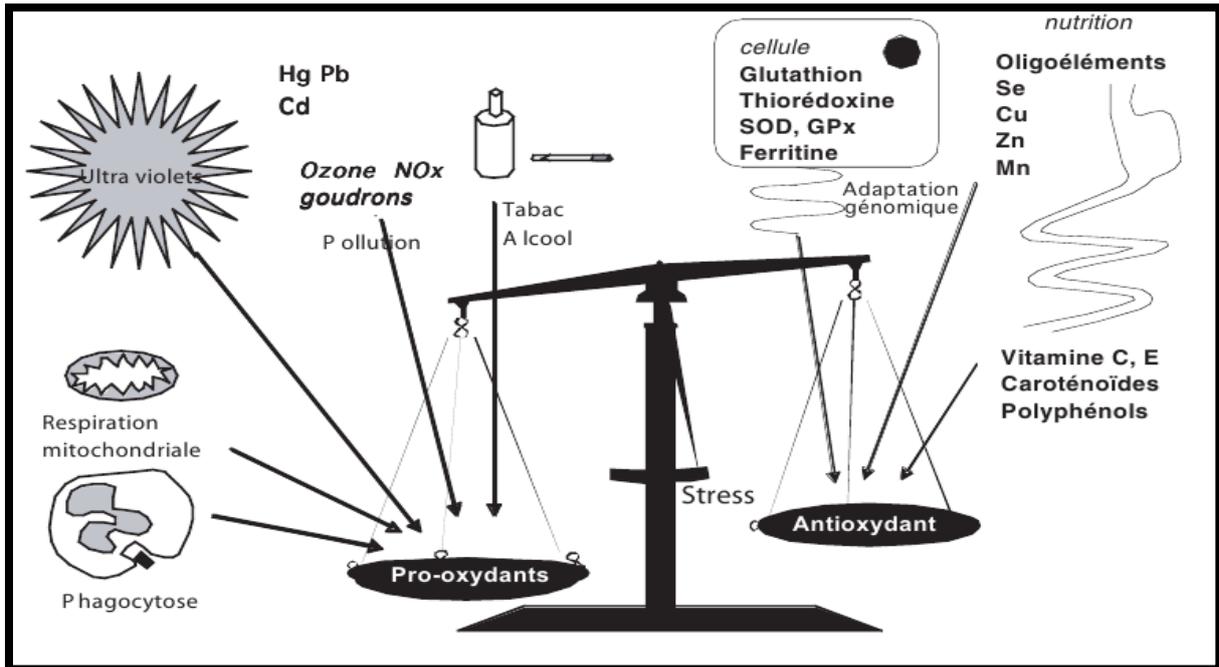
Radicaux libres	Définition	Références
<b>Les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS)</b>	Peuvent être des radicaux libres (comme $O_2^-$ : anion superoxyde, $OH$ : radical hydroxyle) ou des molécules non radicalaires mais néanmoins hautement instables (comme $O_2$ singulet).	<b>(Berger M. M., 2006).</b>
<b>Espèces réactives de l'azote (ERA ou RNS)</b>	Espèces réactives du NO sont essentiellement produites par la NO Synthase.	
<b>Radicaux soufrés</b>	Ont pour origine l'oxydo-réduction à un électron du couple disulfure/dithiol de protéines ou de petits peptides.	<b>(Chatgililoglu C. et Asmus K. D., 1990).</b>

### I.2.2 Rôles biologiques des radicaux libres

Les radicaux libres jouent des rôles essentiels dans le bon déroulement de la réaction immunitaire par l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydes dismutases (SOD) et la NO Synthase (NOS) qui aboutissent à  $O^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^{\bullet}$  et autres radicaux libres. La présence de chlore donnera la naissance à l'acide hypochlorique HOCl, c'est l'oxydant microbicide le plus puissant dans la phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires. Les radicaux libres peuvent aussi agir en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation **(Favier A., 2003).**

### I.2.3 Stress oxydant

C'est la perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défaillante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant **(Biesalski H. K. et al., 1997)**. Ce déséquilibre pro-oxydant/antioxydant peut avoir une origine exogène: molécules oxydantes, toxines telles que les métaux lourds toxiques; ou une origine endogène: dysfonctionnements de certaines sources de production et systèmes d'élimination des ROS **(Figure 2) (Favier A., 2003; Servais S., 2004).**



**Figure2:** La balance d'équilibre entre les systèmes pro et les antioxydants (Favier A., 2006).

#### I.2.4 Stress oxydant et pathologies humaines

Les radicaux libres réagissent avec les tissus voisins causant des lésions oxydatives par extension de proche en proche, lésant les acides nucléiques, les lipides, les protéines et les hydrates de carbone (Berger M. M., 2006). Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement et la dégradation des cellules et des tissus (Bonnet S. et al., 2010).

La recherche de ces deux dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant (Gutteridge J. M. C., 1993): cancer, cataracte, sclérose latérale, syndrome de détresse pulmonaire aigu, oxydation des LDL, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré et inflammation. Il sera aussi l'un des facteurs potentialisant la genèse de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier A., 2003).

#### I.2.5 Antioxydant

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Halliwell B. et Gutteridge J. M. C., 1990). Ces antioxydants peuvent être de deux natures différentes: des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques (Leverve X., 2009).

Donc, pour se protéger des effets délétères des espèces oxygénées activées (EOA), l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants: l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (**Haleng J. et al., 2007**).

Ces divers antioxydants ont des mécanismes de défense antioxydante différents (**Tableau IV**), pour préserver le bon fonctionnement de la cellule, parce que lorsque les défenses antioxydantes sont affaiblies ou dépassées, le stress oxydatif peut provoquer l'inactivation enzymatique et la peroxydation lipidique (**Halliwell B. et Gutteridge J. M. C., 1989; Farombi E. O., et al., 2007; Yildirim N. C., et al., 2011; Mélila M. et al., 2012**)

**Tableau IV:** les différents mécanismes de l'activité antioxydante

Mécanismes	Références
Piégeage des radicaux	( <b>Garcia-Lafuente A. et al., 2009</b> )
Prévention des attaques radicalaire	( <b>Hanaski Y. et al., 1994</b> )
Promouvoir l'activité des enzymes antioxydantes	( <b>Alia M. et al., 2006</b> )
Inhibition de l'activité des enzymes prooxydantes	( <b>Hong J. et al., 2001</b> )
Amélioration des molécules antioxydantes endogènes	( <b>Alia M. et al., 2006</b> )

## **I.2.6 Composés phénoliques comme des antioxydants**

### **I.2.6.1 Métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des composés appartenant à des groupes chimiques extrêmement divers, tels que les acides organiques, les composés aromatiques, les terpènes, les stéroïdes, les alcaloïdes, les carbonyles, et les composés phénoliques etc... (**Kintzios S. E. et Barberaki M. G., 2004**). Leur fonction dans les plantes est habituellement liée à la régulation métabolique, la croissance, le processus de lignification, la coloration de certaines parties des plantes et la protection contre l'attaque des organismes pathogènes (**Bratt M., 2000**). Les métabolites secondaires sont classés essentiellement en trois grandes familles: les polyphénols

ou bien les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge U. *et al.*, 2002; Abderrazak M. et Joël R., 2007).

### I.2.6.2 Composés phénoliques

Le groupe de métabolites secondaires le plus répandu du règne végétal ; plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues. L'élément structural fondamental qui caractérise ces composés est la présence d'au moins un noyau benzénique lié au moins à un groupe hydroxyle libre ou engagé avec une autre fonction: éther, ester ou hétéroside (Figure 3). Ce sont des pigments généralement responsables de la teinte des feuilles et les couleurs des fleurs et des fruits. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires des polyphénols sont les fruits, les légumes et les céréales (Martin S. et Andrian tsitohaina R., 2002; Bruneton J., 2009). Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques parmi lesquelles on distingue les flavonoïdes, tanins et acides phénoliques (Ballasundram N. *et al.*, 2007).

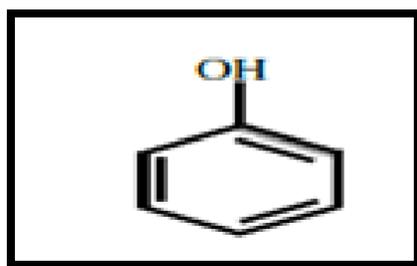


Figure 3: Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006).

### I.2.6.3 Mécanisme d'action des composés phénoliques

Les composés phénoliques agissent comme donneurs de protons ou d'électrons, comme chélateurs de métaux de transition (Márquez-García B. *et al.*, 2009), et comme inhibiteurs d'enzymes génératrices de radicaux libres et inducteurs de la synthèse d'enzyme antioxydantes (Hennebelle H. *et al.*, 2004).

L'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles (Macheix J. J. *et al.*, 2005).

#### ➤ Chélation des métaux

Les composés phénoliques inhibent la formation de radicaux libres par la chélation des métaux tels que: le Cuivre, le Fer et l'Aluminium. Ces ions métalliques renforcent les effets nocifs du stress oxydant, en stimulant la production des radicaux hydroxyles (OH.). Ces composés en chélatant les ions métalliques (Figure 4), forment des complexes de coordination avec ces métaux, en occupant tous les emplacements et peuvent ainsi convertir

les ions métalliques en complexes insolubles, empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (Virgili F. *et al.*, 2001; Lee J. *et al.*, 2004).

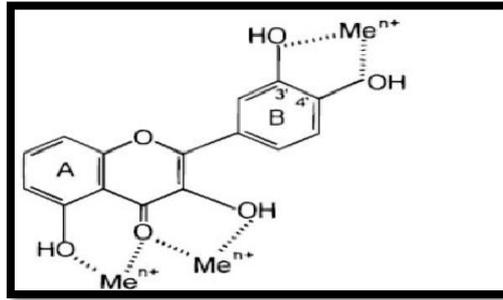
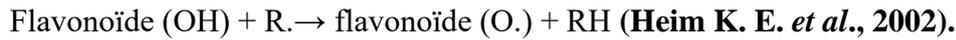


Figure 4: Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta P. G., 2000).

➤ **Neutralisation des radicaux libres**

Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces de radicaux libres, et ceci grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif contre l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et l'oxygène singulet, selon la réaction suivante :



Les flavonoïdes préviennent la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux libres, qui sont susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH<sub>2</sub> situé entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, et protègent ainsi les membranes cellulaires (Havsteen B. H., 2002).

➤ **Inhibition d'enzymes**

Les composés phénoliques affectent l'activité de nombreux systèmes enzymatiques impliqués dans le stress oxydant. Certains flavonoïdes comme l'apigénine, la quercétine et la myricétine inhibent la xanthine oxydase, qu'est considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique (Nijveldt R. J. *et al.*, 2001; Da Silva S. L. *et al.*, 2004).

# **Chapitre II :**

# **Matériel et Méthodes**

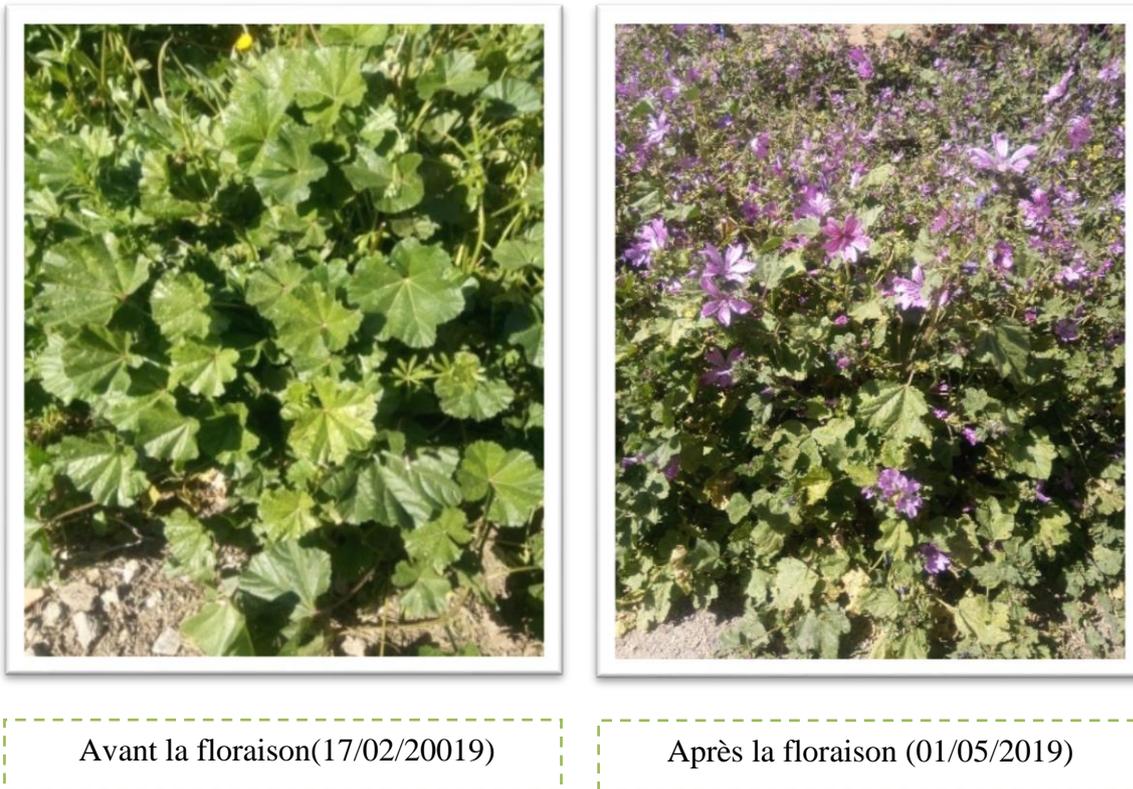
## **II. Matériel et Méthodes**

### **II.1 Matériel**

#### **II.1.1 Matériel végétal**

L'étude expérimentale a été réalisée sur les feuilles, pétioles et tiges d'une plante locale très connue qui est la mauve (*Malva sylvestris* L.) (**Figure 5**), cette plante appartient à la famille des Malvacées. La plante a été collectée le 17 Février 2019 dans un endroit naturel loin de la pollution situé dans la région de Bordj Zemmoura de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (**Figure 6**). La collecte est faite avant la période de floraison de la mauve, et les feuilles sont séparées des tiges et pétioles (ces 2 derniers sont regroupés).

L'identification botanique a été confirmée par Dr. Melouani Naziha au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj.



**Figure 5:** La plante *Malva sylvestris*.

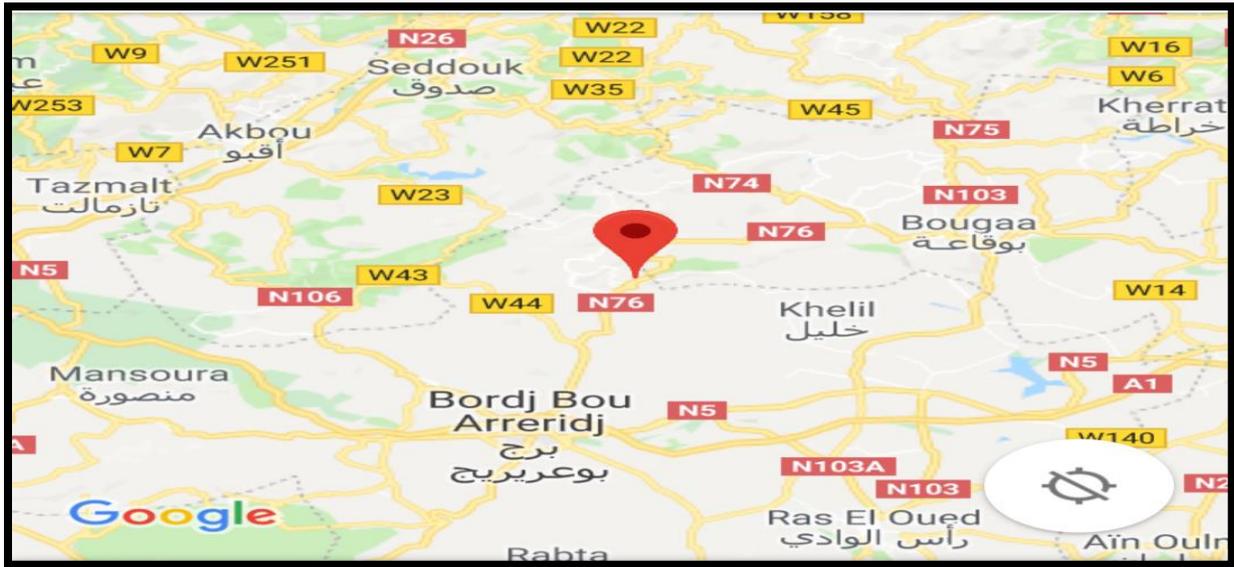


Figure 6: Localisation géographique de la région de récolte (Google maps)

### II.1.2 Séchage, broyage et tamisage

Les parties récoltées ont été nettoyées afin d'éliminer les poussières et les impuretés, puis séchées à l'air libre, à l'ombre (pour préserver au maximum l'intégrité des molécules) et à température ambiante pendant 13 jours dans la maison, et par la suite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine, puis tamisées par un tamiseur, la poudre obtenue a été conservée dans des sacs en papier et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation (Figure 7).

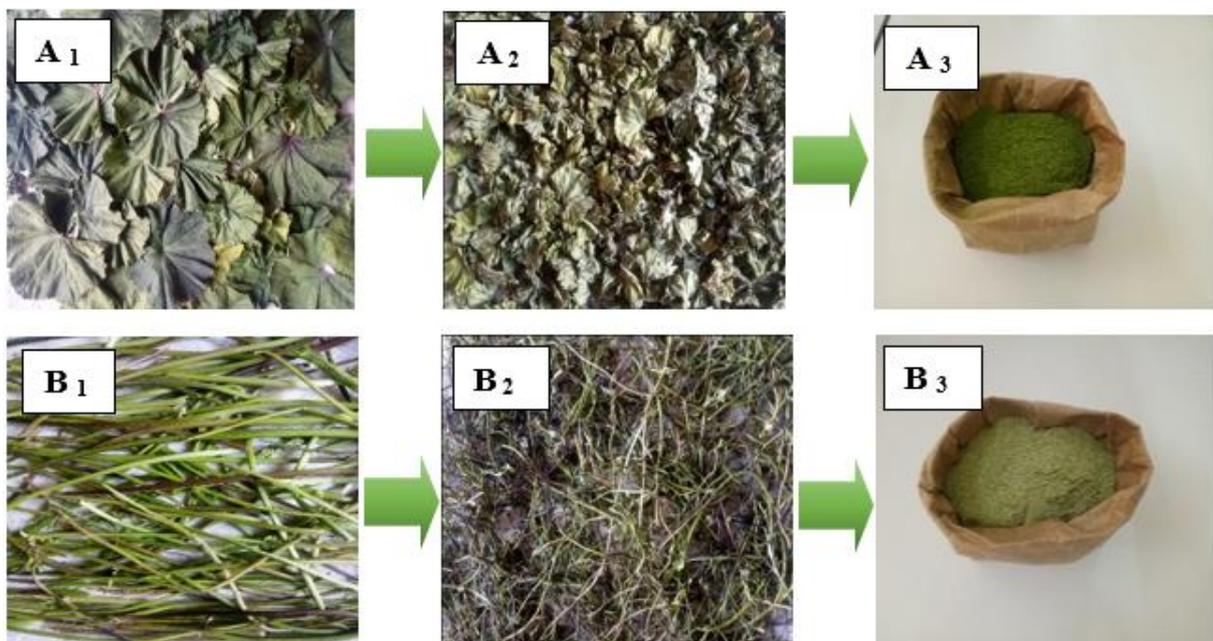


Figure 7: Les parties récoltées de *Malva sylvestris*(A): Les feuilles; (B): (Les tiges + Les pétioles), sous forme frais (1), séchées (2), et broyées (3).

## II.2. Méthodes

### II.2.1 Détermination de la teneur en eau (test d'humidité)

#### ❖ Principe

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale, il est exprimé en pourcentage. La méthode utilisée est la méthode de dessiccation par évaporation (Lako J. *et al.*, 2007).

#### ❖ Mode opératoire

L'humidité est mesurée par la méthode de séchage à l'étuve; une fois la plante a été lavée, le séchage de la matière végétale a été réalisé dans l'étuve à une température de 40°C pendant 24h. La différence entre le poids avant et après séchage exprime la teneur en eau de l'échantillon initial. La teneur en eau est définie comme la perte de masse subie dans les conditions de la mesure. Elle est exprimée par l'équation suivante (Lako J. *et al.*, 2007):

$$\text{TH (\%)} = [(P_F - P_S) / P_F] \times 100$$

Sachant que :

**TH** : taux d'humidité.

**P<sub>F</sub>** : poids frais.

**P<sub>S</sub>** : poids sec.

### II.2.2 Extraction et préparation des extraits

#### ❖ Principe

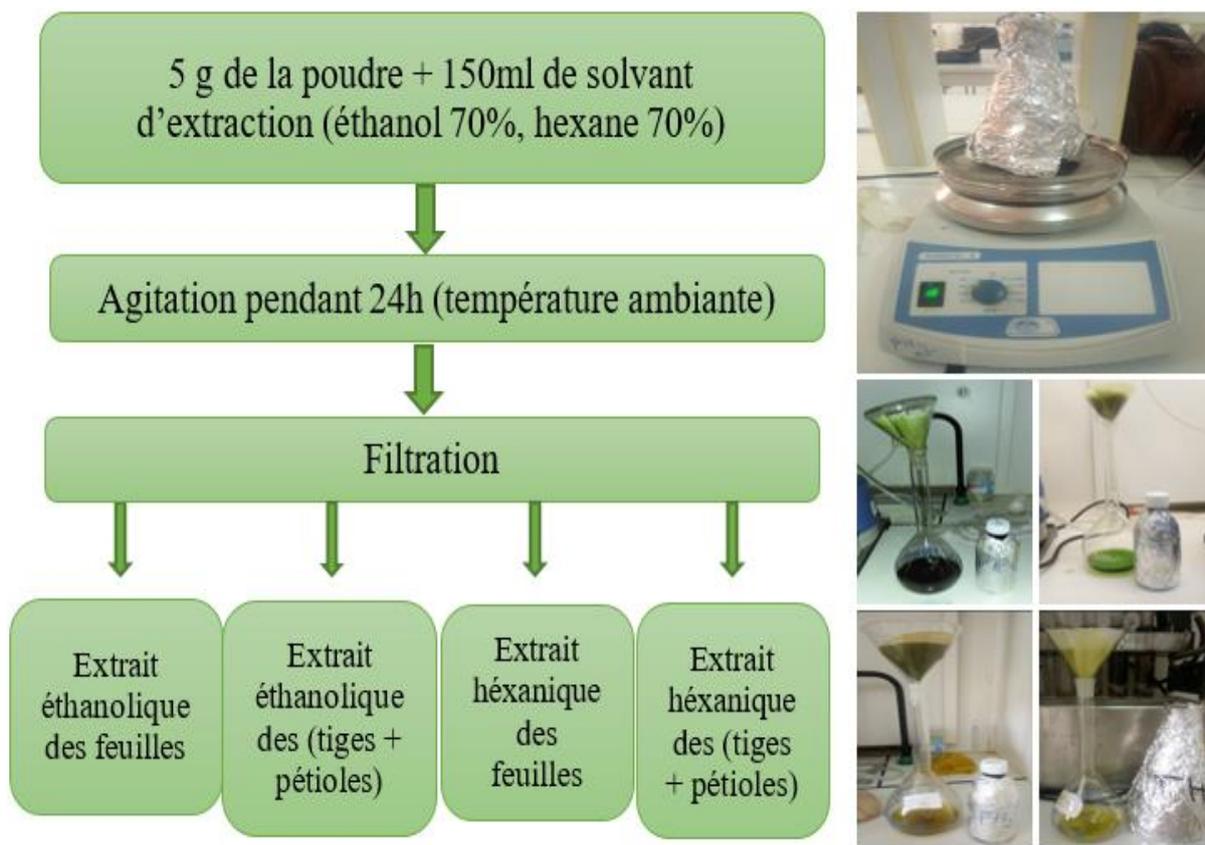
L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide des solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides, ou poudres exclusivement destinés à un usage orale ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handas S., 2008).

Dans la présente étude, la méthode utilisée est celle de l'extraction par macération, en utilisant deux solvants l'éthanol et l'hexane afin d'obtenir des extraits enrichis en molécules d'intérêt (composés phénoliques).

#### ❖ Mode opératoire

L'extraction a été effectuée par macération de 5 g de la poudre du matériel végétal de chaque partie : Feuilles et (Tiges + Pétioles) dans 150 ml du solvant. L'ensemble a subi une

agitation pendant 24h à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait est donc récupéré par une filtration à l'aide d'un papier filtre (papier wattman), le filtrat est récupéré et conservé dans des flacons en verre dans le réfrigérant (**Figure 8**).



**Figure 8:** Schéma d'extraction des extraits de *Malva sylvestris*

### II.2.3 Screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existant dans un extrait de la plante, pour mettre en évidence leur présence ou absence. Ces tests sont basés sur des réactions qui donnent des résultats (une coloration, ou précipité ou autre) par des réactifs spécifiques à chaque phytoconstituant. Les familles concernées par ces tests dans ce travail sont: les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, et les sucres réducteurs, en utilisant les protocoles suivants:

#### II.2.3.1 Polyphénols

2 ml de chaque extrait + 1 ml  $\text{FeCl}_3$  à 1%, sa donne une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée considéré comme une preuve de la présence des phénols dans l'extrait testé (**Rasool R. et al., 2010**).

### **II.2.3.2 Flavonoïdes**

2 ml de chaque extrait + quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  à 1%, l'apparition d'une coloration jaune dans le tube est un signe de la présence des flavonoïdes (**Békro Y. A. et al., 2007**).

### **II.2.3.3 Tanins**

2 ml de chaque extrait + quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 2%, le résultat est une coloration noire bleuâtre et un précipité indique la présence de ces composés dans l'échantillon à tester (**Bennehdi H. et al., 2012**).

### **II.2.3.4 Saponines**

1ml de chaque extrait + 1ml d'eau distillée + agitation pendant 10 min, induit la formation d'une mousse, si cette dernière est persiste pendant 20 min est un signe de présence des saponines dans l'extrait (**Sabri F. Z. et al., 2012**).

### **II.2.3.5 Sucres réducteurs**

1 ml de chaque extrait + 1 ml de la liqueur de Fehling, ce mélange est chauffé au bain marie à 70 °C pendant 2 à 3 min, la formation d'un précipité rouge brique indique une réaction positive (**Békro Y. A. et al., 2007**).

Les tests réalisés sur les 2 types d'extrait éthanolique et hexanique dans les mêmes conditions et par 3 répétitions.

## **II.2.4 Dosage de quelques métabolites secondaires**

Dans le but de déterminer la teneur en composés phénoliques des extraits de *Malva sylvestris*, deux protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes.

### **II.2.4.1 Dosage des polyphénols totaux**

#### **❖ Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction du réactif Folin (un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ )) par des composés phénoliques en milieu neutre (grâce à l'ajout du carbonate de sodium), ceci entraîne la formation d'un mélange de tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ) de couleur bleue, dont l'absorption maximale à 765 nm est proportionnelle aux taux de polyphénols présents dans l'extrait (**Enneb H. et al., 2015**).

#### **❖ Mode opératoire**

Un volume de 200 $\mu\text{l}$  d'extrait a été ajouté à 500 $\mu\text{l}$  de réactif de Folin-Ciocalteu à 10%. Après 5 mn, 1500  $\mu\text{l}$  de carbonates de sodium 7,5% ont été additionnés. Après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 30 min, puis la lecture a été faite à 765 nm par un

spectrophotomètre UV/V (**Beretta G. et al., 2005**). Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard, afin de déterminer les concentrations en phénol totaux des extraits exprimées en mg équivalent acide gallique/g de poudre.

#### **II.2.4.2 Dosage des flavonoïdes totaux**

##### ❖ **Principe**

Le dosage des flavonoïdes est effectué par la méthode de trichlorure d'Aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon P., 1968**).

##### ❖ **Mode opératoire**

La teneur en flavonoïdes a été effectuée par la méthode adoptée par **Bahorun T. et ses collaborateurs (1996)**. La méthode consiste à placer dans des tubes à essais et d'une manière successive, 1ml d'extrait et 1ml de solution d' $\text{AlCl}_3$  à 2%, après une incubation à l'obscurité pendant 10 min, l'absorbance de chaque solution est directement mesurée au spectrophotomètre UV/V à 430 nm. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent de la quercétine /gde poudre.

#### **II.2.5 Etude de l'activité antioxydante des extraits étudiés**

La capacité antioxydante des extraits étudiés a été évaluée dans ce travail par une série de 02 testes visant la détermination du piégeage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), et du  $\beta$ -carotène/acide linoléique, le premier appartient au mécanisme de piégeage des radicaux libres, et le deuxième test appartient au mécanisme de protection des antioxydants lipophiles à savoir la  $\beta$ -carotène.

##### **II.2.5.1 Piégeage du radical DPPH**

La méthode de piégeage du radical DPPH a été décrite pour la première fois par **Blois M. S.(1958)**, est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. Le DPPH (sa formule brute  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ ) est un radical libre synthétique stable violet en

solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517nm (Sanchez A. *et al.*, 2002).

#### ❖ Principe

A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui est changée par la couleur jaune au contact d'une substance donneuse de protons  $H^+$ . Cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Figure 9) (Moon J. K. et Shibamoto T., 2009).

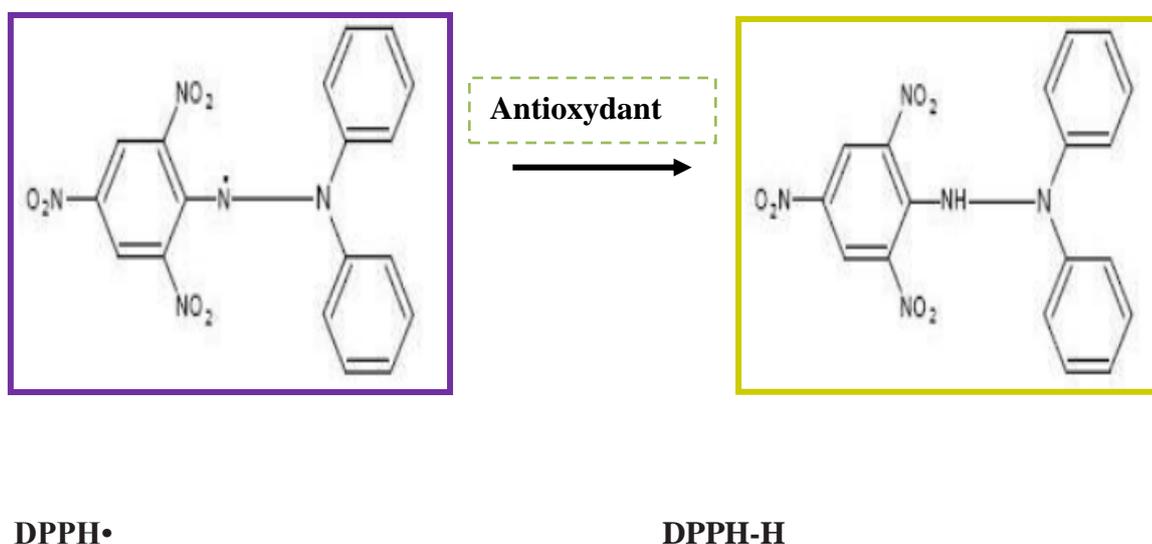


Figure 9: Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Endo T. *et al.*, 2006).

#### ❖ Mode opératoire

Après la préparation des dilutions ou des concentrations différentes des extraits dans les solvants d'extraction (éthanol et hexane), on prend 100  $\mu$ l de chaque extrait et de chaque concentration qu'on met dans un tube à essais et on additionne 1000  $\mu$ l de la solution de DPPH contre un control négatif (contenant du méthanol au lieu de l'extrait) et on prépare aussi le blanc qui contient 100 $\mu$ l de chaque extrait et 1000  $\mu$ l du méthanol. Les mélanges réactionnels sont immédiatement agités avant d'être placés pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante du laboratoire. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesuré à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/V.

Chaque test est répété trois fois, en suivant la méthode décrite par Seladji M. (2015) avec quelques modifications.

Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé suivant la formule :

$$PI = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Avec:

**PI**: pourcentage d'inhibition.

**A<sub>0</sub>** : absorbance du control (sans extrait)

**A<sub>1</sub>** : absorbance de l'extrait après 30 min

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50). Une faible valeur d'IC50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

### II.2.5.2 Test de $\beta$ -carotène/acide linoléique

#### ❖ Principe

La capacité antioxydante des extraits est estimée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. Le test est réalisé selon la méthode décrite par **Dapkevicius A. et ses collaborateurs (1998)**.

#### ❖ Mode opératoire

La préparation de la solution de  $\beta$ -carotène consiste à dissoudre 0.5 mg de  $\beta$ -carotène dans 1 ml de chloroforme, à laquelle on ajoute 25  $\mu$ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation de chloroforme par Rotavapor (40°C), 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés avec agitation vigoureuse. A partir de la nouvelle solution, on met 2.5 ml dans des tubes à essai et on ajoute 350  $\mu$ l de chaque extrait à une dilution de 1/5 ou de l'hydroxytoluène butylé (BHT) utilisé à concentration de 1 mg/ml comme contrôle positif, ou encore de l'éthanol, ou de l'hexane utilisés comme des contrôles négatifs. Chaque solution est répétée trois fois.

L'absorbance des solutions est mesurée à 490 nm au temps « 0 » puis à différents intervalles de temps : 1h, 2h, 3h, 24h. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la relation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (At / At0) \times 100$$

Où :

**At**: absorbance au temps (t).

**At0**: absorbance initiale.

### **II.2.6 Analyse statistique**

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type,  $n = 3$ . Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [%inhibition= $f$ (concentrations).

# **Chapitre III**

## **Résultats et Discussion**

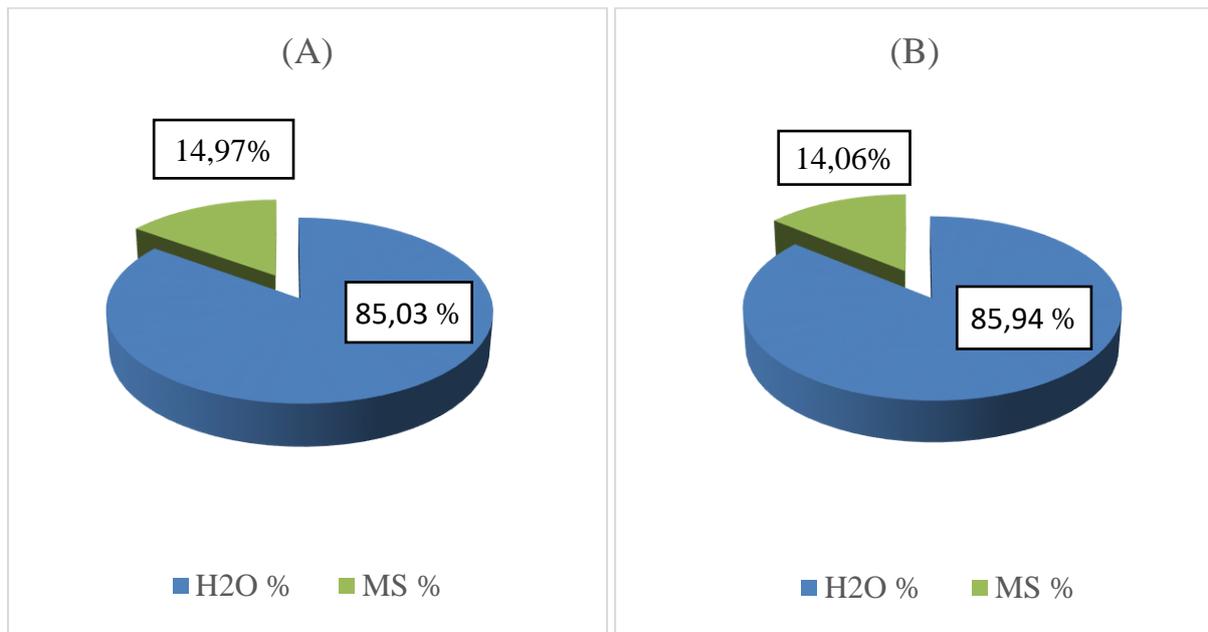
### III.1 Détermination de la teneur en eau (test d'humidité)

Pour la détermination du taux d'humidité de la matière végétale, un échantillon de masse bien déterminée ( $M_0$ ) est déposé pour être séché dans l'étuve jusqu'à ce que sa masse ( $M$ ) où l'humidité a été complètement éliminée. Les résultats obtenus suite à une dessiccation sont représentés dans le **tableau V**:

**Tableau V:** Pourcentage d'humidité de *Malva sylvestris*.

Parties	Teneur en eaux (%)
<b>Feuilles</b>	$85,03 \pm 2,82$
<b>(Tiges + pétioles)</b>	$85,94 \pm 1,17$

Les analyses de nos échantillons ont révélé un taux d'humidité très important pour les 2 parties de la plante, et des valeurs très proches : les feuilles ( $85,03 \pm 2,82\%$ ), (les tiges + les pétioles) ( $85,94 \pm 1,17\%$ ).



**Figure 10:** Taux d'humidité (H<sub>2</sub>O%) et de matière sèche (MS%) de *Malva sylvestris*;  
(A): Les feuilles, (B): (Les tiges + Les pétioles).

La teneur en eau de nos échantillons a révélé un taux d'humidité élevé par rapport aux taux de la matière sèche pour les feuilles et (les tiges + pétioles), cela signifie que plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constitué par l'eau (**Figure 10**).

En général, toutes les plantes sont riches en eau, surtout, les jeunes plantes contiennent entre 70 à 80 % d'eau, soit une valeur de 20 à 30 % de la matière sèche. Cette richesse en eau entraîne deux conséquences: d'une part, permet aux différentes parties de la plante d'utiliser au maximum leurs composés chimiques solubles, et d'autre part, elle ne leur accède pas d'être stockés à long terme à cause du risque de développement de certains microorganismes qui peuvent altérer leur qualité nutritionnelle (**Wattiaux M. A., 1997**).

D'après **Baros L. et son équipe (2010)**, les tiges à fleurs feuillue de *Malva sylvestris* ont présenté la plus forte teneur en humidité (77,26 g/100 g de poids frais), tandis que les fruits immatures ont montré la plus faible teneur en humidité (45,60 g/100 g de poids frais).

Une autre étude menée par **Reza T. et ses collaborateurs (2012)** est en accord avec nos résultats, que les feuilles de *Malva sylvestris* des différents échantillons ont contenu entre 82,80 et 86,23% d'humidité, et les pétioles de différents échantillons entre 82,65 et 83,53% d'humidité.

Les variations rencontrées dans les teneurs en eau de nos échantillons comparés à certains travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques (la différence de la nature du sol, du climat et de la région de la récolte de la plante), l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

### III.2 Screening phytochimique

La détection des différentes familles des composés chimiques existant dans la plante est l'un des objectifs essentiels de l'examen phytochimique. Ceci constitue la première étape de la recherche des molécules actives présentes dans la plante étudiée.

L'étude phytochimique de *Malva sylvestris* a été basée sur des tests effectués au laboratoire par 3 répétitions. Les résultats des essais réalisés sur les deux parties: feuilles et (tiges + pétioles) sont regroupés dans le **tableau VI**:

**Tableau VI:** Les Analyses phytochimiques des différents extraits de *Malva sylvestris*.

Phytoconstituants	Extraits éthanoliques		Extraits héliques	
	Feuilles	(Tiges + Pétioles)	Feuilles	(Tiges + Pétioles)
<b>Phénols</b>	+	+	-	-
<b>Flavonoïdes</b>	+	+	-	-
<b>Tanins</b>	-	-	-	-

<b>Saponines</b>	–	–	–	–
<b>Sucres réducteurs</b>	–	+	–	–

(–) Absence, (+) Présence.

Les tests utilisés dans l'étude phytochimique préliminaire sont des méthodes simples qui donnent une idée générale sur les différents groupes de composés contenus dans chaque fraction de la plante (**Tiwari P. et al., 2011**).

Les résultats cités dans le tableau montrent l'existence dans les extraits éthanoliques des phénols, et des flavonoïdes dans les deux parties étudiées de la plante et la présence des sucres réducteurs dans les tiges + pétioles seulement. L'absence des tanins, et des saponines a été confirmée. Pour les extraits hexaniques, dans les deux parties de la plante, on observe l'absence de toutes les molécules ciblées par ce screening.

**Shelbaya L. A. M. et ses collaborateurs (2011)** ont été remarqués que les extraits des feuilles de *Malva sylvestris* égyptienne contiennent des tanins, des saponines, des flavonoïdes et des glucides. En comparant avec nos résultats, on remarque qu'il ya une différence dans la composition de la même espèce, cette différence peut être due de la nature du sol et la différence entre le climat égyptien et algérien.

D'autre part, **Sabri F. Z. et ses collaborateurs (2012)** ont montré que la tige de *Malva sylvestris* contient une grande quantité de flavonoïdes et tanins. Par contre, amidon, saponines, alcaloïdes, stérols, stéroïdes, et composés réducteurs, sont présentés en petites quantités. Cependant, le screening phytochimique des extraits de la graine de *Malva sylvestris* a révélé la présence d'alcaloïdes en grandes quantités avec les sucres réducteurs, les stérols et les stéroïdes. Et d'autres classes sont présentées en petites quantités comme: tanins, amidon, et coumarines, avec l'absence de saponines et de flavonoïdes.

Aussi, les résultats de **Sadegh M. et son équipe (2016)** du criblage phytochimique des fleurs de *Malva sylvestris* qui ont été récoltées à partir des ressources naturelles de l'Iran, ont révélé la présence de phytoconstituants, notamment anthocyanes, vitamines, alcaloïdes, saponine, flavonoïdes, tanins et composés phénoliques.

### III.3 Dosage de quelques métabolites secondaires

Dans le but d'évaluer les teneurs en molécules actives des extraits préparés à partir de la poudre de *Malva sylvestris*, un dosage des composés phénoliques totaux est effectué. Les résultats sont présentés dans le **tableau VII**.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux issus des extraits de *Malva sylvestris* montre que les extraits éthanoliques contiennent la plus grande proportion en polyphénols et flavonoïdes, ils sont plus riches que les extraits hexaniques qui ne possède qu'une petite quantité considérée négligeable, ce qui confirme les résultats de screening phytochimique.

**Tableau VII:** Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de *Malva sylvestris*.

Paramètres	Extraits éthanoliques		Extraits hexaniques	
	Feuilles	(Tiges + Pétioles)	Feuilles	(Tiges + Pétioles)
<b>TPC</b> (Total Phenolics Content) mg EAG/g de poudre	17,27±0,21	10,60 ± 1,81	1,66 ± 0,30	0,60 ± 0,06
<b>TFC</b> (Total Flavonoids Content) mg EQ/g de poudre	9,09 ± 2,12	6,96 ± 0,15	0,93 ± 0,03	0,66 ± 0,12

**EAG** : équivalent d'acide gallique, **EQ** : équivalent de quercétine.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

### III.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées car, ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, etc...). La quantité des polyphénols correspondante de chaque phase a été rapportée en équivalent d'acide gallique par gramme de poudre.

Les dosages des extraits éthanoliques ont montré que la teneur la plus élevée en polyphénols a été trouvée dans les feuilles: **17,27 ± 0,21 mg EAG/g de poudre** par rapport les (tiges +pétioles) qui possédant une quantité moins importante égale à **10,60 ± 1,81mg EAG/gde poudre**. Alors que, les extraits hexaniques présentent des faibles teneurs en polyphénols, dans les feuilles égale à **1,66 ± 0,30 mg EAG/gde poudre**, et **0,60 ± 0,06mg EAG/g de poudre** dans les (tiges + pétioles).

Ces résultats révèlent une différence notable entre les différents extraits, cette variation est probablement due à la nature du solvant et les composés de chaque fraction et leurs propriétés. En effet, il a été constaté dans cette étude que le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols est l'éthanol qui est confirmé par les résultats trouvés par **Beghdad M. C. et**

**ses collaborateurs (2014)** sur *Malva sylvestris*:  $24,123 \pm 0,718$  mg EAG/g d'extrait de feuilles en utilisant l'éthanol comme solvant à 96% par macération, alors que dans l'extrait de tige, cette concentration était  $2,173 \pm 0,038$  mg d'EGA/g d'extrait.

Une autre étude réalisée par **Ouldyeou K. et son équipe (2018)** sur les tiges de la même espèce, ils ont prouvé  $443,33 \mu\text{g}$  EAG/g de matière sèche pour un extrait méthanolique obtenu par macération. D'autre part, **Aysegul K. et Esra A. (2008)** ont trouvé dans les extraits méthanoliques de la partie aérienne  $1,65 \pm 0,04$  mg EAG/g de matière sèche, sachant que le matériel végétal a été collecté en Turquie avant la floraison.

En général, la concentration en composés phénoliques est plus élevée dans les extraits isolés des feuilles, que dans l'extrait de tige + pétioles. Cette variation peut s'expliquer par la présence d'autres composés et / ou de différents types de phénols (**Harbone J. B. et Williams C. A., 2000**). D'autres chercheurs ont également constaté une teneur plus élevée en phénol dans les feuilles que dans les fleurs (**Barros L. et al., 2010**).

La variabilité des teneurs en polyphénols chez les espèces végétales est due probablement à la composition phénolique des extraits (**Hayouni E. et al., 2007**), aux facteurs génotypiques (**El-Waziry A. M., 2007**), aux conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (**Ksouri R. et al., 2008**), à la nature du sol et le type du microclimat (**Atmani D. et al., 2009**).

Néanmoins, les résultats du dosage des composés phénoliques ne donnent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols. D'après **Huang D. et ses collaborateurs (2005)** ont constaté que ce dosage n'est pas spécifique parce que le réactif Folin-Ciocalteu ne permet qu'une appréciation globale des agents réduisant le complexe phosphotungstique / phosphomolybdique, aussi, d'après **Fukushima Y. T. et son équipe (2009)** toutes les molécules réductrices comme les sucres réducteurs ou la vitamine C, sont dosées, ce qui par conséquent rend ce dosage non sélectif vis-à-vis des polyphénols en surestimant les valeurs obtenues.

### **III.3.2 Dosage des flavonoïdes Totaux**

Les flavonoïdes sont des molécules très importantes en phytothérapie qui proviennent du métabolisme végétal, on les retrouve dans les différentes parties de la plante. Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et l'étalon a été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poudre.

Les extraits éthanoliques présentent des teneurs plus élevée dans les feuilles ( **$9,09 \pm 2,12$  mg EQ/g de poudre**) suivie par les (tiges + pétioles) ( **$6,96 \pm 0,15$  mg EQ/g de poudre**).

Concernant les extraits hénaniques, les teneurs sont les plus faibles, avec **0,93 ± 0,03mg EQ/g de poudre** dans les feuilles et **0,66 ± 0,12 mg EQ/g de poudre** dans les (tiges + pétioles).

Les feuilles sont les plus riches en flavonoïdes et cela explique leurs propriétés thérapeutiques en médecine traditionnelle. **Beghdad M. C. et ses collaborateurs (2014)** ont trouvés que les feuilles et les tiges de *Malva sylvestris* présente une teneur de 5,694±0,017 mg équivalent de rutine/g d'extrait, 0,018 ± 0,001mg équivalent de rutine/g d'extrait respectivement, qui ont utilisé l'éthanol comme solvant à 96% par macération.

Une autre recherche réalisée par **Ouldyrou K. et son équipe (2018)** ont utilisées le méthanol comme solvants, ils ont obtenu à partir de la tige de cette espèce une quantité de flavonoïdes égale à 898,66 µg EQ/g de matière sèche.

Nous constatons que le taux le plus élevé a été obtenu par l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait hénanique, cela serait dû au fait que les flavonoïdes sont des molécules très polaires, résultant de leur richesse en groupements hydroxyles, donc se solubilisent facilement dans les solvants polaires (**Bimakr M. et al., 2011; Pietta P. G., 2000**). La faible teneur en flavonoïdes peut être dû à la présence de plusieurs composés dans les extraits hénaniques qui engendrait un encombrement stérique et qui empêcherait aussi la formation du complexe entre les groupements hydroxyles des flavonoïdes et le Al<sup>+3</sup> du chlorure d'aluminium.

Cette répartition des flavonoïdes entre les différentes fractions est due aussi aux multitudes formes structurales de ces derniers qui leurs permettent d'avoir plusieurs types d'interactions selon la nature des solvants, ils peuvent avoir:

- Des interactions de type hydrophobe avec les solvants apolaires;
- Des interactions dipolaires avec les solvants polaires;
- Des liaisons hydrogènes avec les solvants de type eau, alcool et amine;
- Des interactions de type électrostatique (**Erkoc S. et al., 2003**).

D'après ces résultats, on constate que la teneur en flavonoïdes dépend de la méthode d'extraction, la nature du solvant, la partie de la plante utilisée, la température et de la taille des particules constituant la poudre de la plante.

#### **III.4 Etude de l'activité antioxydante des extraits étudiés**

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche

avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructif et même nécessaire (Ozturk M. *et al.*, 2007).

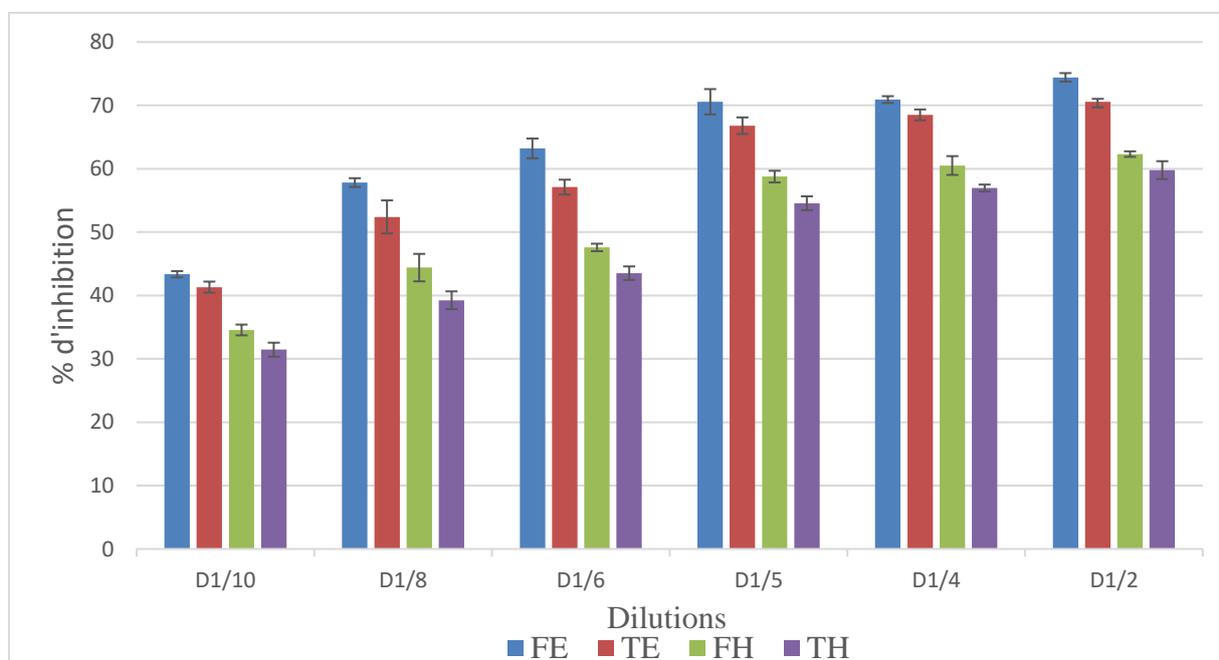
Donc, la mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de la plante a été réalisée par deux techniques chimiques différentes in vitro:

- Le piégeage du radical libre DPPH et,
- Le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène.

#### III.4.1 Piégeage du radical DPPH

Le radical DPPH est généralement l'un des composés le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical et la simplicité de l'analyse (Bozin B. *et al.*, 2008). Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H est formée, d'où l'évaluation de l'activité antioxydante en fonction de l'équivalence en acide ascorbique; la méthode consiste à comparer l'absorbance de nos échantillons à celle d'une droite d'étalonnage qui relie l'absorbance à la concentration.

D'après les résultats représentés (Figure 11), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des différents extraits de la plante. Donc, l'activité antiradicalaire est proportionnelle à la concentration de l'extrait.



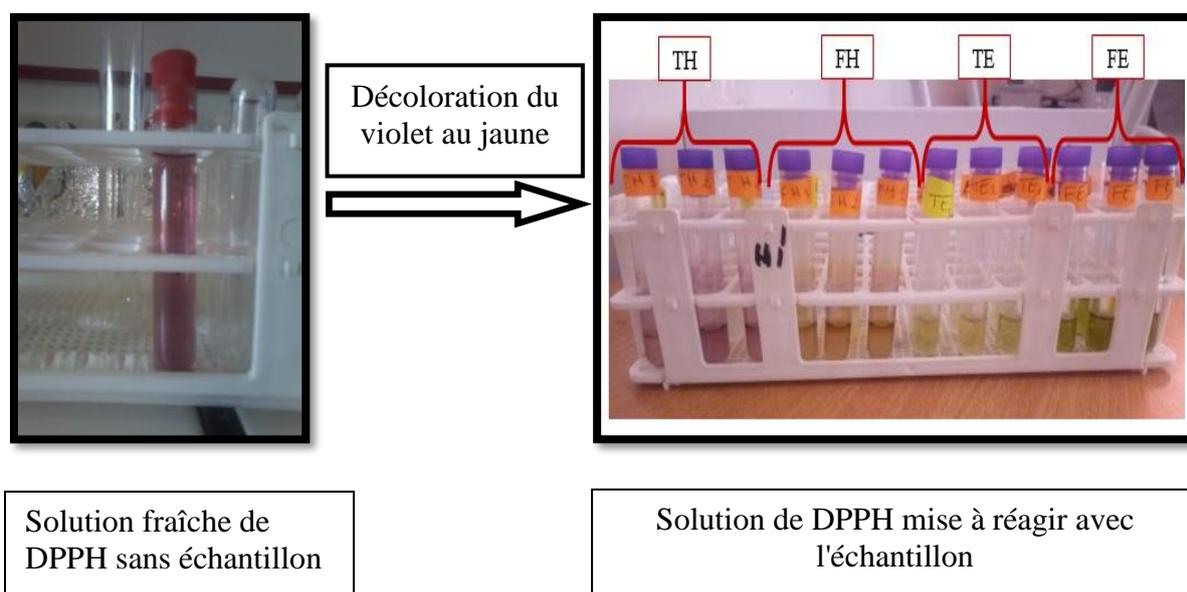
**FE:** Feuilles Ethanol, **TE:**(Tiges + Pétioles) Ethanol;

**FH:** Feuilles Hexane, **TH:** (Tiges + Pétioles) Hexane.

**Figure 11:** Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH• par les extraits. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD)

Les résultats montrent que la dilution 1/2 de feuilles inhibe  $74,42 \pm 0,67\%$  du DPPH et les (tiges + pétioles) inhibent  $70,56 \pm 0,47\%$ , alors que les extraits hexaniques présentent des inhibitions égales à  $62,31 \pm 0,43\%$  (feuilles) et  $59,78 \pm 1,41\%$  (tiges + pétioles). Donc, les extraits éthanoliques présentent le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport au extraits hexaniques, ainsi que les feuilles sont plus efficaces que les (tiges + pétioles).

L'analyse des résultats du test DPPH a montré une différence significative entre les extraits éthanoliques et les extraits hexaniques pour chaque partie de la plante (**Figure 12**).



**Figure 12:** Résultats du test DPPH

L'inhibition du radical DPPH est exprimée en IC50; ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hebi M. et Eddouks M., 2016**).

Les extraits éthanoliques, présentent un pourcentage d'inhibition supérieur à 50% avec la dilution 1/8, et les extraits hexaniques avec la dilution 1/5, alors que, l'IC50 de l'acide ascorbique est égale à 0,037 mg/ml.

L'analyse des résultats a montré que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est influencé par le type du solvant et la partie choisie de la plante. Donc, l'extrait éthanolique des feuilles a une activité antioxydante la plus puissante par rapport aux autres extraits.

Une décoction sans dilution de la partie aérienne de la plante étudiée a révélé un pourcentage d'inhibition du DPPH égale à 30%, et aucune activité (activité  $\leq 5\%$ ) a été enregistré par l'extrait éthanolique (Ferreira A. *et al.*, 2006). L'extrait aqueux issu des parties aériennes de Malva est responsable d'une inhibition de 24% du DPPH à une concentration de 20mg/ml (Ghédira K. et Goetz P., 2016).

Une autre étude menée par Jaradat N. A. et ses collaborateurs (2015) a obtenu une IC50 égale à 40.2  $\mu\text{g/ml}$  par l'extrait méthanolique de feuilles, autre recherche réalisée par Gasparetto J. C. et son équipe (2011) a trouvé une IC50 égale à 4.47 mg/ml à partir d'un extrait méthanolique obtenue par décoction des feuilles de *Malva sylvestris*.

Conforti F. et ses collaborateurs(2008) ont démontré que l'extrait hydroalcolique de *Malva sylvestris* présente une activité antiradicalaire du DPPH avec une IC50 est 606  $\mu\text{g/ml}$ . Aussi, Wang Z. (2005) a montré que les anthocyanines de la mauve sylvestre sont des piègeurs puissants des radicaux libres. Cette différence d'efficacité de *Malva sylvestris* dépend généralement, de la région de cueillette et du stade physiologique de la plante. (Samaniego-Sánchez C. *et al.*, 2007).Mavi A. et son équipe (2004) ont constaté que l'extrait méthanolique des feuilles d'autres espèces du genre Malva (*Malva neglecta*) inhibe le radical DPPH avec une IC50 égale à 2,24 mg/ml.

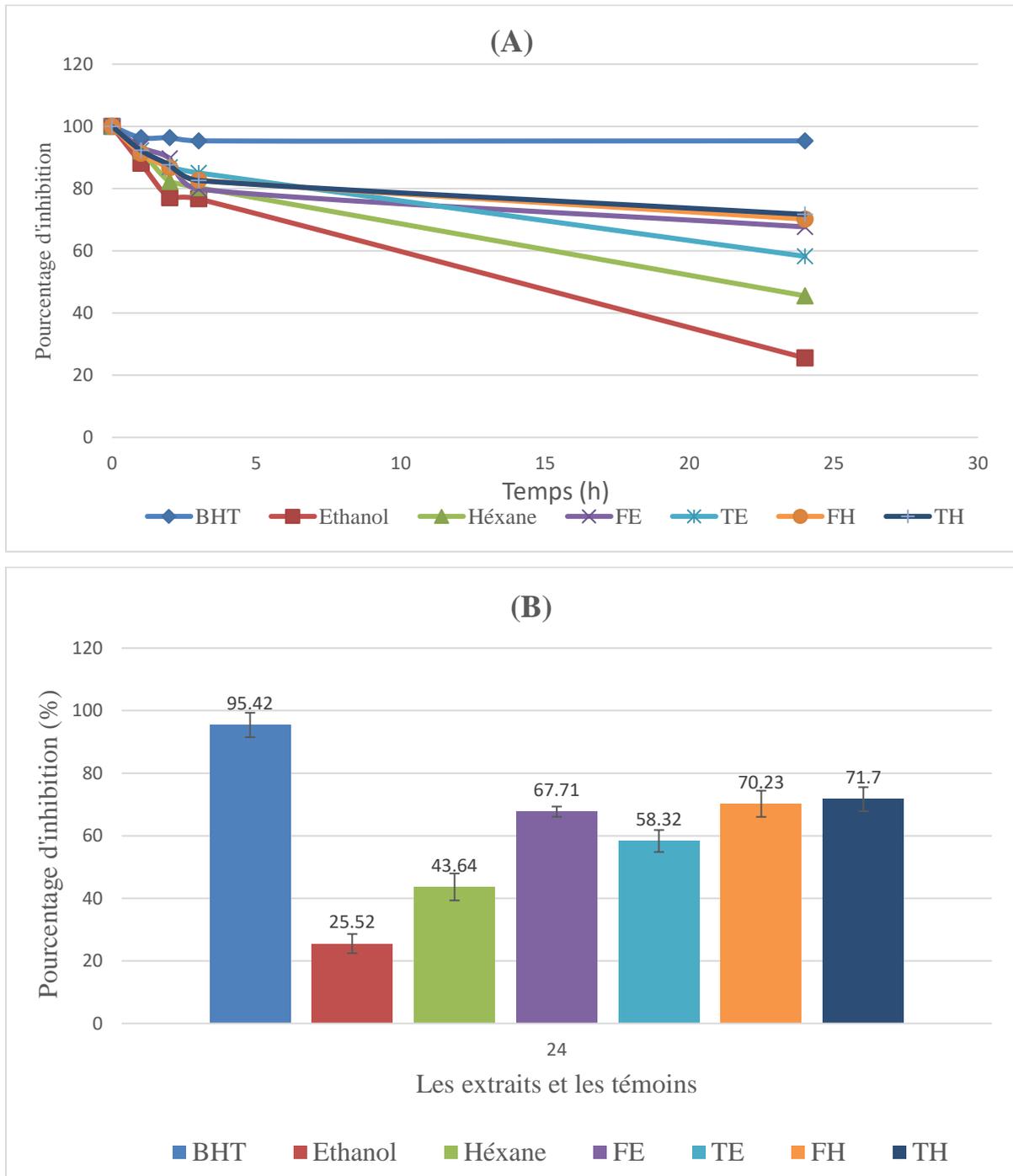
Les feuilles de *Malva sylvestris* ont révélé des propriétés antioxydantes très fortes. Les fruits ont le taux le plus bas des composés phénoliques et des caroténoïdes et présentent l'action antioxydante la plus faible (Barros L. *et al.*, 2010). L'effet antioxydant des mauves peut s'expliquer par la présence de composés phénoliques (flavonoïdes), de caroténoïdes et par deux vitamines antioxydantes mises en évidence récemment dans la mauve sylvestre: l'acide ascorbique et le tocophérol (Barros L. *et al.*, 2010). En effet, des nombreux travaux réalisés sur les activités antioxydantes des extraits des plantes ont montré que la capacité antiradicalaire déterminée par le test du DPPH est bien corrélée au contenu en polyphénols totaux (Mansouri A. *et al.*, 2005; Beta T. *et al.*, 2005).

Bien que, le test au DPPH est largement utilisé comme une méthode d'évaluation de l'activité antioxydante, ce test n'est pas autant standardisé, ce qui explique la divergence des résultats obtenus d'un travail à l'autre et minimise la fiabilité de toute comparaison (Scherer R. et Godoy H. T., 2008). En outre, ces résultats du pouvoir antioxydant peuvent être fortement influencés non seulement par la composition chimique, mais également par les conditions de l'essai (température de réaction, rapport antioxydant/DPPH, type de solvant, pH...etc.) (Popovici C. *et al.*, 2009; Noipa T. *et al.*, 2011; Costa P. *et al.*, 2012).

#### III.4.2 Test de $\beta$ -carotène/acide linoléique

La technique de blanchissement du  $\beta$ -carotène a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits par l'inhibition de la peroxydation lipidique. Ce test est en fait un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (**Ferriera A. et al., 2006**).

Les résultats d'inhibition de décoloration de la solution de  $\beta$ -carotène des extraits sont exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance initiale et sont représentés dans la **figure13**:



**FE** : Feuilles Ethanol, **TE** :(Tiges + Pétioles) Ethanol ;

**FH** : Feuilles Hexane, **TH** : (Tiges + Pétioles) Hexane.

**Figure 13** : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de  $\beta$ -carotène

(A) Activité antioxydante des extraits de *Malva sylvestris* par rapport aux témoins (BHT, éthanol et hexane) par le test du  $\beta$ -carotène/acide linoléique durant 24h.

(B) Pourcentages d'inhibition des extraits et des témoins (BHT, éthanol et hexane) par le test du  $\beta$ -carotène/acide linoléique après 24h. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions  $\pm$  écart type (M  $\pm$ SD).

L'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène, entraînant ainsi la disparition de sa couleur orange qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm, la diminution de l'absorbance est due à l'oxydation du  $\beta$ -carotène et l'acide linoléique; l'ajout de substance antioxydante joue un rôle protecteur et empêche ou ralentit cette oxydation (Manallah A., 2012).

D'après les résultats, on observe que dans les milieux réactionnels des blancs (éthanol, et hexane), les pourcentages d'inhibitions diminuent rapidement au cours du temps, alors qu'en présence du BHT la diminution est négligeable, et en présence des extraits la diminution est ralentie.

Les résultats de la figure ci-dessus indiquent que les extraits de *Malva sylvestris* et le BHT inhibent l'oxydation couplée de l'acide linoléique  $\beta$ -carotène. L'inhibition la plus élevée après 24h d'incubation, selon les pourcentages d'inhibition, est enregistré par l'extrait hexanique de (tiges + pétioles) suivi par l'extrait hexanique de feuilles respectivement:  $71,7 \pm 3,82\%$  et  $70,23 \pm 4,19\%$ , suivie par l'extrait éthanolique des feuilles et (des tiges + pétioles) de l'ordre de ( $67,71 \pm 1,63\%$ ) et de ( $58,32 \pm 3,51\%$ ) respectivement. Le standard BHT présente un pourcentage d'inhibition plus important qui est  $95,42 \pm 3,91\%$ .

A la lumière de ces résultats, tous les extraits de la plante ont un effet inhibiteur contre la peroxydation lipidique surtout l'extrait hexanique de tiges + pétioles.

L'activité antioxydante de l'extrait hexanique est supérieure à celle de l'extrait éthanolique. Il existe probablement des différences qualitatives dans la nature des composés phénoliques (qui entrent dans la composition des extraits) influençant le pouvoir antioxydant des extraits (Sokol-Letowska A., 2007), en plus de la polarité des solvants qui change la capacité de dissoudre un groupement choisi des composés antioxydants, ce qui influence l'évaluation de l'activité antioxydante (Turkmen Z. et al., 2007).

En effet, les résultats obtenus peuvent être attribuées au fait que, la plante *Malva sylvestris* est riche en antioxydants apolaires puissants, permettant d'inhiber l'oxydation de

l'acide linoléique couplée à la  $\beta$ -carotène, car le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène est similaire à un système d'émulsion de lipides dans l'eau d'où les antioxydants apolaires montrent des propriétés antioxydantes et ils se concentrent au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi la prévention de la formation des radicaux lipidiques et l'oxydation du  $\beta$ -carotène (**Frankel E. N. et Meyer A. S., 2000**).

Le  $\beta$ -carotène lié à l'acide linoléique permet de mesurer l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique ce qui stimule l'oxydation de la membrane lipidique. L'étude de **Mavi A. et ses collaborateurs (2004)** a montré que pour inhiber la peroxydation de 50%, l'extrait de *Malva sylvestris* devait être suffisamment concentré.

**Wang Z.(2005)** a prouvé que les anthocyanines de *Malva sylvestris* ont des propriétés inhibitrices considérables vis à vis de la peroxydation lipidique. Aussi, **Conforti F. et son équipe (2008)** ont constaté que les extraits de *Malva sylvestris* possédant une activité importante dans le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène.

# **Conclusion et perspectives**

## **Conclusion et perspectives**

Les plantes médicinales continuent toujours d'être la provenance idéale des métabolites secondaires, ce qui explique leur exploitation accrue en industrie pharmaceutique. Les polyphénols sont les composés végétaux les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Ceci montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances.

Dans le cadre de notre travail, nous sommes intéressées à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant des différents extraits de *Malva sylvestris*.

Dans le premier volet de ce travail, on a commencé par la détermination du taux d'humidité qui demeure toujours un indice très important car elle donne une idée sur la qualité de notre échantillon. Notre résultat montre des valeurs très proches: les feuilles (**85,03 ± 2,82%**) et les tiges + pétioles (**85,94 ± 1,17%**).

Dans le deuxième volet, nous avons procédé à l'extraction des molécules bioactives par macération en utilisant deux solvants de polarité différente (l'éthanol et l'hexane), et l'étude phytochimique qui a montré la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques, et l'existence des sucres réducteurs seulement dans l'extrait éthanolique des tiges + pétioles, et l'absence des tanins et des saponines dans tous les extraits.

Dans le troisième volet, il y avait l'évaluation du contenu des phénols et des flavonoïdes totaux, qui révèle que l'extrait éthanolique des feuilles possède les taux les plus élevés par rapport aux autres extraits.

Dans le dernier volet, l'évaluation de l'activité antioxydante est mise en évidence par deux tests différents, l'extrait éthanolique des feuilles montre la plus forte activité de piégeage contre les radicaux DPPH, contrairement aux extraits hexaniques qui présentent le pourcentage d'inhibition le plus important (dont les 2 extraits sont proches entre eux) avec le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Donc, cette espèce possède différentes molécules responsables au piégeage des radicaux libres soit polaires ou apolaires.

L'étude réalisée sur les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes, et les différents tests de l'activité antioxydante, nous a permis d'aboutir que la nature du solvant et la partie choisie de la mauve affectent remarquablement la teneur en métabolite secondaire, ainsi que, l'activité antioxydante des extraits étudiés.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail de l'isolement et l'identification des composés actifs dans les différents extraits en vue de les déterminer. Aussi, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir des résultats plus approfondie sur les activités antioxydantes et les autres activités biologiques probables de la mauve sylvestre, à cause de l'ignorance de cette plante par la population algérienne.

# **Références Bibliographiques**

**A**

- Abderrazak M. & Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. *Ed. Dunod. Paris.* P: 177.
- Afshar M., Ravarian B. & Zardast M. (2015).** Evaluation of cutaneous wound healing activity of *Malvasylvestris* aqueous extract in BALB/c mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* **18**, 16-22.
- Akerreta S., Calvo M. I. & Cavero R. Y. (2010).** Ethnoveterinary knowledge in Navarra (Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology* **130**, 369-378.
- Alía M., Ramos S., Mateos R., Granado-Serrano A. B., Bravo L. & Goya L. (2006).** Quercetin protects human hepatoma HepG2 against oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide. *Toxicol. Appl. Pharmacol* **212**, 110-118.
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. & Atmani D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem.* **112**, 303-309.
- Aysegul K. & Esra A. (2008).** Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology* **43**, 2038-2046.

**B**

- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. & Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from haw torn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *ArzneimForsch /Drug Research* **46 (11)**, 1086-1089.
- Ballasundram N., Sundram K. & Samman S. (2007).** Phenolic compounds in plants and agricol-industrial by products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry* **99**, 191-203.
- Barros L., Carvalho A. M. & Ferreira I. C. (2010).** Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food Chem. Toxicol.* **48**, 1466-1472.
- Beghdad M. C., Benammar C., Bensalah F., Sabri F. Z., Belarbi M. & Chemat F. (2014).** Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris* L.) from North Western of Algeria. *African Journal of Biotechnology* **13 (3)**, 486-491.
- Békro Y. A., Békro J., Boua B. B., Fézah H., Tra B. & Ehlil E. E. (2007).** Etude Ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpenia benthamiana* (Baill) Herend et Zarucchi (Caesalpeniaceae). *Sci. Nat.* **4(2)**, 217-225.
- Bennehdi H., Hasnaoui O., Benali O. & Sahl F. (2012).** Phytochemical invastigation of leaves and fruits extracts of *Chamaerops humilis* L. *J. Mater. Environ. Sci.* **3 (2)**, 320-237.
- Beretta G., Granata P., Ferrero K., Orioli M. & Facino R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* **533**, 185-191.
- Berger M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme* **20**, 48-53.
- Beta T., Nam S., Dexter J. E. & Sapirstein H. D. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chemistry* **82**, 390-393.
- Biesalski H. K., Böhles H., Esterbauer H., Fürst P., Gey F. & Hundsdörefer G. (1997).** Antioxidant vitamins in prevention. Consensus statement. *Clin. Nutr.* **16**, 151-5.

**Bimakr M., Abdul Rahman R., Saleena Taip F., Ganjloo A., Salleh L., Selamat J., Hamid A. & Zaidul I. S. M. (2011).** Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food and Bioproducts Processing***89**, 67-72.

**Blois M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature***181**, 1199-1200.

**Bonnet S. (2010).** Variability of sea-surface temperature and sea-ice cover in the Fram Strait over the last two millennia. *Marine Micropaleontology***74** (3-4), 59-74.

**Bonnier G. & Douin R. (1912-1935).** La grande flore en couleur de Gaston Bonnier-Belin. *Basic Med. Sci.***14**, 49-57.

**Bouguerra A. (2011).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, p: 10.

**Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A. & Igc R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry* **111**, 925-929.

**Bratt M., Broom M., Kelber S. & Lostocco L. (2000).** Influence of stress and nursing leadership on job satisfaction of pediatric intensive care unit nurses. *Pubmed***9** (5), 07-17.

**Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. P: 59-81.

## C

**Canonne P. (1984).** Mauve sauvage, *Malva sylvestris* L. : Taxonomie, Culture, Usages. Thèse en Pharmacie, Lille. P: 61-105.

**Chatgililoglu C. & Asmus K. D. (1990).** Sulfur-centred reactive intermediates in chemistry and biology. *NATO-ASI series***197**, 12-16.

**Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti G. A., Uzunov D., Tubaro A., Menichini F. & Della Loggia R. (2008).** In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology***116**, 144-151.

**Cork S. J. & Krockenberger A. K. (1991).** Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: insights from investigations on Eucalyptus leaves. *J. chem. Ecol.***17**, 123-134.

**Costa P., Goncalves S., Valentao P., Andrade P. B., Coelho N. & Anabela R. (2012).** *Thymus lotocephalus* wild plants and in vitro culture produce different profiles of phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry***135**, 1253-1260.

**Cutillo F., D'Abrosca B., Della Greca M., Fiorentino A. & Zarrelli A. (2006).** Terpenoids and phenol derivatives from *Malva sylvestris*. *Phytochemistry* **67**, 481-485.

## D

**Da Silva S. L., Da Silva A., Honório K. M., Marangoni S., Toyama M. H. & Da Silva A. B. F. (2004).** The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure***684**, 1-7.

**Daniela A., Pichichero E. & Canuti L. (2007).** Identification of phenolic compounds from medicinal and melliferous plants and their cytotoxic activity in cancer cells. *Caryologia***60**, 5-9.

**Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T. A. & Linssen P.H. (1998).** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. Sci. Food Agr.* **77**, 140-146.

**Duraffourd C., & Lapraz J. C., (2002).** Traité de phytothérapie clinique. *Masson*.P: 48-79.

### E

**Elsagh M., Fartookzadeh M. R. Kamalinejad M. (2015).** Efficacy of the *Malva sylvestris* L. flowers aqueous extract for functional constipation: A placebo-controlled trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice***21**, 10-11.

**El-Waziry A. M. (2007).** Nutritive value assessment of ensiling or mixing *Acacia* and *Atriplex* using in vitro gas production technique. *Res. J. Agric. Biol. Sci.***3 (6)**, 605-614.

**Endo T., Fukunaga T., Yoshimura T. & Esumi K. (2006).** Scavenging DPPH radicals catalysed by binary noble metal-dendrimer nanocomposites. *Journal colloid interf. Science***302 (2)**, 16-21.

**Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. & Ferchichi A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology***20 (2)**, 788-793.

**Erkoc S., Erkoc F. & Keskin N. (2003).** Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM***631 (1-3)**, 141-146.

### F

**Farombi E. O., Adelowo O. A. & Ajimoko Y. R. (2007).** Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African Cat Fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International Journal of Environmental Research and Public Health***4(2)**, 158-165.

**Favier A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique***13**, 108-115.

**Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr***64**, 390-396.

**Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M. L. M. & Araujo M. E. M. (2006).** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology***108**, 31-37.

**Fletcher N. (2007).** Reconnaître la nature comestible et savoureuse sans peine. *Nathan*.P: 146.

**Flores M. (2011).** *Malva sylvestris* L. et autres mauves de France, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de NANTES Faculté de pharmacie, Nantes, pp: 197.

**Fournier P. (1934-1940).** Les quatre flores de France. *Dunod*. P: 268-273.

**Frankel E. N. & Meyer A. S. (2000).** The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture***80**, 1925-1940.

**Fukushima Y. T., Ohie Y., Yonekawa K., Yonemoto H., Aizawa Y., Mori M., Watanabe M., Takeuchi M., Hasegawa C. & Taguchi K. (2009).** Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57 (4)**, 1253-1259.

### G

**Garcia-Lafuente A., Guillamon E., Villares A., Rostagno MA. & Martinez J. A. (2009).** Flavonoids as anti-inflammatory agents: implication in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research***58**, 537-552.

**Gasparetto J. C., Martins C. A. F., Hayashi S. S., Otuky M. F. & Pontarolo R. (2015).** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacologie* **64**, 172-189.

**Ghedira K. & Goetz P. (2016).** *Malva sylvestris* L. (Malvaceae): Mauve. *Phytotherapie* **14**, 68-72.

**Greuter W., Burdet I. M. & Long G. (1989).** Checklist. Tome 3 et 4 : Dicotylédones. *Ed. Conservatoire et Jardin Botanique*, Genève, p:71-239.

**Guarrera P. M. (2003).** Food medicine and minor nourishment in the folk traditions of central Italy (Marche, Abruzzo and Latium). *Fitoterapia* **74**, 515-544.

**Gutteridge J. M. C. (1993).** Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Invited review. *Free Radic. Res. Commun* **19**, 141-158.

## H

**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. & Chapelle J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege* **62**, 628-638.

**Halliwell B. & Gutteridge J. M. C. (1989).** Free Radicals in Biology and Medicine. 2<sup>nd</sup> Edition. *Oxford Science Publication*, p: 69-103.

**Halliwell B., & Gutteridge J. M. C., (1990).** The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem. Biophys* **280**, 1-8.

**Halliwell B. & Gutteridge J. M. C. (1999).** Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. *Oxford: Oxford University Press*, p: 56-98.

**Hamedi A., Rezaei H. & Azarpira N. (2015).** Effects of *Malva sylvestris* and Its Isolated Polysaccharide on Experimental Ulcerative Colitis in Rats. *J. Evid Based Complementary Altern Med* **17**, 61-70.

**Hanaski Y., Ogawa S. & Fukui S. (1994).** The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med.* **16**, 845-850.

**Handas S. (2008).** An overview of Extraction Technics for Medicinal and Aromatic Plants. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Center for Science and High Technology, Trieste. Italy, p: 21-54.

**Harbone J. B. & Williams C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55**, 481-504.

**Havsteen B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacological Therapy* **96**, 67-202.

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

**Hebi M. & Eddouks M. (2016).** Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana* **14**, 17-22.

**Heim K. E., Tagliaferro A. R. & Bobilya D. J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure activityrelationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* **13**, 572-584.

**Hennebelle H., Sahpaz S. & Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* **1**, 3-6.

**Henry A. G. & Piperno D. R. (2008).** Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet: a case study from Tell al-Raqai, Syria. *J Archaeol Sci* **35**, 1943-1950.

**Hong J., Smith T. J., Ho C. T., August D. A. & Yang C. S. (2001).** Effects of purified green and black tea polyphenols on cyclooxygenase and lipoxygenase dependent metabolism of arachidonic acid in human colon mucosa and colon tumor tissues. *Biochem. Pharmacol.* **62**, 1175-1183.

**Huang D., Ou B. & Prior R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 1841-1856.

**Hussain L., Ikram J., Rehman K., Tariq M., Ibrahim M. & Akash M. S. H. (2014).** Hepatoprotective effects of *Malva sylvestris* L. against paracetamol induced hepatotoxicity. *Turk J Biol* **38**, 396-402.

### J

**Jaradat N. A., Abualhassan M. & Ali I. (2015).** Comparaison of Antioxydant Activities and Exhaustive Extraction Yields between Wild and Cultivated *Cyclamen persium*, *Malva sylvestris* and *Urtica pilulifera* Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **5 (4)**, 101-106.

**Jeambey Z., Johns T., Talhouk S. & Batal M. (2009).** Perceived health and medicinal properties of six species of wild edible plants in north east Lebanon. *Public Health Nutrition* **12 (10)**, 1902-1911.

### K

**Kintzios S. E. & Barberaki M. G. (2004).** Plants that Fight Cancer. *CRC Press, Beth Budny, USA*. P: 93.

**Kolev M. (1976).** La culture maraîchère en Algérie. Légumes feuilles. Tome II. I.D.C.M. P:74.

**Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A. & Abdely C. (2008).** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol.* **331**, 865-873.

### L

**Lako J., Trenerry V. C., Wahlqvist L., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. & Premier R. (2007).** Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry* **101**, 1727-1741.

**Lee J., Koo N. & Min D. B. (2004).** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty* **3**, 21-33.

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

**Loizzo M. R., Pugliese A. & Bonesi M. (2015).** Edible Flowers: A Rich Source of Phytochemicals with Antioxidant and Hypoglycemic Properties, *J Agric. Food Chem.* **69**, 34-47.

**Lutge U., Kluge M. & Bauer G. (2002).** Botanique 3<sup>ème</sup> Ed : Technique et documentation. *Lavoisier*, p: 564-582.

### M

**Macheix J. J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes*. P: 359

- Maghami P. (1979).** Culture et cueillette des plantes médicinales. Nouvelles Encyclopédies des connaissances Hachette. *Lavoisier*, p: 56-72.
- Magro C. & Bastos M. (2006).** Efficacy of plant extracts against stored products. *Fungi-Rev Iberoam Micol***23**, 176-178.
- Mahin E., Mohammad R. F., Mohammad K., Majid A., Awat., Farshad A. B., Rahmatollah R., Akbar A. & Peyman A. (2015).** Efficacy of the *Malva sylvestris* L. flowers aqueous extract for functional constipation: A placebo-controlled trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice***56**, 1-7.
- Manallah A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. *Biol. Pharm. Bull***62**, 319-327.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. & Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry***89**, 411-420.
- Marouane W., Soussi A. & Murat J. C. (2011).** The protective effect of *Malva sylvestris* on rat kidney damaged by vanadium. *Lipids Health Dis***10**, 65-71.
- Márquez-García B., Fernández M. Á. & Córdoba F. (2009).** Phenolics composition in *Erica* sp. differentially exposed to metal pollution in the Iberian Southwestern Pyritic Belt. *Bioresource Technology***100**, 446-451.
- Martin S. & Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie***51**, 304-315.
- Mavi A., Terzi Z., Ozgen U., Yildirim A. & Coskun M. (2004).** Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urticadioica* (Urticaceae). *Biol. Pharm. Bull.* **27** (5), 702-705.
- Mélila M., Poutouli W., Amouzou K. S., Tchangbédji G., Thaou M. & Doh A. (2012).** Évaluation de l'impact du rejet des déchets phosphates dans la mer sur la biodiversité marine dans trois localités côtières au Togo à partir des biomarqueurs du stress oxydatif chez *Sphyrna barracuda* (HECKEL, 1843). *Int. J. Biol. Chem. Sci.***6** (2), 820-831.
- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarim J. Sci. Technol.* **26**, 211-219.
- Moon J. K. & Shibamoto T. (2009).** Antioxidant assays for plant and food component. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 1655-1666.

## N

- Neves J. M., Matos C., Moutinho C., Queiroz G. & Gomes L. R. (2009).** Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *J. Ethnopharmacol.* **124**, 270-283.
- Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D., Boelens P. G., Norren K. & Leeuwen P. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition***74**, 418-425.
- Noipa T., Supalax S., Thawatchai T. & Wittaya N. (2011).** New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. *Food search International***44**, 798-806.

## O

- Ouldyeou k., Righi S., Meddah B., Tir touil A., Bouhadi D. & Hariri A. (2018).** Etude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétiques au niveau de la wilaya de Mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology* **5**, 670-679.

**Ozenda P. 1983** : Flore de sahara. Ed. C.N.R.S. Paris, p: 250.

**Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M. E. & Topcu G. (2007)**.Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.* **103**, 623-630.

### P

**Pierangeli G., Vital G., & Rivera W. (2009)**. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata*. *Medicinal plants***3** (7), 511-518.

**Pietta P. G. (2000)**. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products***63**, 1035-1042.

**Pirbalouti A. G., Yousefi M., Nazari H., Karimi I. & Koohpayeh A. (2009)**. Evaluation of Burn Healing Properties of *Arnebia euchroma* and *Malva sylvestris*. *Electronic Journal of Biology***5** (3), 62-66.

**Pokorny J., Yanishlieva N. & Gordon M. (2001)**. Antioxidants in food. practical application Woolhead Publishing Limited. *Food Chem***58**, 671-679.

**Popovici C., Saykova I. & Tylkowski B. (2009)**. Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie industriel***4**, 25-39.

### Q

**Qin H., Qin J., Hu J., Huang H. & Ma L. (2017)**. *Malva Sylvestris* Attenuates Cognitive Deficits in a Repetitive Mild Traumatic Brain Injury Rat Model by Reducing Neuronal Degeneration and Astrocytosis in the Hippocampus. *Med Sci Monit***23**, 6099-6106.

**Quezel P. & Santa S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Tome I et II*. Ed. C.N.R.S., Paris, pp:1170.

### R

**Rasavi M. S., Zarrini G., Molavi G. & Ghasmi G. (2011)**.Bioactivity of *Malva Sylvestris* L., a Medicinal Plant from Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* **14** (06), 574-579.

**Rasool R., Ganai B. A., Akbar S., Kamili A. N. & Akbar M. (2010)**. Phytochemical screening of *Prunella vulgaris* L. an important medicinal plant of Kashmir. *Pak. J. Sci.* **23** (4), 399-402.

**Reza T., Zeynab Y. & Hossein A. A. G. (2012)**.Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research in Agricultural Science***8**, 59-68.

**Ribéreau-Gayon P. (1968)**. Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod, Paris*, pp : 254.

### S

**Saad A. B., Rjeibi I., Alimi H., Ncib S., Smida A., Zouari N. & Zourgui L. (2017)**.Lithium induced, oxidative stress and related damages in testes and heart in male rats: The protective effects of *Malva sylvestris* extract. *Biomedicine & Pharmacotherapy***86**, 127-135.

**Sabri F. Z., Belarbi M., Sabri S. & Alsayadi M. M. S. (2012)**.Phytochemical Screening and identification of some compounds from Mallow.*J. Nat. Prod. Plant Resour.* **2** (4), 512-516.

**Sadegh M., Rosna Mat T., Rosli BR. & Minoo M. (2016)**. Phytochemical constituents and radical scavenging properties of *Borago officinalis* and *Malva sylvestris*.*Industrial Crops and Products* **94**, 673-681.

**Salhi C. (2018).** Les plantes antitussives à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Grenoble Alpes faculté de pharmacie, Grenoble, p : 45-59.

**Samaniego-Sánchez C., González A. M. T., García-Parrilla M. C., Granados J. J. Q., Serrana H. L. & Martínez M. C. L. (2007).** Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Chimica Acta*. **593**, 103-107.

**Sanchez A., Ysunza F., Beltran-Garcia M. J. & Esqueda M. (2002).** Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. *Agric. Food Chem.* **50**, 2537-2542.

**Sarni-Manchado P. & Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec. et Doc. Lavoisier*, p: 11.

**Scherer R. & Godoy H. T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* **112**, 654-658.

**Seladji M. (2015).** Etude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie, p: 57.

**Servais S. (2004).** Altération mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effet de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse de Doctorat de l'Université Claude Bernard-Lyon1, Lyon, p: 17-40.

**Shelbaya L. A. M., Sello A. A. A. & Kotp M. A. (2011).** Antioxidative effect of some *Malva sylvestris* extracts on oxidation of cotton oil during heating. The 6th Arab and 3rd International Annual Scientific Conference on: Development of Higher Specific Education Programs in Egypt and the Arab World in the Light of Knowledge Era Requirements, Egypt, 2164-2179.

**Sleiman N. H. & Daher C. F. (2009).** *Malva sylvestris* water extract: a potential anti-inflammatory and anti-ulcerogenic remedy. *Planta Med* **75**,

**Sokol-Letowska A., Oszmianski J. & Wojdylo A. (2007).** Antioxydant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry* **103**, 853-859.

**Suhaj M. (2006).** Spice antioxydants isolation and their antiradical activity. *Food Composition and Analysis* **19**, 531-537.

## T

**Ticli B. (1999).** Reconnaître les herbes et les fruits sauvages. *Editions De Vecchi*. P: 63-81.

**Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H. (2011).** Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* **1**, 98-106.

**Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F. & Polat G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules* **12**, 484-496.

## V

**Valnet J. (1992).** Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes, 6ème édition. *Maloine*. P: 71.

**Virgili F., Scaccini C., Packer L. & Rimbach G. (2001).** Antioxidants and health: Cardiovascular disease and nutritional phenolics. In « Antioxidants in Food Practical Applications ». *Ed. CRC Press LLC North and South America*, p: 87-96.

**W**

**Wang Z. (2005).** Impact of anthocyanin from *Malva sylvestris* on plasma lipids and free radical. *Journal of Forestry Research* **16**, 228-232.

**Wattiaux M. A. (1997).** Dairy essentials (1st edition): Lactation and milking. *The Babcock Publication, University of Wisconsin-Madison*, p: 73-100.

**Wichtl M. (2003).** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. *Editions Tec & Doc, Editions médicales internationale*. P : 94.

**Y**

**Yildirim N. C., Benzer F. & Danabas D. (2011).** Evaluation of environmental pollution at Munzur river of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Cappota trutta* (Heckel, 1843). *J. Ann. Plant Sci.* **21 (1)**, 66-71.

**Sites d'internet**

**Tela botanica :** <http://www.tela-botanica.org>

**Hyppa (Hypermédia pour la protection des plantes adventices), INRA Dijon:**  
<http://www2.dijon.inra.fr/hyppa/hyppa-f/hyppa.f.htm>

**Google maps:**

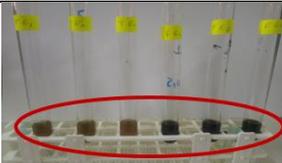
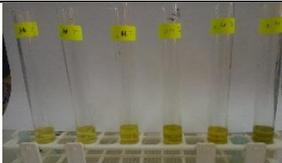
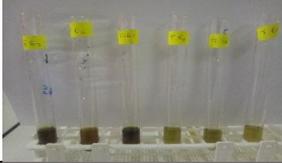
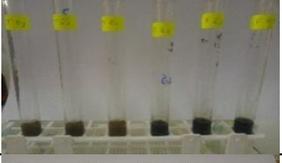
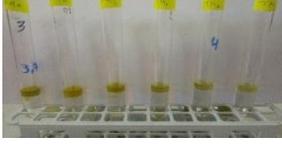
<http://www.google.com/maps/place/Daira+de+Bordj+Zemoura>

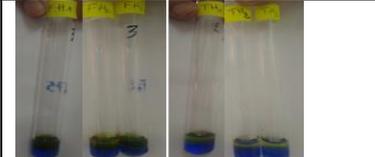
# **Annexes**

**Annexe 1 : Matériels et réactifs utilisés**

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Broyeur électrique</li> <li>- Tamis</li> <li>- Balance de précision</li> <li>- Agitateur magnétique + barreau magnétique</li> <li>- Rotavapor</li> <li>- Spectrophotomètre UV/V</li> <li>- Bain marie</li> <li>- Etuve</li> <li>- Micropipette</li> <li>- Tubes à essai + tubes ependorfs + embouts</li> <li>- Verrerie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ethanol (70%)</li> <li>- Cyclohexane (70%)</li> <li>- Méthanol (70%)</li> <li>- Eau distillée</li> <li>- Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>)</li> <li>- Fehling A</li> <li>- Fehling B</li> <li>- Folin-Ciocalteu à 10%</li> <li>- Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)</li> <li>- Acide Gallique</li> <li>- Chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>)</li> <li>- Quercétine</li> <li>- DPPH</li> <li>- Acide Ascorbique</li> <li>- β-carotène</li> <li>- Hydroxytoluène butylé (BHT)</li> <li>- Chloroforme (ChCl<sub>3</sub>)</li> <li>- Tween 40</li> <li>- Acide linoléique</li> </ul>

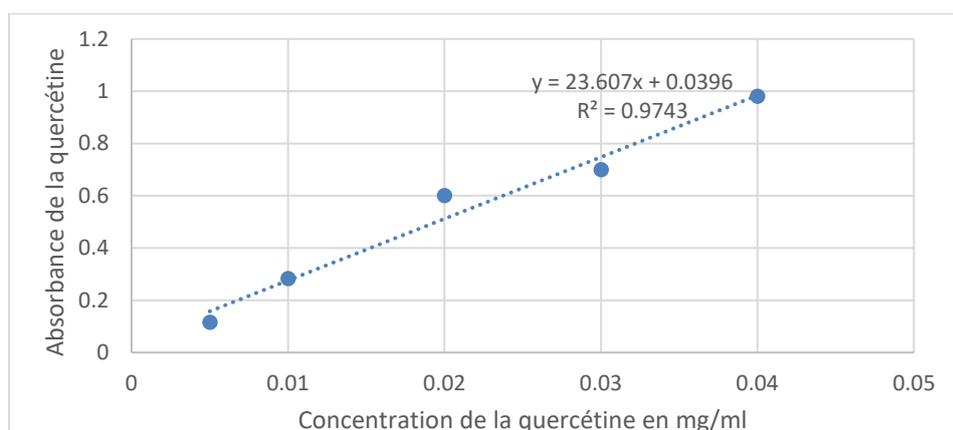
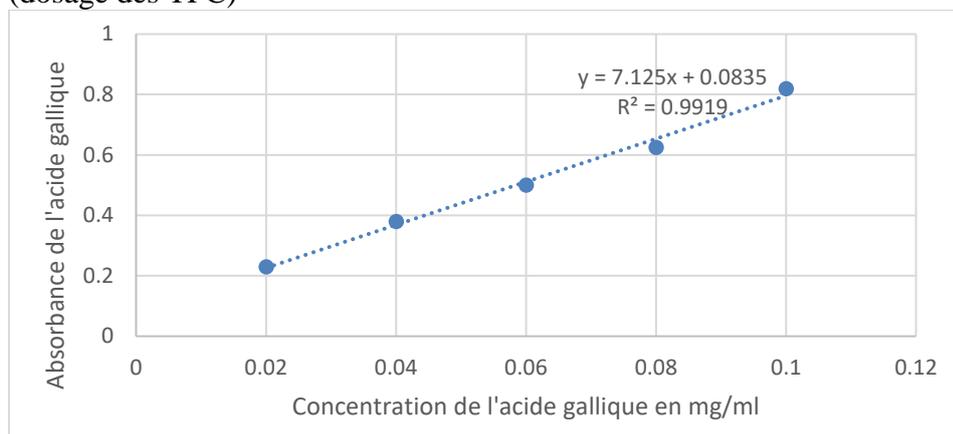
**Annexe 2 : Résultats de coloration de screening phytochimique**

Phyto-constituants	Résultats selon le protocole	Résultats obtenus	
		Extraits éthanoliques	Extraits hénaniques
<b>Phénols</b>	Une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée		
<b>Flavonoïdes</b>	Une coloration jaune		
<b>Tanins</b>	Une coloration noire bleuâtre et d'un précipité		
<b>Saponines</b>	Une mousse persiste 20 min		

<p><b>Sucres réducteurs</b></p>	<p>Un précipité rouge briqué</p>		
---------------------------------	----------------------------------	--	---

 : Réaction positive.

**Annexe 3 :** Courbes d'étalonnage de l'acide gallique (dosage des TPC) et de la quercétine (dosage des TFC)



**Annexe 4 :** Courbes du test au DPPH (courbe de l'acide ascorbique)

