

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique  
Spécialité : Pharmacotoxicologie



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Screening phytochimiques et étude des activités  
biologiques des feuilles de *Malva multiflora***

Présenté par :

**BENHACINE Baya & BEN SAADA Sarah**

Soutenu le : **24 juin 2024**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> . ABDERRAHIM-KHAMTACHE S.	MCA	Présidente
M <sup>me</sup> . BOUDJOUAN-OURABAH A.	MCB	Encadrante
M <sup>me</sup> . SAIDANI-NOURI K.	MCA	Co-encadrante
M <sup>me</sup> . SADAOUI-BOUGOFFA K.	MCA	Examinatrice
M. ZEGHBIB W.	MAB	Invité

**Année universitaire : 2023 / 2024**

## **Remerciements**

*A l'occasion de ce modeste travail et après tous les efforts fournis, on tient tout d'abord à remercier **Le BONDIEU**, le tout puissant, qui nous a inspirés et guidés dans le bon chemin, nous a donné la volonté, le courage, la patience et la santé de pouvoir réaliser ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promotrice **Mme BOUDJOUAN-OURABAH. A**, pour le temps qu'elle a consacré à cette recherche malgré ses nombreuses responsabilités, pour ses conseils, encouragements et sa généreuse contribution dans la réalisation de ce travail.*

*Mes vifs remerciements vont également au Membre de jury, nous sommes particulièrement reconnaissantes pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail et de l'enrichir par vos propositions.*

*Nous tenons à remercier notre Co-promotrice **Mme NOURI** pour le temps et l'attention qu'elle a bien voulu consacrer au bon déroulement de ce travail.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à **M BOUDJOUN F** et **M ZEGHBIB W**, pour leurs aides pratique et leur soutien moral ainsi que pour leurs judicieux conseils.*

*Nos remerciements vont également à l'ensemble des techniciens et ingénieurs au niveau des laboratoires de la Faculté **SNV** pour leurs aides et leurs gentillesse.*

*Nous profitons aussi pour remercier particulièrement tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation pendant notre cursus universitaire.*

*Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin à la réalisation de ce travail, nous les remercions du fond du cœur.*

**Sarah & Baya**

# *Dédicaces*

## *Ma chère Maman*

*Qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, sa bienveillance, ses sacrifices et ses précieux conseils. Reçois ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.*

## *Mon cher Papa*

*Pour m'avoir toujours soutenu et encouragé à aller de l'avant, Eternelle gratitude.*

*Vous êtes ma source de réussite, J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi, puisse le tout puissant vous garder et vous procurer santé, bonheur et longue vie.*

## *A ma chère sœur Yasmine*

*Pour ses encouragements permanents, et son soutien moral Veuillez trouver dans ce travail, le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux,*

## *Ma grand-mère*

*L'amour, Le respect et la reconnaissance que J'ai pour toi, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.*

*A toute ma famille proche et loin que soit-elle « Ben saada et Makhloufi »*

*Mes tantes Nadia, Lila, Fadila et Amina. Mes oncles Azzedine, Mourad  
Mes cousines Liticia et Djazia, toutes les petites nièces et autres cousins...*

## *Ma chère Baya*

*Ma chère amie et binôme, pour son engagement sans faille et sa précieuse collaboration tout au long de ce projet.*

*J'espère du fond du cœur que tout ce petit monde familial, trouve ici un mot de reconnaissance.*

*Ben saada Sarah*

## *Dédicaces*

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots je dédie ce modeste travail de fin d'étude à*

### *Ma chère Maman*

*La femme qui a fait de moi une fille ambitieuse, mon premier modèle auprès de qui j'ai appris la force et la patience qui a été toujours là pour moi, mon adorable mère MESSAD.*

### *Mon père*

*L'homme qui a fait de son mieux pour m'apporter tout le confort et la commodité nécessaire pour me sentir bien, mon père DJAFAR.*

### *Mes frères et sœurs*

*Compagnons d'enfance et de la vie, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

### *Mon mari Saad*

*Son soutien indéfectible, sa patience et sa compréhension m'ont poussé à aller au bout de ce projet.*

### *Ma chère Sarah*

*Ma chère amie et binôme, pour son engagement sans faille et sa précieuse collaboration tout au long de ce projet.*

*En fin Je le dédie à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Benhacine Baya*

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1.Métabolites secondaires..... 2

I.1.1. Définition ..... 2

I.1.2. Polyphénols..... 2

I.1.2.1. Acides phénoliques ..... 2

I.1.2.2. Flavonoïdes ..... 3

I.1.2.3. Les non flavonoïdes ..... 3

I.1.3. Alcaloïdes ..... 4

I.1.4. Terpènes ..... 5

I.1.5. Propriétés biologiques des composées phénoliques ..... 5

I.1.5.1. Mécanismes d'action antioxydant des composés phénoliques ..... 5

I.1.5.2 Mécanismes d'action antibactériens des composés phénoliques ..... 6

I.2.Généralités sur *Lavatera cretica* ..... 6

I.2.1. Description morphologique ..... 6

I.2.2. Répartition géographique..... 7

I.2.3. Nomenclature ..... 7

I.2.4. Classification..... 8

I.2.5. Composition chimique ..... 8

I.2.6. Utilisation traditionnelle ..... 8

I.2.7. Etudes antérieurs ..... 9

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel ..... 10

II.1.1. Appareillage et produits chimiques ..... 10

II.1.2. Matériel végétal ..... 10

II.1.3. Souches bactériennes ..... 10

II.2. Méthodes ..... 10

II.2.1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica* ..... 10

II.2.2. Analyse qualitative de l'extrait hydro-éthanolique de *L. cretica* (Screening phytochimique)..... 11

II.2.2.1. Détection des Alcaloïdes.....	11
II.2.2.2. Détection des flavonoïdes .....	12
II.2.2.3. Détection des tanins .....	13
II.2.2.4. Détection des protéines .....	13
II.2.2.5. Détection des carbohydrates .....	14
II.2.2.6. Détection des glycosides.....	15
II.2.2.7. Détection des saponines.....	15
II.2.2.8. Détection des triterpénoïdes.....	15
II.2.2.9. Détection des stéroïdes .....	16
II.2.2.10. Détection d'amidon.....	16
II.2.3. Analyse quantitative de l'extrait hydro-éthanolique de <i>L. cretica</i> .....	17
II.2.3.1. Dosage des phénols totaux.....	17
II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	17
II.2.3.3. Dosage des tanins condensés .....	18
II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de <i>L. cretica</i> .....	18
II.2.4.1. Test de la réduction de fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power) .....	18
II.2.4.2. Test de piégeage de l'oxyde nitrique (NO).....	19
II.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC.....	19
II.2.5.1. Antibiogramme .....	19
II.2.6. Analyse statistique.....	20

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1. Rendement d'extraction.....	21
III.2. Analyse qualitative de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de <i>L. cretica</i> .....	21
III.3. Analyse quantitative de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de <i>L. cretica</i> .....	25
III.4. Evaluation de l'activité antioxydant.....	29
III.4.1. Pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP).....	29
III.4.2. Piégeage de l'oxyde nitrique (NO).....	30
III.5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles de LC .....	32
Conclusion et perspectives.....	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	

## Liste des abréviations

**EAG/g ES** : Equivalent acide gallique par gramme d'extrait sec

**EAG/g MS** : Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

**EAG/g PF** : Equivalent acide gallique par gramme de poids frais

**E C/g MS** : Equivalent catéchine par gramme d'extrait sec

**E Q/g MS** : Equivalent quercétine par gramme d'extrait sec

**LC** : *Lavatera cretica*

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Classification des polyphénols .....	3
<b>Figure 2</b> : Composition structurale des tanins hydrolysables et condensés.....	4
<b>Figure 3</b> : <i>Lavatera cretica</i> . .....	7
<b>Figure 4</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait de <i>Lavatera cretica</i> .....	26
<b>Figure 5</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes dans l'extrait de <i>Lavatera cretica</i> . .....	27
<b>Figure 6</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés dans l'extrait de <i>Lavatera cretica</i> . .....	28
<b>Figure 7</b> : Courbe d'étalonnage du trolox pour la détermination du pouvoir réducteur de fer (FRAP) dans l'extrait de <i>Lavatera cretica</i> . .....	30
<b>Figure 8</b> : Pourcentage de l'oxyde nitrique en présence de l'extrait hydro-éthanolique de <i>L. cretica</i> . .....	31
<b>Figure 9</b> : Zones d'inhibition obtenues par l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC.....	33

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classification taxonomique de <i>Lavatera cretica</i> .....	8
<b>Tableau II</b> : Screening phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de LC .....	22
<b>Tableau III</b> : Teneur de l'extrait des feuilles de <i>L. cretica</i> en phénols totaux, flavonoïdes et tanins.....	26
<b>Tableau IV</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles de <i>L. cretica</i> (FRAP).....	29
<b>Tableau V</b> : Diamètre des zones d'inhibition de l'amoxicilline à l'égard des souches testées .....	34

# **Introduction**

## *Introduction*

---

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont été le moyen le plus utilisé pour résoudre les problèmes de la santé humaine et animale. Elles représentent une source essentielle pour la découverte de nouveaux produits utilisés en médecine alternative (**Alain et al., 2018**). Leur popularité est due à leur facilité d'utilisation, leur efficacité, ainsi que leurs bienfaits incontestables et leurs coûts généralement inférieurs aux médicaments de synthèse (**Panda et Duarte-Sierra, 2022**).

Dans le domaine de la phytothérapie, il est de plus en plus reconnu que les principes actifs sont souvent associés aux métabolites secondaires tels que les polyphénols. Ces derniers forment l'un des groupes de métabolites secondaires les plus abondants et diversifiés avec plus de 8000 composés identifiés à ce jour (**Simões et al., 2024**). Ils jouent un rôle crucial grâce à leurs activités pharmacologiques (**Othman et al., 2019; Panda et Duarte-Sierra, 2022**).

*Lavatera cretica* est une plante qui appartient à la famille des Malvacées (**Veeramani et al., 2017**). Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les blessures, les brûlures et les autres affections. En médecine vétérinaire elle est employée pour soigner les maladies gastro-intestinales et la constipation. Elle sert également de remède contre la grippe, les infections bactériennes et inflammatoires (**Ben-Nasr et al., 2015; Veeramani et al., 2020**). Malgré l'utilisation répandue de cette plante en médecine traditionnelle, peu d'études scientifiques ont été réalisées pour déterminer la composition phytochimique et les propriétés pharmacologiques des feuilles de *Lavatera cretica*. Ceci nous a incité à étudier la composition de cette plante en termes de molécules bioactives ainsi que ses activités antioxydants et antibactériennes.

Ce mémoire comporte trois chapitres. Le premier chapitre présentera une revue de la littérature concernant la plante, les métabolites secondaires et leurs activités biologiques. Le deuxième chapitre décrira le matériel et les méthodologies utilisées pour le screening phytochimique, le dosage des métabolites secondaires ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne. Le troisième chapitre exposera les résultats obtenus et leur discussion. Enfin, nous achèverons notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*

## **I.1.Métabolites secondaires**

### **I.1.1. Définition**

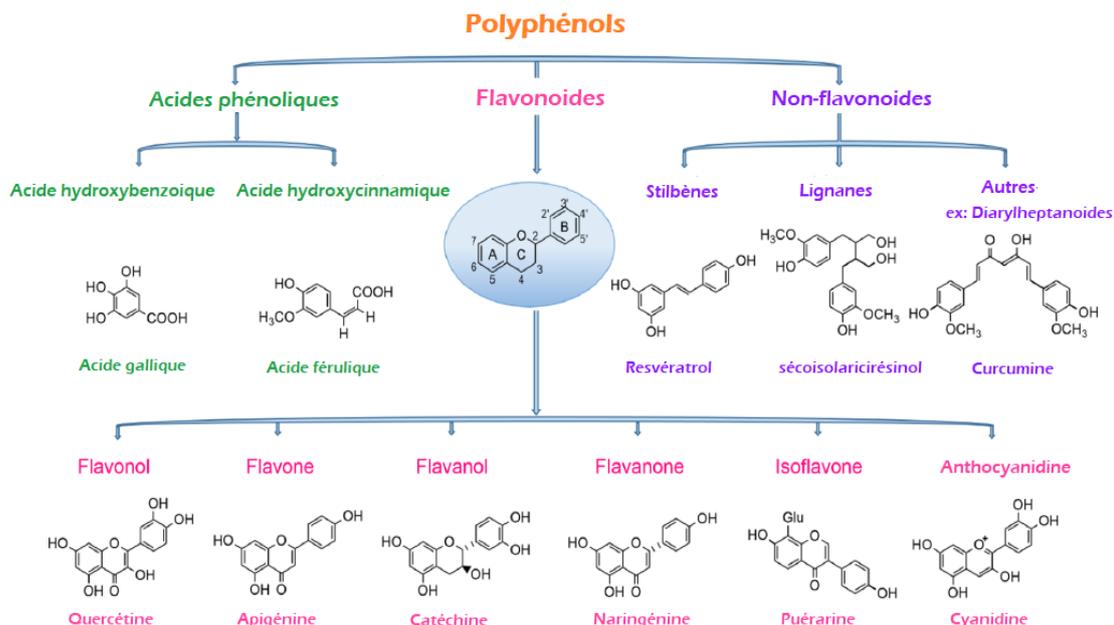
Les métabolites secondaires sont des molécules organiques (**Lelario et al., 2018**) produits par la plante, très diversifiés structurellement et chimiquement (**Lattanzio, 2013**). Ils ne sont pas impliqués dans la croissance et le développement normal de la plante (**Lelario et al., 2018**) mais ils interviennent dans la défense contre les agents pathogènes, les insectes, la pigmentation, la régulation de la germination et d'autres processus (**Sharma et al., 2020**). Ils ont également de grands intérêts pour les applications humaines, tels que la production de médicaments efficaces, de compléments alimentaires, d'arômes et d'autres matériaux industriels (**Tiwari et Rana, 2015; Sharma et al., 2020**). Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à partir des métabolites primaires par cinq voies métaboliques principales: la voie de l'acide shikimique, de l'acide malonique, de l'acide mévalonique, des acides aminés et du glucose 3 phosphate via la voie des pentoses phosphate (**Lattanzio, 2013; Le Pogam et al., 2015; Babenko et al., 2019**). Plus de 300 000 métabolites secondaires ont été découverts dans le règne végétal (**Teoh, 2016**).

### **I.1.2. Polyphénols**

Les polyphénols sont le plus vaste groupe de métabolites secondaires (**Teoh, 2016**). Ils sont caractérisés par leur faible poids moléculaire. Ils sont composés d'un cycle aromatique sur lequel sont présents un ou plusieurs groupements hydroxyyles (**Croteau et al., 2000 ; Bennetau-Pelissero, 2014; Rambaran, 2020; Truzzi et al., 2021**). Leurs principales classes comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les non flavonoïdes (**Figure 1**) (**Rambaran, 2020**).

#### **I.1.2.1. Acides phénoliques**

Il existe 2 types : acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques. Ils sont présents à la fois sous forme liée et sous forme libre dans les plantes. Ces acides possèdent plusieurs dérivés tels que l'acide ellagique, l'acide gallique, l'acide caféique et l'acide P-coumarique. (**Rambaran, 2020**).



**Figure 1** : Classification des polyphénols (Rambaran, 2020).

### I.1.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, également appelés vitamine P (Bose et al., 2018), sont des pigments végétaux caractérisés par la présence de deux cycles benzoïques (cycle A et B), connectés à trois chaînes carbonées dans un hétérocycle oxygéné (cycle C). La variation de ce dernier permet la formation de divers flavonoïdes qui comprennent les flavanones, les flavanols, les flavonols, les isofalvons, les flavones et les anthocyanidines (Abbas et al., 2017; Rambaran, 2020).

### I.1.2.3. Les non flavonoïdes

#### I.1.2.3.1. Les tanins

Les tanins sont une sous-classe de polyphénols non-flavonoïdes, hydrosolubles. Ils sont présents presque dans toutes les parties de la plante (Han et al., 2007; Elizondo et al., 2010; Rambaran, 2020) et ils sont libérés en cas d'attaque par divers micro-organismes, ce qui aide à prévenir toute infection éventuelle des tissus végétaux (Aguilera-Carbo et al., 2008). Les tanins sont divisés en deux groupes, les tanins hydrolysables et condensés (Figure 2) (McMahon et al., 2000).



### **I.1.4. Terpènes**

Ce sont des métabolites secondaires qui sont formé par des unités isoprènes répétitives à 5 carbones. Le nombre d'unités isoprène à cinq carbones détermine leur classification en : Monoterpènes, Diterpènes, Triterpènes, Hémiterpènes, Sesquiterpènes, Sesterterpènes et Caroténoïdes (Tiwari et Rana, 2015; Teoh, 2016).

### **I.1.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques**

Les polyphénols jouent multiples rôles dans la physiologie végétale et également la prévention de plusieurs maladies, telles que l'hypercholestérolémie, l'hyperglycémie et les maladies cardiovasculaires. Ils sont doté également d'activité antioxydant, antiallergique, anti-inflammatoire et antibactérienne (Daglia, 2012; Bennetau-Pelissero, 2014; Gyawali et Ibrahim, 2014; Abbas *et al.*, 2017; Rambaran, 2020). Ces propriétés varient en fonction de leurs structures et compositions chimiques (position, nombre, type de groupement fonctionnels, et aussi la présence de double liaison C2=C3) (Panda et Duarte-Sierra, 2022).

#### **I.1.5.1. Mécanismes d'action antioxydant des composés phénoliques**

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules caractérisés par la présence des électrons non appariés sur leurs couches externes. Ils sont généralement instables et hautement réactifs et ils cherchent à se stabilisé par liaison a des molécules d'organisme. Lorsqu'ils ne sont pas neutralisés par des antioxydants, ils induisent des dommages en se liant à des molécules biologiques essentiels telles que l'ADN, les lipides et les protéines (Yoshikawa et Naito, 2002). Pour éliminer l'excès des radicaux libres qui entraînent un stress oxydatif, deux systèmes de défense antioxydant sont mis en jeu, les antioxydants enzymatiques tel que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, le glutathion peroxydase et les antioxydants non enzymatique comme la vitamine E, l'acide ascorbique et les polyphénols (Yoshikawa et Naito, 2002; Fernandez-Panchon *et al.*, 2008).

Les polyphénols exercent leur effet antioxydant à travers une gamme de mécanismes à savoir l'inhibition des réactions d'oxydation en augmentant l'activité des enzymes ou l'expression des protéines antioxydantes, l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres, réduction et piégeage de radicaux libres. Les polyphénols agissent également comme des donneurs d'hydrogène pour réagir directement avec les radicaux et réduire les activités de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH·, ROOO·, O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Yan *et al.*, 2020 ; Lv *et al.*, 2021). Ils peuvent aussi chélater les ions métalliques comme le fer et le cuivre. Ces actions contribuent à neutraliser les radicaux

libres et à prévenir les dommages oxydatifs offrant ainsi une protection de la santé de l'individu (Yoshikawa et Naito, 2002).

### I.1.5.2 Mécanismes d'action antibactériens des composés phénoliques

Les mécanismes d'action antibactériens précis des composés phénoliques ne sont pas bien élucidés, mais il est couramment connu qu'ils ont divers sites d'action au niveau cellulaire (Bouarab Chibane *et al.*, 2019). Ils peuvent agir par inhibition des facteurs de virulence en inhibant les enzymes extracellulaires et la phosphorylation oxydative (Coppo et Marchese, 2014). De plus, les polyphénols peuvent inhiber la synthèse de la paroi cellulaire en se fixant au centre actif de l'enzyme D-alanine-D-alanine ligase, impliquée dans la synthèse du peptide terminal du précurseur de peptidoglycane : pentapeptide de l'acide uridine 5'-diphospho -N-acétylmuramique (UDP MurNAc-pentapeptide) (Górniak *et al.*, 2019). Par ailleurs, les composés phénoliques peuvent interagir avec la membrane cytoplasmique des bactéries. Ils traversent la bicouche lipidique par diffusion passive, ils perturbent la membrane cellulaire, acidifient le cytoplasme et provoquent une dénaturation des protéines altérant ainsi la membrane et induisant à la mort cellulaire (Borges *et al.*, 2013). Aussi, les polyphénols peuvent inhiber la synthèse des acides nucléiques en inhibant l'activité d'une enzyme appelée dihydrofolate réductase, elle intervient dans la voie de synthèse de l'acide folique (précurseur des pyrimidines et des purines), ce qui explique la réduction de la synthèse d'ADN et d'ARN de certaines bactéries telle qu'*E. coli* (Górniak *et al.*, 2019b; Biharee *et al.*, 2020). Ils peuvent également inhiber l'ADN Gyrase en se liant à sa sous unité GyrB (la sous-unité B de l'ADN gyrase) chez *E. coli*, bloquant ainsi son activité ATPase (Coppo et Marchese, 2014; Shin *et al.*, 2018; Bouarab Chibane *et al.*, 2019; Górniak *et al.*, 2019; Panda et Duarte-Sierra, 2022).

## I.2. Généralités sur *Lavatera cretica*

### I.2.1. Description morphologique

Plante herbacée, hermaphrodite, à souche ligneuse, de 20 à 150 cm de hauts, à tige poilues dressées ou ascendantes. Elle a des feuilles alternes, divisées palmatifides, arrondies à cordiformes, pubescentes, pétiolées, de 5 à 7 lobes très dentés. Les feuilles inférieures sont presque rondes et les supérieurs sont à division plus profondes. Les fleurs sont à symétrie radiancée, lilas, violettes ou roses, veinées de rouge ou de pourpre, à pédoncule court réunies par 2 à 8 en bouquets à l'aisselle des feuilles. Corolle à 5 pétales de 10 à 20 mm de long.

Calice à 5 sépales libres, assez large. Les fruits ont 12 akènes au plus, soudés, lisses ou légèrement ridés (**Anonyme 01**) (**Figure 3**).



**Figure 3** : *Lavatera cretica* (photographie).

### I.2.2. Répartition géographique

*Lavatera cretica* (LC) est une plante qui se développe dans les zones côtières du Proche-Orient et de la région méditerranéenne, principalement en Afrique du Nord et en Macaronésie. Elle est couramment observée sur les grandes îles méditerranéennes telles que les îles Baléares, la Corse, la Sardaigne, la Sicile, l'archipel maltais et la Crète. Cette espèce s'est également naturalisée dans certaines régions des États-Unis d'Amérique et d'Afrique du Sud (**Ben-Nasr et al., 2015**).

### I.2.3. Nomenclature

*Lavatera cretica* L. nom donné en l'honneur de J.R. Lavater, médecin et naturaliste Suisse du 17<sup>ème</sup> siècle (**Anonyme 1**). Cette plante est connu également sous le nom de *Malva multiflora* (**Ben-Nasr et al., 2015**). Elle est nommée en français *lavatère de crête*, en anglais *smaller tree-mallow* (**Anonyme 1**), en italien *marmolone* ou *malvone* (**De Feo et al., 1992**), en arabe *khobiza* (**Veeramani et al., 2018**) et en kabyle *mejir* .

#### I.2.4. Classification

*Lavatera cretica* est classée comme suit (**Anonyme 2**) :

**Tableau I** : Classification taxonomique de *Lavatera cretica*.

<b>Règne</b>	Plante
<b>Classe</b>	Dicotylédone
<b>Ordre</b>	Malvales
<b>Famille</b>	Malvacées
<b>Genre</b>	Malva
<b>Espèce</b>	<i>Malva multiflora</i>

#### I.2.5. Composition chimique

Une étude antérieure a démontré par l'analyse GC-MS (Chromatographie en phase gazeuse couplé à une spectrométrie de masse) la présence des composés organiques tels que l'acide 9, 12,15-octadécatriénoïque, la vitamine E, le phytol, l'acide hexadécanoïque, l'acide benzènepropanoïque et le stigmastérol (**Veeramani et al., 2018**).

De plus, l'étude de Ben Nasr et al. (2015) a démontré que l'extrait des feuilles de *L. cretica* est riche en flavonoïdes et en phénols totaux.

#### I.2.6. Utilisation traditionnelle

Les feuilles et les tendres tiges sont consommées par les gens comme nourriture cuite avec des haricots et des céréales (**Ben-Nasr et al., 2015; Veeramani et al., 2017; Veeramani et al., 2018**). De plus, leur extrait est utilisé en médecine vétérinaire pour traiter les maladies gastro-intestinales (**Viegi et al., 2003**) et pour soulager les constipations chez les animaux domestiques notamment les bovins (**De Feo et al., 1992**). En médecine traditionnelle elle est employée comme traitement antitussif, analgésique, antiseptique, laxatif, antiparasitaire, antibactérien et cicatrisant. Cette plante est également utilisée pour calmer les voies respiratoires hautes et les douleurs d'estomac (**Gaspar et al., 2002; Ben-Nasr et al., 2015; Veeramani et al., 2018**).

**I.2.7. Etudes antérieures**

Ben Nasr et al. (2015) ont démontré que les extraits aqueux de *Lavatera cretica* ont la capacité d'éliminer les radicaux libres et de prévenir la peroxydation lipidique. De plus, ces extraits ont également montré une inhibition de la lipooxygénase, une enzyme impliquée dans le processus inflammatoire.

Veeramani et al. (2017) ont étudié l'effet hépatoprotecteur de *L. cretica*. Leurs recherches ont démontré que l'administration orale de fractions d'acétate d'éthyle de LC à des souris soumises à un régime riche en graisse a entraîné une diminution significative des niveaux de triglycérides hépatiques, d'acides gras libres, d'ASAT (Aspartate aminotransférase), d'ALAT (Alanine aminotransférase), du cholestérol total ainsi qu'une diminution de la production des biomarqueurs du stress oxydatif.

Les recherches menées par Veeramani et al. (2018) ont mis en évidence les propriétés de l'extrait des feuilles de *L. cretica* dans la régulation de la résistance systémique à l'insuline. L'administration de l'extrait de LC à des souris soumises à un régime riche en graisse a conduit à une réduction du poids corporel, de la prise alimentaire, des niveaux plasmatiques de leptine et d'insuline. De plus, les résultats du test de tolérance au glucose ont montré que LC prévenait une augmentation supplémentaire des taux de glucose circulants.

## *Chapitre II*

### *Matériel et méthodes*

## **II.1. Matériel**

### **II.1.1. Appareillage et produits chimiques**

Le matériel de laboratoire et les produits chimiques nécessaires à la réalisation de ce travail ont été résumés dans l'annexe 1.

### **II.1.2. Matériel végétal**

Les feuilles de *Lavatera cretica* ont été sélectionnées comme matériel végétal pour cette étude. L'identification botanique a été confirmée par le botaniste Mr. ABACCI H. enseignant au département de tronc commun, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Bejaia. Les échantillons ont été récoltés pendant le mois de février 2022 au niveau du village de Berdoune, commune d'Amizour, wilaya de Bejaia.

Les feuilles ont été nettoyées puis séchées dans une étuve à une température de 30 °C. Après séchage, elles ont été broyées puis tamisées pour obtenir une poudre fine de 250 µm conservée à une température de -20 °C à l'abri de la lumière.

### **II.1.3. Souches bactériennes**

Afin d'évaluer l'effet antibactérien de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC, nous avons testé quatre souches bactériennes, dont deux à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 6314) et *Bacillus subtilis* (ATCC 10876) et deux à Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 29522) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Ces souches bactériennes sont fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'université de Bejaia.

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica***

La méthode suivie dans cette étude est l'extraction par macération. Une quantité de 120 g de poudre des feuilles de LC a été mélangée dans 1L d'éthanol à 50 %. Le mélange a été macéré pendant 8 heures à l'abri de la lumière par un agitateur électrique, puis laissé décanter toute la nuit. Ensuite, le surnageant a été soumis à un évaporateur rotatif puis laissé sécher dans l'étuve à 35 °C. Enfin, l'extrait sec a été conservé à -20 °C jusqu'à utilisation.

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (P_1/P_0) \times 100$$

Où :

**R** : Rendement en pourcentage ;

**P<sub>1</sub>** : Poids de l'extrait sec ;

**P<sub>0</sub>** : Poids de la poudre soumise à l'extraction.

## II.2.2. Analyse qualitative de l'extrait hydro-éthanolique de *L. cretica*

### (Screening phytochimique)

Le screening phytochimique consiste à effectuer une série de tests sur l'extrait hydro-éthanolique de LC dans le but d'avoir une idée sur la présence ou l'absence de certaines métabolites primaires et secondaires (**Bouchenak et al., 2020**) en utilisant des protocoles standardisés décrit par Haddouchi et al. (2018) et Kancherla et al. (2019).

Le criblage de ces composés phytochimiques est basé sur l'observation visuelle suite à un changement de couleur ou la formation d'un précipité après l'ajout de réactifs spécifiques (**EL-Haoud et al., 2018**).

#### II.2.2.1. Détection des Alcaloïdes

Différents tests ont été réalisés afin de vérifier la présence des alcaloïdes dans l'extrait de LC :

##### ➤ Test de Dragendorff

- Principe

Les ions bismuth ( $Bi^{3+}$ ) du réactif de dragendorff réagissent avec le groupe amine des alcaloïdes, formant un complexe insoluble rouge-orange (**Harborne, 1998**).

- Mode opératoire

Un volume de 2 ml de l'extrait a été mélangé avec 1 ml du réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité rouge-oranger confirme la présence des alcaloïdes (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

➤ **Test de Hager**

• **Principe**

L'interaction entre les groupes amines des alcaloïdes et le groupe nitro (NO<sub>2</sub>) de l'acide picrique du réactif de Hager forme un complexe insoluble, se manifestant par une précipitation jaune (**Harborne, 1998**).

• **Mode opératoire**

Un volume de 2 ml de l'extrait a été mélangé avec quelques gouttes du réactif de Hager. Après agitation, la formation d'un précipité jaune indique la présence des alcaloïdes (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

➤ **Test de Mayer**

• **Principe**

Les groupes amines des alcaloïdes (NH<sub>2</sub>) réagissent avec le chlorure de mercure du réactif de Mayer pour former des complexes visibles sous forme de précipités blancs ou jaunes (**Harborne, 1998**).

• **Mode opératoire**

Trois gouttes du réactif de Mayer ont été ajoutées à 1 ml d'extrait de LC. La présence des alcaloïdes a été détectée par la formation d'un précipité jaunâtre ou blanc (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### **II.2.2.2. Détection des flavonoïdes**

➤ **Test de réactif alcalin**

• **Principe**

Les groupes hydroxyle (OH) des flavonoïdes réagissent avec la soude (NaOH) du réactif alcalin. Dans ce milieu alcalin, les groupes OH se déprotonent, formant des anions phénolates, ce qui entraîne un changement de couleur (**Mabry et al., 2012**).

• **Mode opératoire**

Quelque goutte d'hydroxyde de sodium sont rajoutées à 2 ml d'extrait. Initialement, une couleur jaune foncé apparaît, mais elle devient progressivement incolore en ajoutant quelques gouttes de HCl dilué, indiquant la présence de flavonoïdes (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### II.2.2.3. Détection des tanins

➤ **Test de FeCl<sub>3</sub>**

- **Principe**

Les groupes hydroxyle (OH) des tanins réagissent avec les ions ferriques (Fe<sup>3+</sup>) pour former un complexe coloré (**Hagerman et Butler, 1978**).

- **Mode opératoire**

Le test consiste à mélanger 1ml d'extrait avec une goutte de FeCl<sub>3</sub> à 5%. La couleur du mélange réactionnel est observée 1 min après réaction à température ambiante. L'apparition d'une couleur verdâtre indique la présence des tanins catéchiques et une couleur bleue indicative des tanins galliques (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### II.2.2.4. Détection des protéines

Différents tests ont été effectués pour vérifier la présence des protéines dans l'extrait de LC :

➤ **Test de Biuret**

- **Principe**

Le test repose sur la formation de liaisons coordonnées entre les ions cuivre (Cu<sup>2+</sup>) du réactif de Biuret et les atomes d'azote des liaisons peptidiques présentes dans les protéines, fournissant ainsi un complexe coloré (**Nelson et al., 2008**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 1ml d'extrait a été mélangé avec 2ml de réactif de biuret. L'apparition d'une couleur violette ou rouge après une incubation de 5min est indicative de la présence des protéines (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

➤ **Test de Ninhydrine**

- **Principe**

Le groupe amine (NH<sub>2</sub>) de l'acide aminé réagit avec l'un des groupes carbonyles de la ninhydrine, libérant de l'ammoniac (NH<sub>3</sub>) qui réagit ensuite avec une deuxième molécule de ninhydrine pour former un composé coloré violet appelé pourpre de Ruhemann, permettant ainsi de visualiser les acides aminés dans l'échantillon (**Moore et Stein, 1963**).

- **Mode opératoire**

Trois gouttes de réactif de ninhydrine ont été ajoutées à 1ml d'extrait de LC. L'apparition d'une couleur violette après 5 min d'incubation au bain marie confirme la présence des protéines (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### **II.2.2.5. Détection des carbohydrates**

Différents tests ont été réalisés afin de vérifier la présence des carbohydrates dans l'extrait de LC :

➤ **Test de Benedict**

- **Principe**

En présence de sucres réducteurs, le sulfate de cuivre (II) est réduit en cuivre (I). Ce dernier précipite sous forme d'oxyde de cuivre (I), donnant une couleur rouge (**Sumner et Howell, 1935**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 5ml d'extrait a été mélangé avec 1ml de réactif de benedict. L'apparition d'une couleur rouge foncé après 5min d'incubation indique la présence des carbohydrates (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

➤ **Test de Fehling**

- **Principe**

Ce test repose sur la réduction des ions cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) en cuivre ( $\text{Cu}^+$ ) par les sucres réducteurs, ce qui permet la formation d'un précipité rouge brique d'oxyde de cuivre ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) (**Miller, 1959**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 2 ml d'extrait a été mélangé avec 2 ml de la solution de Fehling (A et B). Le développement d'une couleur rouge foncé après 5 min d'incubation est indicatif de la présence des carbohydrates (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### II.2.2.6. Détection des glycosides

#### ➤ Test de Keller-Kiliani

- Principe

Lorsque l'extrait est traité avec de l'acide acétique, les glycosides présents subissent une hydrolyse partielle pour libérer des groupes de sucres, qui réagissent ensuite avec le  $\text{FeCl}_3$  pour former un complexe coloré (Harborne, 1998).

- Mode opératoire

Un volume de 0,5 ml d'acide acétique et 3 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 5% ont été mélangés à 2ml d'extrait. Ensuite, 1 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré a été ajouté le long des parois du tube à essai. La présence des glucosides est confirmée par la formation d'un anneau de couleur bleu foncé (Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019).

### II.2.2.7. Détection des saponines

#### ➤ Test de mousse

- Principe

Le  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  favorise la formation de bulles de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) qui emprisonnent les micelles des saponines, créant ainsi une mousse persistante (Sparg et al., 2004).

- Mode opératoire

Quelques gouttes de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ont été ajoutées à 5 ml d'extrait. Après une agitation vigoureuse et une incubation de 5 minutes, l'émergence d'une mousse révèle la présence des saponines (Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019).

### II.2.2.8. Détection des triterpénoïdes

#### ➤ Test d'horizon

- Principe

Les doubles liaisons dans le squelette des triterpénoïdes réagissent avec l'acide trichloroacétique, ce qui entraîne la formation de complexes colorés (Harborne, 1998).

- **Mode opératoire**

Un volume de 2 ml d'acide trichloroacétique a été mélangé avec 1ml d'extrait. La présence des triterpénoïdes est révélée par la formation d'un précipité rouge (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### **II.2.2.9. Détection des stéroïdes**

➤ **Test de Salkowski**

- **Principe**

L'acide sulfurique déshydrate les stéroïdes, formant des composés stéroïdiens qui réagissent ensuite avec le chloroforme pour donner une couleur rouge (**Harborne, 1998**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 5ml d'extrait a été mélangé à 2ml de chloroforme et du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré a été ajouté le long des parois d'un tube à essai. L'apparition d'une couleur rouge signifie la présence des stéroïdes (**Haddouchi et al., 2018 ; Kancherla et al., 2019**).

### **II.2.2.10. Détection d'amidon**

➤ **Test au lugol**

- **Principe**

L'iode réagit avec les polysaccharides de l'amidon pour former un complexe d'iodeure d'amidon, ce qui provoque une coloration bleue (**Neslon et al., 2008**).

- **Mode opératoire**

Quelques gouttes de solution de lugol ont été ajoutées à 2 ml d'extrait. L'observation d'une couleur bleue confirme la présence d'amidon (**Haddouchi et al., 2018; Kancherla et al., 2019**).

### II.2.3. Analyse quantitative de l'extrait hydro-éthanolique de *L. cretica*

#### II.2.3.1. Dosage des phénols totaux

➤ **Principe**

La teneur en phénols totaux a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et phosphomolybdique (H3PMo12O40). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu dans un état alcalin en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Enneb et al., 2015; Munteanu et Apetrei, 2021).

➤ **Mode opératoire**

Selon le Protocole décrit par Zeghib et al. (2022), un volume de 200 µl d'extrait de LC a été mélangé avec 1ml de Folin Ciocalteu (0,1 N). Après 5 minutes d'incubation à température ambiante dans l'obscurité, un volume de 800 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%) a été ajouté suivi d'une incubation à une température de 50 °C / 5min. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard (**Figure 04**). Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

#### II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

➤ **Principe**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci signifie que le métal (Al) perd deux électrons afin de se lier à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Lysiuk et Hudz, 2017).

➤ **Mode opératoire**

L'analyse quantitative des flavonoïdes a été réalisée selon le protocole de Surana et al. (2016). Un volume de 250 µl d'extrait a été additionné à 750 µl d'éthanol absolu, 50 µl d'acétate de potassium (1M), 50 µl de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% et 1,4 ml d'eau

distillé. Le mélange a été vigoureusement agité puis incubé pendant 40 min dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 415 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la quercétine comme standard (**Figure 05**). Les résultats obtenus ont été exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

### II.2.3.3. Dosage des tanins condensés

#### ➤ Principe

Cette méthode est basée sur la liaison des groupements aldéhydiques de vanilline au carbone 6 du cycle A de la catéchine, ce qui induit la formation d'un complexe chromophore rouge qui absorbe à une longueur d'onde de 500 nm (**Enneb et al., 2015**).

#### ➤ Mode opératoire

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon Sun et al. (1998). Un volume de 125 µl de l'extrait a été mélangé avec 750 µl de la solution de vanilline à 4 % et 375 µl de HCl. Après une incubation de 15 min à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon a été mesurée à 500 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la catéchine comme molécule de référence (**Figure 06**). Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

### II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica*

#### II.2.4.1. Test de la réduction de fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

#### ➤ Principe

Le test FRAP est une méthode basée sur la réduction du complexe d'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ) en présence des antioxydants réducteurs. La couleur bleue est obtenue comme produit final quantifiable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 593 nm et montre le pouvoir réducteur des antioxydants (**Dontha, 2016; Munteanu et Apetrei, 2021**).

#### ➤ Mode opératoire

L'activité antioxydant a été évaluée en utilisant la méthode décrite par Benzie et Strain (1999). Un volume de 50 µl d'extrait a été mélangé avec 950 µl du réactif de FRAP. L'absorbance a été mesurée à 593 nm après 30 minutes d'incubation à 37 °C. Le trolox a été

utilisé comme standard pour réaliser la courbe d'étalonnage (**Figure 07**). Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent trolox par gramme d'extrait sec (mg E Trolox/g ES).

### **II.2.4.2. Test de piégeage de l'oxyde nitrique (NO)**

#### **➤ Principe**

La procédure s'appuie sur le principe selon lequel le nitroprussiate de sodium en solution aqueuse à pH physiologique génère spontanément de l'oxyde nitrique qui interagit avec l'oxygène pour générer des ions nitrite, mesurables à l'aide du réactif de Griess. Les piègeurs d'oxyde nitrique entrent en compétition avec l'oxygène, réduisant ainsi la production d'ions nitrite (**Sreejayan et Rao, 1997; Ebrahimzadeh et al., 2010**).

#### **➤ Mode opératoire**

L'activité de piégeage de l'oxyde nitrique a été réalisée selon la méthode décrite par Lopes et al. (2012), avec de légères modifications. Un volume de 450 µl d'extrait a été additionné à 450 µl de nitroprussiate de sodium. Ce mélange a été incubé à température ambiante pendant 1 heure. Ensuite, un volume de 450 µl de réactif de Griess a été ajouté, suivi d'une incubation de 10 minutes à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 562 nm. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de l'oxyde nitrique.

### **II.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC**

#### **II.2.5.1. Antibiogramme**

#### **➤ Principe**

Cette méthode repose sur la diffusion de l'agent antimicrobien, en milieu solide, à partir d'un point précis, afin de déterminer la sensibilité et la résistance des bactéries testées à cet agent. L'évaluation de l'effet de la substance antimicrobienne sur la souche cible se fait en mesurant la zone d'inhibition résultante après un temps de contact déterminé entre l'extrait et le microorganisme (**Jehl et al., 2015**).

#### **➤ Mode opératoire**

A l'aide d'une once de platine, des colonies bien isolées de chaque souche bactérienne à tester ont été raclées dans le but de préparer l'inoculum bactérien dans un tube contenant de

l'eau physiologique, afin de préparer une suspension bactérienne de  $10^8$  unités formant colonie (UFC)/mL qui correspond aux normes de Mc Farland équivalentes à une densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 630 nm.

Trois méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de LC, à savoir : la méthode des disques, des puits et des spots. A l'aide d'un écouvillon stérile bien imbibé dans la suspension bactérienne préparée, les surfaces du milieu gélosé Mueller Hinton ont étéensemencées par les souches cibles. Quatre concentrations d'extrait ont été utilisées (10, 25, 50 et 100 mg/mL). L'eau distillée a été utilisée comme contrôle négatif, tandis que l'amoxicilline a été utilisée comme témoin positif (10 mg/mL). Les boîtes de Pétri ont été mises au réfrigérateur à 4 °C pendant 2 heures pour une pré-diffusion. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et les résultats ont été exprimés en millimètre (mm) (**Adam, 2005 ; Balouiri et al., 2016**).

### **II.2.6. 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 sont considérés comme significatifs à  $P < 0,05$ .

## *Chapitre III*

### *Résultats et discussion*

### III.1. Rendement d'extraction

Le procédé d'extraction des plantes médicinales est souvent réalisé pour isoler les composés bioactifs tels que les composés phénoliques reconnus pour leurs diverses activités biologiques (Stalikas, 2007). Dans cette étude l'extraction des feuilles de *L. cretica* a été effectuée en utilisant de l'éthanol à 50% comme solvant selon une méthode d'extraction par macération.

Selon Jacotet-Navarro et al. (2018) le mélange hydro-éthanolique est un choix idéal pour extraire le maximum des composés de plantes en raison de sa faible sélectivité et sa capacité à couvrir une large gamme de polarités concernant les composés à extraire. Le solvant polaire favoriserait la solubilisation et l'extraction des composés polaires alors qu'un solvant moins polaire permet l'extraction des molécules moins polaires. De plus, le solvant hydro-éthanolique est largement utilisé en raison de son innocuité et sa disponibilité par rapport à d'autres solvants (Elboughdiri, 2018).

La matière végétale a été préalablement séchée et broyée pour obtenir une poudre fine afin d'augmenter la surface d'interaction entre le solide et le solvant d'extraction. Le rendement d'extraction de *L. cretica* a été de 19,71%. Ce chiffre représente la quantité de matière extraite à partir de la matière végétale initiale. Plusieurs variables peuvent influencer l'efficacité de ces résultats à savoir la méthode d'extraction, le type de solvant, la granulométrie de la matière végétale, la partie utilisée dans l'extraction, la durée de l'extraction, le degré de maturité des feuilles, la température d'extraction et l'interaction avec l'environnement (Chew et al., 2011).

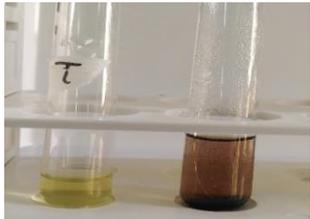
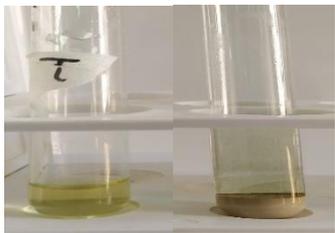
En effet, cette méthode a démontré un rendement significatif, offrant ainsi une méthode d'extraction efficace pour isoler les molécules bioactives de cette plante.

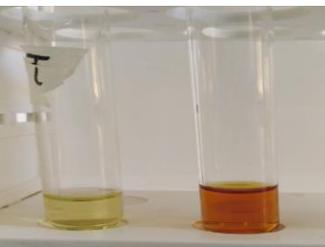
### III.2. Analyse qualitative de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica*

Un screening phytochimique a été réalisé sur l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC afin d'identifier les différents constituants de cette plante. Les résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous (Tableau II) :

Tableau II : Screening phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de LC

Constituants	Tests	Résultats
Alcaloïdes	Test de Dragendorff	+
	Test de Hager	+
	Test de Mayer	+
Flavonoïdes	Test de réactif alcalin	+++
Tanins	Test de FeCl <sub>3</sub>	+++

<b>Protéines</b>	Test de Biuret	++ 
	Test de Ninhydrine	++ 
<b>Carbohydrates</b>	Test de Benedict	+ 
	Test de Fehling	+ 
<b>Glycosides</b>	Test de Keller killiani	+ 
<b>Saponines</b>	Test de mousse	- 

<b>Triterpénoïdes</b>	Test d'horizon	<p style="text-align: center;">-</p> 
<b>Stéroïdes</b>	Test salkowski	<p style="text-align: center;">-</p> 
<b>Amidon</b>	Test d'iode	<p style="text-align: center;">-</p> 

(-) : Absence ; (+) : Présence ; (++) : Présence Modérée ; (+++) : Abondance des phytoconstituants

Les tests phytochimiques effectués sur l'extrait des feuilles de LC révèlent la présence de divers composés. Cela a été constaté par des changements de couleur indiquant la présence des flavonoïdes, tanins catéchique, protéines, alcaloïdes, carbohydrates et glycosides. En revanche, les tests sur les saponines, triterpénoïdes, stéroïdes et amidon ont montré un résultat négatif indiquant l'absence de ces derniers dans l'extrait de LC.

Notre étude a révélé l'abondance des flavonoïdes dans l'extrait des feuilles de LC. Ce résultat confirme ce qui a été retrouvé dans l'étude réalisé par Veeramani et al. (2017). Les flavonoïdes sont connus principalement pour leurs propriétés antioxydants qui neutralisent les radicaux libres, réduisant ainsi le stress oxydatif (Teoh, 2016). Ils possèdent aussi des propriétés anti-inflammatoires en inhibant les enzymes responsables de l'inflammation, contribuant ainsi à la réduction de la réaction inflammatoire dans le corps (Croteau et al., 2000). Le criblage phytochimique réalisé dans notre étude a également démontré la richesse de LC en tanins catéchique. Ces derniers sont reconnus comme étant un bon remède pour traiter diverses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires et les infections bactériennes (Daglia, 2012; Gyawali et Ibrahim, 2014).

Les résultats de notre étude sont cohérents avec ceux de (Dowek et al., 2020) ayant travaillé sur une plante du même genre et ayant mis en évidence la présence des tanins, flavonoïdes, polyphénols et alcaloïdes dans l'extrait des feuilles de *Malva sylvestris*. De plus, leur étude a démontré l'absence des glycosides, stéroïdes, triterpènes et saponines.

Une autre étude faite sur l'extrait éthanolique (70%) des feuilles de *Malva parviflora* a révélé la présence de constituants similaires à ceux retrouvés dans l'extrait de LC. Quoiqu'il a été retrouvé que *M. parviflora* contient des saponines contrairement à notre plante (Farhan et al., 2012a).

Plusieurs facteurs montrent que l'environnement et les besoins spécifiques de chaque plante influencent la production des métabolites secondaires (Akula et Ravishankar, 2011). Voici quelques suggestions qui expliquent la présence et l'absence de ces métabolites :

- Stress environnemental : une plante exposée au stress tel que la sécheresse, peut produire certains composés qui sont moins importants dans le cas d'absence de stress environnemental (Chaves et al., 2009).
- Lumière : une plante soumise à une forte lumière solaire, peut synthétiser certains composés chimiques avec des quantités accrues pour se protéger contre les rayons ultraviolets. Alors qu'une plante à l'ombre peut ne pas avoir besoin de ces métabolites (Jenkins, 2009; Yang et al., 2018).
- La composition phytochimique de la plante peut également dépendre de la saison de récolte, le solvant, la méthode d'extraction ainsi que le type de sol (Locatelli et al., 2010; Yang et al., 2018; Lezoul et al., 2020).

### III.3. Analyse quantitative de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *L. cretica*

L'étude quantitative de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC a été réalisée par des dosages spectrophotométriques afin de déterminer les teneurs en phénol totaux, flavonoïdes et tanins. Le dosage de ces composés est privilégié en raison de leur disponibilité dans la nature et de leur pertinence dans de nombreux domaines d'application.

Le tableau ci-dessous représente la teneur de l'extrait de LC en phénols totaux, flavonoïdes et tanins (**Tableau III**). Ils sont déterminés à partir des équations de régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en mg équivalent d'acide gallique, mg équivalent de quercétine et en mg équivalent de catéchine par g de matière sèche.

**Tableau III** : Teneur de l'extrait des feuilles de *L. cretica* en phénols totaux, flavonoïdes et tanins.

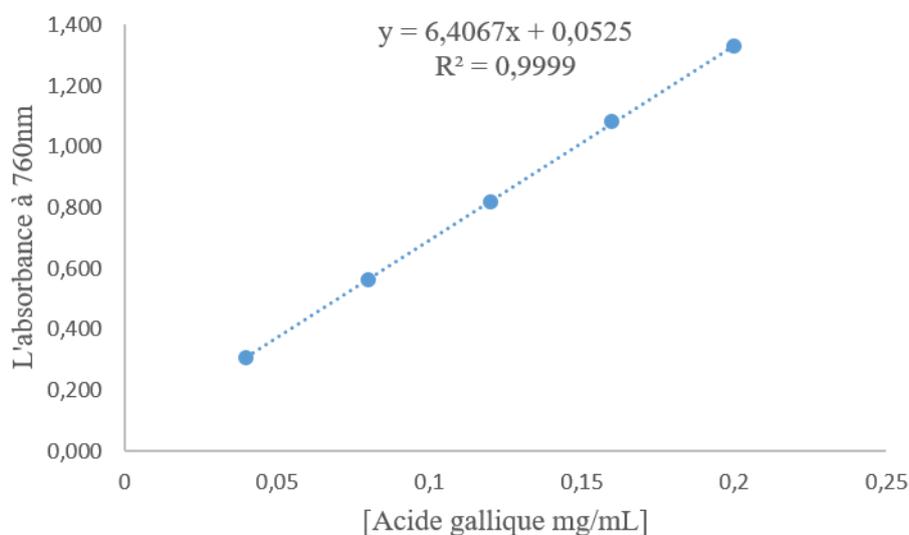
	Phénols totaux (a)	Flavonoïdes (b)	Tanins (c)
L'extrait des feuilles de <i>L. cretica</i>	85.582 ± 2.826	32.992 ± 0.309	51.131 ± 4.674

(a) mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche de la plante (mg EAG/g MS).

(b) mg équivalent de quercétine par g de matière sèche de la plante (mg EQ/g MS).

(c) mg équivalent de catéchine par g de matière sèche de la plante (mg EC/g MS).

La détermination de la teneur en phénols totaux dans l'extrait hydro-éthanolique a été estimée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard (**Figure 4**). Un taux de 85,582 ± 2,826 mg EAG/g MS a été enregistré (**Tableau III**).



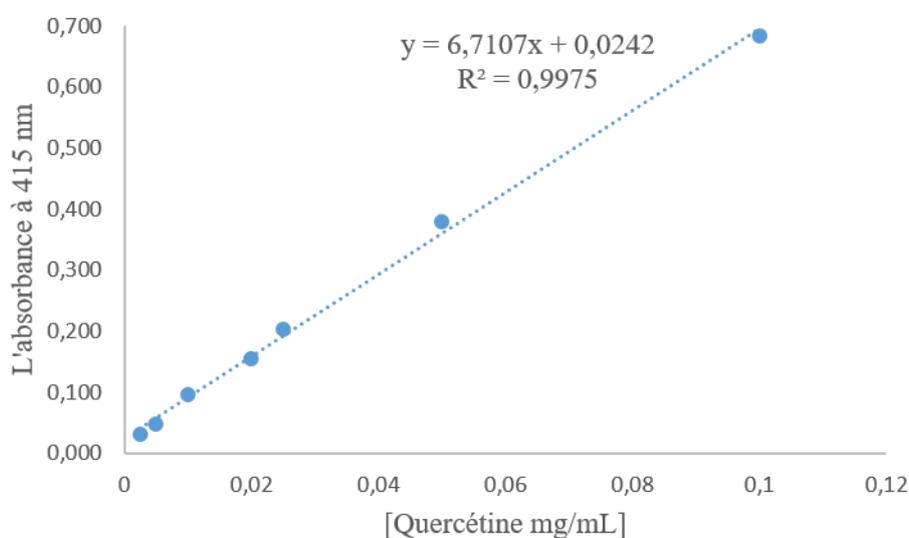
**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait de *Lavatera cretica*.

Nos résultats de dosage confirment la richesse de l'extrait des feuilles de *L. cretica* en phénols totaux. En revanche, cette teneur reste inférieure à celle rapportée par Ben Nasr et al. (2015) qui ont enregistré une teneur de  $254,62 \pm 6,50$  mg EAG/g ES pour l'extrait aqueux des feuilles de *L. cretica*, ainsi que celle démontré par Devrim-Lanpir (2023) qui a estimé une teneur de  $95,42 \pm 5,25$  mg EAG/g MS dans l'extrait des feuilles de *Malva pusilla*.

Une autre étude a été effectuée par Basheer et al. (2021) sur l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *L. cretica* a démontré un rendement de  $16,5 \pm 3,2$  mg EAG/g ES, une teneur relativement faible en comparaison à la valeur retrouvé dans notre étude.

De même, la teneur de notre extrait en phénol totaux dépasse celle de l'extrait hydro-éthanolique de *Malva sylvestris* ( $1,42 \pm 0,14$  mg EAG/gPF) rapporté par Petkova et al. (2018), ainsi que celle de l'extrait éthanolique de *Malva parviflora* ( $2,24 \pm 0,031$ mg EAG/gPF) démontré par Farhan et al. (2012b).

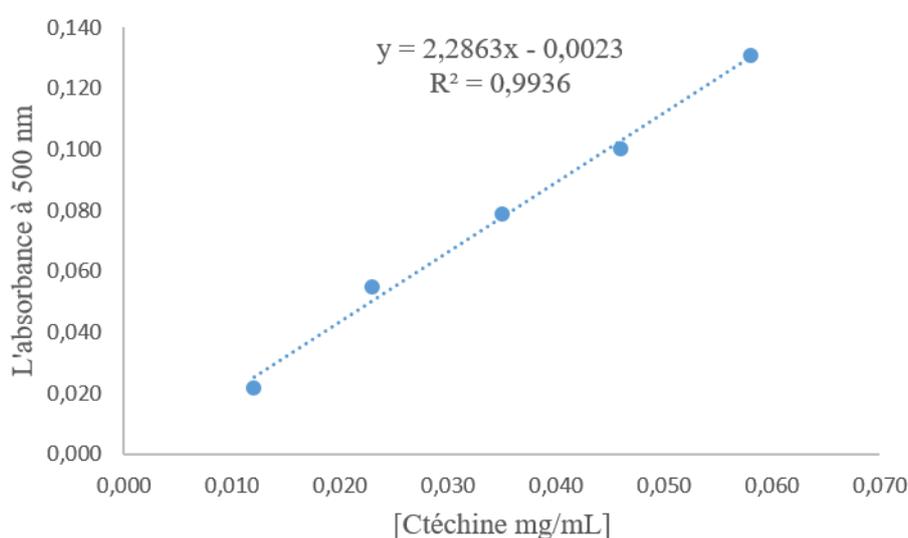
Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) en utilisant la quercétine comme standard (**Figure 5**). La teneur des flavonoïdes dans l'extrait hydro-éthanolique de *L. cretica* a été estimée à  $32,992 \pm 0,309$  mg EQ/g MS (**Tableau III**).



**Figure 5 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes dans l'extrait de *Lavatera cretica*.

Nos résultats sont clairement supérieurs à ceux retrouvés par Moon et al. (2020) qui ont révélé une teneur de  $2,4 \pm 0,1$  mg EQ/g MS pour l'extrait aqueux de *Malva verticillata*. Ils divergent également des résultats de Pektova et al. (2019) qui ont enregistré une teneur de  $0,76 \pm 0,19$  mg EQ/g PF pour l'extrait éthanolique (70%) de *Malva sylvestris*.

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de la vanilline en utilisant la catéchine comme standard (**Figure 6**). Leurs teneurs dans l'extrait hydro-éthanolique de *L. cretica* a été estimée à  $51,131 \pm 4,674$  mg EC/g MS (**Tableau III**).



**Figure 6 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés dans l'extrait de *Lavatera cretica*.

L'étude menée par Tabaraki et al. (2012) a enregistré des teneurs de  $1,87 \pm 0,03$  mg EC/g MS,  $2,18 \pm 0,03$  mg EC/g MS et  $1,86 \pm 0,05$  mg EC/g MS dans les extraits des feuilles de *Malva sylvestris* récoltées dans trois régions différentes. Ces valeurs sont très faibles en comparaison à celles enregistrées dans notre étude sur les feuilles de LC.

Les variations observées dans les teneurs des phénols totaux, flavonoïdes et tanins dans les différentes études peuvent être expliquées par plusieurs facteurs interconnectés. L'origine géographique des échantillons joue un rôle crucial, car les conditions climatiques, les types de sols et les stress environnementaux locaux influencent directement la biosynthèse

des composés phénoliques (Locatelli et al., 2010). Par ailleurs, la saison de récolte est déterminante, avec des études montrant que les concentrations en composés bioactifs peuvent varier selon le stade de développement de la plante, les jeunes feuilles présentant souvent des teneurs différentes par rapport aux feuilles matures (Faller et fialho, 2009). La durée et les conditions de stockage post-récolte affectent également les teneurs, car une exposition prolongée à la lumière, à l'humidité ou à des températures inappropriées peut entraîner la dégradation des composés phénoliques par oxydation ou dégradation enzymatique (Houssain et al., 2010). Les méthodes d'extraction utilisées introduisent une autre source de variation, les techniques telles que l'extraction par solvants, par ultrasons ou par micro-ondes pouvant donner des rendements différents en fonction de leur efficacité à libérer les composés phénoliques (Dai et Mumper, 2010). Le choix des solvants est également crucial ; les solvants polaires comme le méthanol et l'éthanol sont généralement plus efficaces pour extraire les phénols que les solvants non polaires (Sultana et al., 2009). Enfin, les conditions de réaction, notamment la température et le pH, influencent fortement l'extraction et la stabilité des composés phénoliques. Des températures élevées peuvent améliorer l'extraction mais aussi causer la dégradation des composés thermolabiles, tandis que le pH du solvant peut modifier la solubilité et l'extraction de certains composés (Cacace et mazza, 2003). Ainsi, la combinaison de ces facteurs explique les différences significatives observées dans les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins rapportées dans la littérature (Ghasemzadeh et al., 2010; Locatelli et al., 2010).

#### III.4. Evaluation de l'activité antioxydant

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait des feuilles de *L. cretica*, deux tests ont été réalisés, à savoir le test du pouvoir réducteur du fer et le test de piégeage de l'oxyde nitrique.

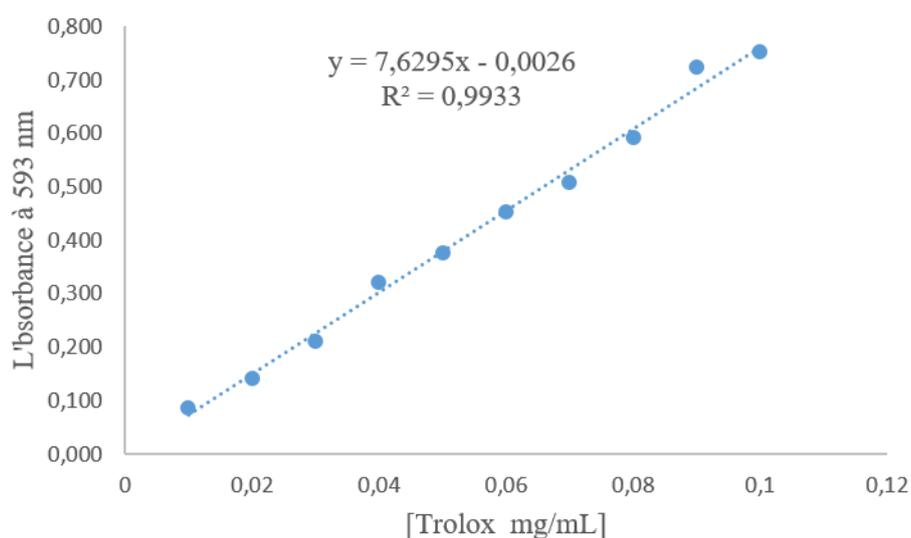
##### III.4.1. Pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)

La capacité de l'extrait des feuilles de LC à réduire le  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  a été déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent trolox par g de matière sèche (Figure 7). Une valeur de  $166,302 \pm 1,867$  mg ET/g MS a été obtenue (Tableau IV).

**Tableau III** : Pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles de *L. cretica* (FRAP).

	Pouvoir réducteur (mg E Trolox/g MS)
L'extrait des feuilles de <i>L. cretica</i>	$166,302 \pm 1,867$

Nos résultats sont supérieurs à ceux des travaux de Basheer et al. (2021) ayant utilisé l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *L. cretica* et qui ont enregistré une valeur de  $0,6 \pm 0,1$  mg ET/g ES. De même, l'extrait éthanolique (70%) des feuilles de *Malva sylvestris* a exhibé une teneur de  $4,04 \pm 0,85$  mM ET/g ES (Petkova et al., 2019).

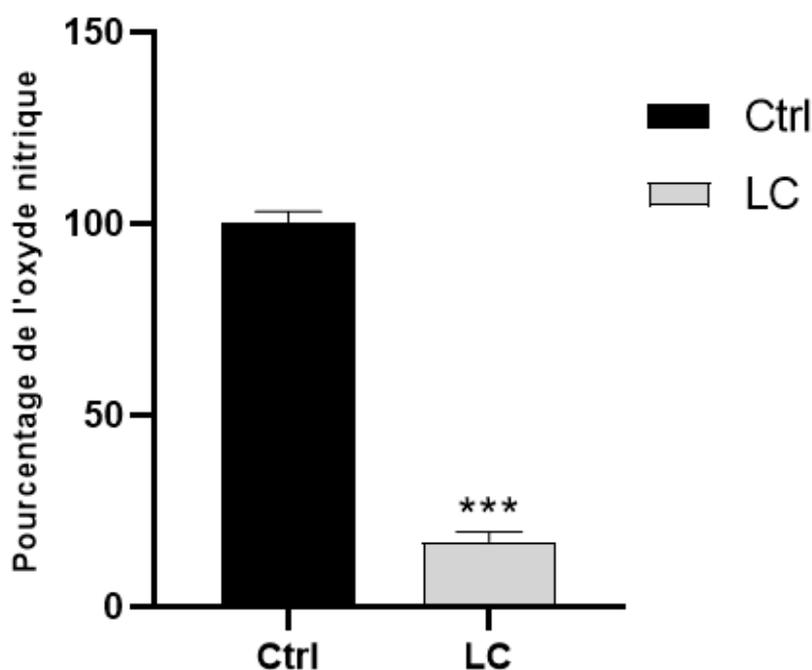


**Figure 7 :** Courbe d'étalonnage du trolox pour la détermination du pouvoir réducteur de fer (FRAP) dans l'extrait de *Lavatera cretica*.

Le pouvoir réducteur de *L. cretica* est probablement dû aux groupements hydroxyles présents dans les polyphénols (tel que l'acide gallique, quercétine, catéchine) et à la vitamine E, qui peuvent agir comme donneurs d'électrons. Ainsi, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et des inactivateurs d'oxydants (DeGraft-Johnson et al., 2007; Bougandoura et Bendimerad, 2013; Benzie et Devaki, 2017).

#### III.4.2. Piégeage de l'oxyde nitrique (NO)

Le résultat du piégeage de l'oxyde nitrique par l'extrait hydro-éthanolique de LC est représenté dans la figure 8. Une différence très hautement significative a été observée entre le contrôle et l'extrait de LC ( $P < 0,001$ ). Le pourcentage d'inhibition du NO est estimé à  $82,876 \pm 2,457$  %.



**Figure 8** : Pourcentage de l'oxyde nitrique en présence de l'extrait hydro-éthanolique de *L. cretica*.

Ctrl : Contrôle ; LC : *Lavatera cretica*, Toutes les valeurs sont représentées par la moyenne  $\pm$  SD, GraphPad Prim 8.0 a été utilisé pour l'analyse statistique, \*\*\*P < 0,001 comparé au contrôle.

Certaines études ont testé l'effet inhibiteur de quelques plantes de la famille des malvacées vis-à-vis du NO. Cependant, aucun test n'a été déjà réalisé pour déterminer la capacité de LC à inhiber NO. Les essais effectués par Mondal et al. (2016) ont montré des résultats plus élevés que ceux obtenus par notre extrait. En effet, l'extrait éthanolique (90%) des feuilles de *Hibiscus rosa-sinensis* a permis une inhibition de  $86,45 \pm 2,09$  % de NO. Dans une autre étude réalisée par Zahidal et al. (2015), l'extrait méthanolique des feuilles d'*Hibiscus schizopetale* a montré un pourcentage d'inhibition de 37,2% de NO.

L'étude menée par Paquay et al. (2000) a montré que la quercétine et la catéchine telle que l'epigallocatechine gallate peuvent protéger contre la toxicité de l'oxyde nitrique (NO) et qu'ils réduisent la formation des espèces réactifs comme le peroxyde nitrite. Ils inhibent également l'activité de l'oxyde nitrique synthase.

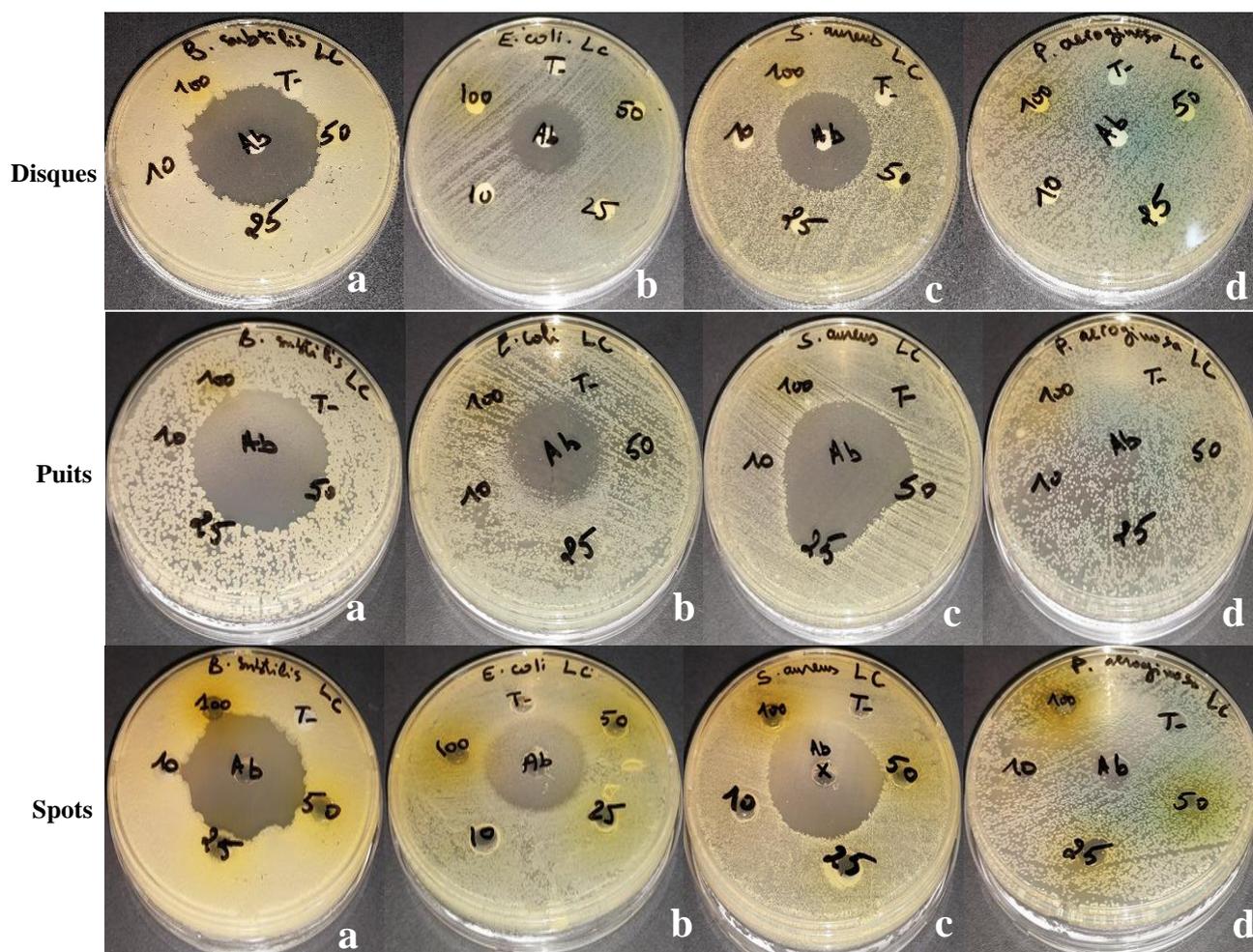
Par ailleurs, l'étude réalisée par Bubols et al. (2014) a démontré que les polyphénols inhibent l'oxyde nitrique, ce qui entraîne une inhibition des produits stables de NO qui sont les nitrites et les nitrates, susceptibles de causer des dommages aux lipides. Ainsi, une baisse des teneurs de NO pourrait être responsable de la diminution de la peroxydation lipidique.

Les différences dans les activités antioxydantes observées dans les études précédentes peuvent principalement s'expliquer par leurs contenus en composés phénoliques, reconnus comme les principaux contributeurs à leurs propriétés antioxydantes (**Abdelhafez et al., 2020**), ainsi que par les interactions entre les divers composés présents dans les extraits. De plus, les variations dans les concentrations des réactifs ou les conditions expérimentales, telles que la température, le pH et la durée d'incubation, peuvent affecter les résultats (**Yang et al., 2018**). Le type de solvant utilisé peut influencer également l'efficacité des antioxydants. Enfin, la nature chimique des antioxydants présents dans les échantillons peut varier, impactant leur activité dans les tests FRAP et NO (**Lezoul et al., 2020**).

Les résultats obtenus dans les tests FRAP et NO ont indiqué que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC a présenté une capacité antioxydant importante et cela peut être dû à la richesse de notre plante en polyphénols comme l'ont montré les tests phytochimiques. Ces métabolites sont considérés comme de principaux composants qui contribuent aux propriétés antioxydants des plantes (**Abdelhafez et al., 2020**).

### **III.5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles de LC**

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles de LC contre 4 souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*). L'antibiogramme a été réalisé en utilisant trois méthodes (Disques, Puits, Spots) (**Figure 9**).



**Figure 9 :** Zones d'inhibition obtenues par l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC contre 4 souches bactériennes (*B. subtilis* (a), *E. coli* (b), *S. aureus* (d) et *P. aeruginosa* (c)). Ab : antibiotiques (amoxicilline), T- : témoin négatif.

La figure 09 montre que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de LC n'a exhibé aucun effet ; pour les trois méthodes d'antibiogrammes utilisées. Aucune zone d'inhibition n'a été observée aux quatre concentrations testées et ceci *vis-à-vis* de toutes les souches bactériennes cibles. L'antibiotique testé (amoxicilline) a enregistré des zones d'inhibition contre *S. aureus*, *E. coli* et *B. subtilis* (mm) à travers les trois méthodes réalisées (disques, puits et spots) (**Tableau V**). Cependant, aucune zone d'inhibition n'a été observée *vis-à-vis* de *P. aeruginosa*.

Tableau V : Diamètre des zones d'inhibition de l'amoxicilline à l'égard des souches testées.

	Zones d'inhibition (mm)		
	Disques	Spots	Puits
<b>Souches bactériennes /Méthodes</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	31,5 ± 2,12	37,5 ± 3,54	35,5 ± 0,71
<i>Escherichia coli</i>	22,5 ± 0,71	27,5 ± 0,71	32,5 ± 2,12
<i>Bacillus subtilis</i>	40,5 ± 0,71	42 ± 2,83	43 ± 1,41

A notre connaissance, aucune étude n'a été faite sur l'activité antibactérienne de *L. cretica*, d'où le choix de tester son effet antibactérien. L'analyse des résultats des antibiogrammes réalisés a démontré que l'extrait des feuilles de *L. cretica* n'a révélé aucun pouvoir antibactérien sur milieu solide. Des résultats similaires ont été trouvés dans une étude menée par Rojas et al. (2003) ayant travaillé sur l'extrait éthanolique (95 %) des feuilles de *Lavatera arborea* contre les mêmes espèces bactériennes testées dans notre étude par la méthode de diffusion sur puits. Fagbohun et al. (2012) ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Urena lobata*, testé par la méthode de diffusion sur gélose, a montré une efficacité notable contre *E. coli* (1 à 4 mm) et *S. aureus* (1 à 3mm), mais une résistance contre *P. aeruginosa*. Dans une autre étude menée par Ododo et al. (2016), en utilisant la méthode de dilution en série des écorces de racines de *Malva parviflora*, ils ont constaté que l'extrait éthanolique a le pouvoir d'inhiber *S. aureus* alors que l'extrait chloroformique possède une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. coli*.

L'absence de l'activité antibactérienne est probablement due à plusieurs facteurs. Il est possible que l'extrait éthanolique des feuilles de LC étudiée ne contienne pas les composés bioactifs dotés de propriétés antimicrobiennes. Il est aussi possible que les composés de LC ont une capacité limitée à se diffuser sur la gélose. Cependant, tester l'extrait des feuilles de LC sur milieu liquide et n'en pas gélosé pourrait permettre une meilleure diffusion de ses composés bioactifs et mettre en évidence son pouvoir antibactérien.

## *Conclusion et perspectives*

## Conclusion et perspectives

---

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés au screening phytochimique et au dosage des composés phénoliques, ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Lavatera cretica*.

Le criblage phytochimique a révélé la présence des flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, protéines, carbohydrates, et glycosides dans les feuilles de LC, tandis qu'elles étaient dépourvues de saponines, triterpénoïdes, stéroïdes et amidon. De plus, le dosage des polyphénols a montré des teneurs importantes en phénols totaux ( $85,582 \pm 2,826$  mg EAG/g ES), flavonoïdes ( $32,992 \pm 0,309$  mg EQ/g ES), et tanins condensés ( $51,131 \pm 0,674$  mg EC/g ES).

Les tests antioxydants réalisés ont démontré que LC possède un pouvoir de réduction du fer (FRAP) avec une valeur de ( $166,302 \pm 1,867$  mg ET/g ES). De plus, le test de piégeage de l'oxyde nitrique a révélé une inhibition de  $82,876 \pm 2,457$  %. Ces résultats montrent le potentiel élevé de l'extrait de LC en tant qu'agent antioxydant, ceci peut être attribué à la présence de composés bioactifs identifiés lors du screening phytochimique. Cependant, malgré ses propriétés antioxydants remarquables, il convient de noter que l'extrait de LC n'a démontré aucune activité antibactérienne contre les souches testées sur milieu gélosé.

Pour élargir cette étude, il serait intéressant de réaliser des fractionnements de l'extrait de LC et d'identifier les composés bioactifs en utilisant la chromatographie liquide sous haute pression couplé à une spectrométrie de masse (HPLC-MS), d'étudier la toxicité de LC sur des modèles animaux pour déterminer les effets aigus et chroniques et analyser les paramètres biochimiques après administration.. De plus, il serait préférable de tester l'effet de l'extrait de LC contre les souches testées sur milieu liquide. Il serait également souhaitable d'orienter la recherche vers les autres parties de la plante (tiges, fleurs, racines) afin d'apporter des informations complémentaires sur ses propriétés bioactives.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

### A

- **Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F.M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M.S., Ishtiaq, A., Hussain, S., Suleria, H.A.R. (2017).** Natural polyphenols: An overview. *International journal of food properties*, 20(8), 1689–1699. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393>
- **Abdelhafez, O.H., Othman, E.M., Fahim, J.R., Desoukey, S.Y., Pimentel-Elardo, S.M., Nodwell, J.R., Schirmeister, T., Tawfike, A., Abdelmohsen, U.R. (2020).** Metabolomics analysis and biological investigation of three Malvaceae plants. *Phytochemical analysis*, 31(2), 204–214. <https://doi.org/10.1002/pca.2883>
- **Adam, J. M. (2005).** Le point sur l'antibiogramme au laboratoire de bactériologie médicale. *Revue Francophone des laboratoires*, (375), 50-54.
- **Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L.A., Favela-Torres, E., Aguilar, C.N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied microbiology and biotechnology*, 78, 189–199. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1276-2>
- **Akula, R., Ravishankar, G.A. (2011).** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling behavior*, 6(11), 1720–1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>
- **Alain, K.Y., Cokou, A.D.P., Diane, B., Reine, B.S., Alain, A.G., Dominique, S.C.K., (2018).** Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante à usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23(4), 441-450.

### B

- **Babenko, L. M., Smirnov, O. E., Romanenko, K. O., Trunova, O. K., & Kosakivska, I. V. (2019).** Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 91(3), 5-18.
- **Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

## Références bibliographiques

---

- **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(7), 1294. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071294>
- **Ben-Nasr, S., Aazza, S., Mnif, W., Miguel, M. da G.C. (2015).** Antioxidant and anti-lipoxygenase activities of extracts from different parts of *Lavatera cretica* L. grown in Algarve (Portugal). *Pharmacognosy Magazine*, 11(41), 48.
- **Bennetau-Pelissero, C. (2014).** Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2014.02.004>
- **Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999).** [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *In Methods in enzymology*, 299, 15-27.
- **Benzie, I.F.F., Devaki, M. (2017).** The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: recent trends and applications*, 77–106. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch5>
- **Biharee, A., Sharma, A., Kumar, A., Jaitak, V. (2020).** Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia*, 146, 104720. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104720>
- **Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M.J., Simões, M. (2013).** Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microbial drug resistance*, 19(4), 256–265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>
- **Bose, S., Sarkar, D., Bose, A., Mandal, S.C. (2018).** Natural Flavonoids and Its Pharmaceutical Importance. *The pharma review*, 94, 61-75.
- **Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., Oulahal, N. (2019).** Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the science of food and agriculture*, 99, 1457–1474. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9357>
- **Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Toubal, S., El Haddad, D., Oussaid, S., Blizak, D., Arab, K. (2020).** Criblage phytochimique et évaluation

## Références bibliographiques

---

du pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus communis* L. et *Rhamnus alaternus* L. *Revue agrobiologia*, 10(1), 1749-1761.

- **Bougandoura, N., Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Brinq. *Nature & technology*, (9), 14-19.
- **Bubols, G.B., Zielinsky, P., Piccoli, A.L., Nicoloso, L.H., Vian, I., Moro, A.M., Charão, M.F., Brucker, N., Bulcão, R.P., Nascimento, S.N., Baierle, M., Alievi, M.M., Moresco, R.N., Markoski, M., Garcia, S.C. (2014).** Nitric oxide and reactive species are modulated in the polyphenol-induced ductus arteriosus constriction in pregnant sheep. *Prenatal Diagnosis*, 34(13), 1268–1276. <https://doi.org/10.1002/pd.4463>

### C

- **Cacace, J. E., & Mazza, G. (2003).** Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 379-389.
- **Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C. (2009).** Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany*, 103(4), 551–560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
- **Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Aida, W. W., Ho, C. W. (2011).** Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, 18(4), 1427.
- **Coppo, E., Marchese, A. (2014).** Antibacterial Activity of Polyphenols. *Current pharmaceutical biotechnology*, 15(4), 380–390. <https://doi.org/10.2174/138920101504140825121142>
- **Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G., (2000).** Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.

### D

- **Daglia, M., (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>

## Références bibliographiques

---

- **Dai, J., & Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- **De Feo, V., Aquino, R., Menghini, A., Ramundo, E., Senatore, F., (1992).** Traditional phytotherapy in the Peninsula Sorrentina, Campania, Southern Italy. *Journal of ethnopharmacology*, 36(2), 113–125. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(92\)90010-O](https://doi.org/10.1016/0378-8741(92)90010-O)
- **DeGraft-Johnson, J., Kolodziejczyk, K., Krol, M., Nowak, P., Krol, B., Nowak, D. (2007).** Ferric-Reducing Ability Power of Selected Plant Polyphenols and Their Metabolites: Implications for Clinical Studies on the Antioxidant Effects of Fruits and Vegetable Consumption. *Basic clinical Pharmacology toxicology*, 100(5), 345–352. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2007.00056.x>
- **Devrim-Lanpir, A., Redha, A. A., Freije, A., Allehdan, S., Madan, D., Rondanelli, M., & Perna, S. (2023).** Analysis of the nutritional composition of round-leaved mallow (*Malva pusilla*) leaves. *Journal of Food Bioactives*, 23.
- **Dontha, S. (2016).** A review on antioxidant methods. *Asian Journal of pharmaceutical and clinical research*, 9(2), 14-32.
- **Dowek, S., Fallah, S., Basheer-Salimia, R., Jazzar, M., Qawasmeh, A. (2020).** Antibacterial, antioxidant and phytochemical screening of palestinian mallow, *Malva sylvestris* L. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 12(10), 12–16. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2020v12i10.39053>

### E

- **Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Pourmorad, F. (2010).** Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *African journal of Biotechnonogy*, 9(32), 5212-5217.
- **Elboughdiri, N. (2018).** Effect of Time, Solvent-Solid Ratio, Ethanol Concentration and Temperature on Extraction Yield of Phenolic Compounds From Olive Leaves. *Eng. Technol. Applied science reseach*, 8(2), 2805–2808. <https://doi.org/10.48084/etasr.1983>
- **EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., (2018).** Screening phytochimique d'une plante medicinale : *Mentha Spicata* L.
- **Elizondo, A.M., Mercado, E.C., Rabinovitz, B.C., Fernandez-Miyakawa, M.E. (2010).** Effect of tannins on the *in vitro* growth of *Clostridium perfringens*. *Veterinary microbiology*, 145(3-4), 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.04.003>

## Références bibliographiques

---

- **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*, 20.

### F

- **Fagbohun, E.D., Asare, R.R., Egbebi, A.O. (2012).** Chemical composition and antimicrobial activities of *Urena lobata* L. (Malvaceae). *Journal of medicinal plants research*, 6(12), 2256-2260.<https://doi.org/10.5897/JMPR09.233>
- **Faller, A. L. K., & Fialho, E. (2009).** The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*, 42(1), 210-215.
- **Farhan, H., Rammal, H., Hijazi, A., Badran, B. (2012a).** Preliminary phytochemical screening and extraction of polyphenol from stems and leaves of a Lebanese plant *Malva parviflora* L. *International journal of current pharmaceutical research*, 4(1), 55-59.
- **Farhan, H., Rammal, H., Hijazi, A., Hamad, H., Daher, A., Reda, M., Badran, B. (2012b).** *In vitro* antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts from crude *Malva parviflora* L. grown in lebanon. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 5(3), 234-238.
- **Fernandez-Panchon, M.S., Villano, D., Troncoso, A.M., Garcia-Parrilla, M.C. (2008).** Antioxidant Activity of Phenolic Compounds: From *In Vitro* Results to *In Vivo* Evidence. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(7), 649–671. <https://doi.org/10.1080/10408390701761845>
- **Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R. (2004).** Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish journal of agricultural*, 2(2), 191–202. <https://doi.org/10.5424/sjar/2004022-73>

### G

- **Gaspar, N., Godinho, J., Vasconcelos, T., Caldas, D., Mendes, P., Barros, O., (2002).** Ethnobotany in the Center of Portugal (Santarém). *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application*, 271–284. [https://doi.org/10.1007/978-94-015-9876-7\\_29](https://doi.org/10.1007/978-94-015-9876-7_29)

## Références bibliographiques

---

- **Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A., Wahab, P.E.M., Halim, M.R.A. (2010).** Effect of Different Light Intensities on Total Phenolics and Flavonoids Synthesis and Anti-oxidant Activities in Young Ginger Varieties (*Zingiber officinale* Roscoe). *International journal of molecular sciences*, 11(10), 3885–3897. <https://doi.org/10.3390/ijms11103885>
- **Górniak, I., Bartoszewski, R., Króliczewski, J. (2019).** Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry reviews*, 18, 241-272.
- **Gyawali, R., Ibrahim, S.A. (2014).** Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>

### H

- **Haddouchi, F., Chaouche, T.M., Halla, N. (2018).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 16(S1), S254–S262. <https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0140>
- **Han, X., Shen, T., Lou, H. (2007).** Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International journal of molecular sciences*, 8(9), 950–988. <https://doi.org/10.3390/i8090950>
- **Harborne, A. J. (1998).** Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. *springer science & business media*.
- **Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978).** Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 26(4), 809-812.
- **Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P. (2010).** Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 123(1), 85-91.

### J

- **Jacotet-Navarro, M., Laguerre, M., Fabiano-Tixier, A., Tenon, M., Feuillère, N., Bily, A., Chemat, F. (2018).** What is the best ethanol-water ratio for the extraction of antioxidants from rosemary? Impact of the solvent on yield, composition, and activity of the extracts. *Electrophoresis*, 39(15), 1946–1956. <https://doi.org/10.1002/elps.201700397>

## Références bibliographiques

---

- **Jehl, F., Chabaud, A., Grillon, A. (2015).** L'antibiogramme : diamètres ou CMI ?. *Journal des Anti-Infectieux*, 17(4), 125–139. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2015.08.003>
- **Jenkins, G.I. (2009).** Signal Transduction in Responses to UV-B Radiation. *Annual review of plant biology*, 60, 407–431. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092953>

### K

- **Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K., Komaram, R.B. (2019).** Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro). *Maedica*, 14(4), 350.
- **Kaur, R., Arora, S. (2015).** Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *Journal of critical reviews*, 2(3), 1-8.

### L

- **Lattanzio, V. (2013).** Phenolic Compounds: Introduction 50. *Natural Products*, 1543–1580. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6\\_57](https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57)
- **Lelario, F., Scrano, L., De Franchi, S., Bonomo, M.G., Salzano, G., Milan, S., Milella, L., Bufo, S.A. (2018).** Identification and antimicrobial activity of most representative secondary metabolites from different plant species. *Chemical and biological technologies in agriculture*, 5(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0125-0>
- **Le Pogam, P.L., Chollet-Krugler, M., Boustie, J. (2015).** Présentation des métabolites secondaires lichéniques : de leur biosynthèse à leur rôle au sein du thalle lichénique. *Bulletin de l'Association Française de lichénologie*, 40, 201-210.
- **Lezoul, N.E.H., Belkadi, M., Habibi, F., Guillén, F. (2020).** Extraction Processes with Several Solvents on Total Bioactive Compounds in Different Organs of Three Medicinal Plants. *Molecules*, 25(20), 4672. <https://doi.org/10.3390/molecules25204672>
- **Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J.D., Martelli, A., Stévigny, C., Arlorio, M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*, 119, 1647–1655. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.048>

## Références bibliographiques

---

- **Lopes, G., Sousa, C., Silva, L. R., Pinto, E., Andrade, P. B., Bernardo, J., Teresa, M., Valentão, P. (2012).** Can phlorotannins purified extracts constitute a novel pharmacological alternative for microbial infections with associated inflammatory conditions?. *PloS one*, 7(2), e31145
- **Lv, Q., Long, J., Gong, Z., Nong, K., Liang, X., Qin, T., Huang, W., Yang, L. (2021).** Current State of Knowledge on the Antioxidant Effects and Mechanisms of Action of Polyphenolic Compounds. *Natural product communications*, 16(7), 1934578X2110277. <https://doi.org/10.1177/1934578X211027745>
- **Lysiuk, R., Hudz, N. (2017).** Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals. *International of trends in food and nutrition*, 1, 102.

### M

- **Mabry, T., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (2012).** The systematic identification of flavonoids. *Springer Science & Business Media*.
- **McMahon, L.R., McAllister, T.A., Berg, B.P., Majak, W., Acharya, S.N., Popp, J.D., Coulman, B.E., Wang, Y., Cheng, K.-J. (2000).** A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian journal of plant science*, 80(3), 469–485. <https://doi.org/10.4141/P99-050>
- **Miller, G. L. (1959).** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- **Mondal, S., Ghosh, D., Sagar, N., Ganapaty, S. (2016).** Evaluation of Antioxidant, Toxicological and wound healing Properties of *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Malvaceae) ethanolic leaves extract on different Experimental animal models. *Indian journal of pharmaceutical education and research*, 50(1), 620–637. <https://doi.org/10.5530/ijper.50.4.15>
- **Moon, K., Lee, S., Cha, J. (2020).** Bacillus subtilis Fermentation of *Malva verticillata* Leaves Enhances Antioxidant Activity and Osteoblast Differentiation. *Foods*, 9(5), 671. <https://doi.org/10.3390/foods9050671>
- **Moore, S., Stein, W. H. (1963).** [117] Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. *Methods in Enzymology*, 6, 819-831.

## Références bibliographiques

---

- **Munteanu, I.G., Apetrei, C. (2021).** Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity : A Review. *Journal of molecular sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

### N

- **Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2008).** Lehninger principles of biochemistry. *Macmillan*.

### O

- **Ododo, M.M., Choudhury, M.K., Dekebo, A.H. (2016).** Structure elucidation of  $\beta$ -sitosterol with antibacterial activity from the root bark of *Malva parviflora*. *SpringerPlus* , 5, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2894-x>
- **Othman, L., Sleiman, A., Abdel-Massih, R.M. (2019).** Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Frontiers in Microbiology*. 10, 911. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911>

### P

- **Panda, L., Duarte-Sierra, A. (2022).** Recent Advancements in Enhancing Antimicrobial Activity of Plant-Derived Polyphenols by Biochemical Means. *Horticulturae*, 8(5), 401. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050401>
- **Paquay, J.B.G., Haenen, G.R.M.M., Stender, G., Wiseman, S.A., Tijburg, L.B.M., Bast, A. (2000).** Protection against Nitric Oxide Toxicity by Tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11) , 5768–5772. <https://doi.org/10.1021/jf981316h>
- **Petkova, N., Popova, A., Alexieva, I. (2018).** Antioxidant properties and some phytochemical components of the edible medicinal *Malva sylvestris* L. *Journal of medicinal plants*, 7(1), 96-99.

### R

- **Rambaran, T.F. (2020).** Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*, 2(8), 1335. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3110-8>

## Références bibliographiques

---

- **Rojas, R., Bustamante, B., Bauer, J., Fernández, I., Albán, J., Lock, O. (2003).** Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 88(2-3), 199–204. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00212-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00212-5)

### S

- **Sharma, Sakshi, Sharma, Shivika, Kukreja, S., Jadon, V.S., Sharma, V. (2020).** Plant tissue culture methods in secondary metabolite production – a mini review. *plant cell biotechnology and molecular biology*, 21, 144-153.
- **Shin, J., Prabhakaran, V.-S., Kim, K. (2018).** The multi-faceted potential of plant-derived metabolites as antimicrobial agents against multidrug-resistant pathogens. *Microbial pathogenesis*, 116, 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.043>
- **Simões, R., Ribeiro, A.C., Dias, R., Freitas, V., Soares, S., Pérez-Gregorio, R. (2024).** Unveiling the Immunomodulatory Potential of Phenolic Compounds in Food Allergies. *Nutrients*, 16(4), 551. <https://doi.org/10.3390/nu16040551>
- **Sparg, S., Light, M. E., & Van Staden, J. (2004).** Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3), 219-243.
- **Sreejayan, Rao, M.N.A. (1997).** Nitric Oxide Scavenging by Curcuminoids. *Journal of Pharmacy Pharmacology*, 49(1), 105–107. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06761.x>
- **Stalikas, C.D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268–3295. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>
- **Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009).** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- **Sumner, J. B., & Howell, S. F. (1935).** A method for determination of saccharase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 108(1), 51-54.
- **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(10), 4267-4274.
- **Surana, A. R., Kumbhare, M. R., & Wagh, R. D. (2016).** Estimation of total phenolic and total flavonoid content and assessment of *in vitro* antioxidant activity of

## Références bibliographiques

---

extracts of *Hamelia patens* Jacq. Stems. *Research Journal of Phytochemistry*, 10, 67-74.

### T

- **Tabaraki, R., Gharneh, H.A.A. (2012).** Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of research in agricultural science*, 8(1), 59-68.
- **Teoh, E.S. (2016).** Secondary Metabolites of Plants. *Medicinal Orchids of Asia*, 59-73. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5)
- **Tiwari, R., Rana, C.S. (2015).** Plant secondary metabolites: a review 3. *International journal of engineering research and general science*, 3(5), 661-670.
- **Truzzi, F., Tibaldi, C., Zhang, Y., Dinelli, G., D'Amen, E. (2021).** An Overview on Dietary Polyphenols and Their Biopharmaceutical Classification System (BCS). *International journal of molecular sciences*, 22(11), 5514. <https://doi.org/10.3390/ijms22115514>

### V

- **Veeramani, C., Alsaif, M.A., Al-Numair, K.S. (2017).** *Lavatera critica*, a green leafy vegetable, controls high fat diet induced hepatic lipid accumulation and oxidative stress through the regulation of lipogenesis and lipolysis genes. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 96, 1349-1357. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.072>
- **Veeramani, C., Alsaif, M.A., Al-Numair, K.S. (2018).** *Lavatera critica* controls systemic insulin resistance by ameliorating adipose tissue inflammation and oxidative stress using bioactive compounds identified by GC-MS. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 106, 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.121>
- **Veeramani, C., Alsaif, M.A., Al-Numair, K.S. (2020).** Biomimetic Green Synthesis and Characterization of Nanoparticles from Leave Extract of *Lavatera critica* and Their Improving Glucose Bigotry. *Journal of Cluster Science*, 31, 1087-1095. <https://doi.org/10.1007/s10876-019-01716-3>
- **Viegi, L., Pieroni, A., Guarrera, P.M., Vangelisti, R. (2003).** A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of ethnopharmacology*, 89(2-3), 221-244. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.08.003>

### Y

## Références bibliographiques

---

- **Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., Li, F. (2020).** Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal nutrition*, 6(2), 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.01.001>
- **Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., Wang, Q. (2018).** Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, 23(4), 762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- **Yoshikawa, T., Naito, Y. (2002).** What Is Oxidative Stress?. *Japan medical association journal*, 45(7), 271-276.

### Z

- **Zahid, H., Rizwani, G.H., Shareef, H., Ali, S.T. (2015).** Antioxidant and urease inhibition activity of methanol extract of *Hibiscus schizopetalus* (Mast) Hook. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 2(6), 07-11.
- **Zeghib, W., Boudjouan, F., Bachir-bey, M. (2022).** Optimization of phenolic compounds recovery and antioxidant activity evaluation from *Opuntia Ficus indica* using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16,1354-1366.

## Webographie

**Anonymes01:**[http://www.tilo-botanica.eu/espece-i-m/lavatera-cretica.html?fbclid=IwAR2v80NNUII0VuXQM40xuY5d9xDvIXKExOLa\\_SPrrTWXwuORQ2MI0aW1Gms](http://www.tilo-botanica.eu/espece-i-m/lavatera-cretica.html?fbclid=IwAR2v80NNUII0VuXQM40xuY5d9xDvIXKExOLa_SPrrTWXwuORQ2MI0aW1Gms)

**Anonymes02:**<https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Malva&variete=multiflora>

# *Annexes*

**Annexe 1** : Différents appareillages et produits chimiques utilisés.

Appareillages et instruments	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Balance (Darwag &amp; Pywe tha triangle)</li> <li>-Etuve (BINDER)</li> <li>-Rotavapeur</li> <li>-Cristallisoirs</li> <li>-Eprovette, Barreau magnétique</li> <li>-Boîtes pétri en plastique, Ballon, Spatule</li> <li>-Béchers, Pipette Pasteur, Micropipette</li> <li>-Falcons, Tubes à essai</li> <li>-Vortex (VELPS scientifica)</li> <li>-Bain marie (Raypa, Bunsen)</li> <li>-Centrifugeuse (Hettich Zentrifugen)</li> <li>-Autoclave</li> <li>-Spectrophotomètre (Biotech Engineering Management CO.LTD.(UK))</li> <li>-Agitateur électrique (Velp scientifica)</li> <li>-Bec benzène</li> <li>-Papier wattman, parafilm</li> <li>-Ance de platine, pince, spatule, Ecouvillons</li> <li>-Boîtes de pétrie en verre</li> <li>-Eppendorfs, cuves, embouts</li> <li>-pH mètre (Bante instruments)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Ethanol, Méthanol, Chloroforme</li> <li>-Folin Ciocalteu</li> <li>-Quercetine, Catéchine, Acide gallique</li> <li>- Acétate de potassium, chlorure d'aluminium,</li> <li>-Réactif de Dragendorff</li> <li>-Réactif de Hagers, réactif de Mayer</li> <li>-Réactif alcaline, réactif de Benedict</li> <li>-Reactif de griess, Réactif de FRAP</li> <li>-Sodium Potassium tartrate</li> <li>-CuSO<sub>4</sub> (sulfate de cuivre), NaOH (hydroxide de sodium), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonate de sodium)</li> <li>-Ninhydrine, Vanilline</li> <li>- FeCl<sub>3</sub> (chlorure de fer), réactif de Fehling</li> <li>- Acide acétique</li> <li>- Acide trichloracétique</li> <li>-Iodure de potassium iodé</li> <li>-Antibiotique (amoxicilline)</li> <li>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (dihydrogénophosphate de potassium)</li> <li>-Nitroprussiate de sodium dihydraté.</li> <li>-Acide acétique glacial</li> <li>-Acétate de sodium, Trolox</li> </ul>

## Résumé

*Lavatera cretica* (LC) est une plante de la famille des Malvacées, largement utilisés en médecine traditionnelle. L'objectif de cette étude est de réaliser un criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de LC et d'évaluer son pouvoir antioxydant et antibactérien. Différents tests qualitatifs ont été réalisés afin de vérifier la composition phytochimique de LC. Cela a révélé la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, protéines, carbohydrates et glycosides. Les tests quantitatifs ont indiqué des teneurs de  $(85,582 \pm 2,826 \text{ mg EAG/g MS})$  pour les phénols totaux,  $(32,992 \pm 0,309 \text{ mg EQ/g MS})$  pour les flavonoïdes et  $(51,131 \pm 4,674 \text{ mg EC/g MS})$  pour les tanins. L'activité antioxydante de LC a été évaluée en utilisant le test de FRAP qui a indiqué une valeur de  $(166,302 \pm 1,867 \text{ mg E Trolox/g MS})$  et le test de NO a exhibé une inhibition de  $(82,876 \pm 2,457 \%)$ . En revanche, l'extrait hydro-éthanolique de LC n'a indiqué aucune activité antibactérienne contre les souches testées. Ces résultats montrent la richesse de cette plante en composés bioactifs qui pourraient avoir des propriétés antioxydantes notables.

**Mots clés :** *Lavatera cretica*, extrait hydro-éthanolique, activité antioxydant, activité antibactérienne, métabolites secondaires, screening phytochimique.

## Abstract

*Lavatera cretica* (LC) is a plant of the Malvaceae family, widely used in traditional medicine. The objective of this study is to carry out a phytochemical screening of the hydro-ethanolic extract of LC and to evaluate its antioxidant and antibacterial activities. Various qualitative tests were performed to verify the phytochemical composition of LC. They revealed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, proteins, carbohydrates and glycosides. Quantitative tests indicated contents of  $(85.582 \pm 2.826 \text{ mg EGA/g DW})$  for total phenols,  $(32.992 \pm 0.309 \text{ mg EQ/g DW})$  for flavonoids and  $(51.131 \pm 4.674 \text{ mg EC/g DW})$  for tannins. The antioxidant activity of LC was evaluated using the FRAP assay which indicated a value of  $(166.302 \pm 1.867 \text{ mg E Trolox/g DW})$ , while, the NO assay exhibited an inhibition of  $(82.876 \pm 2.457 \%)$ . In contrast, the hydroethanolic extract of LC didn't indicate any antibacterial activity against the strains tested. These results show the richness of this plant in bioactive compounds which could have notable antioxidant properties.

**Keywords:** *Lavatera cretica*, hydroethanolic extract, antioxidant activity, antibacterial activity, secondary metabolites, phytochemical screening.

## المخلص

الخبيزة هو نبات من عائلة المالفاسيا، يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء فحص فيتوكيميائي للمستخلص المائي الإيثانولي للخبيزة وتقييم قوته المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا. تم إجراء اختبارات نوعية مختلفة للتحقق من التركيب الفيتوكيميائي لمستخلص أوراق الخبيزة. وكشف هذا عن وجود الألفونويدات والفلافونويدات والطانات والبروتينات والكربوهيدرات والجليكوسيدات. أشارت الاختبارات الكمية إلى وجود محتوى  $(85.582 \pm 2.826 \text{ ملجم مكافئ حمض الغاليك/جرام من المادة الجافة})$  للفينولات الكلية،  $(32.992 \pm 0.309 \text{ ملجم مكافئ الكويرسيتين / جرام من المادة الجافة})$  للفلافونويدات و  $(51.131 \pm 4.674 \text{ ملجم كاتشين / جرام من المادة الجافة})$  للطانات. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة للخبيزة باستخدام اختبار خفض الحديد الذي أشار إلى قيمة  $(166.302 \pm 1.867 \text{ ملجم مكافئ ترولوكس/جرام من المادة الجافة})$  واختبار الاكسيد نترريك الذي أظهر تثبيطاً قدره  $(82.876 \pm 2.457 \%)$ . في المقابل، لم يشر المستخلص المائي الإيثانولي لأوراق الخبيزة إلى أي نشاط مضاد للجراثيم ضد السلالات التي تم اختبارها. تظهر هذه النتائج ثراء هذا النبات في المركبات النشطة بيولوجياً والتي يمكن أن يكون لها خصائص مضادة للأكسدة ملحوظة.

**كلمات مفتاحية:** الخبيزة، مستخلص مائي-إيثانولي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا، مستقبلات ثانوية، فحص

فيتوكيميائي.