

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité Biochimie Appliquée



Réf :

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

MASTER

Thème

**Caractérisation physico-chimique des
feuilles de *Lavatera cretica* et étude de leur
pouvoir antidiabétique**

Présenté par :

OUARI Salah et OUARET Imene

Soutenu le : 24.06.2024

Devant le jury composé de :

Président :	Mme BENLOUKIL M.	MAA
Examinatrice :	Mme AOUDIA EPSE HADDAD H.	MCB
Promotrice :	Mme OURABAH ESPE BOUDJOUAN A.	MCB
Invité :	Mr ZEGHBIB W.	MAB

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

Louange à ALLAH, seigneur de l'univers, le tout puissant et miséricordieux, qui nous a inspiré et comblé de bienfaits, nous lui rendons grâce pour la force et la sagesse qu'il nous a accordé tout au long de cette aventure académique.

Nous exprimons notre profonde gratitude à **Mme OURABAH-BOUDJOUAN A.**, Maître de Conférences B, pour ses orientations judicieuses, ses conseils avisés et son soutien constant.

Sa patience, compréhension et dévouement ont été inestimables pour la réalisation de ce projet, nous permettant de surmonter les défis et d'atteindre nos objectifs.

Nous souhaitons également adresser nos sincères remerciements et notre profonde estime à **M. BOUDJOUAN F., M. ZEGHBIB W., M. BENADJAUD A. et Mme YOUS F.** Leur soutien moral, leurs critiques constructives et leurs suggestions pertinentes ont été des sources de motivation inestimables et ont considérablement enrichi ce travail.

Nous exprimons nos sincères considérations et remerciements les plus chaleureux au membre du jury, **Mme BENLOUKIL M. et Mme AOUDIA H.** qui nous font l'honneur d'examiner et d'évaluer notre travail.

Enfin nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

"Grâce à Dieu toujours et à jamais."

Je dédie ce mémoire à ceux qui ont été ma source de force, de soutien et d'inspiration tout au long de ce parcours.

À ma mère et mon père, pour leur amour inconditionnel, leur patience infinie et leur soutien constant. Vous avez été mes guides, mes mentors et mes plus grands supporters. Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible.

À mes sœurs, Asma, Kenza et Ryma, pour leur encouragement, leur compréhension et leur présence réconfortante. Vous avez été mes piliers et mes amies les plus proches.

À mon petit frère, prunelle de mes yeux, dont la joie et l'innocence m'ont apporté tant de bonheur et de motivation.

À mon oncle Mohamed Islam, à mes petits cousins, Lina, Maria et Walid, à mes grands-parents, et à mes amies, Tiziri et Katia, pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements constants. Vous avez tous contribué à mon bonheur et à ma réussite par vos sourires, votre sagesse et votre amitié sincère.

Merci à vous tous pour votre amour, votre soutien et votre inspiration. Que Dieu vous bénisse et vous protège.

Imene

"Par la grâce de Dieu, maintenant et à jamais."

Je dédie ce travail à

Ceux qui ont été ma source inépuisable de force, de soutien et d'inspiration tout au long de ce chemin.

À ma famille, celle qui m'a doté d'une éducation digne. C'est grâce à eux que je suis ce que je suis aujourd'hui.

Particulièrement **à mes parents**, pour leur encouragement, leur compréhension et leur présence réconfortante, ainsi que pour tous les sacrifices qu'ils ont faits pour ma réussite et mon bonheur. Vous avez été mes amis les plus proches et mon exemple dans la vie.

À mes frères et sœurs, pour leur encouragement, leur compréhension et leur présence réconfortante. Vous avez été mes piliers et mes amis les plus proches.

À mon meilleur ami **Meziane Abderrahmane**, qui est pour moi bien plus qu'un frère, je suis infiniment reconnaissant pour sa constante présence inconditionnelle, ainsi que pour son soutien inestimable qui m'a toujours été accordé.

Salah

Table des matières

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Diabète 2

I.1.1. Généralités..... 2

I.1.2. Amylase 2

I.1.2.1 Généralités..... 2

I.1.2.2. Amylase et glycémie..... 4

I.1.2.3. Inhibiteurs naturels et synthétiques de l' α -amylase..... 5

I.2. Présentation de *Lavatera cretica* (LC)..... 5

I.2.1. Critères morphologiques 5

I.2.2. Appellation 6

I.2.3. Taxonomie botanique..... 6

I.2.4. Répartition..... 7

I.2.5. Composition chimique..... 7

I.2.6. Usage de *Lavatera cretica* 8

I.2.6.1. Utilisations médicales 8

I.2.6.2. Utilisation culinaires 8

I.2.7. Etudes antérieurs sur *Lavatera cretica* 8

I.3. Généralités sur les métabolites..... 9

I.3.1. Polyphénols... 10

I.3.1.1. Acides phénoliques..... 11

I.3.1.2. Flavonoïdes..... 11

I.3.1.3. Tanins..... 12

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel 14

II.1.1. Équipements et produits chimiques..... 14

II.1.2. Matériel végétal..... 14

Table des matières

II.1.2.1. Extraction.....	15
II.2. Dosages biochimiques des feuilles de <i>Lavatera cretica</i>	15
II.2.1. Dosages totale en protéines.....	15
II.2.2. Dosage d'acide ascorbique	16
II.2.3. Dosage des glucides.....	16
II.2.4. Dosage de la proline.....	17
II.2.5. Dosage des pigments photosynthétiques et phéophytines.....	17
II.2.6. Détermination du pH.....	18
II.2.7. Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption.....	19
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	19
II.3.1. Dosage des phénols totaux.....	19
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	19
II.3.3. Dosage des tanins condensés.....	20
II.4. Évaluation de l'activité antidiabétique	20
II.4.1. Test d'inhibition de l' α -amylase.....	20
II.5. Analyse statistique.....	21

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction.....	22
III.2. Caractérisation physico-chimique de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de <i>L. cretica</i>	22
III.2.1. Teneur des protéines.....	23
III.2.2. Teneur en acide ascorbique.....	23
III.2.3. Teneur en glucides.....	24
III.2.4. Teneur en amidon	24
III.2.5. Teneur en proline.....	25
III.2.6. Teneur des pigments photosynthétiques et phéophytines	26
III.2.7. Mesure du pH des feuilles de <i>L. cretica</i>	27
III.2.8. Longueurs d'ondes d'absorption de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de <i>L. cretica</i>	28
III.2.9. Teneur des polyphénols.....	29
III.2.9.1. Teneur des phénols totaux	29
III.2.9.2. Teneur en flavonoïdes.....	30

Table des matières

III.2.9.3. Teneur en tanins.....	31
III.3. Pourcentage d'inhibition d'α-amylase	31
Conclusion et perspectives.....	34
Références bibliographiques.....	35
Annexes	

Liste des abréviations

ADA	Association américaine de diabète
EFLC	Fraction d'éthyl acétate de <i>Lavatera Cretica</i>
L.C	<i>Lavatera cretica</i>
mg EAA/ g MS	Milligramme équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche
mg EAG/g ES	Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec
mg E BSA/g MS	Milligramme équivalent albumine de sérum bovin par gramme de matière sèche
mg EC/g ES	Milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec
mg EGlu/g MS	Milligramme équivalent glucose par gramme de matière sèche
mg EQ/g ES	Milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec
OMS	Organisation mondiale de la santé

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Structure tri-dimensionnelle de l' α -Amylase	3
02	Hydrolyse des glucides par l' α -amylase et α -glucosidase	4
03	<i>Lavatera cretica</i>	6
04	Classification des polyphénols	10
05	Structures chimiques des acides phénoliques	11
06	Structure de base des flavonoïdes	12
07	Structure générale des tannins hydrolysable	13
08	Structure générale des tannins condensés	13
09	Spectre d'Absorption de <i>Lavatera cretica</i>	28
10	Pourcentage d'inhibition de α -amylase par LC	32

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Classification taxonomique de <i>Lavatera cretica</i>	7
II	Équipements et produits chimique.	14
III	Teneurs de LC en chlorophylles, phéophytines et caroténoïdes	26
IV	Résultats de dosage des polyphénols	29

Introduction

Les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans les pratiques de santé traditionnelles du monde entier. L'intérêt pour la phytothérapie a considérablement augmenté, notamment dans le traitement de maladies chroniques comme le diabète (**Eddouks et al., 2007**).

Le diabète, une pathologie caractérisée par une hyperglycémie chronique, représente un fardeau majeur pour la santé publique. Les étiologies du diabète sont variées, incluant des facteurs génétiques, environnementaux et des habitudes de vie, telles que la sédentarité (**Jayapal, 2017 ; Tenenbaum et al., 2018**).

L' α -amylase est une enzyme clé dans la digestion des glucides. L'inhibition de cette enzyme peut aider à moduler les niveaux de glucose sanguin, contribuant ainsi à la prévention du diabète (**Rorive et al., 2005 ; Rogalski, 2007**). Cependant, les inhibiteurs synthétiques de l' α -amylase sont souvent associés à des effets secondaires indésirables, notamment des troubles gastro-intestinaux. Il est donc crucial de rechercher de nouvelles sources naturelles de composés antidiabétiques (**Eddouks et al., 2007**).

Lavatera cretica (LC), une plante de la famille des Malvacées, est largement distribuée dans les régions méditerranéennes. Traditionnellement, elle est utilisée pour ses propriétés médicinales, comme agent anti-inflammatoire et diurétique. Les feuilles de LC sont particulièrement riches en composés bioactifs qui possèdent des effets bénéfiques potentiels sur la santé (**Veeramani et al., 2017**). En outre, il n'existe pas de recherches approfondies sur la caractérisation physico-chimique des feuilles de LC et leur potentiel dans la prévention et le traitement du diabète.

L'objectif de cette étude consiste à évaluer les caractéristiques physico-chimiques des feuilles de *Lavatera cretica* et à tester leur activité antidiabétique.

Ce travail est reparti en 3 chapitres, le premier est consacré à l'étude bibliographique qui présente un aperçu général sur le diabète, les métabolites et *Lavatera cretica*. Le second illustre le matériel et les méthodes utilisés pour répondre à la problématique. Le dernier chapitre consiste à la présentation des résultats obtenus et leur discussion. Enfin, ce travail se clôt par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Diabète

I.1.1. Généralités

Le diabète est un ensemble de troubles métaboliques caractérisé par un taux anormal de sucre dans le sang (glycémie > 200 mg/dl ou glycémie à jeun $\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dl) dû à des problèmes dans la sécrétion ou l'action de l'insuline (**Jayapal, 2017**). Les symptômes incluent la soif excessive, l'envie fréquente d'uriner, une faim accrue, une perte de poids, la fatigue et des problèmes de vision. Dans certains cas graves, cela peut entraîner une acidocétose ou un coma (**OMS, 1999 ; ADA, 2014 ; Holt et al., 2024**). Il existe trois types de diabète : Diabète de type 01 (insulino-dépendant), Diabète de type 02 (non insulino-dépendant) et le diabète gestationnel (**Holt et Flyvbjerg, 2023**). L'apparition du diabète chez l'individu peut être due à plusieurs facteurs tels que les facteurs environnementaux, les virus (**Lönnrot et al., 2000**), et la diminution de certaines souches bactériennes dans l'intestin (**Hänninen et al., 2018**). Une alimentation excessive en céréales (notamment riches en gluten), ou une alimentation contaminée par des polluants ont été identifiés comme des facteurs alimentaires liés au développement du diabète de type 1 (**Tenenbaum et al., 2018**). De plus, le terrain génétique augmente également le risque de développer un tel diabète (**Bergholdt et al., 2012**).

Par ailleurs, une étude a révélé que les personnes qui ont un faible taux de α -amylase salivaire, peuvent avoir plus de risques de développer des problèmes dans leur métabolisme du glucose pouvant conduire à une résistance à l'insuline et éventuellement au diabète de type 2 (Mandel and Breslin, 2012).

I.1.2. α -Amylase

I.1.2.1 Généralités

L' α -Amylase, également connue sous le nom de 1,4-D-glucane-glucanohydrolase (EC 3.2. 1.1) est une enzyme composée de trois domaines avec 498 acides aminés (**Rogalski, 2007**). Sa structure est illustrée dans la Figure 01.

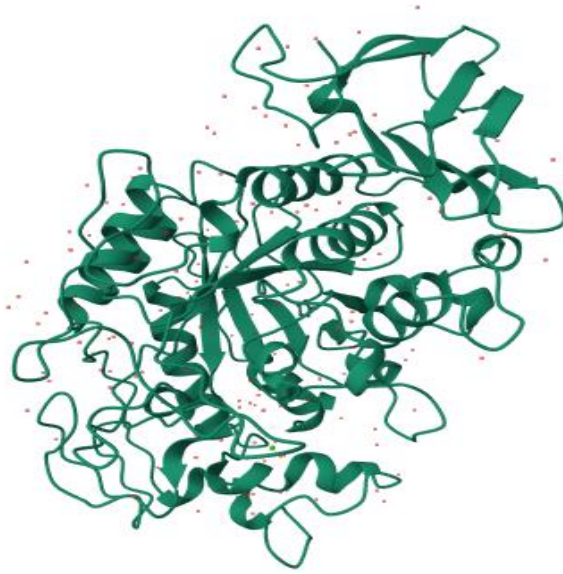


Figure 01 : Structure tri-dimensionnelle de l' α -Amylase (Rogalski, 2007).

Cette enzyme est essentielle pour décomposer les liaisons 1,4-glucane présentes dans l'amidon, les maltodextrines et les maltooligosaccharides (Svensson, 1999). Une fois partiellement digérées, ces substances atteignent l'intestin, où l'isoenzyme α -amylase, synthétisée dans le pancréas, les hydrolyse en oligosaccharides plus petits. Ces oligosaccharides sont ensuite dégradés en glucose par des α -glucosidases dans la couche muqueuse de la membrane de bordure en brosse au niveau de l'intestin grêle avant d'être absorbés dans la circulation sanguine via un système de transport spécifique (Tundis et al., 2010). Ce mécanisme est illustré dans la Figure 02.

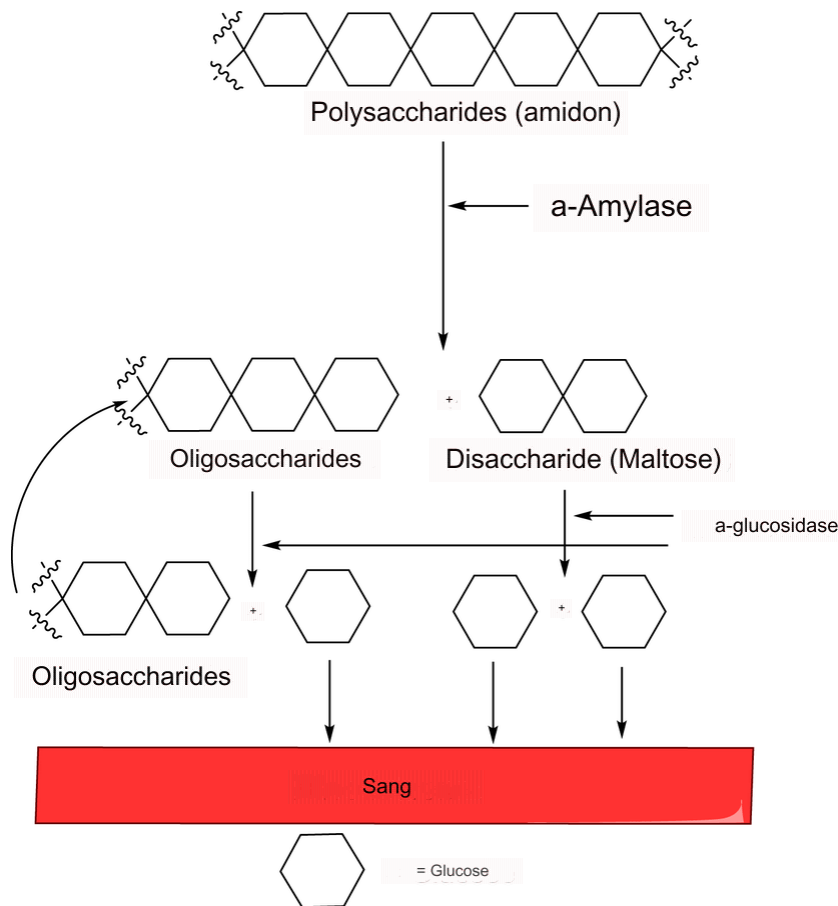


Figure 02 : Hydrolyse des glucides par l' α -amylase et α -glucosidase (Khanaposthani et al.,2021).

I.1.2.2. α -Amylase et glycémie

Une équipe de chercheurs américains a étudié l' α -amylase salivaire et a constaté une variation significative des taux de α -amylase entre les individus, potentiellement due à des différences dans le nombre de copies du gène de l' α -amylase. Ils ont conduit une étude sur deux groupes composés chacun de 7 personnes non diabétiques et non obèses, distingués par des taux élevés et faibles de l' α -amylase respectivement. Les deux groupes ont réagi de manière similaire à l'ingestion d'une solution de glucose. Cependant, lorsqu'ils ont consommé de l'amidon, le groupe présentant des taux élevés de l' α -amylase a montré une glycémie plus basse et des concentrations d'insuline plus élevées que le groupe à taux faible. Ces résultats suggèrent que les individus avec des taux de l' α -amylase bas pourraient présenter un risque accru de développer des problèmes de métabolisme du glucose, potentiellement conduisant à une résistance à l'insuline et au diabète de type 2 (Mandel et Breslin, 2012).

I.1.2.3 Inhibiteurs naturels et synthétiques de l' α -amylase

Le médicament antidiabétique le plus courant qui agit principalement en inhibant la digestion et l'absorption des glucides est l'acarbose (BAY g 5421). Cet inhibiteur est d'origine microbienne et a été le premier inhibiteur d'alpha-glucosidase disponible pour le traitement du diabète. Il inhibe aussi les activités de l' α -amylase, sucrase et de la maltase (**Agarwal et al., 2016**). Bien que l'acarbose présente des avantages, elle reste une arme à double tranchant en raison de ses effets secondaires, tels que les troubles gastro-intestinaux, ce qui a incité les chercheurs à tourner vers des alternatives naturelles (**Hanefeld, 2007**).

Plusieurs études ont démontré que l'acarbose peut ralentir la dégradation du saccharose et de l'amidon chez les souris (**Santeusanio et Compagnucci, 1994**). Quoique son efficacité dans la réduction de la glycémie soit inférieure à celle des extraits naturels riches en polyphénols (**Mai et Chuyen, 2007**). Heo et ses collègues (2009) ont isolé un composé appelé diphlorethohydroxycarmalol extrait à partir d'*Ishige okamurae*, qui présente des effets inhibiteurs sur l' α -glucosidase et l' α -amylase, surpassant ainsi ceux de l'acarbose (**Carbonard et al., 2001 ; Hoe et al., 2009**).

Dans une étude distincte, Oliveira et ses collègues ont avancé l'hypothèse que la consommation d'extrait de *psammisia ramiflora* entraînait une réduction de l'apport alimentaire, du poids corporel et de la glycémie. Ainsi, les composés phénoliques présents dans cet extrait sont considérés comme efficaces pour réduire le poids et abaisser la glycémie, et sont associés à la restriction alimentaire et à l'inhibition de l'activité de l' α -amylase (**Oliveir et al., 2005 ; Maddi et al., 2014**). Par ailleurs, Zhang et al. (2009) ont découvert que l'acide gallique avait un fort effet inhibiteur sur l' α -amylase, avec un taux d'inhibition de 63,76 %.

I.2. Présentation de *Lavatera cretica* (LC)

I.2.1. Critères morphologiques

Lavatera cretica est une plante poilue aux feuilles denses et rondes, généralement longues de 20 cm. Elle a une grande forme ovale et 2 faces velus. Elle porte de petites fleurs triangulaires-ovales et est composée de 3 sépales externes et de 5 pétales violets. La plante a des lilas, des calices et des fleurs obtuses et se caractérise par des pétales profonds et émargés et des marges lâches ou légèrement criblées (**Bayer et al., 2005 ; Blamey et Grey-Wilson, 2009**) (**Figure 03**).



Figure 03 : *Lavatera cretica* (original)

I.2.2. Appellation

L. cretica, également répertoriée sous l'appellation *Malva multiflora* est une plante dont les noms vernaculaires incluent la lavatère de crête, la mauve multiflore ou la mauve Linné en français (**Banfi et al., 2005**). En anglais, elle est communément appelée Cornish mallow, tandis qu'en arabe, elle est identifiée sous le nom de Khobiza (**Veeramani et al., 2018**). Dans la langue kabyle, elle est désignée sous le terme Mejjir.

I.2.3. Taxonomie botanique

La classification taxonomique de *Lavatera cretica* est présentée dans le tableau I ci-dessous (**Banfi et al., 2005**).

Tableau I : Classification taxonomique de *Lavatera cretica*

Règne	Plante
Embranchement	Trachéophytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Malvales
Famille	Malvacées
Genre	Malva L
Espèce	<i>Malva multiflora</i>

I.2.4. Répartition

Lavatera cretica est une espèce présente dans les zones côtières du Proche-Orient et de la région méditerranéenne, y compris l'Afrique du Nord et les îles Canaries. Elle est également observée en Europe atlantique, du nord de la Bretagne, aux îles anglo-normandes et à l'ouest de la cornouailles, incluant les îles Scilly. Elle est aussi cultivée dans la plupart des fermes d'Arabie saoudite (**Ben-Naser et al., 2015 ; Veeramani et al., 2018**).

I.2.5. Composition chimique

Dans l'extrait de graines et de feuilles de *Lavatera cretica*, des composés phénoliques ont été détectés (**Ben-Nasr et al., 2015**). La plante présente également un rendement de 0.9% en glycine bêtaïne et de 0.03% en trigonelline /poids sec (**Blunden et al., 2001**).

Des analyses ont identifié la présence de phosphatase acide, de peroxydase et d'estérase dans cette plante (**Rizk et Soliman, 2014**). Veermani et al. (2017) ont identifié la présence de polyphénols et de flavonoïdes dans *L.cretica*.

Des études moléculaires ont révélé des bandes de taille spécifique dans *L. cretica*, dont une de 600 pb et une de 680 pb, servant de marqueurs positifs pour l'espèce. Une bande de 700 pb, absente chez *L. cretica* mais présente dans d'autres taxons, peut être utilisée comme marqueur négatif pour cette espèce (**Rizk et Soliman, 2014**). De plus, 12 bandes de protéines ont été identifiées dans les graines de *L. cretica* (**Rizk et Soliman, 2014**). Ces résultats mettent en évidence la richesse en composés et en marqueurs moléculaires spécifiques de cette plante.

I.2.6. Usage de *Lavatera cretica*

I.2.6.1. Utilisations médicales

Lavatera cretica est une plante aux multiples propriétés médicinales. Elle est connue pour ses effets anti-inflammatoires, analgésiques, antiseptiques, cholérétiques, et cholagogues, ainsi que pour ses vertus antiparasites et cicatrisantes. En infusion, elle est bénéfique pour traiter les plaies, les hémorroïdes et les entorses. En décoction, elle aide à lutter contre les infections, les inflammations et les lésions internes, soulageant les douleurs musculaires et divers inconforts liés à la vessie, à l'intestin, au foie et à l'estomac, tout en agissant comme vermifuge. Elle peut également être administrée par lavement pour apaiser certains troubles intestinaux (Gaspar et al., 2002 ; Veeramani et al., 2017).

La mauve était utilisée par les forgerons et bergers pour nettoyer les blessures animales, tandis que la rose trémière avait diverses applications médicales, incluant le soulagement des piqûres d'insectes et des soins dentation pour les nourrissons (Carvalho, 2006).

Les recherches menées par Pascual-Villalobos et Robledo (1999) ont révélé qu'un extrait à base d'acétone de *L. cretica* provenant du sud-est de l'Espagne avait la capacité d'induire une mortalité totale de 100 % chez les pupes de *Tribolium castaneum* suite à une application topique.

I.2.6.2. Utilisations culinaires

La mauve multiflore a une histoire riche d'utilisation dans l'alimentation humaine, particulièrement parmi les familles défavorisées. Les feuilles et les tiges tendres étaient préparées et consommées cuites pour accompagner les repas à base de légumineuses (Carvalho, 2006). Des études ethnobotaniques ont également révélé que dans certaines provinces d'Espagne, *L. cretica* est utilisée comme plante comestible, où les fruits immatures sont consommés crus comme collation et les feuilles tendres ainsi que les tiges sont préparées et consommées cuites (Tardío et al., 2006).

I.2.7. Etudes antérieurs sur *Lavatera cretica*

L'étude menée par Ben-Nasr et al (2015) a révélé que les extraits de *L. cretica* présentaient des concentrations élevées de polyphénols totaux et de flavonoïdes. Les extraits

de feuilles et de fleurs étaient efficaces pour éliminer les radicaux libres, tandis que les extraits de feuilles étaient particulièrement performants dans l'inhibition de la lipoxigénase. Ces résultats suggèrent que les extraits de *L. cretica* pourraient être bénéfiques dans le traitement des troubles neurodégénératifs en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes.

L'administration orale de différentes fractions de LC a des effets bénéfiques sur la santé hépatique. En particulier, l'acétate d'éthyle (EFLC) a réduit de manière significative les activités des marqueurs hépatiques ALT (Alanine Aminotransferase) et AST (Aspartate Aminotransferase), ainsi que les niveaux de triglycérides hépatiques, de cholestérol total et d'acides gras libres. De plus, l'EFLC a inversé l'expression de gènes impliqués dans la régulation des acides gras et a diminué la production de biomarqueurs du stress oxydatif. Ce qui fait que l'EFLC ait un effet protecteur contre l'accumulation de lipides hépatiques et les dommages cellulaires oxydatifs induits par un régime alimentaire riche en graisses, grâce à sa capacité à réguler les gènes de la lipogenèse et de la lipolyse (Veeramani et al., 2017).

Selon l'étude menée par Veeramani et ses collègues (2018) LC a montré sa capacité à réguler la résistance systémique à l'insuline. Les souris nourries par un régime riche en graisse ont été traitées avec l'extrait de feuilles (100 mg/kg) et ont observé une diminution du poids corporel, de l'apport alimentaire, de la leptine, de la glycémie et de l'insuline plasmatique. Selon le test de tolérance au glucose, cet extrait a permis d'éviter une augmentation supplémentaire des taux de glucose répandus. Par conséquent, LC pourrait servir d'agent antidiabétique utile.

I.3.Généralités sur les métabolites

Les plantes synthétisent une grande variété de composés organiques classés en métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires remplissent des fonctions essentielles liées à la photosynthèse, à la respiration, à la croissance et au développement. Parmi eux, on trouve les phytostérols, les lipides acylés, les nucléotides, les acides aminés et les acides organiques. D'autres composés, appelés métabolites secondaires, sont présents en concentrations élevées chez certaines espèces. Ils sont structuralement divers et souvent spécifiques à un nombre restreint d'espèces végétales (Dewick, 2002 ; Crozier et al., 2006).

Les métabolites secondaires des plantes, selon leurs origines biosynthétiques, peuvent être classés en trois catégories principales : les flavonoïdes et leurs composés phénoliques et

polyphénoliques associés, les terpénoïdes, et les alcaloïdes azotés et les composés soufrés. (Crozier *et al.*, 2006).

I.3.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés chimiques du métabolisme secondaire des plantes qui peuvent s'accumuler dans un groupe spécifique d'organes végétaux. En tant que groupe important de produits chimiques bioactifs, ils ont des fonctions biologiques diverses (Achat, 2013).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phénylalanine et Tyrosine) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A (Achat, 2013).

Les composés polyphénoliques ont une structure chimique diversifiée et c'est l'une des bases sur lesquelles une classification peut être réalisée. Les variations les plus courantes du squelette chimique comprennent le degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation et de glycosylation. Les principales classes de polyphénols comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Figure 04) (Rambaran, 2020).

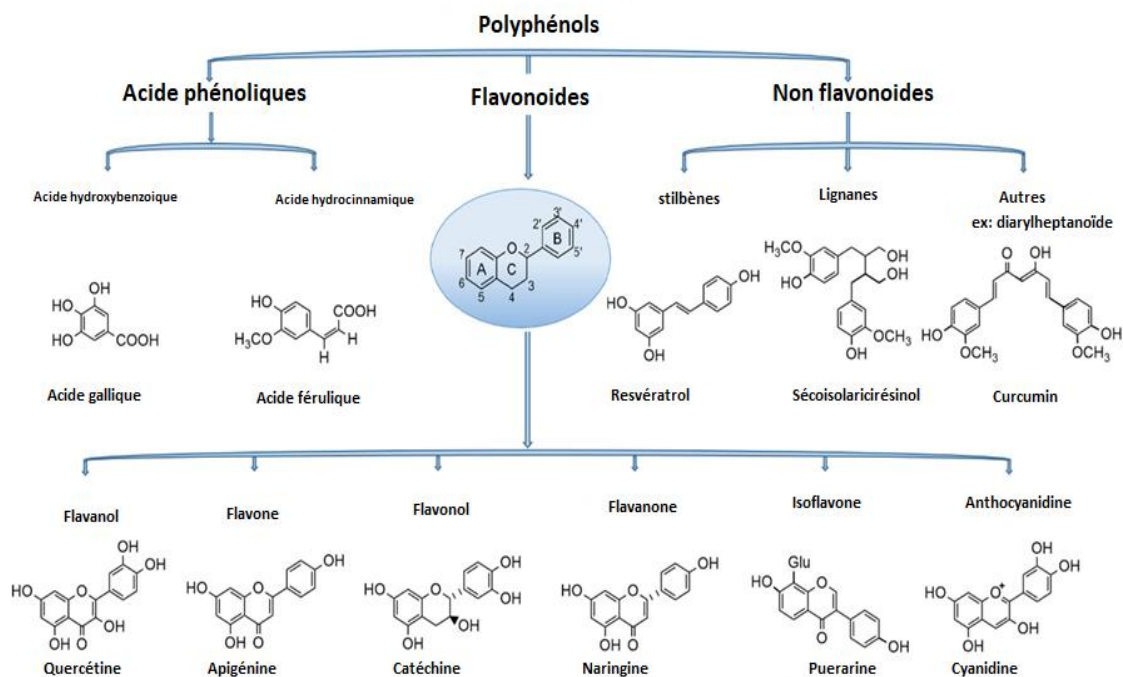


Figure 04 : Classification des polyphénols (Rambaran, 2020).

I.3.1.1. Acides phénoliques

Un groupe carboxylique attaché ou lié à un cycle benzénique est une caractéristique principale de tous les acides phénoliques. Ces composés se retrouvent sous formes conjuguées par des liaisons éther ou ester à des composants structurels d'une cellule végétale, rarement trouvés sous forme libre. En se basant sur leurs structures et leur précurseur de synthèse, deux classes se distinguent (**Figure 05**); les dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1) (A) et les dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3) (B) (**Stalikas, 2007**).

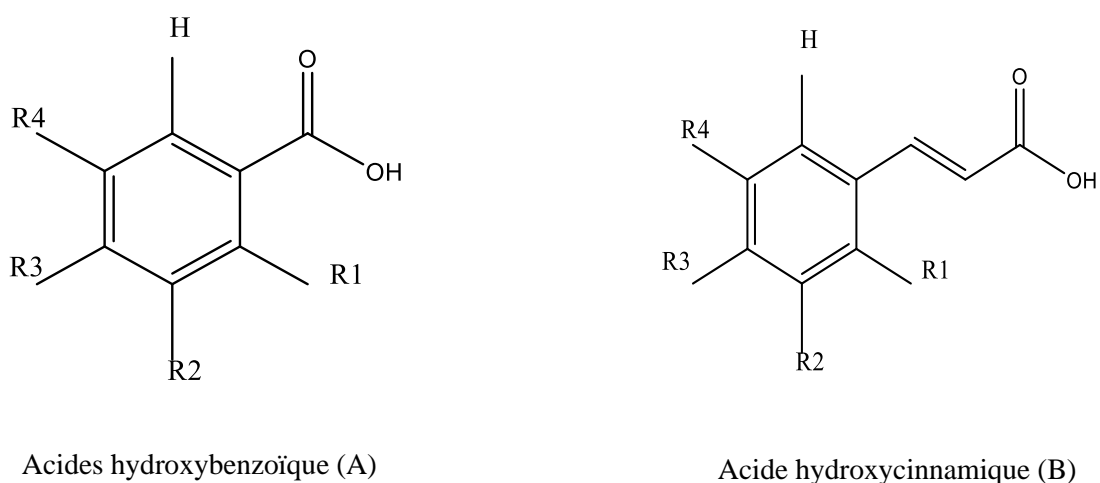


Figure 05 : Structures chimiques des acides phénoliques (**Stalikas, 2007**).

I.3.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un large groupe de composés polyphénoliques, caractérisés par une structure benzo-4-pyrone, omniprésente dans les légumes et les fruits. Plus de 9000 flavonoïdes ont été rapportés dans la littérature et sont présents dans différents types et parties de plantes comme les légumes, les fruits, les céréales, les légumineuses, les

haricots, les herbes, les racines, les feuilles et les graines (**Moulishankar et Lakshmanan, 2020**).

Le flavonoïde contient quinze carbone avec deux cycles benzéniques (cycle A et cycle B) qui sont reliés par un fragment C3 (**Figure 06**). Le fragment C3 forme un cycle hétérocyclique à six chaînons (cycle C) attaché au cycle A (**Moulishankar et Lakshmanan, 2020**).

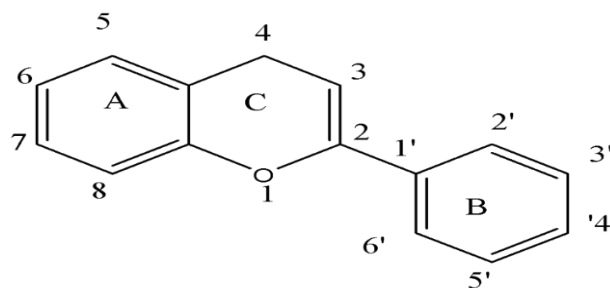


Figure 06 : Structure de base des flavonoïdes (Nabavi, 2018).

I.3.1.3. Tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques de plantes. Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir (Khanbabaee et Ree, 2001). Ils sont considérés comme des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter (Macheix et al., 2005).

Les tanins sont des composés de poids élevé allant de 500 à 3000 daltons (Parseh et al., 2012). Ils proviennent de différentes sources végétales et se trouvent dans différentes parties de la plante. Les tanins sont classés en 2 groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Macheix et al., 2005).

➤ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont constitués de molécules phénoliques simples. Ce sont des esters d'acide gallique et de ses dimères (acide digallique, acide ellagique) et de monosaccharides, le plus souvent le glucose (Parseh et al., 2012) (Figure 07). On trouve ces tanins principalement chez certaines dicotylédones et dans les jeunes feuilles d'arbre. Leur toxicité diminue grandement avec la maturité de la feuille (Sopeña et al., 2015). Les tanins hydrolysables, comme leur nom l'indique, sont caractérisés par le fait qu'ils s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase) (Rhazi et al., 2015).

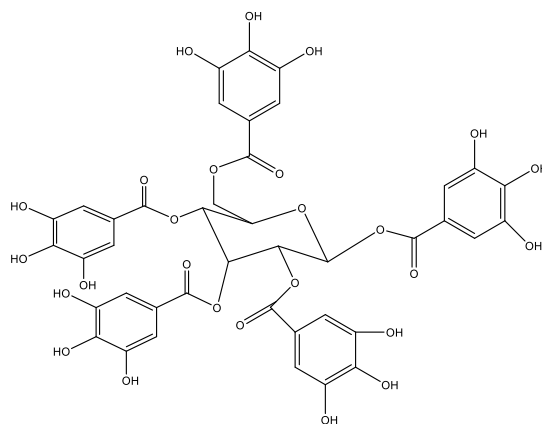


Figure 07 : Structure générale des tannins hydrolysables (BAYART, 2019).

➤ Tannins condensés

Les tanins condensés, contrairement aux tanins hydrolysables, sont résistants à l'hydrolyse, nécessitant des attaques chimiques fortes pour les dégrader. Ils ont un poids moléculaire plus élevé et sont issus de la polymérisation d'unités telles que des oligomères de flavane-3-ols (anthocyanidines) et des flavane-3,4-diols (leucoanthocyanidines), dérivés de la catéchine ou de ses isomères, hydroxylés en position 3. Leur condensation leur donne une structure similaire à celle des flavonoïdes (Rhazi *et al.*, 2015) (Figure 08).

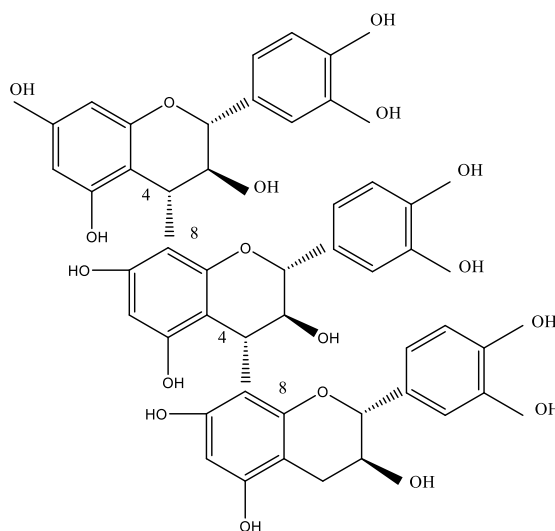


Figure 08 : Structure générale des tannins condensés (BAYART, 2019).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Équipements et produits chimiques

Une gamme d'équipements et de produits chimiques ont été utilisés dans cette étude. Ceci est résumé dans le tableau II ci-dessous.

Tableau II : Équipements et produits chimiques

Instruments	Produits chimiques
Agitateur	2,6-dichlorophénolindophénol (DCPIP)
Bain marie	Acétate de potassium
Balance	Acide acétique (CH ₃ COOH)
Centrifugeuse	Acide chlorhydrique
Cristalliseur	Acide oxalique (C ₂ H ₂ O ₄)
Eprouvette	Acide perchlorique (HClO ₄)
Etuve (Binder)	Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)
Pipette graduée 5	Amidon
Pipette Pasteur	Anthrone
Pissette	Enzyme α -amylase
Rotavapeur	Ethanol (C ₂ H ₆ O)
Tube à essai	L'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS)
Tube Eppendorf	Méthanol (CH ₃ OH)
Ultra turrax homogénéisateur	Ninhydrine (C ₉ H ₆ O ₄)
Vortex	Phénol (C ₆ H ₆ O)
Spectrophotomètre UV-visible 7220G (Biotech engineering UK)	Réactif de Bradford
	Tampon phosphate
	Toluène (C ₆ H ₅ CH ₃)
	Chlorure d'aluminium
	Quercétine
	Réactif de Folin-Ciocalteu
	Carbonate de sodium
	Acide gallique
	α – amylase (<i>Aspergillus</i>)
	Acarbose (1mg/mL)

II.1.2. Matériel végétal

L'étude expérimentale a été menée en utilisant des feuilles de la plante locale *Lavatera cretica*. L'identification botanique a été confirmée par M. ABBACI H. enseignant au département tronc commun, faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Bejaia. La plante a été récoltée en février 2022 à Berdoune, un village situé dans la périphérie de la commune d'Amizour de la wilaya de Bejaia. Ces feuilles ont été ensuite séchées à l'abri

de la lumière puis broyées et tamisées jusqu'à obtention d'une fine poudre de 250 μm qui a été conservée à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

II.1.2.1. Extraction

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est la macération hydro-éthanolique. Pour cela, 120g de poudre de feuilles de LC ont été macérées dans de l'éthanol à 50% pendant 8 heures puis soumis à une décantation toute la nuit. Le surnageant a été transféré dans un ballon à fond rond pour être évaporé dans un rotavapeur. L'extrait récupéré a été ensuite séché à $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ puis conservé à $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à utilisation.

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse obtenue après extraction (mf) et la masse de la matière végétale utilisée (mi). Il est donné par la formule suivante :

$$R = (mf / mi) * 100$$

Où

R : Rendement d'extraction (%)

mf : Masse de l'extrait sec (g)

mi : poids de la poudre soumise à l'extraction (g).

II.3. Dosages biochimiques des feuilles de *Lavatera cretica*

II.3.1. Teneur totale en protéines

➤ Principe

Le principe de cette méthode développée par Bradford (1976) repose sur l'utilisation du bleu de Coomassie G250. Ce dernier est de couleur marron. Lorsqu'il est en contact avec les acides aminés basiques et les résidus hydrophobes des protéines il y aura une couleur bleue qui apparaîtra avec un spectre d'absorption maximal estimé à 595 nm.

➤ Mode opératoire

Les protéines ont été extraites de l'échantillon de LC suivant la méthode de Landi-Librandi et al. (2007). Une quantité de 0,4 g de LC a été agitée avec 10 mL d'éthanol (70 %) pendant 24 heures. Ensuite, un volume de 100 μL de l'extrait éthanolique a été mélangé avec 2,5 mL de réactif de Bradford. Après 5 minutes d'incubation dans l'obscurité, l'absorption a

été mesurée à 595 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent albumine de sérum bovin/ g de matière sèche (mg EBSA/ g MS) (**annexe 01**).

II.3.2. Dosage d'acide ascorbique

➤ Principe

Le 2,6-dichlorophénolindophénol (DCPIP) est un produit chimique utilisé comme rédox, et peut également être utilisé comme indicateur pour l'évaluation de l'acide ascorbique (vitamine C). Si la vitamine C, qui est un bon agent réducteur, est présente dans l'échantillon, le colorant bleu, qui devient rose dans des conditions acides, est réduit en un composé incolore par l'acide ascorbique (**Cabello et al., 2009**).

➤ Mode opératoire

La teneur en acide ascorbique a été déterminée selon la méthode décrite par madin et Perry (1982) avec quelques modifications. 2 g d'échantillon de LC ont été mélangés avec 10 ml d'acide oxalique (3%, p/v). Le mélange a été agité pendant 20 min. Ensuite, un volume de 100 µL de la solution a été ajouté à 1 mL de DCPIP et les absorbances ont été mesurées à 515 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/ g MS) (**annexe 02**).

II.3.3. Dosage des glucides

➤ Principe

L'anthrone est un polyphénol dérivé de l'anthracène. Il réagit avec tous les oses, diosides, polysaccharides, amidon et les diverses dextrines. En milieu fortement acide, les glucides subissent une déshydratation lorsqu'ils réagissent avec de l'acide sulfurique pour former des composés furfural ou hydroxyméthylfurfural (HMF). L'anthrone réagit avec ces composés (HMF) pour produire un complexe de couleur vert bleuâtre (**Bachelier et Gavinelli, 1966; Mondal, 2021**).

➤ Mode opératoire

La teneur en glucides dans LC a été déterminé en utilisant la technique de **Mc Cready et al. (1950)**. Un volume de 1 mL de l'extrait (dilué à 1/10) a été rajoutés à 2 mL du réactif à l'anthrone (0,1 g d'anthrone dissous dans 50 ml d'H₂SO₄ à 91%). L'agitation au vortex a été suivie d'une incubation pendant 7 minutes au bain-marie à 100 °C. Après refroidissement, la

densité optique a été mesurée au spectrophotomètre à 630 nm. La courbe étalon a été réalisée en utilisant le glucose comme standard. La quantité en sucres solubles et en amidon a été exprimée en mg EGluc/g de matière végétale sèche (**annexe 03**).

II.3.4. Dosage de la proline

➤ Principe

La quantité en proline est déterminée par la méthode de Troll et Lindsley (1955), simplifiée par Bates et al. (1973). La proline réagit en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine, en donnant un composé rouge orangé soluble dans le benzène.

➤ Mode opératoire

Un volume de 1 ml d'extrait (0,1 g dissous dans 3 mL de méthanol) a été rajouté à 1 mL d'acide acétique concentré et 1 mL du réactif de ninhydrine (1,25 g de ninhydrine dissous dans 30 ml d'acide acétique glacial + 7,5 ml d'acide orthophosphorique à 85% + 12,5 ml d'eau distillée). Après une agitation au vortex, le mélange a été porté à ébullition dans un bain marie durant 30 minutes. Une fois refroidie, un volume de 3 mL de toluène a été rajouté au mélange ainsi qu'une pincée de Na₂SO₄ pour éliminer l'eau qu'il renferme. Après agitation, deux phases se développent au bout d'une nuit de décantation et la phase supérieure contenant la proline a été récupérée et sa densité optique a été mesurée à 515 nm au spectrophotomètre UV-VIS 7220G (Biotech engineering). La courbe étalon a été réalisée à l'aide d'une solution mère de proline à 1 mM. La quantité en proline a été exprimée en mg/g de matière végétale sèche (**annexe 04**).

II.3.5. Dosage des Pigments photosynthétiques et phéophytines

➤ Principe

L'acétone est utilisée pour extraire les pigments chlorophylliens et caroténoïdes des feuilles végétales, tandis que le HCl est employé pour acidifier les extraits pigmentaires, transformant ainsi les chlorophylles en phéophytines (phéophytinisation)(**Speziale et al., 1984**).

➤ Mode opératoire

Une quantité de 0,1 g de l'extrait de LC a été mélangé avec 10 mL d'acétone (80%) dans des conditions de faible luminosité et à basse température. Ce mélange a été ensuite

soumis à une centrifugation pendant 5 min à 5000 tpm, et son absorbance a été mesurée par spectrophotomètre UV-visible 7220G (Biotech engineering) à différentes longueurs d'onde : 663,2 nm, 646,8 nm et 470 nm. Ensuite, une goutte d'acide chlorhydrique (25%) a été directement ajoutée à l'extrait pour transformer les pigments chlorophylliens en phéophytines.

Après agitation légère, la mesure de l'absorbance a été effectuée après 30 à 60 secondes à des longueurs d'onde de 665,4 nm, 653,4 nm et 470 nm. Les résultats sont exprimés en mg de pigments/g de matière végétale sèche.

Les teneurs en pigments photosynthétiques et phéophytines, sont données pour le solvant utilisé (acétone 80%) par les équations suivantes de Lichtenthaler (1987) :

$$\text{Chlorophylle (a)} = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Chlorophylle (b)} = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Chlorophylles (a + b)} = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Phéophytine (a)} = 22,42 A_{665,4} - 6,81 A_{653,4}$$

$$\text{Phéophytine (b)} = 40,17 A_{653,4} - 18,58 A_{665,4}$$

$$\text{Phéophytines (a + b)} = 3,84 A_{665,4} + 33,36 A_{653,4}$$

$$\text{Caroténoïdes totaux} = \frac{1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b}{198}$$

Ca : chlorophylle a

Cb : chlorophylle b

II.3.6. Détermination du pH

➤ Mode opératoire

Une quantité de 0,1 g d'extrait de LC a été dissous dans 4 mL d'éthanol à 50 %. Le potentiel hydrogène (pH) a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Bante modèle 920).

II.3.7. Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption

➤ Mode opératoire

Une quantité de 0,1 g d'extrait de LC a été dissoute dans de l'éthanol à 50%. Le mélange a été ensuite soumis à un balayage sur une plage de longueur d'onde allant de l'UV au visible pour obtenir le spectre d'absorption de l'échantillon.

II.4. Dosage des composés phénoliques

II.4.1. Dosage des phénols totaux

➤ Principe

Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de mélange phosphotungstique phosphomolybdique du réactif de Folin par le groupement oxydable des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu (Georgé *et al.*, 2005).

➤ Mode opératoire

La mesure des phénols totaux a été effectuée selon le protocole optimisé par Zeghib *et al.* (2022). Un mélange de 200 µL d'extrait et 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (0,1 N) a été préincubé à l'obscurité pendant 5 min à 50° C avant l'ajout de 800 µL de carbonate de sodium (7,5 %). Après incubation, l'absorbance du produit de réaction a été mesurée à 760 nm avec un spectrophotomètre. Le résultat a été exprimé en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g de ES) (annexe 05).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Cette méthode repose sur l'ajout d'AlCl₃, qui réagit avec les groupements cétones en C4, ainsi qu'en C3 ou C5 des groupements hydroxyyles des flavones et des flavonoïdes, formant ainsi des complexes acides stables. De plus, l'AlCl₃ forme des complexes acides stables avec les groupes orthodihydroxyle dans le cycle A ou B des composés flavonoïdes, ce qui entraîne une absorption maximale à une longueur d'onde de 432 nm (Makuasa *et Ningsih*, 2020 ; Zhishen *et al.*, 1999).

➤ **Mode opératoire**

La mesure des flavonoïdes a été faite selon le protocole de Surana et al. (2016), avec des modifications mineures. Un mélange composé de 250 µL d'extrait, 750 µL d'éthanol, 50 µL d'acétate de potassium (CH₃CO₂K, 1 M dans l'éthanol), 50 µL de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 6H₂O, 10 % p/v dans H₂O), et 1,4 mL de H₂O ont été incubés pendant 40 min à température ambiante, dans l'obscurité. L'absorbance du produit de réaction a été mesurée à 415 nm et les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine pour gramme de matière sèche (mg EQ/g ES) (**annexe 06**).

II.4.3. Dosage des tanins condensés

➤ **Principe**

La teneur en tanins condensés dans les extraits de feuilles de LC a été déterminée par la méthode décrite par Sun et al. (1998). Cette méthode est basée sur la dépolymérisation des tanins condensés en présence d'acide et par réaction avec la vanilline pour produire des complexes colorés, mesurée à 500 nm (**Julkunen-Titto, 1985**).

➤ **Mode opératoire**

Une quantité de 125 µL d'extrait a été mélangé avec 750 µL de vanilline à 4 % et 375 µL d'acide chlorhydrique. Après 15 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 500 nm. La teneur en tanins condensés a été déduite suite à une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine et les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES) (**annexe 07**).

II.5. Évaluation de l'activité antidiabétique

II.5.1. Test d'inhibition de l' α -amylase

➤ **Principe**

Le principe de la réaction chimique dans le test de l'acide dinitrosalicylique (DNS) est basé sur la réaction de ce dernier avec un sucre réducteur (tel que le glucose) pour former de l'acide 3-amino-nitrosalicylique. Simultanément, les groupes aldéhydes des sucres réducteurs sont oxydés en groupes carboxyle. Cela crée un changement de couleur qui peut être mesuré pour quantifier la présence de sucre (**Miller, 1959**).

➤ **Mode opératoire**

Un volume de 200 μL d'extrait a été mélangé avec 200 μL d'amidon suivi d'une incubation de 10 minutes à température ambiante. Ensuite, un volume de 200 μL d'enzyme (0,5mg/mL) a été ajouté au mélange et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. Puis, une quantité de 400 μL de la solution DNS a été ajoutée au mélange et chauffé à 100°C pendant 5 minutes. Après cette incubation, les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 540nm (Miller, 1959).

II.6. Analyse statistique

Les résultats des tests ont été exprimés en moyenne \pm SD. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8.0, Test de Student. Les résultats ont été considérés comme significatifs à $P < 0,05$.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1. Rendement d'extraction

Les plantes contiennent un grand nombre de métabolites secondaires qui déterminent leurs propriétés médicinales (Adeshina et al., 2012). Il est donc important de maximiser l'extraction de ces ressources afin de mieux les utiliser comme sources potentielles de nouveaux médicaments naturels (Koné et al 2017).

Notre étude a révélé un rendement d'extraction de 20,14 %, soit 24,17 g d'extrait sec. L'efficacité de l'extraction dépend de divers paramètres tels que la méthode d'extraction employée, les conditions expérimentales et les caractéristiques propre à la plante ; certaines plantes possèdent des concentrations plus élevées en composés extractibles que d'autres (Boukhatem et al., 2020). Selon Koné et al. (2017), le rendement d'extraction varie d'une plante à l'autre en raison de plusieurs facteurs : la durée de séchage du matériel végétal, la granulométrie du broyat, le pourcentage d'alcool dans le solvant, la durée de macération et la vitesse d'agitation. Par conséquent, l'optimisation de ces paramètres est essentielle pour un extrait de haute qualité tout en évitant les composants indésirables ou la dégradation des composants souhaités.

Dans nos expériences, nous avons opté pour un solvant hydro-éthanolique, largement utilisé pour l'extraction des métabolites secondaires des plantes et possède un minimum d'effet toxique lorsqu'il est utilisé de manière appropriée, comme le rapportent Radzali et al. (2020). Ce choix s'explique par plusieurs critères : Tout d'abord, l'éthanol est un solvant polaire capable de former des liaisons hydrogènes avec d'autres molécules polaires, notamment l'eau. Sa polarité intermédiaire permet de dissoudre à la fois des composés polaires et certains composés non polaires, offrant ainsi une grande flexibilité pour les processus d'extraction (Chemat et Strube, 2015). L'ajout d'eau à l'éthanol permet de moduler la polarité du solvant, optimisant ainsi la solubilité d'une large gamme de composés et améliorant l'efficacité des processus d'extraction (Walton et Brown, 1999).

III.2. Caractérisation physico-chimique de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica*

Dans cette étude, nous explorons les paramètres physico-chimiques de *Lavatera cretica*, mettant en évidence leur rôle crucial dans sa physiologie, son environnement et ses applications potentielles.

III.2.1. Dosage des protéines

La teneur des protéines dans l'extrait hydro-éthanolique de LC a été déterminé en utilisant la méthode de Bradford (1976) qui a indiqué une valeur de $9,29 \pm 0,9$ mg EBSA/g MS. Comparativement aux résultats de Barros et al. (2010) *Malva sylvestris* possède une teneur de $12,25 \pm 1,01$ mg/g dans les feuilles. En revanche, l'étude de Tabaraki et al. (2012) ayant travaillé sur *M. sylvestris*, a révélé un taux plus faible que celui retrouvé dans notre étude. Il est important de noter que Tabaraki et al. (2012) ont utilisé la méthode Kjeldahl pour la détermination des protéines. Cette méthode mesure la teneur totale en azote, qui est ensuite convertie en protéines, tandis que la méthode de Bradford repose sur la liaison des protéines à un colorant, permettant une estimation directe des protéines solubles. Ces différences méthodologiques pourraient expliquer les variations des résultats (Bremner, 1959).

Les protéines nous apportent l'énergie et les constituants élémentaires dont notre organisme a besoin pour se construire et entretenir son métabolisme. L'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) indique que les protéines représentent 15 % de l'apport calorique pour l'individu, dont la moitié issue de sources végétales pour diversifier les acides aminés. Les protéines végétales sont aussi prisées par l'industrie agroalimentaire pour leurs propriétés fonctionnelles, comme la texturation et l'émulsification (Lavelle et Uriot, 2016).

III.2.2. Teneur en acide ascorbique

Les résultats du dosage de l'acide ascorbique sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS). L'extrait hydro-éthanolique de LC présente une valeur de $0,53 \pm 0,01$ mg EAA/g ES. L'acide ascorbique a également été dosé chez *Malva sylvestris*, enregistrant une teneur de 0,17 mg/g dans les feuilles (Barros et al., 2010).

Parmi tous les antioxydants présents dans les cellules végétales, on trouve la vitamine C (acide ascorbique). Elle joue un rôle crucial dans le contrôle de l'homéostasie des espèces réactives de l'oxygène par le biais de réactions enzymatiques et non enzymatiques, agissant dans différents compartiments cellulaires (Locato et al., 2009). De plus, l'acide ascorbique pourrait être bénéfique dans la gestion du diabète en éliminant les radicaux libres, en diminuant les concentrations de glycémie à jeun et d'hémoglobine glycosylée, et en prévenant les complications du diabète de type 2 (Praveen et al., 2020).

III.2.3. Teneur en glucides

La teneur en glucides dans l'extrait hydro-éthanolique de LC a été déterminée en utilisant la technique de McCready et al. (1950). Cette méthode permet une analyse précise des glucides totaux présents dans l'échantillon. Les résultats ont démontré une teneur de $37,5 \pm 1,38$ mg EGlu/g MS. Des études ont été faites sur des plantes de la même famille que LC (malvacées) et ont révélés des teneurs de 47,53 % chez *Urena lobata* L. (Abolaji et al., 2007) et 75,0 % chez *Corchorus tridens* (Asibey et Taiye, 1999).

Les glucides sont essentiels au maintien de la vie chez les plantes et les animaux. Ils améliorent l'apprentissage et la mémoire chez les personnes âgées en bonne santé et renforce plusieurs fonctions cognitives chez les individus atteints de graves pathologies cognitives, telles que la maladie d'Alzheimer et le syndrome de Down. Ainsi, une augmentation des concentrations de glucose dans le sang exerce des effets significatifs et étendus sur les fonctions cérébrales, influençant de nombreuses mesures neuronales et comportementales observés chez les rongeurs (Gold, 1995).

III.2.4. Teneur en amidon

Dans l'extrait de *L. cretica*, une teneur en amidon de $20,85 \pm 2,56$ mg EGlu/g MS a été mesurée. Cette valeur corrobore les résultats de Fisher et Fisher (1983) sur la lamina de *Lavatera cretica*. Leur étude a révélé que l'amidon forme des dépôts asymétriques en raison des motifs de lumière et d'ombre, se formant après le lever du soleil et se maintenant jusqu'au suivant. Pendant la journée, les dépôts deviennent symétriques, mais redeviennent asymétriques la nuit. Ces résultats soulignent l'importance des mécanismes de régulation de l'amidon pour l'adaptation des plantes aux conditions environnementales changeantes.

L'amidon est une source principale de glucides, se transformant en glucose pour fournir l'énergie nécessaire au cerveau, aux muscles et aux organes vitaux. Sa digestion lente maintien des niveaux de glucose stables, bénéfiques pour les diabétiques de type 2 en prévenant les fluctuations rapides de glycémie. Certains amidons agissent comme des fibres alimentaires au côlon, améliorant la régularité des selles et favorisant une flore intestinale (Emeje et Surguchov, 2022).

III.2.5. Teneur en proline

Après analyse des résultats obtenus, il a été constaté que LC est très riche en proline, avec une teneur de $14,04 \pm 0,77$ mg/g MS. La proline est un acide aminé non essentiel qui joue un rôle crucial dans la réponse des plantes au stress environnemental. Elle est particulièrement importante pour l'osmorégulation, la stabilisation des structures protéiques et membranaires, ainsi que pour la détoxification des radicaux libres.

Cet acide aminé peut agir comme une molécule de signalisation modulant les fonctions mitochondriales, influençant la prolifération et la mort cellulaires, et déclenchant l'expression de gènes spécifiques. Ces rôles sont essentiels pour la récupération des plantes après un stress (**Szabados et Savouré, 2010**).

Selon Hayat et al. (2012) la proline joue trois rôles majeurs en cas de stress, elle agit comme chélateur de métaux, comme molécule de défense antioxydante et comme molécule de signalisation.

La teneur en proline dans les tissus végétaux augmente souvent en réponse à des conditions stressantes telles que la sécheresse, la salinité et les températures extrêmes. Cette accumulation de proline est considérée comme un mécanisme d'adaptation nécessaire qui aide les plantes à maintenir leur croissance et leur développement dans des conditions défavorables. Belkhodja et Benkabilia (2000) ont également mis en évidence que l'accumulation de proline est une stratégie adaptative utilisée par les plantes pour faire face aux contraintes environnementales.

Chez les halophytes, la proline sert de marqueur intéressant pour évaluer leur résistance au stress salin, comme l'ont souligné Heyser et al. (1989). Ces plantes ont la capacité de maintenir un faible potentiel hydrique interne sous salinité environnementale, créant ainsi une pression de turgescence suffisante pour leur croissance, sans affecter leur circulation de l'eau et des nutriments à l'intérieur de la plante (**Pujol et al., 2001 ; Rontein et al., 2002**).

Ainsi, la richesse en proline de la plante *Lavatera cretica* témoigne de sa capacité à s'adapter et à survivre dans des conditions environnementales difficiles, soulignant l'importance de cet acide aminé dans les mécanismes de résistance au stress des plantes.

III.2.6. Teneur des pigments photosynthétiques et phéophytines

Le dosage de la chlorophylle a été réalisé selon la méthode de Lichtenthaler (1987). La méthode utilisée implique l'utilisation de l'acétone et de l'HCl pour transformer la chlorophylle en phéophytine. Les résultats sont exprimés en milligrammes par gramme d'extrait sec. Les concentrations enregistrées sont résumé dans le tableau III suivant :

Tableau III : Teneurs de LC en chlorophylles, phéophytines et caroténoïdes

Composé	Valeur (mg/g matière sèche)
Chlorophylle a	1,516 ± 0,39
Chlorophylle b	1,833 ± 0,16
Chlorophylle (a+b)	3,350 ± 0,228
Phéophytine a	1,303 ± 0,24
Phéophytine b	2,31 ± 0,36
Phéophytine (a+b)	3,61 ± 9,98
Caroténoïde	0,898 ± 0,02

Les résultats de notre étude sont supérieurs à ceux de Redžić et al. (2005) qui ont travaillé sur les feuilles de *Malva sylvestris* et qui ont enregistré des valeurs de $1,193 \times 10^{-2}$ mg/g de MS pour la chlorophylle a ; $1,66 \times 10^{-3}$ mg/g MS pour la chlorophylle b et $5,185 \times 10^{-3}$ mg/g MS pour les caroténoïdes.

Dans la même étude, Redžić et al. (2005) ont rapporté des concentrations nettement plus basses dans l'extrait de *Malva moschata* comparativement à celle retrouvée dans notre extrait avec des teneurs de 8×10^{-3} mg/g MS pour la chlorophylle a ; $7,09 \times 10^{-3}$ mg/g MS pour la chlorophylle b et $1,82 \times 10^{-3}$ mg/g MS pour les caroténoïdes.

Cette différence de teneur en chlorophylle et caroténoïdes pourrait être attribuée à de nombreux facteurs. Hikosaka et al. (2006) ont démontré que la quantité de chlorophylle dans les feuilles peut être influencée par divers éléments, y compris l'âge des feuilles, leur position, ainsi que des facteurs environnementaux comme la lumière, la température et l'apport en eau.

La richesse de la plante en caroténoïdes reflète son potentiel à avoir des effets bénéfiques significatifs sur la santé. Les preuves disponibles concernant l'utilisation des caroténoïdes alimentaires dans la santé hépatique suggèrent que ces composés réduisent efficacement l'accumulation de lipides, la résistance à l'insuline, le stress oxydatif et l'inflammation des hépatocytes. Ainsi, ils pourraient être utilisés comme alternative alimentaire pour la prévention et le traitement de la stéatose hépatique non alcoolique. De plus, les caroténoïdes ont des effets bénéfiques sur la santé générale, notamment en réduisant le risque de certains cancers, de maladies cardiovasculaires et de dégénérescence musculaire (Elvira-Torales, García-Alonso and Periago-Castón, 2019).

III.2.7. Mesure du pH des feuilles de *L. cretica*

Le pH des plantes est un indicateur crucial de leur état physiologique et métabolique. Dans cette étude, un pH de 6,24 a été enregistré chez LC. Ce pH légèrement acide favorise diverses activités biologiques et chimiques essentielles. Par exemple, le pH acide dans les thylakoïdes des chloroplastes, induit par la lumière, ralentit le flux d'électrons entre le photosystème II et le photosystème I, contribuant à dissiper l'excès d'énergie et à protéger l'appareil photosynthétique contre le stress solaire (Tikhonov, 2013). De plus, cette condition favorise des processus biologiques cruciaux tels que la photosynthèse et la respiration, facilitant la conversion de la lumière en énergie chimique et la production d'ATP, indispensable à la croissance et au développement des plantes (Raven, 1985).

L'étude menée par Long et al. (2017) a révélé qu'un pH de 6 a montré plusieurs bienfaits pour la croissance des plantules. À ce pH, les plantules ont présenté une croissance maximale sans inhibition notable. Les racines, les tiges et les feuilles ont maintenu des concentrations adéquates en éléments nutritifs essentiels, ce qui est crucial pour leur développement. L'assimilation du CO₂ par les feuilles, indispensable à la photosynthèse, était optimale, tout comme les échanges gazeux. La concentration en pigments, notamment en chlorophylle, était à des niveaux optimaux, favorisant une photosynthèse efficace. De plus, l'activité de la ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase, une enzyme clé pour la fixation du carbone, était robuste. Ces facteurs ont contribué à une santé générale et à une fonctionnalité photosynthétique maximales, soutenant ainsi une croissance vigoureuse. Ces bienfaits indiquent que le pH 6 est particulièrement favorable pour le développement et la santé des plantules (Long et al., 2017).

III.2.8. Longueurs d'ondes d'absorption de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica*

Les différents pics d'absorption observés dans la Figure 09 indiquent la présence de divers métabolites secondaires.

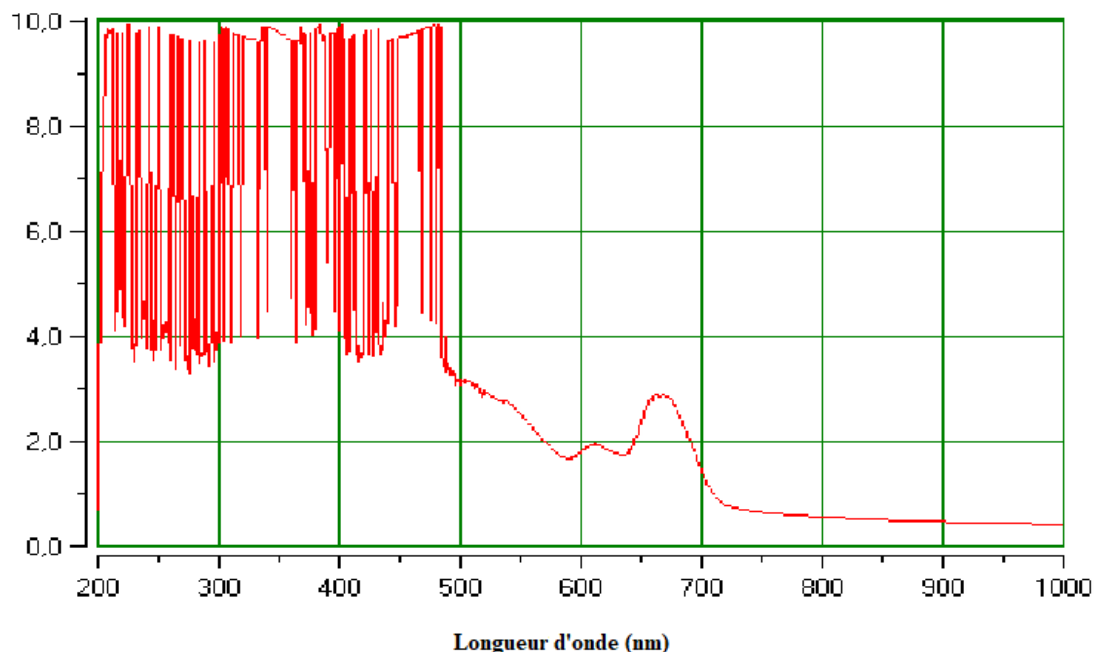


Figure 09 : Spectre d'Absorption de *Lavatera cretica*

Les pics de 390 nm à 440 nm confirment la présence de flavonoïdes. Selon l'étude de Heimeur et al. (2004) la présence des flavanols est indiquée par un pic d'absorption situé entre 420 et 440 nm, tandis que celle des flavones se manifeste par un maximum d'absorption compris entre 390 et 415 nm.

La hauteur des pics observés dans les spectres UV est proportionnelle à la concentration en aglycones flavoniques dans l'extrait. Cela signifie que plus les pics sont élevés, plus la concentration de ces composés est importante dans l'extrait (Jay et al., 1975).

Selon Britton et al. (2008) les caroténoïdes absorbent l'énergie lumineuse dans la région bleue et verte du spectre visible (350-550 nm), ce qui pourrait expliquer les courbes enregistrées dans cet intervalle.

Le pic à 610 nm observé dans la figure peut probablement correspondre à la chlorophylle. Ce résultat est en accord avec le travail de Lichtenthaler (1987), qui a démontré que la chlorophylle a présente une absorbance maximale à 428 et 665 nm, tandis que la chlorophylle b absorbe principalement à 452 nm et 642 nm.

Les résultats de Ksenzhek et Volkov (1998) ont démontré que la phéophytine a un maximum d'absorption primaire dans le benzène à 414 et 670 nm, ce qui pourrait expliquer le pic enregistré à 665 nm.

La plus grande longueur d'onde enregistré dans la figure 09 est de 483 nm, elle se situe dans le spectre visible de la lumière, spécifiquement dans la région bleu-vert. Connaître cette valeur (λ_{\max}) peut guider l'utilisation de l'extrait dans diverses applications, par exemple comme colorants naturels dans l'industrie alimentaire ou cosmétique, ou comme antioxydants dans l'industrie pharmaceutique. Grâce à ces informations, les conditions d'extraction peuvent être optimisées pour maximiser l'extraction des composés absorbant à 483 nm, par exemple en ajustant le pH, la polarité du solvant ou le temps d'extraction (Vandaele, 1997 ; Mille et Bourgarit, 2000).

III.2.9. Résultat de dosage de polyphénols

Les résultats des dosages des polyphénols dans l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica* sont présentés dans le tableau IV ci-dessous :

Tableau IV : Teneurs des polyphénols dans l'extrait hydro-éthanolique de LC

	Phénols totaux (mg EAG/g ES)	Flavonoïdes (mg EQ/g ES)	Tanins (mg EC/g ES)
Concentration	71,28 ± 1,66	17,47 ± 2,85	42,87 ± 3,81

mg EAG/g ES : milligrammes d'équivalents acides galliques par gramme d'extrait sec.

mg EQ/g ES : milligrammes d'équivalents quercétine par gramme d'extrait sec

mg EC/g ES : milligrammes d'équivalents catéchine par gramme d'extrait sec.

III.2.9.1. Dosage des phénols totaux

Pour évaluer la teneur en phénols totaux, la méthode de Folin-Ciocalteu a été employée. La concentration en phénols totaux dans l'extrait hydro-éthanolique de LC a été

déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats ont indiqué un taux de $71,28 \pm 1,66$ mg EAG/g ES (**Tableau IV**).

Ce résultat concorde avec les travaux de Veeramani et al. (2017), qui ont démontré la richesse de LC en polyphénols, avec une teneur maximale observée dans l'extrait d'acétate d'éthyle. En comparaison, l'extrait méthanolique a montré une teneur plus faible en polyphénols, tandis que l'extrait chloroformique a présenté un taux très faible. Par ailleurs, le résultat de notre étude est supérieur à celui de Basheer et al. (2021) qui ont enregistré une faible teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique des feuilles de LC ($16,5 \pm 3,2$ mg EAG/g ES). Par ailleurs, le résultat de notre étude est inférieur à celui de Ben-Nasr et al. (2015), qui a rapporté un rendement de $254,62 \pm 6,50$ mg EAG/g ES pour l'extrait aqueux de LC. Selon Tiwari et al. (2011) la variation de teneur en composés phénoliques entre les extraits pourrait s'expliquer par les différences de polarité des phytoconstitués libérés par chaque type de solvant utilisé lors de l'extraction. De plus, la teneur en phénols totaux dans l'extrait hydro-éthanolique de notre étude était supérieure à celle de l'extrait éthanolique (70%) de *Malva sylvestris* ($1,42 \pm 0,14$ mg EAG/g MF) rapportée par Petkova et al. (2019).

La différence significative entre les extraits pourrait être attribuée à leur composition chimique, à la méthode d'extraction utilisée, à la taille des particules de l'échantillon, ainsi qu'à la durée et aux conditions de stockage (**Naczki et Shahidi, 2004**).

III.2.9.2. Teneur en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée par une méthode spectrophotométrique utilisant le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES). La concentration des flavonoïdes dans l'extrait hydro-éthanolique de LC est de $17,47 \pm 2,85$ mg EQ/g ES. Les résultats sont illustrés dans le tableau III.

L'étude de Veeramani et al. (2017) a révélé que LC est riche en flavonoïdes. La teneur la plus élevée a été observée dans l'extrait acétate d'éthyle, tandis que l'extrait méthanolique a montré une teneur plus faible.

Dans des recherches distinctes, Petkova et al. (2019) ont constaté une faible teneur en flavonoïdes dans les feuilles de *Malva sylvestris*, avec $0,76 \pm 0,19$ mg EQ/g de poids frais. De plus, Al-Snafi (2019) a rapporté un rendement de $15,58 \pm 0,19$ µg EQ/mg dans l'extrait méthanolique de *Malva neglecta*.

Cette variation dans la teneur en flavonoïdes entre les différents extraits pourrait être attribuée à leur composition chimique, à la méthode d'extraction utilisée, à la taille des particules de l'échantillon, ainsi qu'à la durée et aux conditions de stockage (Naczk et Shahidi, 2004). Effectivement, selon (Kumar et al., 2011). La variation de la teneur en composés phénoliques entre les extraits pourrait s'expliquer par les différences de polarité des phytoconstitués libérés par chaque type de solvant utilisé lors de l'extraction.

Une étude menée par Roshanak et al. (2016) a démontré que la méthode de séchage et la température jouent un rôle crucial dans l'extraction des flavonoïdes. Ils ont constaté que ces facteurs ont un impact significatif sur le taux de flavonoïdes extrait lors du processus d'extraction.

III.2.9.3. Teneur en tanins

Pour évaluer la teneur en tanins condensés, nous avons suivi le protocole de Sun et al. (1998). La concentration en tanins dans l'extrait hydro-éthanolique de LC a été déterminée en utilisant une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine. Les résultats présentés dans le tableau III indiquent un taux de $42,87 \pm 3,81$ mg EC/g ES.

Le résultat de notre étude est significativement supérieur à celui de Tabaraki et al. (2012) qui ont enregistré une faible teneur en tanins dans l'extrait des feuilles de *Malva sylvestris*. Cette différence significative entre les deux extraits pourrait être attribuée à leur composition chimique, à la méthode d'extraction utilisée, ainsi qu'aux conditions de stockage (Naczk et Shahidi, 2004). La variation de la teneur en composés phénoliques entre les extraits pourrait également s'expliquer par les différences de polarité des phytoconstitués libérés par chaque type de solvant utilisé lors de l'extraction (Kumar et al., 2011).

III.3. Pourcentage d'inhibition d' α -amylase

Trois extraits de LC (LC 10%, LC 50%, aqueux) ont été évalués pour leur potentiel d'inhibition de l'activité d' α -amylase, en comparaison avec la molécule de référence acarbose (1mg/mL). Une différence significative a été observée entre le

Control et les extraits de LC ($P < 0,001$). L'extrait LC 50% a démontré un effet inhibiteur de $22,25 \pm 0,25\%$ sur l'activité de l' α -amylase, surpassant ainsi celui de LC 10% et l'extrait aqueux, qui ont montré des taux d'inhibition de $15,65 \pm 0,45\%$ et $12,74 \pm 0,09\%$, respectivement. La molécule de référence quant à elle a exhibé une inhibition de $46,52 \pm 0,004\%$ (Figure 10).

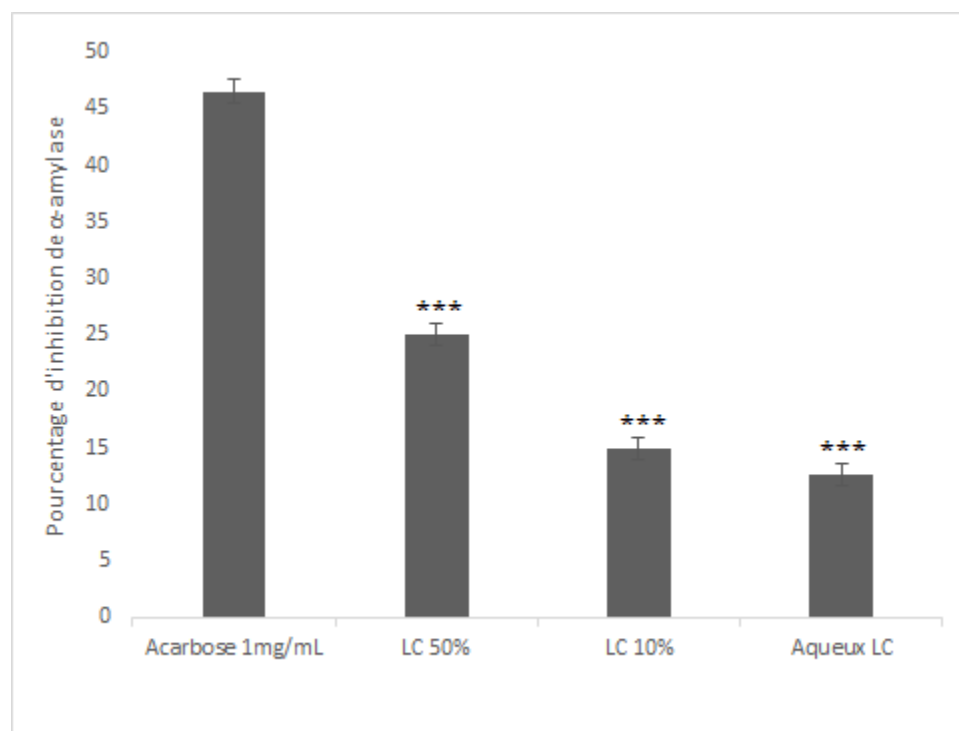


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition de α -amylase par LC.

LC : *Lavatera cretica*, LC 50% : extrait éthanolique de *Lavatera cretica* à 50 %, LC 10% : extrait éthanolique de *Lavatera cretica* à 10 %. Toutes les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SD, (N = 5) ; Test de Student a été utilisé pour l'analyse statistique, ****P < 0,001 comparé à l'acarbose.

L'inhibition de l' α -amylase par l'extrait hydro-éthanolique de LC peut être due à la richesse de la plante en composés phénoliques capables de ralentir le diabète en inhibant la conversion de l'amidon en glucose (Mehenni et al., 2016). Les polyphénols protègent également contre les dommages oxydatifs induits par un excès de glucose et peuvent moduler la sécrétion d'insuline chez les humains (Stull et al., 2010).

Les principaux composants des polyphénols sont retenus dans le tractus intestinal et, sans être absorbés, sont acheminés vers le côlon. Le saccharose et l'amidon réagissent avec ces composants polyphénoliques, réduisant ainsi l'activité des enzymes telles que l' α -amylase et l' α -glucosidase, impliquées dans la libération de glucose dans le tractus gastro-intestinal (McDougall et al., 2005 ; Takikawa et al., 2010).

Les composés phénoliques peuvent également réduire indirectement la synthèse du glucose dans le foie en intervenant dans les voies de détection de l'insuline (McDougall et al., 2005 ; Takikawa et al., 2010).

Les extraits riches en polyphénols provenant de fruits doux, tels que la fraise et la framboise, ont montré une certaine inhibition de l' α -amylase, contenant des quantités appréciables de tanins solubles (McDougall et al., 2005 ; Takikawa et al., 2010). Ceci pourrait expliquer l'inhibition de α -amylase par LC vu la richesse de notre extrait en tanins. D'autres extraits riches en tanins, comme le raisin rouge et le thé vert, sont également des inhibiteurs efficaces de l' α -amylase (Tundis et al., 2010).

Les effets inhibiteurs de différents composés polyphénoliques sur l'activité de l' α -amylase ont été étudiés *in vitro*. L'étude a montré que les molécules capables de former des quinones ou des lactones, ainsi que les groupes hydroxyles libres, semblent nécessaires pour un effet inhibiteur plus marqué sur l' α -amylase (Bojsen et al., 1999 ; Okuyama et al., 2004).

Selon Veeramani et al. (2018) l'extrait de LC améliore l'activité de sensibilisation à l'insuline dans un modèle murin d'insulinorésistance induite par une alimentation riche en fructose, probablement en atténuant l'inflammation du tissu adipeux et les dommages oxydatifs. Le traitement oral des souris diabétiques avec l'extrait éthanolique de LC a montré une diminution significative de l'apport alimentaire, du poids corporel, de la leptine plasmatique, du glucose et de l'insulinorésistance par rapport aux souris obèses non traitées, suggérant que cet extrait pourrait servir d'agent antidiabétique utile.

Les extraits de *L. cretica*, riches en polyphénols, tanins, et autres composés bioactifs, montrent un potentiel prometteur pour l'inhibition de l' α -amylase et l'amélioration de la sensibilisation à l'insuline, ce qui pourrait contribuer à de nouvelles approches pour la gestion du diabète.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour objectif d'évaluer les caractéristiques physico-chimiques de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Lavatera cretica* et d'examiner son activité antidiabétique.

Le procédé d'extraction hydro-éthanolique par macération a permis l'obtention d'un rendement de 20,15 % d'extrait sec. Le dosage des métabolites secondaires présents dans l'extrait de LC a révélé un taux modéré de phénols totaux ($71,28 \pm 1,66$ mg EAG/g ES), de flavonoïdes ($17,47 \pm 2,85$ mg EQ/g ES), de tanins ($42,87 \pm 3,81$ mg EC/g ES), de chlorophylles ($3,350 \pm 0,228$ mg/g MS), de phéophytines ($3,61 \pm 9,98$ mg/g MS) et de caroténoïdes ($0,898 \pm 0,02$ mg/g MS). De plus le dosage des métabolites primaires a indiqué des valeurs notables de sucres solubles ($37,5 \pm 1,38$ mg EGlu/g MS), d'amidon ($20,85 \pm 2,56$ mg EGlu/g MS) de protéines ($9,29 \pm 0,9$ mg E BSA/g MS) et de proline ($14,04 \pm 0,77$ mg/g MS). Le spectre d'absorption UV de LC a indiqué la présence de pics dans les longueurs d'ondes allant de 200 à 680 nm confirmant la présence de composés phénoliques, phéophytines et de chlorophylles. Par ailleurs, un pH de 6,24 a été retrouvé dans l'extrait hydro-éthanolique de LC.

Les résultats des tests antidiabétiques ont démontré que l'extrait de LC avait la capacité d'inhiber moyennement l'enzyme α -amylase. L'extrait éthanolique 50% a montré un taux d'inhibition de $22,26 \pm 0,25$ %, tandis que l'extrait éthanolique 10% et l'extrait aqueux ont exhibé des taux d'inhibition de $15,65 \pm 0,45$ % et $12,74 \pm 0,09$ %, respectivement, comparativement à la molécule de référence acarbose qui a enregistré une inhibition de $46,52 \pm 0,004$ %.

À la lumière de ces résultats, il serait souhaitable de réaliser une chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) afin d'identifier les composés bioactifs présent dans l'extrait hydro-éthanolique de LC, comme il serait pertinent de compléter l'étude antidiabétique en testant l'effet de LC sur l'enzyme α -glucosidase-

Références bibliographiques

A

Abolaji, O.A., Adebayo, A.H. and Odesanmi, O.S. (2007). Nutritional qualities of three medicinal plant parts (*Xylopiya aethiopica*, *Blighia sapida* and *Parinari polyandra*) commonly used by pregnant women in the western part of Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6, 665–668. Available at: <https://doi.org/10.3923/pjn.2007.665.668>.

Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Travail de diplôme en vue de l'obtention du grade de Docteur en sciences, Filière : Biologie, Ecole Doctorale 536 – Avignon, UNIVERSITE A. MIRA-BEJAIA, p.5.

ADA (2024).: <https://diabetes.org/about-diabetes/type-1>[Dernière consultation le 17 avril 2024].

Adeshina, G.O., Onaolapo, J.A., Ehinmidu, JO, Odama, L.E., Kunle, O.F. (2012). Études phytochimiques et antibactériennes de l'extrait d'hexane de feuille d'Alchornea cordifolia, produits phytochimiques en tant que nutraceutiques – Approches mondiales de leur rôle dans la nutrition et la santé, Dr. Venketeshwer Rao (éd.), éditeur InTech Open Access. 278 p.

Agarwal, P., Gupta, R. (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Journal of Medical Physics*. 5.(4).

Al-Snafi A.I. (2019). Medical benefit of *Malva neglecta*. *Journal Of Pharmacy*; 2019, 9 : 60-67.

Asibey-Berko E., Tayie F. A. K. (1999). Proximate Analysis of some underutilized Ghanaian vegetables. *Ghana Journal of Science*, 39 : 8-16.

B

Bachelier, G., Gavinelli, R. (1966). Dosage global des glucides du sol par les méthodes colorimétriques à l'antrone et à l'orcinol, 4 ; 97–103.

Banfi E., Galasso G., Soldano A. (2005). Notes sur la systématique et la taxonomie de la flore vasculaire italienne. 1. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat. Mus. Civico Storia Nat. Milan* ; , 146 (2) : 219-244

Références bibliographiques

- Barnett, T.A., Hageman, J.H. (1983).** Characterization of a brown pigment from *Bacillus subtilis* cultures. *Canadian Journal of Microbiology*, 29 ; 309–315.
- Barros LAM et al. Leaves, flowers. (2010).** immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*; 48: 1466–1472.
- Basheer, L., Ben-Simchon, E., Cohen, A., Shelef, O. (2021).** From Traditional Food to Functional Food Evaluation of Malvaceae Species as Novel Food Crops. *Agronomy* 11, 1294. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071294>
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. (1973).** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39, 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- BAYART, M. (2019).** *Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin.* Travail de diplôme en vue de l'obtention de diplôme de doctorat, Spécialité Génie Civil, Sherbrooke (Québec) Canada, 153 P.
- Bayer, K. P., Buttler, X., Finkenzeller, J., Griot André. E. (1990).** Guide de la flore méditerranéenne. In : *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon*, 2, 44.
- Belkhodja, M. (2004).** Analyse de la proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte *Atriplex halimus L.* à la salinité. *Journal of Agricultural Research*. 78(1): 185-195.
- Belkhodja M. et M.Benkablia. (2000).** Proline response of faba bean (*Vicia faba L.*) under salt stress. Egypt. *Journal of Agricultural Research*.,78, (1), p.185 195.
- Ben-Nasr, S., Aazza, S., Mnif, W., Miguel, M.G.C. (2015).** Antioxidant and anti-lipoxygenase activities of extracts from different parts of *Lavatera cretica L.* grown in Algarve (Portugal). *Pharmacognosy Magasine*, 11(41): 48–54.
- Bergholdt, R., Brorsson, C., Palleja, A., Berchtold, L.A., Fløyel, T., Bang-Berthelsen, C.H., Frederiksen, K.S., Jensen, L.J., Størling, J. et al. (2012).** Identification of Novel Type 1 Diabetes Candidate Genes by Integrating Genome-Wide Association Data, Protein-Protein Interactions, and Human Pancreatic Islet Gene Expression. *Diabetes*, 61 : 954–962.

Références bibliographiques

Blunden, G., Patel, A.V., Armstrong, N.J., Gorham, J.B. (2001). Répartition chez les Malvacées. *Phytochimie*, 58: 4.

Bojsen, K., Yu, S., Marcussen, J. (1999). A group of α -1,4-glucan lyase genes from the fungi *Morchella costata*, *M. vulgaris* and *Peziza ostracoderma*. Cloning, complete sequencing and heterologous expression. *Plant Molecular Biology*, 40: 445–454.

Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*. 72, 284–254.

Bremner, J. M. (1959). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *Journal of Agriculture Science*. 55, 11–33.

Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. (2008). *Carotenoids: Natural Functions*. Germany : Springer Science & Business Media, 4.

C

Carbonard, M., Grant, G., Pusztai, A. (2001). Évaluation de la biodisponibilité des polyphénols dans l'intestin grêle du rat. *Journal européen de nutrition*, 40 : 84-900.

Carvalho, L. M. M. (2006). *Estudos de Etnobotânica e Botânica Económica no Alentejo* Travail de diplôme en vue de l'obtention du grade de Thèse de doctorat, Universidade de Coimbra, Faculdade de Ciências e Tecnologia. p. 462.

Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Edt Blackwell Publishing Ltd. 353p.

Chemat F., Strube J. (2015). *Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice*. John Wiley & Sons.

D

Dewick, P.M. (2002). *Produits naturels médicinaux : Une approche biosynthétique* (2e édition).UK : John Wiley & Sons.121-164.

E

Eddouks, M., Ouahidi, M., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Ahmed, L. (2007). The use of medicinal plants in the treatment of diabetes in Morocco. *Phytotherapie* 5, 194–203. <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0252-4>.

Elbehery, N.H.A., Amr, A.E.-G.E., Kamel, A.H., Elsayed, E.A., Hassan, S.S.M. (2019). Novel Potentiometric 2,6-Dichlorophenolindo-phenolate (DCPIP) Membrane-Based Sensors: Assessment of Their Input in the Determination of Total Phenolics and Ascorbic Acid in Beverages. *Sensors* 19, 2058. <https://doi.org/10.3390/s19092058>

Elvira-Torales, L.I., García-Alonso, J., Periago-Castón, M.J. (2019). Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health. *Antioxidants*, 8 : 229.

Enneb, H., Belkadhi, A., Cheour, F., Ferchichi, E.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.

F

Fagbohun, E. D. (2012). Chemical composition and antimicrobial activities of *Urena lobata L.* (Malvaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(12): 2256-226.

Fisher, F.J.F., Fisher, P.M. (1983). Differential starch deposition: a ‘memory’ hypothesis for nocturnal leaf movements in the sun-tracking species *Lavatera cretica L.* *New Phytologist*, 94: 531–536.

G

Gaspar N., Godinho J., Vasconcelos T., Caldas D., Mendes P., Barros O. (2002). Ethnobotany in the center of Portugal (Santarém). In: *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Applications*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 84-271.

Grey-Wilson, C et Blamey, M. (2009). *Botanique Toutes les fleurs de méditerranée* : DELACHAUX. p. 560.

Références bibliographiques

Gold, P. (1995). Role of glucose in regulating the brain and cognition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61: 987-995. <https://doi.org/10.1093/ajcn/61.4.987S>

H

Hanefeld, M. (2007). Bénéfices cardiovasculaires et profil d'innocuité du traitement à l'acarbose dans le prédiabète et le diabète de type 2 établi. *Diabétologie cardiovasculaire*, 6(20) :1-10.

Hänninen, A., Toivonen, R., Pöysti, S., Belzer, C., Plovier, H., Ouwerkerk, P., Emani, R., Cani, P., De Vos, W. (2018). 'Akkermansia muciniphila induces gut microbiota remodelling and controls islet autoimmunity in NOD mice', *International Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 67(8):1445–1453.

Heimeur, N., Idrissi Hassani, L.M., Serghini, M. (2004). LES POLYPHENOLS DE *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *Reviews in biology and biotechnology*, 3: 37–42.

Heo, S.-J., Hwang, J.-Y., Choi, J.-I., Han, J.-S., Kim, H.-J., Jeon, Y.-J. (2009). Diphllorethohydroxycarmalol isolated from *Ishige okamurae*, a brown algae, a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *European Journal of Pharmacology*, 615: 252–256.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, MN, Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A. (2012). Rôle de la proline dans des environnements changeants : une revue. *Signalisation et comportement des plantes*, 7 : 1456-1466.

Heyser, J. W., Chacon, M. J., Scott Warren, R. (1989). Characterization of L-[5-13C]-Proline Biosynthesis in Halophytic and Nonhalophytic Suspension Cultures by 13C NMR. *Journal of Plant Physiology*, 135(4) : 459-466.

Hikosaka, K., Ishikawa, K., Borjigidai, A., Muller, O., Onoda, Y. (2006). Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *Journal of Experimental Botany*, 57: 291–302.

Holt, R. I. G., Flyvbjerg, A. (2024). *The Textbook of Diabetes* (6th ed.). Wiley Blackwell. 1214 p.

J

Jay, M., Gonnet, J.-F., Wollenweber, E., Voirin, B. (1975). Sur l'analyse qualitative des aglycones flavoniques dans une optique chimiotaxinomique. *Phytochemistry*, 14 :1605–1612.

Julkunen-Tiitto,R.(1985). Phenolic Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,30: 213-217.

K

Khanbabaee, K., van Ree., T. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*. 18 : 641–649.

Khanaposhtani, M., Nikraftar, A., Asgari, M. S., Emadi, M., Mojtabavi, S., Faramarzi, M. A., Rastegar, H., Larijani, B., Mahdavi, M. (2021). Synthesis, in vitro and in silico enzymatic inhibition assays, and toxicity evaluations of new 4,5-diphenylimidazole-N-phenylacetamide derivatives as potent α -glucosidase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 30(6): 1273–1283.

Klein, B.P.,et Perry, A.K. (1982). Ascorbic Acid and Vitamin A Activity in Selected Vegetables from Different Geographical Areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47: 941–945.

Koné, K.P.F.O., Sorro,Y., Siaka,S. (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbenslinn* (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 044 : 15-12.

Ksenzhek, O.S., Volkov, A.S. (1998). *Plants energetics*. California: ACADEMIC press.

Kumar, M.K., Kaur, G., Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review *Internationale pharmaceutica scientia*, 1: 98-106.

L

Landi-Librandi, A.P., Chrysóstomo, T.N., Azzolini, A.E.C.S., Recchia, C.G.V., Uyemura, S.A., Assis-Pandochi, A.I. (2007). Effect of the extract of the tamarind

Références bibliographiques

(*Tamarindus indica*) fruit on the complement system: Studies in vitro and in hamsters submitted to a cholesterol-enriched diet. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1487–1495.

Lavelle, C., et Uriot, K. (2016). Les protéines végétales : Un nouvel eldorado nutritionnel. In G. Fumey (Éd.), *L'alimentation demain*, 181-196.

Lichtenthaler, H. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. 148: 350–382.

Locato V., Pinto, M.C., Gadaleta, C., De Gara, L. (2009). Ascorbate metabolism as critical point for the activation of programmed cell death in plants. *Free Radical Research*. 43. 27-97.

Long, A., Zhang, J., Yang, L.-T., Ye, X., Lai, N.-W., Tan, L.-L., Lin, D., Chen, L.-S. (2017). Effects of Low pH on Photosynthesis, Related Physiological Parameters, and Nutrient Profiles of Citrus. *Frontiers in Plant Science*, 8, 22. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00185>.

Lönnrot, M., Korpela, K., Knip, M., Ilonen, J., Simell, O., Korhonen, S., Savola, K., Muona, P., Simell, T., et al. (2000). Enterovirus Infection as a Risk Factor for β -Cell Autoimmunity in a Prospectively Observed Birth Cohort. *American Diabetes Association*, 49 : 1314-1318.

M

Macheix, J., Fleuriet, A., Jay-allemant, C., (2005) *les composés phénoliques des végétaux*. Press polytechnique et universitaires romandes. 185 P.

Maddi, A., Haase, E.M., Scannapieco, F.A. (2014). Mass Spectrometric Analysis of Whole Secretome and Amylase-precipitated Secretome Proteins from *Streptococcus gordonii*. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 7, 287-295.

Mai, TT., Chuyen, N.V. (2007). Activité anti-hyperglycémiant d'un extrait aqueux de boutons floraux de *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr et Perry. *Biosciences, biotechnologie et biochimie*, 71, 69-76.

Makuasa, A.D., et Ningsih. P. (2020). The Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Sepctrofotometry Methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 2(1):11–17.

Références bibliographiques

Mandel, A.L., et Breslin, P.A.S. (2012). High Endogenous Salivary Amylase Activity Is Associated with Improved Glycemic Homeostasis following Starch Ingestion in Adults. *The Journal of Nutrition: Nutrient Physiology, Metabolism, and Nutrient-Nutrient Interactions*, 142: 853-858.

McCready, R.M., Guggolz, Jack., Silviera, Vernon., Owens, H.S. (1950). Determination of Starch and Amylose in Vegetables. *Analytical Chemistry*, 2: 1156–1158.

McDougall, G.J., Shpiro, F., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., Stewart, D. (2005). Different Polyphenolic Components of Soft Fruits Inhibit α -Amylase and α -Glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2760–2766.

Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of Pistacia lentiscus leaf and fruit extracts. *Food and Drug Administration*, 24: 653–669.

Mille, B., Bourgarit, D. (2000). L'analyse des alliages anciens à base de cuivre : état des connaissances et développement d'un protocole d'analyse par ICP-AES. *ArchéoSciences, revue d'Archéométrie*, 24: 13-26.

Miller, G.L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 426–428.

Mondal, S. (2021). Tests for specific carbohydrates: Anthrone test; Mucic acid test; Osazone test; Test for non-reducing sugars; Bial's test.

Moulishankar, A. and Lakshmanan, K. (2020) Data on molecular docking of naturally occurring flavonoids with biologically important targets, *Data in Brief*, 29, p. 105243. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105243>.

N

Nabavi, S.M., Šamec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S., Suntar, I., Rastrelli, L., Daglia, M., et al. (2018). Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.005> .

Références bibliographiques

Naczki M. et Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.

Negi PS, Roy SK. (2000). Effect of blanching and drying methods on β -carotene, ascorbic acid and chlorophyll retention of leafy vegetables. *Food Science and Technology*. 33 :295–298.

O

Ochubiojo Emeje, M., Surguchov, A. (2022). *Starch – Evolution and Recent Advanced*, 200 p.

Oliveira, A.C.P., Endringer, D.C., Amorim L.A.S., Brandão, M.G.L., Coelho, M.M. (2005) Effet des extraits et fractions de *Baccharis trimera* et *Syzygium cumini* sur la glycémie de souris diabétiques et non diabétiques. *Journal d'Ethnopharmacologie*, 102, pp. 465-469.

Okuyama, M., Mori, H., Chiba, S., Kimura, A. (2004). Overexpression and characterization of two unknown proteins, YicI and YihQ, originated from *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, 37 : 170–179. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2004.05.008>

OMS (2023): <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/diabetes> [Dernière consultation le 17 avril 2024].

Ostadalova M, Tremlova B, Pokarna J, Kral M. (2014). Chlorophyll as an indicator of green tea quality. *Acta Vet Brno*. 2014 ;83 :103–109. doi : 10.2754/avb201483S10S103.

P

Parseh, H., Hassanpour, S., Lavasani, A., Emam-djome, Z., (2012) Antimicrobial properties of Pomegranate (*Punica granatum L.*), conference.khuisf.ac.ir, pp. 1–6.

Pascual-Villalobos, M.J. and Robledo, A. (1999). Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain, *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(1), pp. 1–10. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(98\)00051-9](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(98)00051-9).

Petkova, N., Popova, A., Alexieva, I. (2019). Antioxidant properties and some phytochemical components of the edible medicinal *Malva sylvestris L.* *Journal of Medicinal Plants*, 7(1): 96-99.

Philips J.C., Scheen A.J. (2005). L'insulinothérapie dans le diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 60 :5-6:419-423.

Praveen D., Ranadheer C.P. et Vijey A.M. (2020). Association of vitamin C status in diabetes mellitus: prevalence and predictors of vitamin C deficiency. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 (30). <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00040-2>

Pujol, J.A., Calvo, J.F., Ramírez-Díaz, L. (2001). Seed germination, growth, and osmotic adjustment in response to NaCl in a rare succulent halophyte from southeastern Spain. *Wetlands* 21, 256–264.

R

Radzali, S.A., Markom, M et Saleh N.M. (2020). Co-solvent Selection for Supercritical Fluid Extraction (SFE) of Phenolic Compounds from *Labisia pumila*. *Molecules*, 25 (24) : 5859.

Rambaran, T.F. (2020). Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*, 25(24). (1335).

Raven, J.A. (1985). pH regulation in plants. *Science Progress*, 69: 495–509.

Redžić, S., Hodžić, N. et Tuka, M. (2005). Plant pigments (antioxidants) of medicinal plants *Malva sylvestris L.* and *Malva moschata L.* (Malvaceae). *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 5(2) : 53-58.

Rhazi, N., Hannache, M., Oumam, Sesbou, A., Charrier, B., Pizzi, A., Charrier-El Bouhtoury, A., (2015) Green extraction process of tannins obtained from Moroccan Acacia mollissima barks by microwave: Modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM, *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), pp. 2668–2684. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.032>.

Rizk, R.M., Soliman, M.I., (2014) Biochemical and molecular genetic characterization of some species of family Malvaceae, Egypt. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(3–4), pp. 167–176. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2014.06.002>.

Rodríguez-Juan E., Rodríguez-Romero C., Fernández-Bolaños J., Florido M. C. et García-Borrego A., (2021). Phenolic compounds from virgin olive oil obtained by natural deep eutectic solvent (NADES): effect of the extraction and recovery conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 58 (2), 552-561

Rogalski, A. (2007). Synthesis and kinetic analysis of tendamistat-based α -amylase inhibitors. Thèses de spécialisation, filière Biochimie, Eastern Michigan University. 185 p.

Références bibliographiques

Rontein, D., Basset, G., Hanson, A.D. (2002). Metabolic engineering of osmoprotectants accumulation in plants. *Metabolic engineering*,4 : 49-56.

Rorive, M., Letiexhe, M.R., Scheen, A.J., Ziegler, O. (2005). Obésité et diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 60, 374–382.

Roshanak S., Rahimmalek M. et Goli S. A. H., (2016). Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (1), 721-729.

S

Santeusanio, F. et Compagnucci, P. (1994). Une évaluation des risques et des avantages de l'acarbose dans la prise en charge du diabète sucré non insulino-dépendant. *Sécurité des médicaments*, 11(6), 432-444.

Shahabi M., Rafiee S., Mohtasebi S.S. (2014). Hosseinpour S. Image analysis and green tea color change kinetics during thin-layer drying. *Food Science and Technology Int.* 20:465–76. doi: 10.1177/1082013213492524.

Sopeña, S., Fiorani, G., Martín, C., Kleij, A.,(2015) Highly Efficient Organocatalyzed Conversion of Oxiranes and CO₂ into Organic Carbonates. *Wiley Online Library*.8, 3248-3254

Speziale, B.J., Schreiner, S.P., Giammatteo, P.A., Schindler, J.E., (1984). Comparison of *N, N*-Dimethylformamide, Dimethyl Sulfoxide, and Acetone for Extraction of Phytoplankton Chlorophyll. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 41, 1519–1522. <https://doi.org/10.1139/f84-187>

Stalikas, C.D. (2007) Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, *Journal of Separation Science*, 30(18), pp. 3268–3295. Available at: <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>.

Stull, A.J., Cash, K.C., Johnson, W.D., Champagne, C.M., Cefalu, W.T. (2010). Bioactives in Blueberries Improve Insulin Sensitivity in Obese, Insulin-Resistant Men and Women1–4. *The Journal of Nutrition*, 140, 1764–1768. <https://doi.org/10.3945/jn.110.125336>.

Références bibliographiques

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I. (1998). Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 ; 4267–4274. <https://doi.org/10.1021/jf980366j>

Sun, T., Li, S., Song, X., Pei, G., Diao, J., Cui, J., Shi, M., Chen, L., & Zhang, W. (2018). Re-direction of carbon flux to key precursor malonyl-CoA via artificial small RNAs in photosynthetic *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 26.

Svensson, B. (1998). Regional distant sequence homology between amylases, alpha-glucosidases and transglucanoylases. *FEBS Letters*, 230 : 72-76.

Szabados, L., Savouré, A., (2010). Proline : un acide aminé multifonctionnel. *Tendances en science végétale*, 15 : 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>.

T

Tabaraki, R. Yosefi, Z., Gharneh, H.A.A. (2012). Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research in Agricultural Science*, 8 : 59-68.

Takikawa, M., Inoue, S., Horio, F., Tsuda, T. (2010). Dietary Anthocyanin-Rich Bilberry Extract Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Sensitivity via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetic Mice. *The Journal of Nutrition*, 140, 527–533. <https://doi.org/10.3945/jn.109.118216>

Tardio J, Pardo-de-Santayna M, Morales R. (2006). Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. *The Botanical Journal of the Linnean Society*. 152:27-71.

Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., Abderrahmani, A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue francophone des laboratoires*, 26–32. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X)

Tikhonov, A.N. (2013). pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts. *Photosynthesis research*, 116, 511–534. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9845-y>

Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. et Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1: 99-100.

Références bibliographiques

Troll, W., Lindsley, J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *Journal of Biological Chemistry*, 215: 655–660. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)65988-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)65988-5)

Tundis R, Loizzo, M.R, Menichini, F., (2010). Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10 :315-331.

V

Vandaele, A.C. (1997). Developpement d'instruments pour la detection de constituants tropospheriques minoritaires par spectroscopie differentielle dans le domaine UV-visible. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Appliquées, BRUXELLES.

Veeramani C., Alsaif M.A., Numain K.S. (2017). *Lavatera cretica*, a green leafy vegetable, controls high fat diet induced hepatic lipid accumulation and oxidative stress through the regulation of lipogenesis and lipolysis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 96: 1349-1357.

Veeramani C., Alsaif M.A., Numain K.S. (2018). *Lavatera cretica* controls systemic insulin resistance by ameliorating adipose tissue inflammation and oxidative stress using bioactive compounds identified by GC-MS. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106: 183-191.

Veeramani, C., Alsaif, M.A., Al-Numair, K.S. (2020). Biomimetic Green Synthesis and Characterization of Nanoparticles from Leave Extract of *Lavatera cretica* and Their Improving Glucose Bigotry. *Journal of Cluster Science*, 31: 1087–1095. <https://doi.org/10.1007/s10876-019-01716-3>

W

Walton N.J., Brown D.E. (1999). *Chemicals from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products*. UK : Walton, NJ., Brown, DE.

Z

Zeghib, W., Boudjouan, F., Bachir-bey, M. (2022). Optimization of phenolic compounds recovery and antioxidant activity evaluation from *Opuntia ficus indica* using response surface

Références bibliographiques

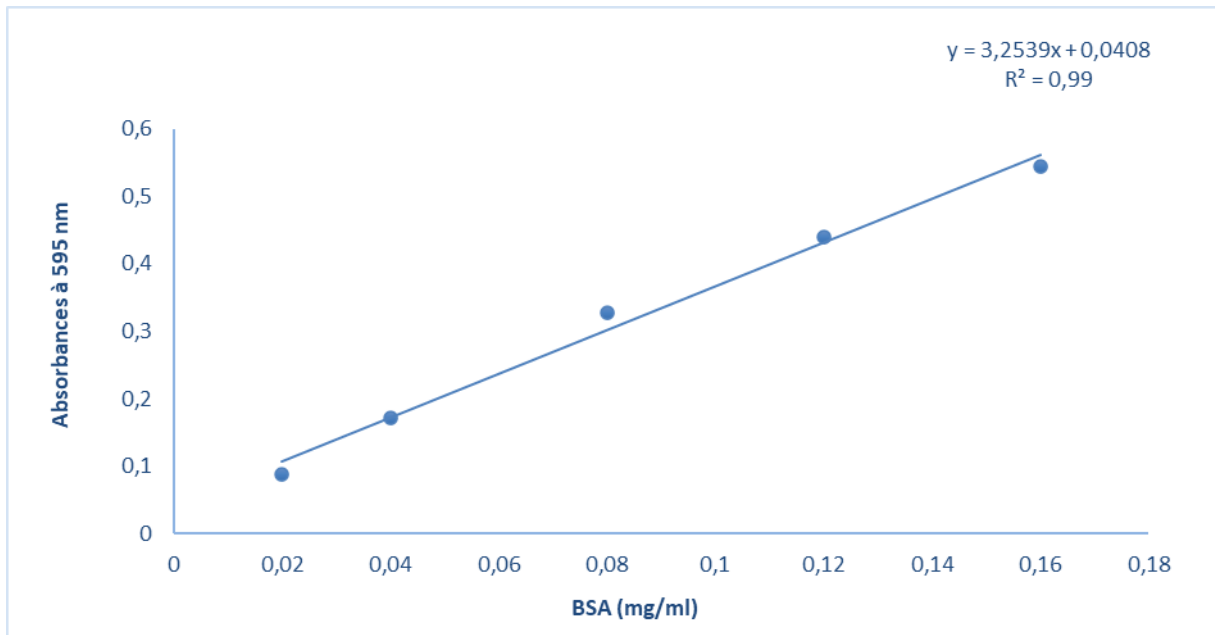
methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16: 1354–1366.
<https://doi.org/10.1007/s11694-021-01241-w>.

Zhang, D. Y., Shao, W. F., Liu, Z. H., Huang, Y. W. & Shi, Z. P. (2009). Research on the chemical constituents of Pu-erh Tea and its inhibition effect on α -amylase. Southwest China, *Journal of Agricultural Science*, 22: 52–54.

Zhao, C., Liu, X., Gong, Q., Cao, J., Shen, W., Yin, X., Grierson, D., Zhang, B., Xu, C., Li, X., Chen, K., & Sun, C. (2021). Three AP2/ERF family members modulate flavonoid synthesis by regulating type IV chalcone isomerase in citrus. *Plant Biotechnology Journal*, 19 (4) : 671–688.

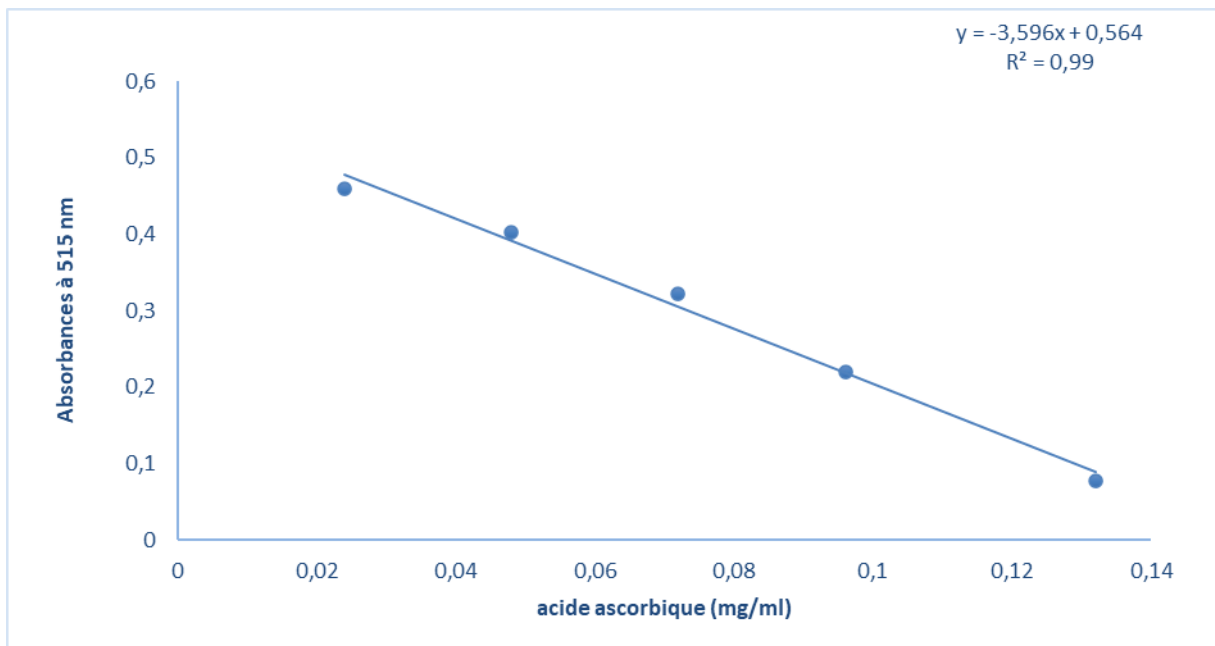
Annexes

Annexe 01



Annexe 01 : Courbe d'étalonnage de la BSA.

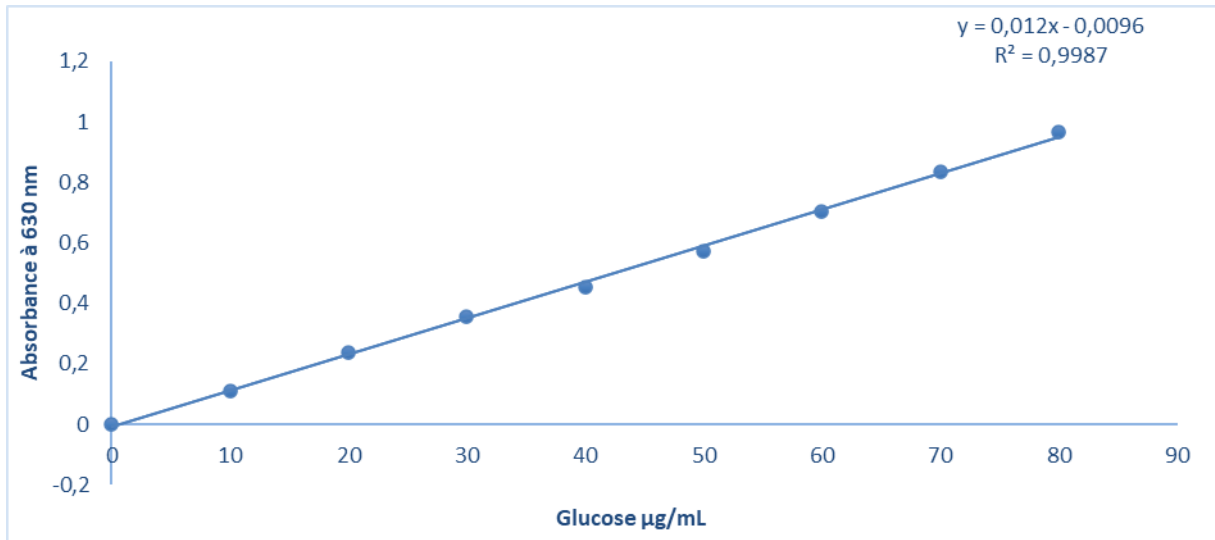
Annexes 02



Annexe 02 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

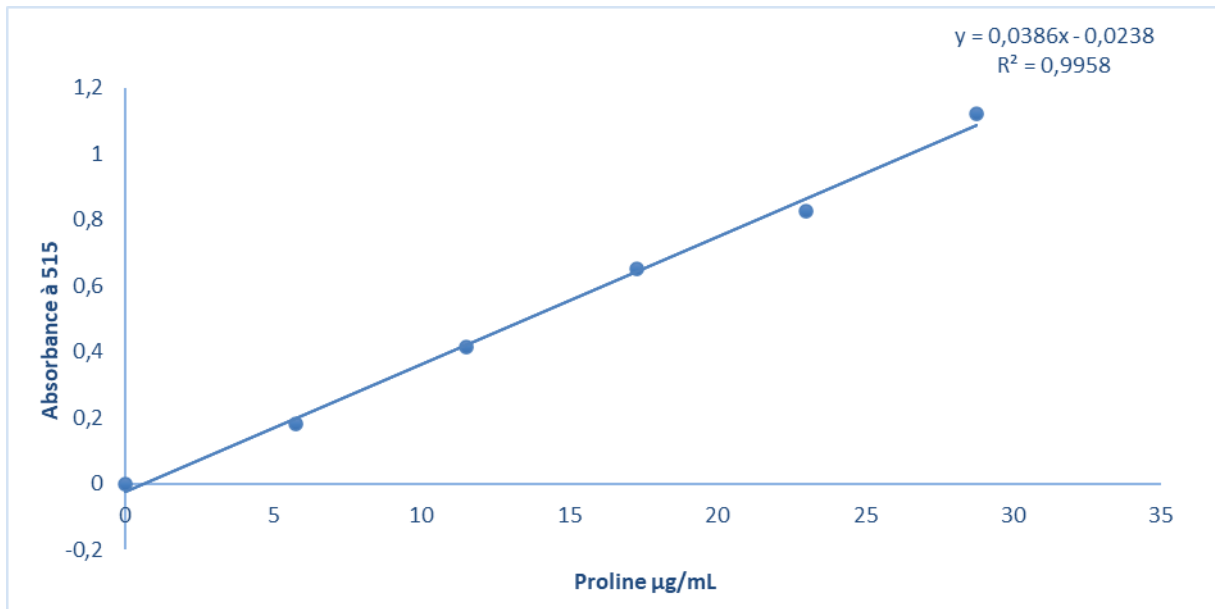
Annexes

Annexe 03



Annexe 03 : Courbe d'étalonnage du glucose.

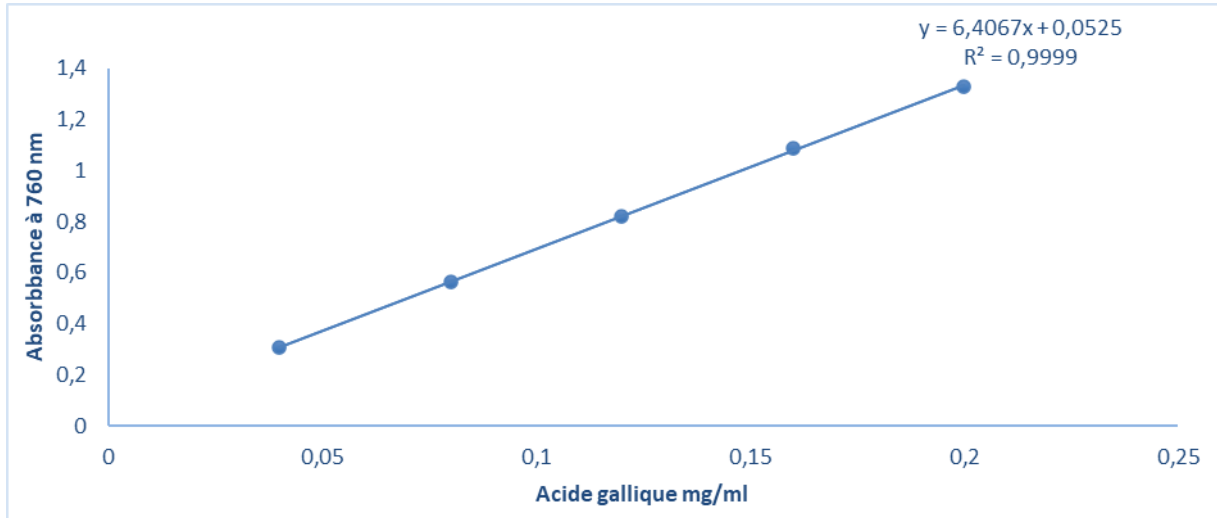
Annexe 04



Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de la proline.

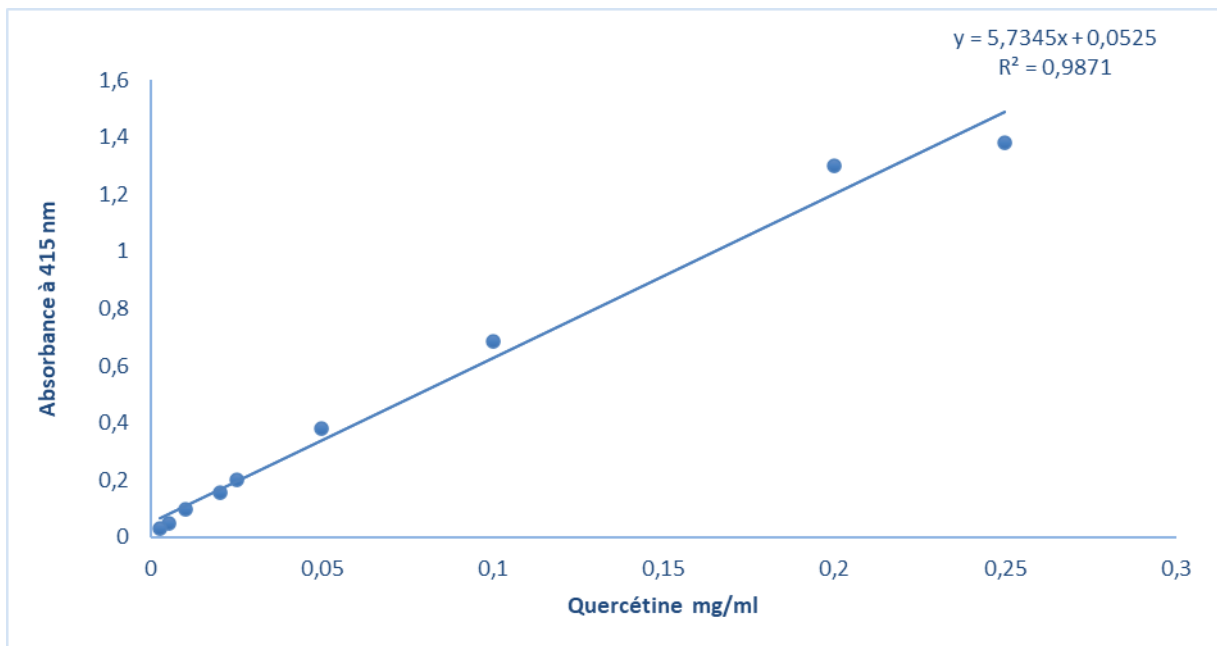
Annexes

Annexe 05



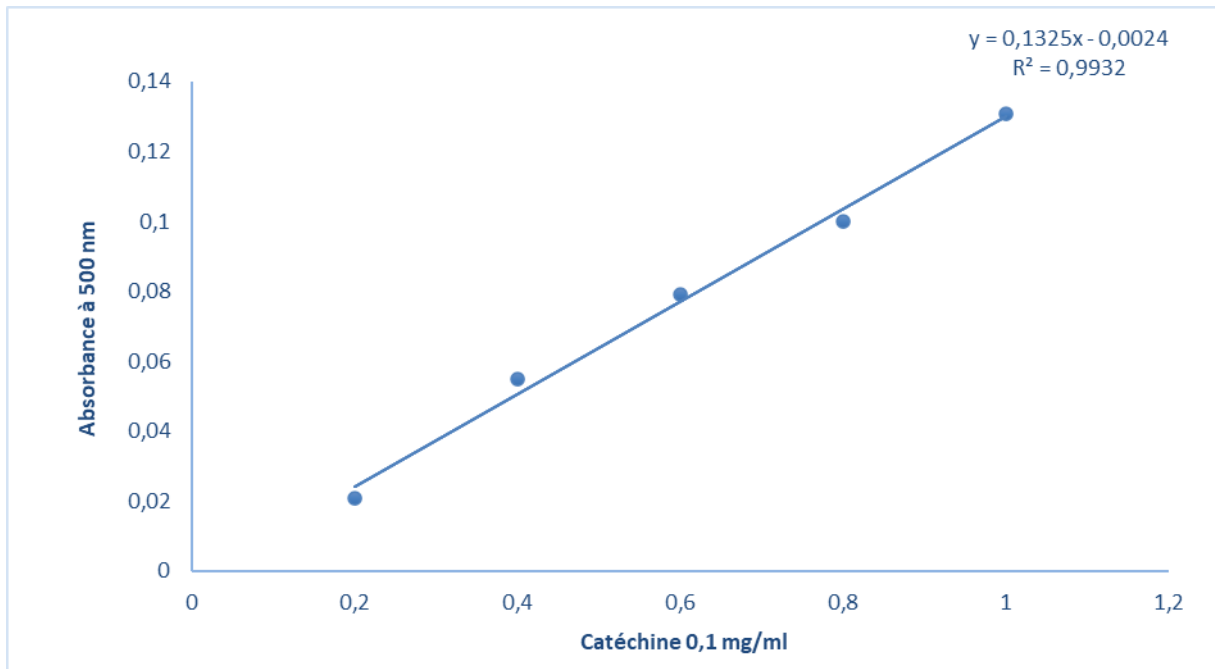
Annexe 05 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexe 06



Annexe 06 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Annexe 07



Annexe 07 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Résumé

Cette étude vise à évaluer les caractéristiques physico-chimiques de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Lavatera cretica* et à étudier son pouvoir antidiabétique. Des analyses phytochimiques ont été réalisées pour quantifier les métabolites, révélant une présence significative de phénols totaux ($71,28 \pm 1,66$ mg EAG/g ES), de flavonoïdes ($17,47 \pm 2,85$ mg EQ/g ES) et de tanins ($42,87 \pm 3,81$ mg EC/g ES). De plus, l'extrait hydro-éthanolique contenait des quantités notables de sucres solubles ($37,5 \pm 1,38$ mg EGlu/g MS), d'amidon ($20,85 \pm 2,56$ mg EGlu/g MS), de protéines ($9,29 \pm 0,9$ mg EBSA/g MS), de proline ($14,04 \pm 0,77$ mg/g MS) de chlorophylles (a + b) ($3,350 \pm 0,228$ mg/g), de phéophytines (a + b) ($3,61 \pm 9,98$ mg/g MS) et de caroténoïdes ($0,898 \pm 2,21$ mg/g MS) ainsi que des teneurs de ($0,53 \pm 0,01$ mg EAA/g MS) en acide ascorbique. L'extrait hydro-éthanolique de LC a démontré des propriétés antidiabétiques avec une inhibition de $22,26 \pm 0,25$ % de l'enzyme α -amylase. Cette recherche démontre la richesse de LC en composés bioactifs et met en évidence son potentiel thérapeutique dans la gestion du diabète.

Mots clés : *Lavatera cretica*, diabète, caractères physico-chimiques, α -amylase, composés bioactifs.

Abstract

This study aims to evaluate the physicochemical characteristics of the hydroethanolic extract of *Lavatera cretica* (LC) leaves and to study its antidiabetic power. Phytochemical analyzes were carried out to quantify the metabolites, revealing a significant presence of total phenols (71.28 ± 1.66 mg EGA/g DE), flavonoids (17.47 ± 2.85 mg EQ/g DE) and tannins (42.87 ± 3.81 mg EC/g DE). In addition, the hydroethanolic extract contained notable quantities of soluble sugars (37.5 ± 1.38 mg EGlu/g DW), starch (20.85 ± 2.56 mg EGlu/g DW), proteins (9.29 ± 0.9 mg EBSA/g DW), proline (14.04 ± 0.77 mg/g DW) chlorophylls (a + b) (3.350 ± 0.228 mg/g DW), pheophytins (a + b) (3.61 ± 9.98 mg/g DW) and carotenoids (0.898 ± 2.21 mg/g) as well as ascorbic acid (0.53 ± 0.01 mg EAA/g DW). The hydroethanolic extract of LC demonstrated antidiabetic properties with an inhibition of $22.26 \pm 0.25\%$ of α -amylase enzyme. This research demonstrates the richness of LC in bioactive compounds and highlights its therapeutic potential in the management of diabetes.

Keywords: *Lavatera cretica*, diabetes, physicochemical characteristics, α -amylase, bioactive compounds.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمستخلص الهيدروإيثانولي لأوراق الخبثيز ودراسة قوتها المضادة لمرض السكري. تم إجراء تحليلات كيميائية نباتية لتحديد المستقلبات، والكشف عن وجود كبير للفينولات الكلية ($71,28 \pm 1,66$ م ملجم مكافئ حمض الغاليك/جرام من المستخلص الجاف) والفلافونويد ($17,47 \pm 2,85$ ملجم مكافئ الكويرسيتين / جرام من المادة الجافة) والطانينات ($42,87 \pm 3,81$ ملجم مكافئ كاتشين / جرام من المستخلص الجاف) بالإضافة إلى ذلك، احتوى المستخلص الهيدروإيثانولي على كميات ملحوظة من السكريات القابلة للذوبان ($37,5 \pm 1,38$ مجم مكافئ للغليكوز / جرام من المادة الجافة) والنشا ($20,85 \pm 2,56$ مجم مكافئ للغلوكوز / جرام من المادة الجافة)، والبروتينات ($9,29 \pm 0,9$ مجم مكافئ لألبومين المصل البقري / جرام من المادة الجافة)، البرولين ($14,04 \pm 0,77$ ملغم / / جرام من المادة الجافة) الكلوروفيل أ + ب ($3,350 \pm 0,228$ ملغم / جم من المادة الجافة)، الفيوپيتينات أ + ب ($3,61 \pm 9,98$ ملغم / جم من المادة الجافة) والكاروتينات ($0,898 \pm 2,21$ ملغم / جم من المادة الجافة) وكذلك حمض الأسكوربيك ($0,53 \pm 0,01$ ملجم مكافئ حمض الأسكوربيك / جرام من المادة الجافة) أظهر المستخلص الهيدروإيثانول من LC خصائص مضادة لمرض السكر مع تثبيط ($22,26 \pm 0,25$ %) من إنزيم α الأميليز. يوضح هذا البحث ثراء LC في المركبات النشطة بيولوجيا ويسلط الضوء على إمكاناته العلاجية في إدارة مرض السكري.

الكلمات المفتاحية: الخبثيز، مرض السكري، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، α الأميليز، المركبات النشطة بيولوجيا.