

*République Algérienne Démocratique Et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*  
*Université de Cheikh Larbi Tébessi – Tébessa*  
*Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département des Sciences de la matière*



*Mémoire :*  
*En vue de l'obtention du diplôme de*  
**MASTER**  
*Filière : Chimie des produits naturels*

**Etude quantitative des différentes familles des principes actifs  
dans l'extrait hydro-alcoolique de la plante « Malva Sylvestris »**

Présenté par

**CHEBIRA Mouna**

<b>MANSOURI Lakhdar</b>	MCB	U. Tébessa	Président
<b>MESSAI Laid</b>	MCB	U. Tébessa	Encadreur
<b>HANINI Karima</b>	MCA	U. Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 26 - 06 - 2019

## *Remerciements*

*Toutes les louanges à Allah le plus le Clément et le plus*

*Miséricordieux*

*Je remercie spécialement mon encadreur M. MESSAJ Laid de m'avoir  
assisté et orienté dans mon travail de recherche*

*Mes chaleureux remerciements vont aussi aux membres du jury de  
soutenance*

*Je tiens à remercier également tous les enseignants et les administrateurs  
du département des Sciences de la matière et ceux des laboratoires de  
Biologie et de Géologie.*

*C'est avec un grand plaisir que je remercie vivement mon cher mari, mon  
beau père, mes parents, ma belle-famille et tous ceux qui mon aidé à  
mener ma tâche dans les meilleurs conditions.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à mes chers Parents  
pour leur soutien tout au long de mon parcours  
scolaire et universitaire.*

*A mon cher mari, à mes chères sœurette et à mon  
petit frère.*

## TABLE DES MATIÈRES

Titre	Page
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	
<b>PREMIERE PARTIE</b>	
<b>CHAPITRE I : « LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES »</b>	
<b>I. La Phytothérapie</b>	<b>1</b>
1. La Phytothérapie Pharmaceutique	1
2. Le développement de la phytothérapie	1
a) La phytothérapie en Europe	2
b) La phytothérapie en Afrique	2
c) La phytothérapie en Algérie	3
3. Les avantages de la phytothérapie	3
4. Intérêts de la phytothérapie	4
<b>II. Les plantes médicinales</b>	<b>4</b>
1. Méthodes traditionnelles de recherche de plantes médicinales	5
2. Utilisation des plantes médicinales	6
3. Plantes médicinales en Algérie	6
4. Fabrication des produits médicaux	7
<b>CHAPITRE II : « MALVA SYLVESTRIS »</b>	
1. Description botanique	10
2. Noms vernaculaires.	10
3. Classification botanique	11
4. Principales parties de Malva Sylvestris	11
a. La fleur	11
b. Les feuilles	12
c. Le fruit de Malva	12
5. Activités biologiques	13
6. La récolte	13
7. Composition chimique de la Mauve Sylvestre	13
a. Les vitamines	14
b. Les oses dans la mauve	15
c. Les anthocyanes	15
d. Les flavonoïdes des feuilles	16

<b>8. La toxicité</b>	<b>16</b>
<b>9. Action anti-oxydante</b>	<b>16</b>
<b>10. Action antibactérienne</b>	<b>16</b>
<b>CHAPITRE III : « LES PRINCIPES ACTIFS »</b>	
<b>I. Etude des principes actifs des plantes</b>	<b>20</b>
<b>1. Les métabolites primaires</b>	<b>21</b>
<b>2. Les métabolites secondaires</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Les composés phénoliques</b>	<b>21</b>
<b>2.1.1. Les acides phénols</b>	<b>22</b>
<b>a) Acides hydroxycinnamiques</b>	<b>22</b>
<b>b. Acides hydroxybenzoïques</b>	<b>23</b>
<b>c. Les coumarines</b>	<b>23</b>
<b>2.1.2. Les flavonoïdes</b>	<b>23</b>
<b>- Classification des flavonoïdes</b>	<b>24-25</b>
<b>- Les anthocyanes</b>	<b>26</b>
<b>2.2. Les Tannins</b>	<b>26</b>
<b>3. Les Alcaloïdes</b>	<b>26</b>
<b>4. Les Triterpènes</b>	<b>26</b>
<b>5. Les Stéroïdes</b>	<b>27</b>
<b>II. Intérêts thérapeutiques des polyphénols</b>	<b>27</b>
<b>1. Activité anticancéreuse</b>	<b>27</b>
<b>2. Activité antioxydante</b>	<b>27</b>
<b>CHAPITRE IV : « LES ACTIVITES BIOLOGIQUES »</b>	
<b>I. L'activité antibactérienne</b>	<b>30</b>
<b>II. Les types des bactéries les plus utilisées</b>	<b>30</b>
<b>1. Bactéries à Gram négatif</b>	<b>30</b>
<b>a) Le genre Escherichia</b>	<b>30</b>
<b>b) . Le genre Pseudomonas</b>	<b>31</b>
<b>2. Bactéries à Gram positif</b>	<b>31</b>
<b>• Les staphylocoques</b>	<b>31</b>
<b>III. Activité antibactérienne des flavonoïdes</b>	<b>32</b>
<b>IV. L'activité antioxydante</b>	<b>32</b>
<b>V. Les radicaux libres</b>	<b>32</b>
<b>1. Principaux radicaux libres</b>	<b>33</b>

<b>2. Le stress oxydatif</b>	<b>33</b>
<b>VI. Sources des espèces réactives d'oxygène</b>	<b>33</b>
<b>1. Source endogène</b>	<b>33</b>
a) La Mitochondrie	33
b) La NADPH Oxydase	34
c) Xanthine Oxydase	34
<b>2. Source Exogène</b>	<b>34</b>
<b>VII. Les antioxydants</b>	<b>35</b>
<b>1. Les antioxydants naturels</b>	<b>35</b>
• Les Flavonoïdes	36
<b>VIII. Les méthodes d'étude d'antioxydants</b>	<b>36</b>
<b>1. Réaction entre le radical libre DPPH• et l'antioxydant</b>	<b>36</b>
<b>2. Test antioxydant par FRAP</b>	<b>37</b>
<b>DEUXIEME PARTIE</b>	
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	
<b>I. Préparation des extraits</b>	<b>42</b>
<b>1. La récolte</b>	<b>42</b>
<b>2. La macération</b>	<b>42</b>
<b>3. Séparation de la chlorophylle</b>	<b>43</b>
<b>4. Extractions des différents principes actifs</b>	<b>43</b>
• Extraction liquide – liquide	43
• Extraction liquide – liquide par dichlorométhane	43
• L'extraction liquide – liquide par acétate d'éthyle	43
• L'extraction liquide – liquide par n-butanol	43
<b>5. Calcule des rendements</b>	<b>45</b>
<b>6. Tests phytochimiques</b>	<b>45</b>
a) Les Flavonoïdes	45
b) Les Tanins	45
c) Les Alcaloïdes	45
d) Les Quinones libres	46
e) Les Térpénoïdes	46
f) Les Coumarines	46
g) Les sucres réducteurs	46
<b>7. L'activité biologique</b>	<b>47</b>

a) L'activité antibactérienne	47
• Préparation des solutions, disques et boîtes de pétrie	47
• La lecture	48
b) L'activité antioxydante	49
• Test de DPPH	49
• Test FRAP ( <i>Ferric Reducing antioxidant Power</i> )	50
<b>RESULTATS</b>	
I. Les rendements des extraits	53
II. Tests phytochimiques	56
III. Activités antibactériennes	57
1. Dichlorométhane	57
2. Acétate d'éthyle	57
3. N-butanol	57
I. Activité antioxydante	61
1. Méthode de DPPH	61
a) L'acide ascorbique	61
b) Dichlorométhane	61
c) Acétate d'éthyle	62
d) N-butanol	63
e) Les phases aqueuses	65
L'analyse des résultats graphiques	65
2. Méthode de FRAP	66
<b>CONCLUSION</b>	

**Liste des abréviations et des symboles**

<b>Abréviations et symboles</b>	<b>Signification</b>
ACT	Acétate d'éthyle
Ara	arabinose
Aq	Aqueux
C°	Degré Celsius
C	Atome de Carbone
DCM	Dichlorométhane
DMSO	Le Diméthylsulfoxyde
DPPH	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrayl
HgCl	Le chlorure de mercure(II)
Fe <sup>+2</sup>	Cation Ferreux
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
Fuc	Fructose
g	gramme
Gal	Galactose
Glc	Glucose
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	L'acide sulfurique
ICPS	Pseudo
KI	L'iodure de potassium
M	Mol
Man	Mannose
MBC	Minimum bactéricide concentration
MH	Mueller Hinton
mg	Milligramme
µg	Microgramme
MIC	Minimum inhibitoire concentration
min	Minute
MeOH	Méthanol
ml	Millilitre
µl	Microlitre
NaOH	L'hydroxyde de sodium
NH <sub>4</sub> OH	L'ammoniaque
OH	Hydroxyle
Rha	rhamnose
SA.R1	Staphylococcus
UV	Ultraviolet
Xyl	Xlose

## Liste des figures

N°	Titre	page
II-1	Fleurs de <i>Malva Sylvestris</i>	10
II-2	Bouton floral de <i>Malva Sylvestris</i>	11
II-3	Feuille lobée de <i>Malva Sylvestris</i>	12
II-4	Schizocarpe et méricarpe de mauve sylvestre	12
II-5	Diverses étapes de maturation des schizocarpes	12
II-6	Cation flavylum	15
III-1	Principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie	20
III-2	différents dérivés de l'acide cinnamique	22
III-3	différents dérivés de l'acide benzoïque	23
III-4	différents dérivés des acides hydroxycinnamiques	23
III-5	Structure de base d'un flavonoïde	24
III-6	Structure du cation flavylum ou 2-phényl-1-benzopyrilium	26
IV-1	Déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant.	35
IV-2	Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)	36
V-1	Les rendements des extraits par rapport au poids du broyat %	55
V-2	les rendements des extraits par rapport à l'extrait méthanolique	55
V-3	Test de DPPH de l'acide ascorbique	60
V-4	Test de DPPH de l'extrait Dichlorométhane Graines	60
V-5	Test de DPPH de l'extrait Dichlorométhane Fleurs	61
V-6	Test de DPPH de l'extrait Dichlorométhane Feuilles	61
V-7	Test de DPPH de l'extrait Acétate d'éthyle Graines	61
V-8	Test de DPPH de l'extrait Acétate d'éthyle Fleurs	62
V-9	Test de DPPH de l'extrait Acétate d'éthyle Feuilles	62
V-10	Test de DPPH de l'extrait N-butanol Graine	62
V-11	Test de DPPH de l'extrait N-butanol Fleurs	63
V-12	Test de DPPH de l'extrait N-butanol Feuilles	63
V-13	Test de DPPH de l'extrait aqueux Graines	63
V-14	Test de DPPH de l'extrait aqueux Fleurs	64

***LISTE DES FIGURES***

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
V-15	<b>Test de DPPH de l'extrait aqueux Feuille</b>	<b>64</b>
V-16	<b>Test de FRAP des extraits n-butanol des graines, fleurs et feuilles avec L'acide ascorbique</b>	<b>65</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	page
II-1	<b>noms vernaculaires de <i>Malva sylvestris</i></b>	10
II-2	<b>Classification botanique de <i>Malva sylvestris</i></b>	11
II-3	<b>Composition en macronutriments antioxydants de différentes parties de <i>Malva sylvestris</i> mg/g d'extrait</b>	14
II-4	<b>Composition qualitative et quantitative en oses des mucilages de <i>Malva sylvestris</i> spp.mauritiana et sylvestris et d'<i>Alcea rosea</i></b>	15
III-1	<b>principales classes des composés phénoliques</b>	22
III-2	<b>classification des flavanoïdes</b>	25
IV-1	<b>Principaux radicaux libres</b>	33
V-1	<b>L'aspect, les couleurs et les rendements des extraits</b>	54
V-2	<b>Tests phytochimiques des différents principes actifs.</b>	56

## Introduction générale

Actuellement, la phytothérapie fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels occupe une place convenable dans plusieurs domaines de la santé. Elle a commencé à acquérir beaucoup d'intérêts partout dans le monde suite à l'inefficacité répétée de plusieurs produits pharmaceutiques d'origine synthétique retirés de la consommation à cause d'effets secondaires considérés dangereux découverts après leurs utilisations. Ainsi, elle connaît une progression croissante d'utilisation et une percée non négligeable dans le monde pharmaceutique général (conventionnel et non conventionnel très répandu aussi). Il est important de noter que les techniques utilisées maintenant en phytothérapie sont totalement scientifiques et ce concernant toutes les opérations d'obtention d'extraits, d'analyses, des tests antioxydants, antibactériens et même la caractérisation des composés actifs permettant l'identification des molécules responsables des différentes activités biologiques de la plante.

De nos jours, la recherche de nouvelles molécules segmentées guidées sur une cible biologique repose sur des produits naturels utilisés dans la phytothérapie qui en devient une source importante. Elle permet aussi d'identifier de nouveaux composés actifs très utiles à la guérison de malades ou au moins à leurs soulagements.

« *Malva Sylvestris* » est une plante médicinale découverte depuis l'antiquité. Elle appartient à la famille des Malvacées, originaires de plusieurs régions telles que l'Europe, l'Afrique du Nord, l'Asie du Sud-Ouest. Elle comporte des feuilles, des graines vertes et des fleurs mauves.

Chaque plante médicinale porte une ou plusieurs substances curatives ou préventives. Nous avons à réaliser ce travail de recherche pour répondre aux problématiques suivantes : Quelle est la quantité des principes actifs dans la *Malva Sylvestris* ? quels sont leurs types ? Quels sont leurs activités biologiques ?

Les objectifs principaux à atteindre par cette étude sont de trouver et de mentionner les différentes familles de principes actifs dans l'espèce *Malva Sylvestris* pouvant se présenter sous forme de substances curatives ou préventives. D'autre part, on identifiera les quantités des métabolites secondaires contenues par la mauve sauvage.

Cette recherche nous pousse ainsi à préparer l'extrait hydro-alcoolique par macération puis à extraire les métabolites secondaires par la technique d'« extraction liquide-liquide ».

En outre, nous devons réaliser une étude quantitative sur les différentes familles de principes actifs présents dans l'extrait hydroalcoolique de la *Malva Sylvestris*.

L'étude est faite en deux parties, la première théorique est composée de quatre chapitres. Le premier chapitre est centré, en général, sur la phytothérapie et les plantes médicinales ; le deuxième chapitre identifiera la plante *Malva Sylvestris* avec ses propriétés chimiques et biologiques, pendant que le troisième chapitre couvre les principes actifs et cite les différents métabolites secondaires et quelques métabolites primaires. Les activités biologiques sont mentionnées à la fin de cette première partie théorique.

La deuxième partie dite « pratique » présente et résume tous les travaux, les expériences et les mesures réalisées dans les différents laboratoires des départements de chimie, de biologie et de géologie sur l'étude de la *Malva Sylvestris*. Elle comporte aussi les techniques, les méthodes utilisées, l'analyse des multiples mesures sous forme de courbes adéquates et donne les résultats finaux et conclusions pratiques pour notre modeste travail de recherche sous le titre : Etude quantitative des différentes familles de principes actifs dans l'extrait hydroalcoolique de la plante *Malva Sylvestris*.

## **Introduction**

Lors de son apparition sur cette terre, l'homme, pour survivre, a puisé dans la nature de quoi se nourrir et se soigner. La phytothérapie est donc un art connu depuis des siècles, mais au cours du temps, avec le progrès de la science, la médication chimique l'a supplantée.

Pourtant, les mentalités changent, et avec elles nous avons vu la phytothérapie revenir en force sur le marché. Il était donc intéressant de réunir toutes les connaissances que l'homme a rassemblées depuis des siècles pour traiter des pathologies typiques de notre temps atteignant une partie de notre anatomie essentielle : le tractus digestif. [1]

### **I. La Phytothérapie**

La phytothérapie (du grec « phytos » = plante, et « therapiea » = thérapie) est l'art de soigner par les plantes. C'est l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales ou de leurs extraits solubles dans l'eau ou dans l'alcool.

Dans la mesure où les plantes sont utilisées pour produire l'effet contraire aux symptômes, la phytothérapie relèverait de l'allopathie au sens strict.

C'est donc une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales définies dans la Pharmacopée française de la façon suivante : *« Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne (1433) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Il est peu fréquent que la plante soit utilisée entière ; le plus souvent il s'agit d'une ou de plusieurs parties [...] qui peuvent avoir chacune des utilisations différentes. Par extension, on appelle souvent « plante médicinale » ou « plante » non seulement l'entité botanique, mais aussi la partie utilisée. Des plantes ayant des propriétés médicamenteuses peuvent avoir également des usages alimentaires ou condimentaires ... ».*[2]

#### **1. La Phytothérapie Pharmaceutique**

Elle utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, gouttes, gélules et lyophilisats. [3]

#### **2. Le développement de la phytothérapie**

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives à travers les siècles.

Les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicinales paraissent étranges et relèvent de la magie. D'autre au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes. [4]

### **a) La phytothérapie en Europe**

A fin du XVIIIe siècle, le commerce de l'herboristerie commence à être réglementé. En 1778, la faculté de médecine de Paris décerne le premier diplôme d'herboriste à un certain Edmée Gillot. Vingt-cinq ans plus tard, la loi du 21 germinale an XI (1803) autorise l'exercice de la profession d'herboriste après obtention d'un diplôme délivré par la faculté de pharmacie à la suite d'un examen portant sur la connaissance des plantes médicinales.

Dans la seconde moitié du XIXe siècle, la médecine moderne tente d'établir son monopole. En France, le diplôme d'herboristerie a été supprimé en 1941. Il subsiste une liste restreinte de 34 plantes pouvant être vendue librement dont 7 pouvant être mélangées.

D'autre part, en Espagne, en Italie et dans certains Etats américains, il est devenu illégal de pratiquer l'herboristerie sans qualification.

La médecine par les plantes doit être exercées par des médicinales à leurs patients afin de leurs venir en aide s'exposent à des amendes sévères ou à des peines d'emprisonnement pour « exercice illégal de la médecine ». [4]

### **b) La phytothérapie en Afrique**

L'usage thérapeutique des plantes médicinales remonte, en Afrique, aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était, depuis des millénaires, tenue en grande estime.

Le papyrus Ebers (XVe siècle av .J.-C.), un des plus anciens textes médicaux conservés, recense plus de 870 prescriptions et préparation ,700 plantes médicinales –dont la gentiane jaune (*Centiana lutea*), l'aloès (*Aloe verra*) et le pavot (*Papaver somniferum*).Il traite des affections bronchiques aux morsures de crocodile.

Les techniques médicinales mentionnées dans les différents manuscrits égyptiens constituent les bases de la pratique médicinale classique en Grèce, à Rome et dans le monde arabe. [4]

### c) La phytothérapie en Algérie

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui, elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé.

Dans les dernières années, la phytothérapie est très répandue, des herboristes sont partout et sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, ils prescrivent des plantes et des mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables.

Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins. [4]

### 3. Les avantages de la phytothérapie

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît.

Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leurs résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise (*Artemisia annua*) et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. [4]

#### 4. Intérêts de la phytothérapie

Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste de plantes économiquement importantes. Elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies. Outre leur utilisation comme remèdes directs. On les emploie aussi dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques.

L'industrie pharmaceutique utilise principalement les plantes médicinales qui contiennent des substances chimiques à effet médicinal connu, qui ne peuvent pas être produites synthétiquement si ce n'est par un processus coûteux et difficile.

Les composants actifs sont d'abord isolés puis utilisés dans la fabrication des médicaments. Comme la production commerciale nécessite de grandes quantités de matière première, les plantes médicinales doivent être cultivées dans ce but, souvent à grande échelle. Ce n'est que dans des cas exceptionnels que la demande peut être satisfaite par une cueillette dans la nature, alors que toute récolte à des fins commerciales doit être organisée et supervisée. De nos jours, quelques 300 espèces de plantes médicinales et aromatiques sont utilisées dans le monde entier pour les préparations pharmaceutiques.

Outre leur valeur médicinale, certaines plantes sont également utilisées dans d'autres industries, principalement pour l'alimentation, les produits cosmétiques et les parfums, et les substances médicinales. D'autres plantes peuvent aussi être employées comme agents aromatiques et colorants naturels.

En plus des plantes médicinales qui fournissent une importante matière première pour l'industrie pharmaceutiques, beaucoup d'autres sont utilisées telles quelles, sous diverses formes dont les tisanes, extraits et teintures. On peut raisonnablement les estimer à environ 700 espèces pour le monde entier. Et cela, sans tenir compte de celles qui servent traditionnellement de remèdes familiaux. [4]

## II. Les plantes médicinales

La Pharmacopée européenne définit les plantes médicinales comme étant des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie de plante et qui possèdent des propriétés médicamenteuses. Par drogues végétales, on entend «*des plantes, parties de plantes ou d'algues, champignons, lichens, entiers, fragmentés ou coupés,...*»

Les plantes ayant des propriétés médicamenteuses peuvent également être employées pour des usages alimentaires, condimentaires, ou encore servir à la préparation de boissons hygiéniques. [5]

### 1. Méthodes traditionnelles de recherche de plantes médicinales

On estime que près de 70% de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se soigner et sont dépendants des pratiques de médecine traditionnelle. Les coûts des médicaments de la pharmacopée occidentale sont souvent trop élevés pour être accessibles aux pays en développement.

En 1990, seulement 119 molécules extraites de 90 espèces de végétaux supérieurs étaient utilisées en médecine allopathique. Cependant ce chiffre doit être multiplié pour tenir compte des molécules naturelles modifiées par synthèse ou des copies synthétiques de molécules naturelles. Les stratégies de recherche de plantes potentiellement actives ont pour but de découvrir le plus grand nombre de nouvelles molécules actives pouvant ainsi générer des têtes de séries.

D'après l'étude de Cragg *et al.* (1997), sur 520 nouveaux médicaments approuvés entre 1983 et 1994, 241 étaient d'origine naturelle (incluant les dérivés et les produits hémisynthétiques).

Parmi ceux-ci, les médicaments d'origine naturelle sont prédominants dans le domaine des antibactériens (78%) et des anticancéreux (61%). Par ailleurs, avec la connaissance du génome et du protéome, les cibles des essais biologiques se multiplient, offrant la possibilité de tester, pour chaque extrait de plante, des activités multiples sur des pathologies différentes. L'automatisation de ces essais permet de réaliser ces tests rapidement et seul l'approvisionnement en plantes est souvent un facteur limitant.

La validation des cibles en termes de pathologie est aussi un autre obstacle. La forêt tropicale reste le lieu qui offre le plus grand potentiel de recherche de nouveaux produits actifs.

Cependant, vu le nombre important d'espèces restant inexplorées chimiquement et biologiquement, il apparaît nécessaire de réaliser une pré-sélection : si une plante est utilisée par des hommes depuis des siècles pour se soigner, on peut penser que cette utilisation est due à son efficacité. Par ailleurs, on peut utiliser les résultats des études sur certaines familles de plantes, la chimiotaxonomie ou encore, pour des questions de rapidité, préférer une sélection au hasard. [6]

## 2. Utilisation des plantes médicinales

Depuis plusieurs années, l'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Aujourd'hui, plus de la moitié de la population mondiale pratique la phytothérapie. Les plantes médicinales servent pour la production des produits pharmaceutiques, onguents, crèmes et autres produits naturels.

Dans les pays en voie de développement, environ 90 espèces servent à la production des médicaments industriels à partir de mélanges d'herbes issues de collectes sauvages. 30% environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments en vente libre. Parmi les médicaments obtenus à partir de plantes, on trouve le taxol, isolé de l'if (*Taxus baccata*) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques.

L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisia annua*) est utilisée dans le traitement des formes résistantes contre la malaria. Le ginkgo (*Ginkgo biloba*) est utilisé sous forme d'extrait lors de troubles de la circulation cérébrale. [7]

## 3. Plantes médicinales en Algérie

En Algérie l'usage des plantes médicinales est une tradition de mille ans. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été faits au IX<sup>ème</sup> siècle par Ishâ-Ben-Amran et Abdallah-Ben-Lounès, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVII<sup>ème</sup> et au XVIII<sup>ème</sup> siècle. Même pendant le colonialisme français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales.

L'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. Des chiffres recueillis auprès du centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin de l'année 2009, l'Algérie comptait 1.926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1.393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins.

## 4. Fabrication des produits médicaux

Les plantes médicinales sont utilisées pour soigner les maladies, aussi bien chez le médecin que le tradi-praticien. Ces plantes médicaments sont utilisées dans toutes les formes et situations pathologiques. Les antibiotiques, tels que l'ail (*Allium sativum*) améliorent la capacité

de résistance des poumons. Les diurétiques, comme le maïs (*Zea mays*) stimulent la production d'urine. Les laxatifs, comme le séné (*Cassia senna*) stimulent le transit intestinal [8].

**Références**

- [1] Severine Martin. Université Henri Poincaré - Nancy 1. La phytothérapie. Le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Le 21 septembre 2001. p 14.
- [2] Dor, Marion. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse. Doctorat. 2016-2017.p 30
- [3] Adouane Selma. Université Mohamed Khider - Biskra. Thèse magistère.2017-2018.p 23.
- [4] DERFALOU Assia et GHADRI Halima Saadia. Etudes des plantes phytothérapeutiques des nomades en Algérie Steppique « M'sila, Djelfa » 2017. P 08.
- [5] SOUSSI Sakina. Les interactions entre les plantes médicinales et les médicaments des pathologies cardiovasculaires. Université Toulouse III Paul Sabatier. Thèse de doctorat.. 2015. p16
- [6] Sabrina Krief. Écologie Et Chimie Des Substances Naturelles.These Doctorat. 2003. P 46.
- [7] Adouane Selma. Op cit. 2017-2018 .p 12.
- [8] Adouane Selma. Op cit. 2017-2018. P 17.

## Introduction

La mauve est utilisée par l'homme depuis fort longtemps. Certains auteurs pensent que les hommes préhistoriques en faisaient leur met quotidien. On a en effet retrouvé des graines dans de nombreux sites préhistoriques. Toutes les parties de la mauve sont susceptibles d'être utilisées en phytothérapie (feuilles, fleurs et racines)



Figure II-1 : fleurs de M. Sylvestris

### 1. Description botanique

La racine Grec de la mauve est « *Malakhê* » et la racine latine « *Malva* ». Le nom français « *Mauve* », ainsi que les noms espagnol « *Malva* », italien « *Malva* », anglais « *Mallow* » ou allemand « *Malve* » dérivent tous de la racine latine [1]. *Malva* était le nom de la plante chez les Romains. Son étymologie remonterait à la racine grecque *Malakos*, qui signifie mou ou amollir.

En effet la plante possède un limbe mou soutenu par des nervures palmées. Dans la Grèce antique les mauves étaient nommées *Malachê* ou *Molochê*.

### 2. Noms vernaculaires

Noms	
Nom commun	Mauve
Nom kabyle	Amedjir
Noms arabe	Khoubeiza
Noms français	Mauve, Grande Mauve, Mauve Des Bois
Noms anglais	Mallow , High Mallow

Tableau II-1 : noms vernaculaires de *Malva sylvestris*.

### 3. Classification botanique

Règne	Végétal
<b>Embranchement</b>	<i>Spermatophytes</i>
<b>Sous embranchement</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Classe</b>	<i>Dicotylédones</i>
<b>Ordre</b>	<i>Malvales</i>
<b>Famille</b>	<i>Malvacées</i>
<b>Genre</b>	<i>Malva</i>
<b>Espèce</b>	<i>Malva sylvestris L</i>

**Tableau II-2 : Classification botanique de *Malva sylvestris***

### 4. Principales parties de *Malva sylvestris*

#### a. La fleur

Selon les espèces, les Malva ont des fleurs solitaires ou bien regroupées en fascicules à l'aisselle des feuilles. Les fleurs de mauves sont axillaires et terminales [2].

Les mauves ont des fleurs régulières et pentamères. Les verticilles de sépales et de pétales comprennent cinq pièces florales. Ceux contenant les étamines et le pistil ont subi une multiplication puis une soudure de leurs pièces [3]



**Figure II-2 : Bouton floral de *Malva sylvestris***

### b. Les feuilles

Ces feuilles ont toutes une nervation palmée [4] et sont lobées ou disséquées. Chacun de ces lobes est denté ou crénelé [5]. Toutefois, les formes et les divisions des feuilles de mauve diffèrent en fonction des espèces et de la position des feuilles sur la plante [6]



Figure II-3 : Feuille lobée de *Malva sylvestris*

### c. Le fruit de Malva

Le fruit des *Malva* est orbiculaire, plat et déprimé au centre [7]. Il est formé de nombreux carpelles accolés et disposés en anneaux sur un seul rang. A la surface du fruit on peut voir les limites entre les carpelles. Le fruit est d'abord vert, mais il deviendra jaunâtre ou rougeâtre à maturité [8].

Le fruit formé par l'ensemble des akènes et entouré du calice persistant est un polyakène. Ce fruit particulier est appelé schizocarpe ou cénocarpe. Et chaque akène prend le nom de méricarpe [9]. Ce fruit a une forme d'une meule de fromage en part, c'est ce qui lui a donné le nom populaire de fromageon ou de fromage. Il est souvent consommé par les enfants [10].

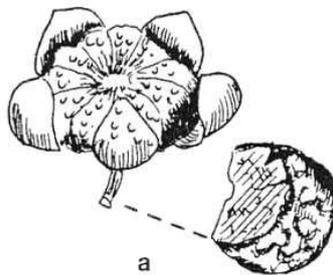


Figure II-4 : Schizocarpe et méricarpe de mauve sylvestre

Les graines de mauve renferment un embryon courbe [11] à deux cotylédons ordinairement volumineux. Ces cotylédons sont foliacés, plusieurs fois repliés sur eux-mêmes pour occuper moins de place dans la graine et accombants [12].



Figure II-5 : Diverses étapes de maturation des schizocarpes

## 5. Activités biologiques

La mauve est employée comme un excellent laxatif pour les enfants et comme antipoison en cas d'absorption d'acide ou de base, agent anti diabétique. Ainsi elle possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes [13] et joue un rôle antiulcéreux et hépato protecteur.

## 6. La récolte

Bien que vivace, la mauve est cultivée comme une plante annuelle pour en tirer deux récoltes et augmenter la rentabilité. La première récolte se fait en juin-juillet ; on coupe alors les tiges au ras du sol que l'on maintient assez humide. On peut réaliser la seconde récolte 6 semaines plus tard c'est à dire fin septembre.

Les fleurs et les feuilles sont récoltées entre Mai et Août pendant la floraison. On récolte les fleurs au fur et à mesure de leur épanouissement, au jour le jour et à la main.

Les feuilles peuvent être ramassées pendant toute la durée de vie de la plante. Mais si elles sont atteintes de rouille, il est recommandé de ne pas les consommer [14].

Les feuilles et les fleurs doivent être séchées rapidement à l'ombre et à l'air en couche mince pour éviter leur agglomération. On peut aussi utiliser des séchoirs spéciaux (séchoir à air chaud). Les fleurs de la mauve sylvestre bleussent lors de la dessiccation, alors que les fleurs de la mauve à feuilles rondes restent violacées Le séchage doit être rapide pour assurer la stabilité des mucilages uroniques et faire cesser l'activité des enzymes intracellulaires.

Les mauves doivent être conservées dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et doivent être consommées dans l'année, car elles ne se conservent pas plus de 12 mois [15].

### 7. Composition chimique de la Mauve Sylvestre

Les principales molécules présentes chez les Mauves sont des mucilages, des flavonoïdes (Anthocyanes et Anthocyanidines) et des tanins. Les mauves sont aussi riches en sels minéraux (Calcium, Magnésium, Fer) et en vitamines. Les mucilages présents dans les Mauves sont des polysaccharides acides polyuroniques et neutres. Ce sont ces mucilages qui donnent ses propriétés émoulliente, anti-irritative et laxative à la mauve. Ces mucilages sont souvent accompagnés de raphides ou de Mâcles d'oxalates de calcium [16].

	Feuilles	Fleurs	Fruits immatures	Sommités fleuries
Composés phénoliques	386.45 ± 8.54	258.65 ± 26.04	56.76 ± 2.01	317.93 ± 2.61
Flavonoïdes	210.81 ± 7.99	46.55 ± 5.26	25.35 ± 2.72	143.40 ± 7.86
Acide ascorbique	0.17 ± 0.05	1.11 ± 0.07	0.27 ± 0.00	0.20 ± 0.04
Caroténoïdes	0.19 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.11 ± 0.00
Sucres réducteurs	6.22 ± 0.49	13.95 ± 0.16	2.09 ± 0.12	10.46 ± 0.70

**Tableau II-3 : Composition en macronutriments antioxydants de différentes parties de *Malva sylvestris* mg/g d'extrait**

#### a) Les vitamines

On a retrouvé de l'acide ascorbique (vitamine C), du Tocophérol (Vitamine E), des provitamines A et des vitamines B12, B1, B2, PP [17]. La quantité la plus importante d'acide ascorbique a été identifiée dans les fleurs avec 1.11 mg/g d'extrait.

Les feuilles sont les plus riches en vitamine E (106.51 mg/100g de poids sec), alors que les fruits en contiennent très peu (2.61 mg/100g) et ne renferment pas de  $\delta$ -tocophérol.

L' $\alpha$ -tocophérol est le composé majoritaire pour toutes les parties de la plante [18].

### b) Les oses dans la mauve

Ahtardjeff & Koleff ont identifié les oses des mucilages bruts des fleurs comme étant l'acide galacturonique, le rhamnose, le galactose et l'arabinose ont isolé sept sucres : le rhamnose et le galactose sont majoritaires, suivit par le glucose, et l'arabinose. Puis viennent des composés minoritaires comme le mannose, le fructose et la xylose.

Toutefois si la composition qualitative est la même pour les feuilles et pour les fleurs, les quantités de chacun des constituants différents [19].

Espèces	Rha	Gal	Glc	Ara	Man	Xyl	Fuc
Feuilles de <i>M. sylvestris</i>	19.8	30.6	21.1	7.8	3.8	5.6	1.3
Fleurs de <i>M. sylvestris</i>	35.6	31.9	7.7	8.2	5.4	4.2	7.0

Tableau II-4 : Composition qualitative et quantitative en oses des mucilages de *Malva sylvestris* spp. *Mauritiana* et *Sylvestris* et d'*Alcea Rosea*

### c) Les anthocyanes

Les anthocyanes et les anthocyanidines sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium. Couramment appelé cation flavylium. Considéré comme un chromophore [20].

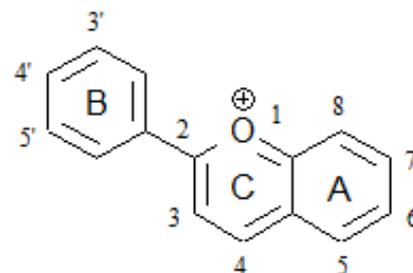


Figure II-6 : Cation flavylium

Chez la mauve ce sont les fleurs qui sont les plus riches en anthocyanosides. C'est pour cette raison que la fleur de mauve est parfois employée comme colorant alimentaire [21].

Les anthocyanosides des fleurs sont surtout présents dans les pétales. Ils sont le plus souvent intra vacuolaires, s'accumulant dans les vacuoles des cellules des tissus épidermiques. Généralement ils sont en solution car ils sont hydrosolubles, parfois on les trouve sous la forme d'anthocyanoplastes [22].

#### d) Les flavonoïdes des feuilles

En ce qui concerne les feuilles, les flavonoïdes sont localisés en fonction des espèces soit dans l'épiderme soit entre l'épiderme et le mésophile à la différence des fleurs où les flavonoïdes sont uniquement épidermiques.

Les flavonoïdes que l'on rencontre en plus grande quantité dans les feuilles sont le 8-O-glucuronide d'hypolaetine, le 8-O-glucuronide d'isoscutellaréine et le 3-O-glucoside de gossypétole [23].

#### 8. La toxicité

Dans de très nombreux livres on peut lire que *Malva sylvestris* ne présente aucune toxicité même à forte dose. Il n'y a donc pas d'effets indésirables, pas de contre-indication, ni d'interactions médicamenteuses à l'utilisation de la mauve sylvestre. C'est en partie pour cette raison qu'elle peut être utilisée chez les enfants et les personnes âgées [24].

#### 9. Action anti-oxydante

*Malva sylvestris* sont anti-oxydantes. En particulier les feuilles de *Malva sylvestris* ont révélé des propriétés anti-oxydantes très fortes [25].

#### 10. Action antibactérienne

Ces dernières années, plusieurs études se sont efforcées de démontrer l'activité antibactérienne des mauves. Les extraits éthanoliques de *Malva sylvestris* ont montré une action contre *Bacillus Subtilis*, *Pseudomonas Aeruginosa* et *Escherichia Coli*.

A l'inverse, d'autres extraits éthanoliques n'ont montré aucune activité antimicrobienne contre *Bacillus Subtilis*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*.

Les extraits méthanoliques des parties aériennes de *M. Sylvestris* n'ont présenté aucune action antimicrobienne sur *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Escherichia Coli*, *Bacillus Subtilis*, *Micrococcus Luteus*.

**Références**

- [1] Grandsaignes d'Hauterive R. Dictionnaire des racines des langues européennes. Larousse. 1948.
- [2] Coste. H. Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes– tome I – Librairie de sciences naturelles, Paul Klincksieck. 1901.
- [3] Vignes Pierre & Délia L. herbier des plantes sauvages .Larousse. 2007.
- [4] Van Tieghem .Traité de Botanique – Librairie F. Savy. 1884.
- [5] Coste. H. op cit. 1901.
- [6] Delaveau Pierre. Expliquez–moi les plantes, voyage en botanique Pharmathèmes.2003.
- [7] Coste. H. op cit. 1901.
- [8] Fournier Paul .Les quatre flores de France – Dunod. 1934 – 1940.
- [9] Goris André .Manuel de botanique – Vigot frères, éditeurs. 1967.
- [10] Couplan François .Le régal végétal : plantes sauvages comestibles – Sang de laTerre. 2009.
- [11] Goris André. op cit. 1967
- [12] Van Tieghem, op cit, 1884.
- [13] Pirbalouti Abdollah Ghasemi, Yousefi Mehdi, Nazari Heshmatollah, Karimi Iraj, Koohpayeh Abed Evaluation of Burn Healing Properties of *Arnebia euchroma* and *Malva sylvestris* – Electronic Journal of Biology, 2009, p 62.
- [14] Ticli Bernardo Reconnaître les herbes et les fruits sauvages – Editions De Vecchi. 1999.
- [15] Canonne Philippe .Mauve sauvage, *Malva sylvestris* L. : Taxonomie, Culture, Usages – Thèse : Pharmacie : Lille : 1984.
- [16] Classen B. & Blaschek W. High molecular weight acidic polysaccharides from *Malva sylvestris* and *Alcea rosea* – Planta Med. 1998, p 64.
- [17] Barros Lilian, Carvalho A.N., Ferreira I. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition - Food and Chemical Toxicology, 2010, p 48.
- [18] Barros Lilian, Carvalho A.N., op cit, 2010, p 1466.
- [19] Classen B. & Blaschek W. op cit, 1998, p 640.
- [20] Bruneton Jean .Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3ème édition) – Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales. 1999.
- [21] Wichtl Max (2ème édition française) – Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique – Editions Tec & Doc, Editions médicales internationale .2003.
- [22] Bruneton Jean, op cit, 1999.

[23] Wichtl Max, op cit, 2003.

[24] Wichtl Max, op cit, 2003.

[25] Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M. The invitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal – Journal of Ethnopharmacology 108, 2006, p 31.

## Introduction

En phytothérapie, seules les parties de plantes qui contiennent les principes actifs en quantité notable sont utilisés. Certaines plantes concentrent des principes actifs dans plusieurs parties végétales et suivant des modalités différentes. Il est donc impératif de connaître la partie de plante d'intérêt pour une maladie donnée [1].

### I. Etude des principes actifs des plantes

L'étude des principes actifs des plantes, aussi appelée pharmacognosie, nous permet d'approcher la composition de ces dernières et d'essayer de comprendre leurs actions thérapeutiques. Leur étude nous permet d'orienter le choix vers une plante pour une maladie donnée mais ce n'est pas tout le temps aussi simple.

Les deux métabolites des plantes (primaire et secondaire) leur permettent de produire une quantité importante d'éléments actifs dont nous allons en voir les principales propriétés.

Le schéma ci-dessous nous permet d'appréhender la multitude des produits existants dans la nature [2].

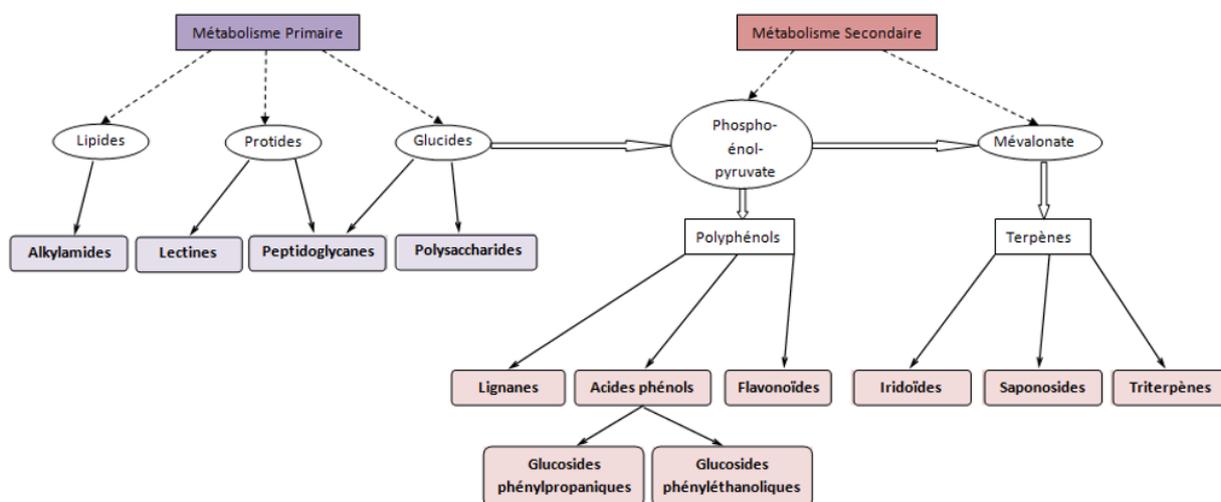


Figure III-1 : Principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie

### **1. Les métabolites primaires**

Les métabolites primaires représentent les substances assurant la vie et la survie de la plante, ils sont dits « indispensables ». Ce sont des molécules composées de macronutriments tels que le carbone « C », l'hydrogène « H », l'oxygène « O » et l'azote « N ». Ces molécules s'assemblent pour former les glucides, acides aminés, protéines et lipides, indispensables à la croissance et au développement de la plante, à la structure de la plante (paroi végétale, feuilles, fleurs etc...), à la photosynthèse, respiration et reproduction de la plante [3].

### **2. Les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des éléments dits « non-indispensables » à la plante mais qui participent à la vie et à la survie de la plante. Ils sont dérivés des métabolites primaires (donc composés des molécules C, H, O, N) et ont incorporé à leur formule chimique d'autres éléments tels le fer, le soufre, le calcium etc. [4]

#### **2.1. Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des phytomicronutriments synthétisés par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales [5]. Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels qui sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les coumarines, et d'autres classes existent en nombres considérables [6].

Ces classes se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines,...etc.) [7].

Squelette carboné	Classe	Exemple	origine
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul> Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins		Raisin rouge, Kaki

Tableau III-1 : principales classes des composés phénoliques [8]

### 2.1.1. Les acides phénols

Ce sont des composés possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol, représentés par deux groupes essentiels : les acides hydroxybenzoïques et les acides Hydroxycinnamiques. Ces acides abondants dans les aliments se présentent sous forme d'esters, soit solubles s'accumulant dans les vacuoles, ou bien insolubles comme constituants de la paroi cellulaire.

#### a) Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylations et de méthylation du cycle benzénique, conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules.

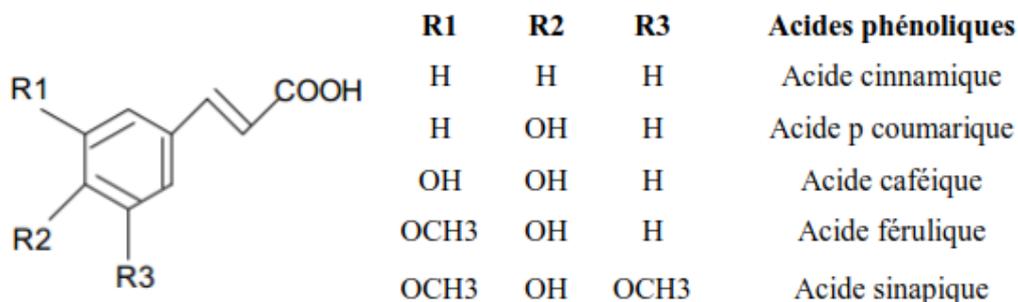


Figure III-2 : différents dérivés de l'acide hydroxycinnamique

### b. Acides hydroxybenzoïques

Sont des dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides [9].

	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

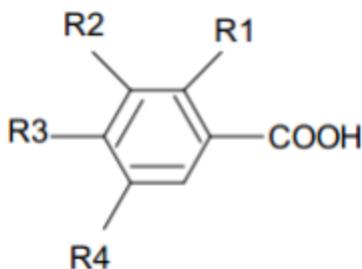


Figure III-3 : différents dérivés de l'acide hydroxybenzoïque

### c. Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique. [10]

	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescutol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

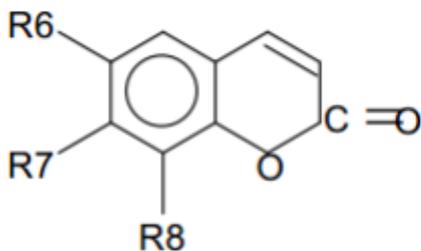


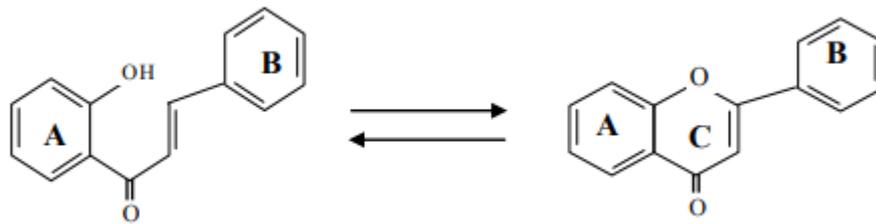
Figure III-4 : différents dérivés des acides hydroxycinnamiques

#### 2.1.2. Les flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= flavus en latin) qu'ils engendrent. D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration ; au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes [11].

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C). Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, aurones. Ces composés

existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à-dire liée à des oses et autres substances [12].



**Figure III-5 : Structure de base d'un flavonoïde**

- **Classification des flavonoïdes**

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C, 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés : flavones, isoflavones, flavanones, flavonols, flavonols, anthocyanidines [13].

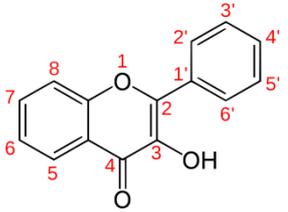
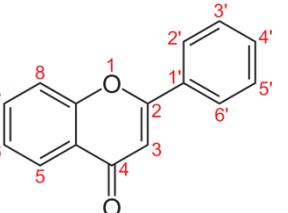
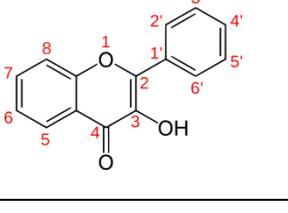
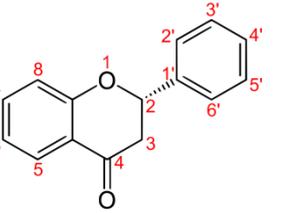
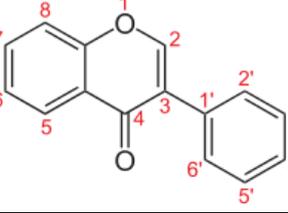
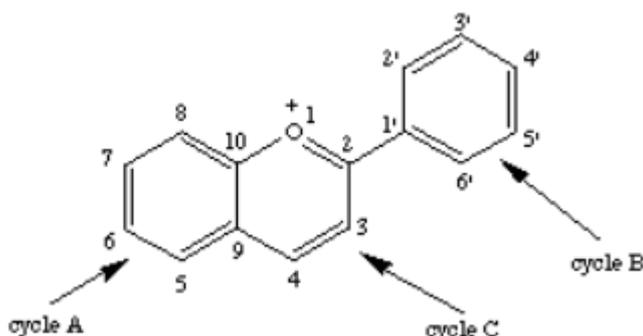
classe	Structure générale	Flavonoïdes typiques	substituants
Flavanole		(+) Catéchine	3, 5, 7,3',4'-OH
		(-) épicatechine	3, 5, 7,3',4'-OH
		Epigallocatechine gallate	3, 5, 7,3',4',5'-OH-3galatte
Flavones		Chrysin	5,7-OH
		Apigenin	5, 7,4'-OH
		Rutin	5,7,3',4'-OH rutinose
		Luteolin	5,7,3',4'-OH
		Luteolin glucoside	5,7,3'-OH,4'glucose 5,4'-OH,4',7glucose
Flavonole		Kæmpferia	3, 5, 7,4'-OH
		Quercétin	3, 5, 7,3',4'-OH
		Myricetin	3, 5, 7,3',4',5'-OH
		tamarixetin	3, 5, 7,3'-OH,4'OMe
Flavanone		Naringin	5,4'-OH-7rhamnoglucose
		Naringenin	5, 7,4'-OH
		Taxyfolin	7, 5,4'-OH
		Eriodictyol	3,5,7,3',4'-OH
		hesperidin	3,5,3'-OH,4'OMe,7rutinose
Isoflavone		Genistin	5,4'-OH,7glucose
		Genistein	5,7,4'-OH
		Daidzin	4'-OH,7glucose
		daidezin	7,4'-OH

Tableau III-2 : classification des flavonoïdes

- **Les anthocyanes**

Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou rouge. Ces molécules ont, comme les flavonoïdes, un squelette de base en C15 formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C) [14].



**Figure III-6 : Structure du cation flavylum ou 2-phényl-1-benzopyrilium.**

## 2.2. Les Tannins

Ce sont des substances naturelles ayant un poids moléculaire relativement élevé qui ont la capacité de se complexer fortement aux glucides et aux protéines.

Les tannins résultent de la polymérisation de molécules élémentaires à fonction phénol. On distingue classiquement deux grands groupes de tannins : les tannins condensés et les tannins hydrolysables [15].

## 3. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques comportant un ou plusieurs atomes d'azote et présents dans les plantes. Le mot alcaloïde vient d'alcali, car ce sont des bases organiques qu'on rencontre sous forme de sels d'acides naturels (acétique, oxalique, citrique, lactique,...). Le nom des alcaloïdes est souvent dérivé du nom de la plante dont ils sont issus et comporte presque toujours la terminaison « ine » [16].

## 4. Les Triterpènes

Les Triterpènes sont des composés qui renferment dans leur squelette 30 carbones issus de la cyclisation de l'époxysqualène. Ils sont très abondants dans le règne végétal et animal sous forme libre ou étherifiée. La cyclisation du cation formé par l'époxysqualène peut conduire à la formation de plusieurs formes triterpéniques : acyclique, tétracyclique ou pentacyclique. Le carbone en position 3 est presque toujours hydroxyle à cause de l'ouverture de l'époxyde [17].

## 5. Les Stéroïdes

Les stéroïdes ne sont pas de vrais terpènes mais des composés de biodégradation de Triterpènes qui dérivent du noyau perhydro-cyclopenteno-phénanthréne. En général, le squelette de base des stéroïdes en forme tétracyclique renferment 17 atomes de carbones [18].

### II. Intérêts thérapeutiques des polyphénols

En raison de ces vertus, les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques. Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer :

#### 1. Activité anticancéreuse

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. [19].

#### 2. Activité antioxydante

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) et radicaux peroxylipidiques [20].

**Références**

- [1] DOR, Marion. Création d'une formation continue vétérinaire en phytothérapie. 1991, P 39.
- [2] DOR, Marion. Op cit. 1991, P 61.
- [3] GROSMOND, G. Santé animale et solutions alternatives. Paris : France Agricole. 2012, P 270.
- [4] DOR, Marion. Op cit. 1991. P 64.
- [5] Gee, J.M., Johnson, and I.T. Polyphenolic compounds : interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*, p 182, 2001.
- [6] Dacosta, Y. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 2003, p 317.
- [7] Herbert, R.B. The biosynthesis of secondary metabolites. 2ème édition Chapman and Hall. 1989, p115.
- [8] Harborne, J.B. Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep*, 1989, p 85.
- [9] Sarni-Manchado P And Cheynier V. Les polyphénols en agroalimentaire, Paris, 2006, p 10.
- [10] Macheix JJ, Fleuriet a. And Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux, Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p 4-5.
- [11] Wilson A. Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridonpoda*) and other lycaenid butterflies. *J. Chem. Ecol*, 1987, p 473.
- [12] Heller W., Forkmann G. The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 1993, p 399.
- [13] Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, p 13.
- [14] Heller, W., Forkmann, G. op cit. 1993, p 399.
- [15] Galvez, J.M., Riedl, B. et Conner, A.H. Analytical Studies on TaraTannins. *Holzforschung* , 1997, p 51.
- [16] Said R. Chimie des produits naturels et des êtres vivants ; office des publications universitaires, 2<sup>ème</sup> édition. 2009.
- [17] I. Raphael. Natural products, Deuxième édition, Academic Press, INC. A laboratory Guide. 1969. P 21.
- [18] J .Bruneton. « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 2<sup>ème</sup> édition; université de Paris- sud, France, 1993. p 389.
- [19] Melle AKROUM Souâd. Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. 2011. P 12.
- [20] Rice-Evans CA, Miller NJ. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans* 24: 790-5.1996.

## Introduction

Les activités biologiques sont des tests d'identification ont pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie.

### I. L'activité antibactérienne

Les tests antimicrobiens ont été réalisés sur des souches pathogènes isolées de malades hospitaliers.

Les tests de susceptibilité ont été effectués sur un milieu solide en utilisant la méthode des puits. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) ont été déterminées par la méthode de dilution sur gélose. Certains micro-organismes ont été sensibles aux extraits avec des valeurs CMB comprises entre 50 à 100 µg/ml. À l'issue de ce travail, il ressort que l'activité antibactérienne des extraits d'*Origanum* serait influencée par le degré d'oxydation des composés phénoliques. Cette contribution pourrait offrir de grande possibilité d'application dans le domaine médical. [1]

### II. Les types des bactéries les plus utilisées

#### 1. Bactéries à Gram négatif

##### a) Le genre *Escherichia*

Ce genre appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les entérobactéries sont les hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre. Les bactéries de cette famille cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie : sucres, acides aminés, acides organiques. La plupart des entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C.

Ce genre comprend cinq (5) espèces, mais *E. coli* (*Escherichia coli*) est la plus importante. C'est un hôte commun de l'intestin de l'homme et des

animaux. A l'intérieur de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des stéréotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou par la production d'entérotoxines [2]

### b) . Le genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* fait partie de la famille des *Pseudomonadaceae*. Les bactéries de ce genre sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes. Les *Pseudomonas* cultivent facilement sur les milieux d'usage courant en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P. Aeruginosa* (*Pseudomonas Aeruginosa*) en sont capables à 41°C et même à 43°C.

Elles sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie tels que les glucides, les lipides, les acides aminés, les acides organiques, les composés terpéniques et stéroïdiques, et également un grand nombre de corps aromatiques benzéniques ou phénoliques, etc [3].

## 2. Bactéries à Gram positif

### • Les staphylocoques

Les bactéries à Gram positif, sont de forme sphérique et se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers à la façon d'une grappe de raisin, d'où leur nom (staphylos tiré du grec). Ce sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme (air, eau et sol,) et en plus forte densité sur les surfaces cutano-muqueuses des mammifères.

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*) est responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses, mais aussi osseuses (ostéomyélites), digestives (entérocolites post-antibiotiques), et

septicémiques. Aussi l'espèce *S. epidermidis* est un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales [4].

### III. Activité antibactérienne des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* [5].

### IV. L'activité antioxydante

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire. Les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante d'un additif alimentaire sont présentées après examen du contexte et des mécanismes d'oxydation. L'activité antioxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres. Les méthodes comparant le piégeage d'un additif avec celui d'un antioxydant de référence, le Trolox.

### V. Les radicaux libres

Les radicaux libres dérivés de l'oxygène diffusent partiellement dans le cytosol et induisent, à leur passage, des réactions de peroxydation, à la base du stress oxydatif. Celui-ci peut être généré dans différentes conditions telles que les états pathogènes, les déficits en antioxydants, ainsi que l'exercice physique intense.

Contre les effets délétères de l'oxygène et de ses dérivés, l'organisme est doté d'un système de protection efficace enzymatique et non enzymatique caractérisé par des actions synergiques, compensatoires, interdépendantes, mais parfois aussi antagonistes. Les études des effets de l'exercice et de l'entraînement sur les systèmes antioxydants font apparaître des résultats souvent discordants. [6]

## 1. Principaux radicaux libres

ERO	Symbole chimique	Propriétés
L'anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$	Radical formé par la réduction monoélectronique de l'oxygène, peu réactif mais toxique. [7]
Le radical hydroxyle	$OH^{\cdot}$	L'espèce radicalaire la plus réactive de l'oxygène, à une demi-vie extrêmement courte d'environ $10^{-9}$ s, capable de réagir très rapidement avec la plupart des biomolécules (ADN, protéine et lipides). [8]
L'oxygène singulet	$O_2$	La forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité. [9]
Le peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$	C'est une molécule non radicalaire, stable, présente une toxicité importante. [10]

**Tableau IV-1 : principaux radicaux libres**

## 2. Le stress oxydatif

L'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence. En effet, le métabolisme de l'oxygène, lorsqu'il est dérégulé comme dans les maladies respiratoires, peut entraîner de part ce que l'on appelle « le stress oxydant » des anomalies métaboliques aux conséquences importantes. Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants. Les modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par un stress oxydant ont été impliquées dans le développement de différentes pathologies. [11]

## VI. Sources des espèces réactives d'oxygène

Les EROs sont produites dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant endogènes qu'exogènes.

### 1. Source endogène

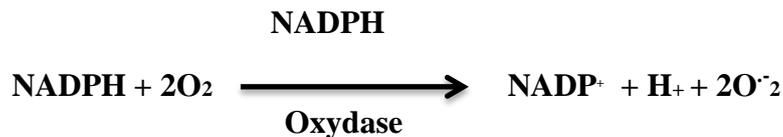
#### a) La Mitochondrie

La chaîne respiratoire mitochondriale constitue la source principale de production de radicaux libres, et environ de 98 % de l'oxygène parvenant à l'intérieur de la mitochondrie est réduite pour former de l'eau par le cytochrome oxydase, mais le processus n'est toutefois pas

parfait car une faible proportion de l'oxygène (2 à 5%) subit une réduction monoélectronique conduisant à la formation du radical Superoxyde.

### b) La NADPH Oxydase

C'est une oxydase liée à la membrane plasmique des macrophages et des polynucléaires principalement, où elle joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire, dans la lutte contre les micro-organismes et la destruction du matériel phagocyté. Elle est capable d'utiliser l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) pour produire de grandes quantités de l'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire.



### c) Xanthine Oxydase

Le système enzymatique xanthine / xanthine oxydase est également considéré comme une source biologique importante de radicaux superoxyde. En présence d'oxygène la xanthine oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, et de la Xanthine en acide urique et génère le radical O<sub>2</sub><sup>·-</sup> et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> urique.



## 2. Source Exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance aux EROs.

- Les Rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou gamma, soit en activant des molécules photo sensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets sont le résultat est produire des anions superoxyde et de l'oxygène singlet.
- L'Alcool peut diminuer l'activité des enzymes de protection (SOD, GSH-Px) et l'ingestion de l'alcool est suivie de la formation des radicaux libres selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, avec production O<sub>2</sub><sup>·-</sup>. L'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydase et du cytochrome P450.

- La Pollution : Des molécules toxiques présentes dans notre environnement tel que le goudron, tabac, polluants industriels qui participent à la genèse des radicaux libres. Ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles Pulmonaires.

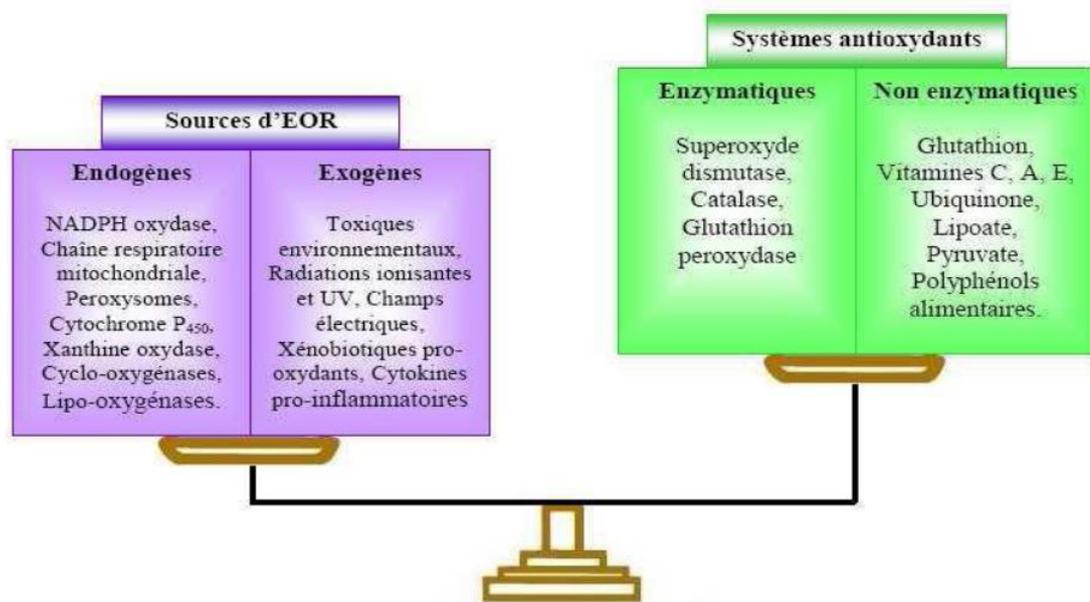


Figure IV-1 : Déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant.

## VII. Les antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme étant une substance qui présente à des faibles concentrations par rapport à un substrat, peut significativement retarder ou inhiber l'oxydation de ce substrat.

Ces antioxydants peuvent être de deux natures différentes : des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques.

### 1. Les antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [12].

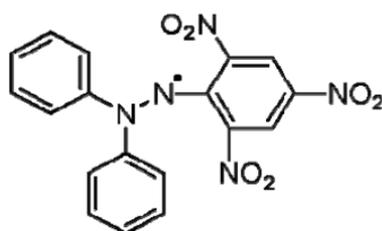
- **Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le vin et le thé. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydants, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives. [13]

### VIII. Les méthodes d'étude d'antioxydants

#### 1. Réaction entre le radical libre DPPH• et l'antioxydant

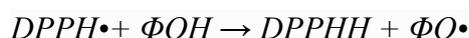
Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques<sup>10</sup>. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Fig.1). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.



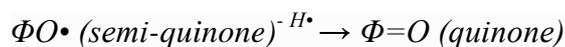
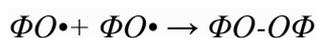
**Figure IV-2 : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)**

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes: (i) la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques) ; (ii) la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycolyses et des anthocyanes) [14].

Dans le cas des composés phénoliques ( $\Phi$ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH. [15]



Plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles qui forment des structures plus au moins stables :



La capacité antiradicalaire (capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne) ne peut être mesurée directement, mais par contrôle de l'effet de la réactivité. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier [16].

## 2. Test antioxydant par FRAP

Cette méthode est basée sur la capacité des composés réducteurs, à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) du ferrocyanure de potassium pour donner du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ).

La réaction est révélée par le virement de couleur jaune de ( $Fe^{3+}$ ) en couleur bleu vert de ( $Fe^{2+}$ ), l'absorbance est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. [17]

**Références**

- [1] Leclerc, H. Gaillard, J.L. Simonet, M. «*Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien*», Doin Editeurs, Paris 1995.
- [2] Naouel OUIS. Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat. Université d'Oran. 2015. P 109.
- [3] Raper, K. Fennell, D.J. « *The genus Aspergillus* », Williams and Wilkins editors, Baltimore 1965;
- [4] Babayi, H., I. Kolo, J.I. Okogun and U.J.J. Ijah, The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri*, 2004. p 19.
- [5] F.Tessier P. Marconnet. Science & Sports. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice Free radicals, antioxydant systems and exercise. 1995. P 13.
- [6] Lee, J., Koo,N. et Min ,D.B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty*, 2004. p 33.
- [7] Bartosz, G. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 2003. p 21.
- [8] Hadi,M. *la quercétine et ses dérivés :molécule à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libre ; étude et application thérapeutique*. Thèse de doctorat .Université Luis pasteur (Strasbourg). 2004.
- [9] Binove L. oxydant/antioxydant: un équilibre important.2001.
- [10] Christelle Koechlin-Ramonatxo. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique Et Métabolisme* 2006. p 165.
- [11] Svoboda K.P., Hampson J.B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotiand, UK., KA6 5HW.*

- [12] K. Ghedira. Phytothérapie. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. p 162. 2005
- [13] Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. Nature 1958, p 181.
- [14] Huang, D., Ou, B., Prior R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2005, p 53.
- [15] Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A., Saura-Calixto F. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture 1998, p 270.
- [16] Molyneux P., The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004, p 211.
- [17] Oyaizu M. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*, 1986, p 44.

## Introduction

Notre travail nécessite une recherche dans le laboratoire afin d'extraire les différents principes actifs, à partir de trois parties de la plante *Malva Sylvestris* « fleurs, feuilles et graines » et effectuer une comparaison entre les différents principes actifs en se basant sur les tests invitro. Pour cela notre étude serait réalisée comme suit :

1. Préparation des extraits de chaque partie de la plante ;
2. Tests de présence des flavonoïdes et des composés phénoliques ;
3. Analyse de l'activité biologique antibactérienne et de l'antioxydant DPPH et FRAPP.

### I. Préparation des extraits

#### 1. La récolte

La récolte de la plante *Malva Sylvestris* était faite dans la région de Tébessa située dans l'Est de l'Algérie. Puis on l'a laissée sécher dans l'ombre à une température ambiante pendant trois mois.

#### 2. La macération

On broie la plante qui se compose de trois parties « graines, feuilles, fleurs » puis on pèse 166g du broyat des trois parties « graines, feuilles et fleurs » après on met les broyat dans les flacons avec de l'eau/méthanol (30/70) ; on les laisse 24h et on répète cette opération trois fois de plus. On filtre les trois extraits et on les récupère dans trois ballons de 1000 ml pour, enfin, les évaporer et obtenir leurs trois extraits « fleurs, feuilles et graines »



Fleurs



Feuilles



Graines



### 3. Séparation de la chlorophylle

On ajoute 100 ml de l'eau distillée et bouillante à chaque extrait puis on les laisse 24h après on filtre les trois extraits par un papier-filtre.



### 4. Extractions des différents principes actifs

- **Extraction liquide – liquide**
- **Extraction liquide – liquide par dichlorométhane**

On récupère les trois extraits dans trois ampoules-à-décantier de 1000 ml et on ajoute 100 ml de dichlorométhane puis on les agite, on les dégaze et on les laisse 24h jusqu'à la séparation en deux phases ; « Phase organique et phase aqueuse ». On répète cette opération deux fois de plus, mais on les laisse 5 heures seulement. On récupère les trois différentes phases organiques dans des ballons pour l'évaporation.



- **L'extraction liquide – liquide par acétate d'éthyle**

On refait la même opération d'extraction liquide-liquide mais cette fois en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant.

- **L'extraction liquide – liquide par n-butanol**

Cette fois l'opération d'extraction liquide-liquide sera faite en utilisant le N-Butanol comme solvant.

Les trois phases aqueuses restantes seront évaporées séparément dans la rotavapeur.

**Etapas de la préparation des extraits**



166 g « Fleurs, feuilles et graines »



Macérer Avec de l'eau / méthanol  
30 / 70



Filtrer pour enlever la chlorophyle et  
évaporation



Extraction Par trois Solvants :  
Dichlorométhane, Acétate d'éthyle, n-  
butanol



Evaporer les douze extraits

### 5. Calcule des rendements

Pour calculer les rendements de chaque extrait, il faut peser les ballons vides puis remplis, ensuite calculer la différence entre les poids.

On calcule le rendement selon la formule suivante :



- **Rendement par rapport au broyat :**

$$R\% = M / M_0 * 100$$

**R%** : Rendement exprimé en %

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme de la matière verte sèche

- **Rendement par rapport à l'extrait méthanolique :**

$$R_1\% = M_1 / M_0 * 100$$

**R<sub>1</sub>%** : Rendement exprimé en %

**M<sub>1</sub>** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme de l'extrait méthanolique



### 6. Tests phytochimiques

#### a) Les Flavonoïdes

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute trois gouttes d'HCl concentré et trois milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange. [1]

#### b) Les Tanins

Un volume de 2 ml de chacun des deux extraits, est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Après quelques minutes d'incubation, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques. [2]

#### c) Les Alcaloïdes

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : on ajoute 5 ml d'HCL 1% à 1 ml de chaque extrait, le tout est réchauffé dans un bain-marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La

formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes. Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suit :

- **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1.358 g d' $\text{HgCl}_2$  dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10 ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.
- **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1.27 g de  $\text{I}_2$ . Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. [3]

#### d) Les Quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

#### e) Les Térpénoïdes

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrée. La présence des térpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

#### f) Les Coumarines

Une quantité de quelques milligrammes de chaque extrait est solubilisée dans 2 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont :

- La première représente un témoin ;
- La deuxième est traitée avec 0.5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10%.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines. [4]

#### g) Les sucres réducteurs

Dans un bain-marie, on ajoute 2 ml d'acide sulfurique «  $\text{H}_2\text{SO}_4$  » à 0.5 ml d'extrait le tout dans 5 ml d'eau distillée bouillante, 15 minutes après, on neutralise la solution avec 10% de sodium hydroxyle jusqu'à PH 7, puis on ajoute 5 ml de solution de Fehling [5].

### 7. L'activité biologique

L'activité biologique a détecté des polyphénols dans les extraits des trois parties de *Malva Sylvestris* (fleurs, feuilles et graines). En suivant deux méthodes : activité antibactérienne et activité antioxydante. [6]

**a) L'activité antibactérienne**

L'un des objectifs de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de *Malva Sylvestris*.

On utilise dans ce test 04 souches de bactéries, deux gram-positif (*Staphylococcus Aureus* ; *Bacelluce*) et deux gram-négatifs (*E. Coli* ; *Pseudomonas*) sur les neuf extraits suivants

- |                |                |                      |
|----------------|----------------|----------------------|
| - DCM Graines  | - ACT Graines  | - N-Butanol Graines  |
| - DCM Feuilles | - ACT Feuilles | - N-Butanol Feuilles |
| - DCM Fleurs   | - ACT Fleurs   | - N-Butanol Fleurs   |

**• Préparation de la solution A :**

On met 10 ml de DMSO avec 90 ml d'eau distillée.

**• Préparation de la solution B**

On récupère 1g de chaque extrait sec dans 1 ml de DMSO et on les agite suffisamment.

**• Préparation des disques**

On découpe les disques (patches) de 6 mm de diamètre sur un papier Wattman °1 puis on les autoclave dans 10 ml d'eau distillée à 120°C pendant 20 min.

**• Préparation des boîtes de pétrie**

On dissout la gélose nutritive « *Mueller Hinton* » dans une cocotte, puis on coule la gélose nutritive MH dans des boîtes de pétrie et on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de gélose sèche MH, de haut en bas. On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.



On Presse les trois disques de papier wattman stérile à l'aide d'une pince bactériologique stérile. On injecte ensuite 15 µl de solution B dans les trois disques de chaque boîte de pétrie.

- Dissoudre le MH et le mettre dans des boîtes de pétrie ;



- Préparer les souches et frotter dans les boîtes de pétrie ;



- Presser les disques et injecter les extraits ;



- Mettre les boîtes de pétrie dans les étuves.



- **La lecture**

On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte.

Selon le diamètre d'inhibition, on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistance.

**b) L'activité antioxydante [7]**

Cette technique repose sur un principe simple qui consiste à mettre l'échantillon à étudier en présence d'un composé, qui est un radical en lui-même (spin-label). Ce composé radicalaire va présenter la particularité d'être stable au cours du temps.

La mesure de l'activité antioxydante d'un composé, est déterminée par la capacité du composé à piéger le radical, en le transformant en un composé non radicalaire. La réduction se caractérise, alors, par une diminution de l'amplitude du signal mesuré.

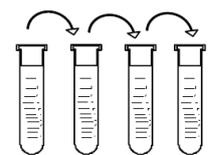
On suivra ainsi deux méthodes ; **DPPH** et **FRAP**

- **Test de DPPH [8]**

Le DPPH est un radical libre stable qui sera utilisé pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponses à des stress internes ou externes. La présence des flavonoïdes dans le test antioxydant, la couleur violette caractéristique du DPPH virait au jaune et l'absorbance mesurée à 517 nm s'abaissait.

L'ajout de différentes dilutions des extraits à la solution de DPPH permettait de déterminer celle qui abaissait l'absorbance le plus.

- ✓ On prépare le DPPH de 0.04 M ;
- ✓ On prépare la solution A de 1 ml de DPPH et 9 ml de MeOH ;
- ✓ On prépare la solution B par 02 ml MeOH et de 02 mg d'extraits de parties de la plante ;
- ✓ On dilue la solution B à 05 fois
- ✓ Pour chaque extrait, nous avons préparé des dilutions de 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 et 0.031 mg / ml ;
- ✓ On prend 03 ml de la solution A et on la met dans le cuve spectrophotomètre UV ;
- ✓ On met la dilution dans la cuve avec 3 ml de la solution A, on mesure la dilution de chaque extrait chaque minute pendant une demi-heure.



Série de dilutions

L'absorbance était mesurée à 517 nm, nous avons utilisé l'acide ascorbique, que nous avons préparé comme témoin, sur la même série de dilutions des extraits.

- **Test *FRAP* (*Ferric Reducing antioxidant Power*)**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antiradicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Un millilitre de l'échantillon à différentes 2 concentrations dilué dans l'eau distillée est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1 %, puis on incube les tubes à 50 °C pendant 20 minutes.

Après refroidissement des tubes à température ambiante, 2,5 ml d'acide trichloracétique (ATC, TCA ; trichloracétique acide) à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3 000 tours/minute pendant dix minutes. Nous prélevons 2,5 ml du surnageant auquel nous ajoutons 2,5 ml d'eau distillée. Nous additionnons ensuite au mélange 500  $\mu\text{l}$  d'une solution de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ) à 0,1 % fraîchement préparée. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions.<sup>9</sup>

**Références**

- [1] Karumi, Y ; Onyeyili, P.A; Ogugb uaja, V.O; (2004). Identification of active principales of balsamina (Balsam apple) leaf extract. J. Med. Scien. 4 : p 179.
- [2] Karumi, Y; Onyeyili, P.A; Ogugb uaja, V.O; op cit, (2004). p 182.
- [3] Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R., (2003). Phytochemical screening of some species of Iranien plants. Iranien Journal of Pharmaceutical Research. P 77.
- [4] Benmehdi, H ; Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université de Tlemcen. (2000).
- [5] Akinyemi K O, Oladapo O, Okwara C E, Ibe C C, Fasure K A. Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity. BMC Complement Altern Med.; 5: 6. 2005.
- [6] W.Brand, Williams M. E. Cuvelier C. Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology. 1995. p 28.
- [7] W.Brand-WilliamsM.E.CuvelierC.Berset. op cit,. 1995. P 28
- [8] N. Bentabet, Z. Boucherit-Otmani, K. Boucherit .composition chimique et activité antioxydante d'extraits organique des racines de *Fredolia Aretiodes* de la région de Béchar en Algérie. Université abou-bekr.2-3.2014.

## Introduction

Les parties aériennes des plantes sont fréquemment utilisées, car elles sont le site privilégié des synthèses chimiques. Le *Malva sylvestris* est riche en composés phénoliques notamment ses fleurs et ses feuilles. On les présente dans les résultats suivants.

### I. Les rendements des extraits

Les extraits des fleurs, des feuilles et des graines préparées par DCM, ACT, N-butanol nous produisent la liste des extraits suivante : « fleurs DCM, feuilles DCM, graines DCM, fleurs ACT, feuilles ACT, graines ACT, fleurs N-butanol, feuilles N-butanol, graines N-butanol, fleurs aqueux, feuilles aqueux, graines aqueux », (voir le tableau V-1).

On remarque que le rendement R et  $R_1$  des extraits aqueux était plus grand que les autres extraits et particulièrement la extraits aqueux des fleurs.

On classe les phases comme suit : « fleurs aqueux > feuilles aqueux > graines aqueux > graines N-butanol > feuilles N-butanol > fleurs N-butanol > fleurs ACT > graines ACT > feuilles ACT > feuilles N-butanol > feuille DCM > fleurs DCM > graine DCM ».



Parti des plantes	fractions	aspects	couleurs	Les masses des extraits (g)	Rendement R <sub>1</sub> par rapport au poids du Extrait méthanoliques%	Rendement R par rapport au poids du broyat %
Graine	Dichlorométhane	Pâteux		0.0635	1.56	0.0382
	Acétatediethyl	Pâteux		0.1328	3.26	0.079
	n-butanol	Pâteux		1.3987	34.39	0.842
	aqueux	Pâteux	Marron fonçais	2.17772	53.55	1.311
Fleur	Dichlorométhane	Pâteux		0.1039	2.91	0.0625
	Acétatediethyl	Pâteux		0.2031	5.69	0.122
	n-butanol	Pâteux		0.6377	17.87	0.384
	aqueux	Patte	Marron fonçais	2.063	57.83	2.063
Feuille	Dichlorométhane	Pâteux		0.1253	2.58	0.07548
	Acétatediethyl	Pâteux		0.1909	3.93	0.115
	n-butanol	Pâteux		1.0107	20.81	0.608
	aqueux	Pâteux	Marron fonçais	3.20757	66.053	1.932

Tableau V-1 : L'aspect, les couleurs et les rendements des extraits

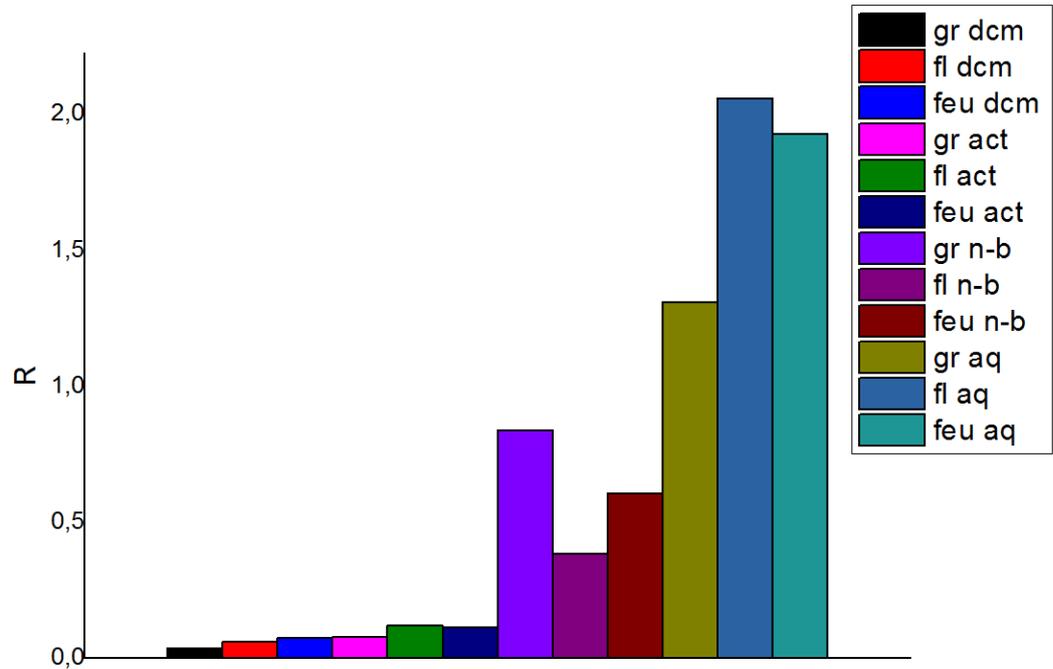


Figure V-1: Les rendements des extraits par rapport au poids du broyat %

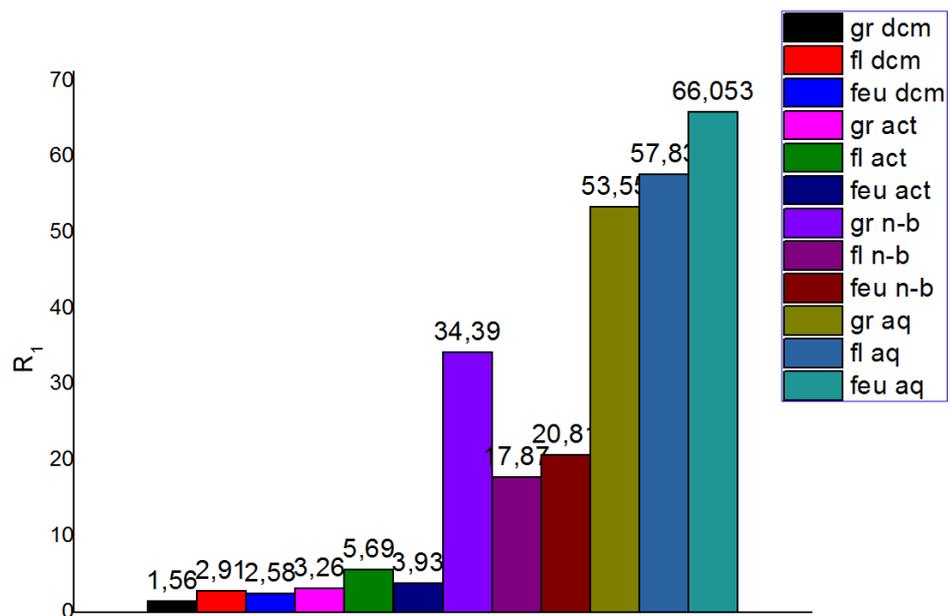


Figure V-2 : les rendements des extraits par rapport à l'extrait méthanolique

**Gr** :graines

**Fl** : fleurs

**Feu** : feuilles

**dcm** : dichlorométhane

**act** : acétate d'éthyle

**n-b** : n-butanol

**Aq** : aqueux

## II. Tests phytochimiques

Le test phytochimique est un premier pas dans la recherche des classes chimiques d'un extrait. Il permet la découverte des composés chimiques essentiellement les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes, et les composés réducteurs.

	DCM Fleur	DCM Feuille	DCM graine	ACT Fleur	ACT Feuille	ACT graine	N- butanol Fleur	N- butanol Feuille	N- butanol graine	Phase Aqueuse Fleur	Phase Aqueuse Feuille	Phase Aqueuse graine
flavonoïdes	-	-	-	++++	++	-	++++	+++	+++	+++	+	++
Composés phénoliques	-	-	-	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++	+	++
Alcaloïdes	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Quinones libres	-	-	-	-	-	-	++++	+++	++	-	-	-
Terpénoïdes	-	-	-	++++	++++	++++	-	-	-	+	+	+
coumarines	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Tanins	++	++	+	++++	++	+++	++++	++++	++++	++	+	+
Les sucres réducteurs	-	-	-	-	-	-	++++	++++	++++	+++	+	++

**Tableau V-2 : Tests phytochimiques des différents principes actifs.**

- Les tests phytochimiques démontre la présence des différentes familles des composantes chimiques telles que les tanins, les sucres réducteurs, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les quinones.
- On constate que les feuilles et les fleurs contiennent beaucoup plus de composés phénoliques et spécifiquement les flavonoïdes et les tanins.
- Les quinones libres, les sucres réducteurs et les terpénoïdes sont moyennement disponibles, par contre les alcaloïdes et les coumarines existent légèrement.
- Pour conclure on peut dire que le *Malva sylvestris* est une plante médicinale riche en métabolite secondaire



Coumarines



Tanins



Terpénoïdes

### III. Activités antibactériennes

Les tableaux suivants démontrent les diamètres des zones d'inhibition en (mm)

#### 1. Dichlorométhane

- **Gram positif**

	D SA.R1	D bacelluce
Graine	9	8
Fleur	8	8
feuille	/	/

- **Gram négatif**

	D icps	D E.coli.R4
Graine	8	7
Fleur	8	7
feuille	/	7

#### 2. Acétate d'éthyle

- **Gram positif**

	D SA.R1	D bacelluce
Graine	8	8
Fleur	9	9
feuille	8	7

- **Gram négatif**

	D icps	D E.coli.R4
Graine	8	7
Fleur	8	1
feuille	7	7

#### 3. N-butanol

- **Gram positif**

	D SA.R1	D bacelluce
Graine	9	8
Fleur	8	9
feuille	11	7

- **Gram négatif**

	D icps	D E.coli.R4
Graine	9	9
Fleur	9	7
feuille	8	7

D'après Roura et *al*, la sensibilité à l'essence a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible pour les diamètres moins de 8 mm;
- Sensible pour des diamètres de 8 à 14 mm;
- Très sensible pour des diamètres de 15 à 19 mm;
- Extrêmement sensible pour les diamètres plus de 20 mm ;

A partir des tableaux, on constate qu'il y a une activité antibactérienne dans les extraits traités, qui se présente comme suit :

### 1. Dichlorométhane

Les bactéries gram positif « SA.R1, Bacelluce » et gram négatif « icps » sont sensibles avec les graines et les fleurs. D'autre part, les bactéries gram positif « SA.R1, Bacelluce » sont résistantes avec les feuilles, pendant que celles de gram négatif « E.coli.R4 » et « icps » sont résistantes avec les fleurs, les graines et les feuilles.

### 2. Acétate d'éthyle

Les bactéries gram positif « SA.R1, Bacelluce » sont sensibles avec les graines et les fleurs, lorsque la bactérie « SA.R1 » est sensible avec les feuilles seulement.

Les bactéries gram négatif « icps » sont sensibles avec les graines et les fleurs et résistantes avec les feuilles, pendant que « E.coli.R4 » est sensible avec les fleurs seulement. En outre, les bactéries gram positif «Bacelluce» sont résistantes avec les feuilles seulement et lorsque la bactérie gram négatif « E.coli.R4 » est résistante avec les graines et les feuilles.

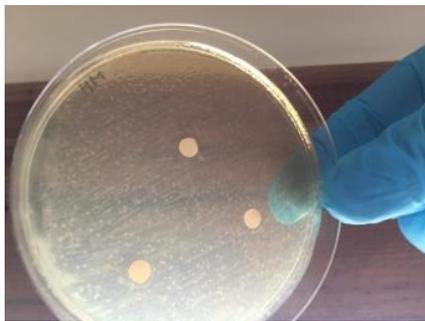
### 3. N-butanol

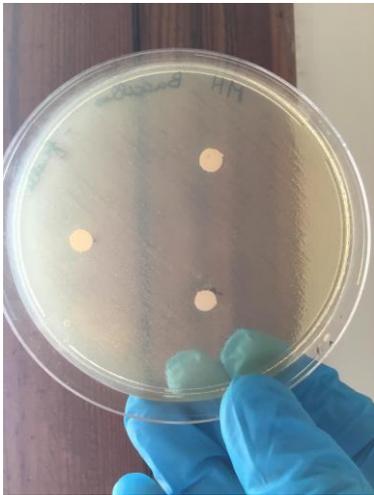
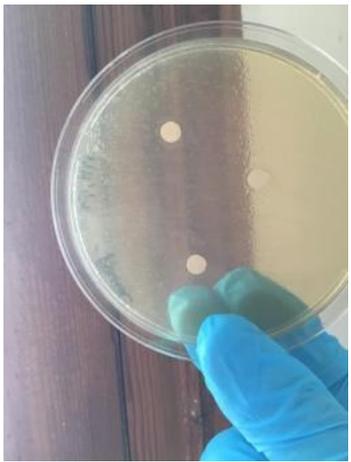
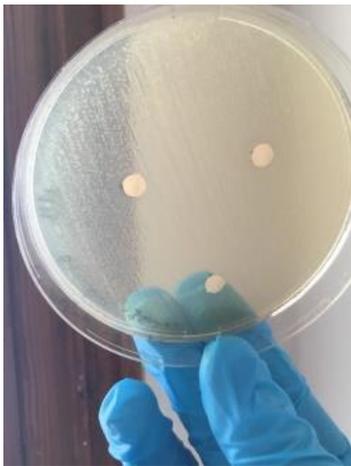
Les bactéries gram positif « SA.R1, Bacelluce » sont sensibles avec les graines et les fleurs, lorsque la bactérie « SA.R1 » est sensible avec les feuilles seulement.

Les bactéries gram négatif « icps » sont sensibles avec les fleurs, les graines et les feuilles, par contre la bactérie « E.coli.R4 » est sensible avec les graines uniquement. De plus, les

bactéries gram positif « Bacelluce » sont résistantes avec les feuilles. Ainsi la bactérie gram négatif « E.coli.R4 » est résistante avec les fleurs et les feuilles.

- Les bactéries gram positif sont plus sensibles avec la *Malva sylvestris* que les bactéries de gram négatif.
- Tan qu'il y a une activité antibactérienne ça prouve l'existence des composés phénoliques.
- la *Malva sylvestris* contient une activité antibactérienne, elle doit être classée parmi les plantes médicinales.





#### IV. Activité antioxydante

Cette étude concerne l'évaluation de l'activité antioxydante des flavonoïdes et des tanins extraits de la partie aérienne (graines, feuilles et fleurs) de la plante *Malva sylvestris*, par trois solvants, dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. L'activité antioxydante des extraits est estimée par deux techniques, la réduction du fer (Ferric reducing antioxidant power) FRAP et le piégeage du radical libre (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH. L'ensemble des résultats sous forme de courbes (graphique) donnant principalement les variations de l'Absorbance en fonction du temps T en minutes pour les situations diverses vient ci-après comme :

##### 1. Méthode de DPPH

###### a) L'acide ascorbique

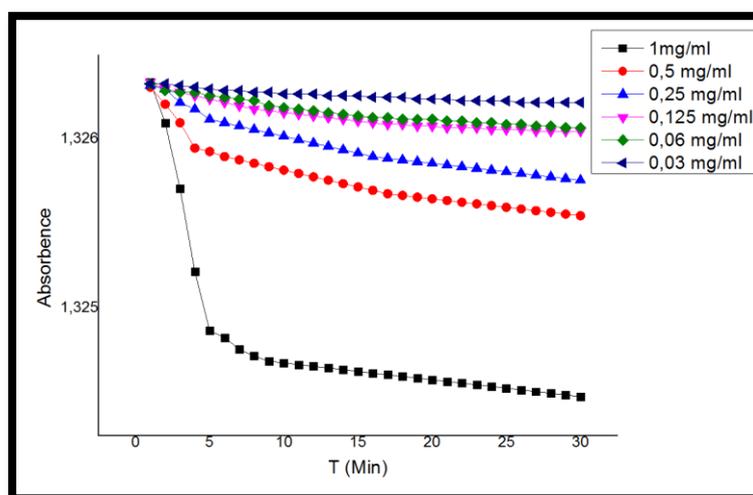


Figure V-3 : Test de DPPH de l'acide ascorbique

###### b) Dichlorométhane

Graines

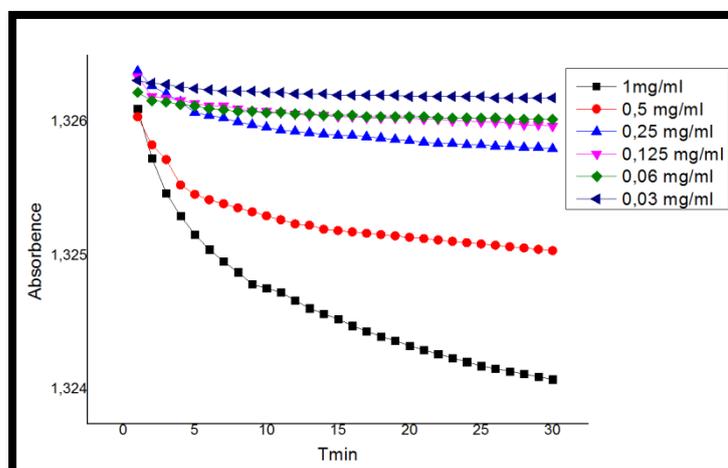


Figure V-4: Test de DPPH de l'extrait Dichlorométhane Graines

Fleurs

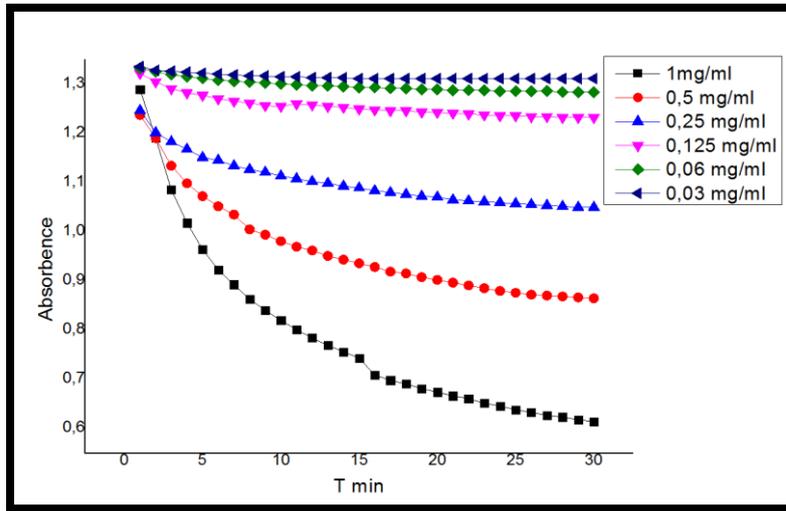


Figure V-5: Test de DPPH de l'extrait Dichlorométhane Fleurs

Feuilles

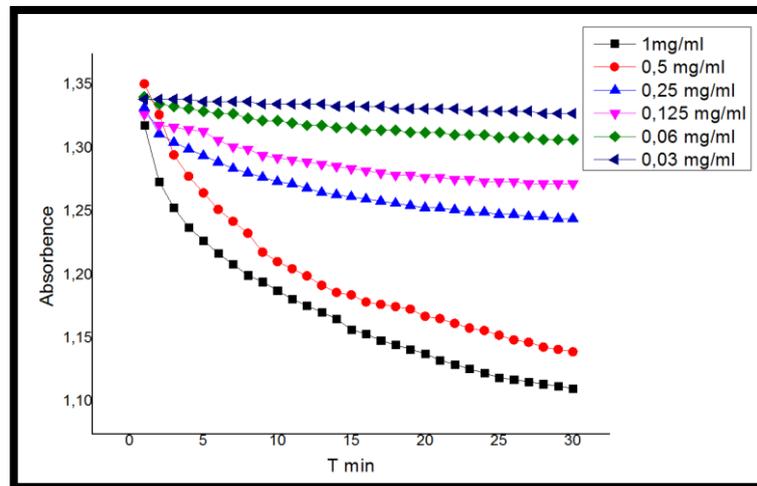


Figure V-6: Test de DPPH de l'extrait Dichlorométhane Feuilles

c) Acétate d'éthyle

Graines

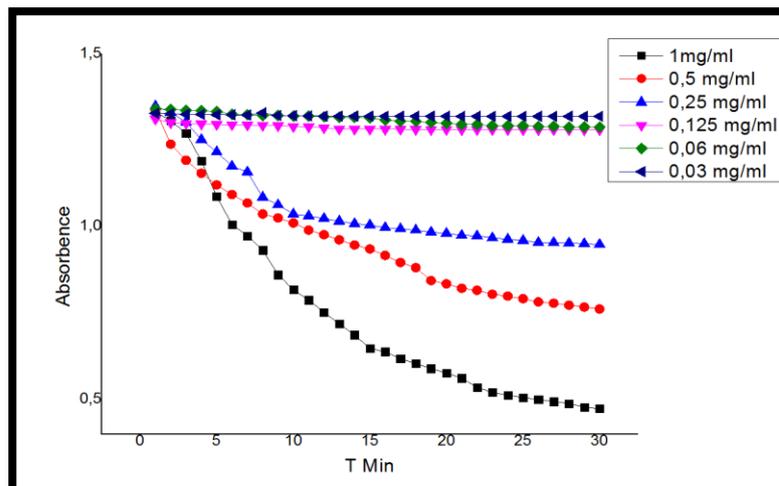
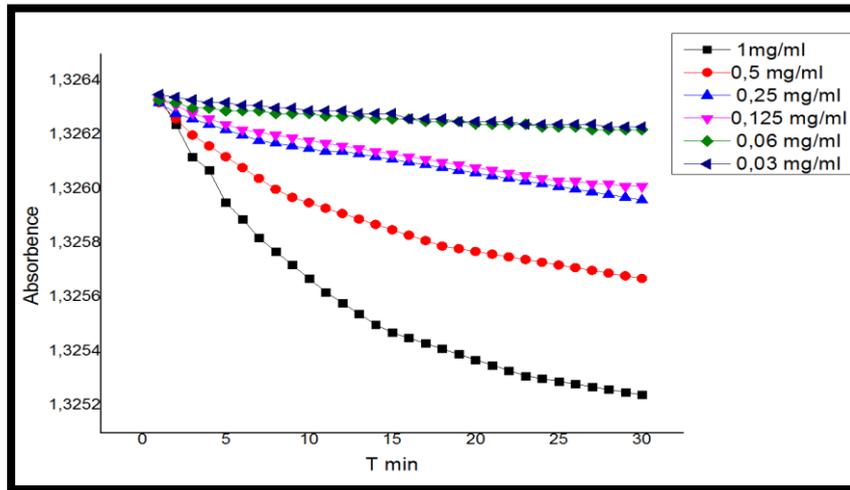


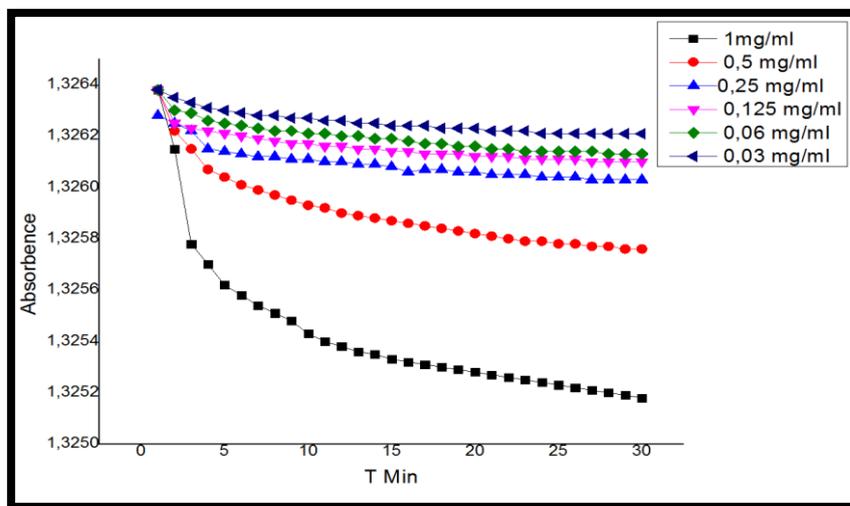
Figure V-7: Test de DPPH de l'extrait Acétate d'éthyle Graines

**Fleurs**



**Figure V-8: Test de DPPH de l'extrait Acétate d'éthyle Fleurs**

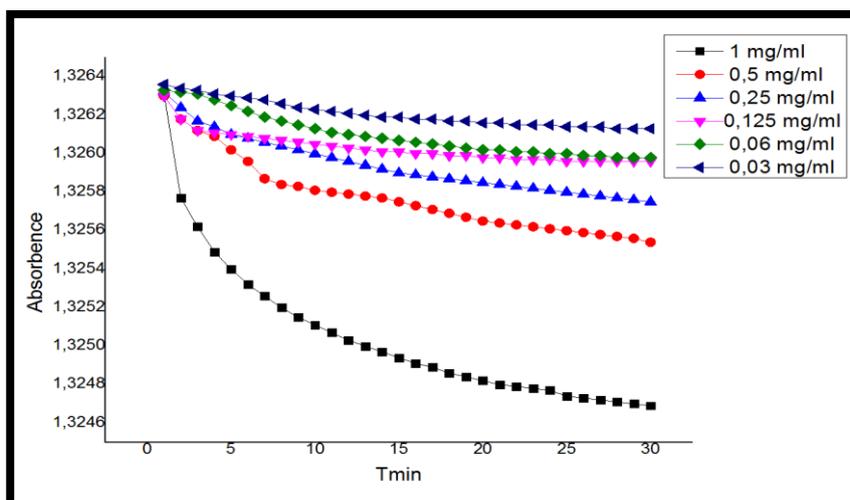
**Feuilles**



**Figure V-9 : Test de DPPH de l'extrait Acétate d'éthyle Feuilles**

**d) N-butanol**

**Graines**



**Figure V-10 : Test de DPPH de l'extrait N-butanol Graine**

Flieurs

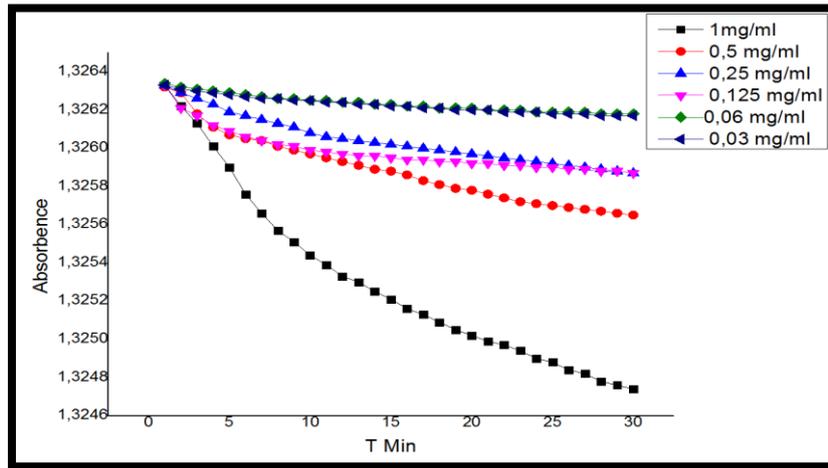


Figure V-11: Test de DPPH de l'extrait N-butanol Fleurs

Feuilles

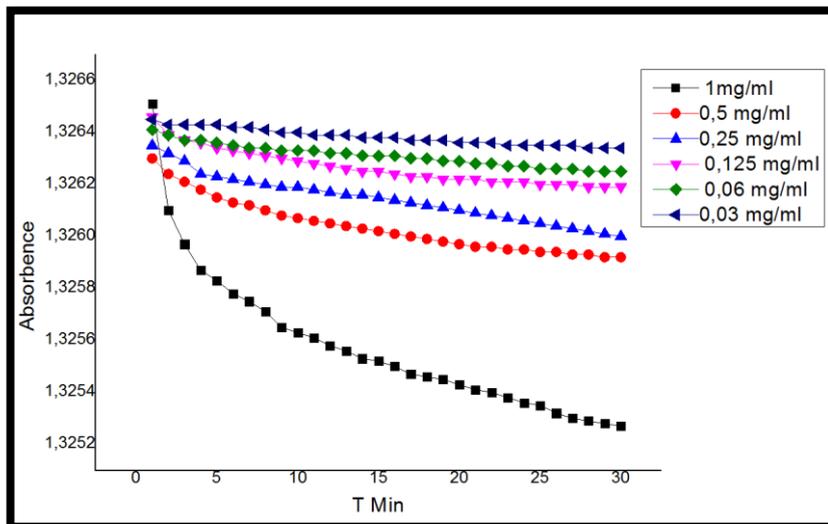


Figure V-12 : Test de DPPH de l'extrait N-butanol Feuilles

e) Les phases aqueuses

Graines

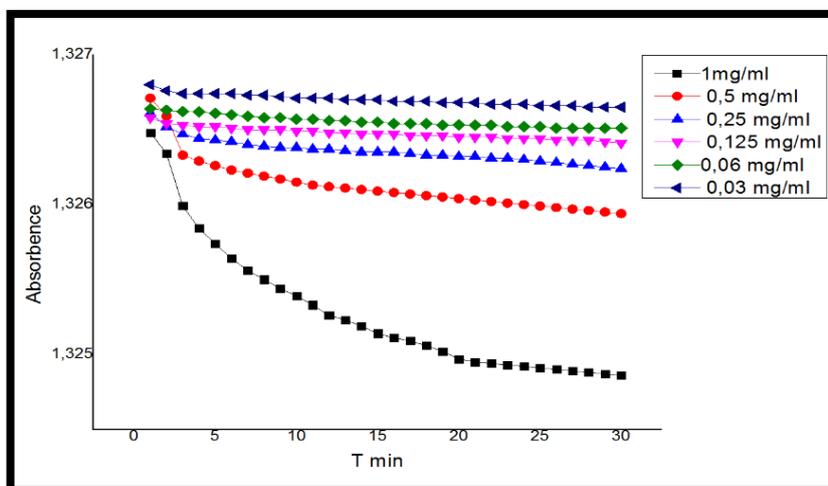


Figure V-13 : Test de DPPH de l'extrait aqueux Graines

## Fleurs

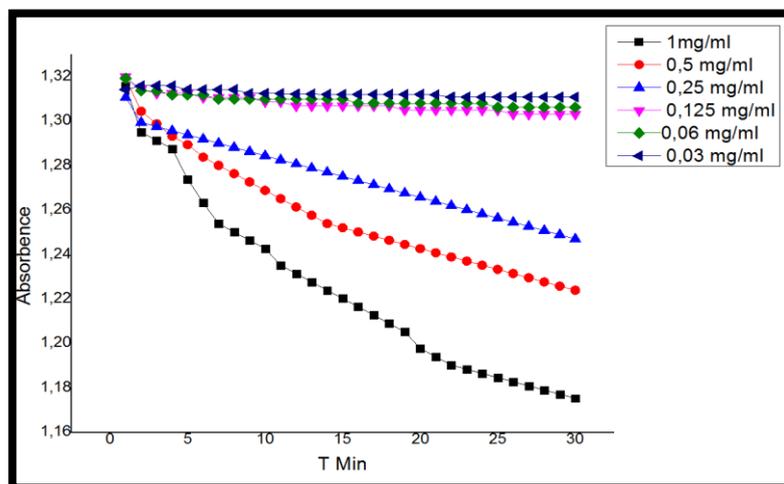


Figure V-14 : Test de DPPH de l'extrait aqueux Fleurs

## Feuilles

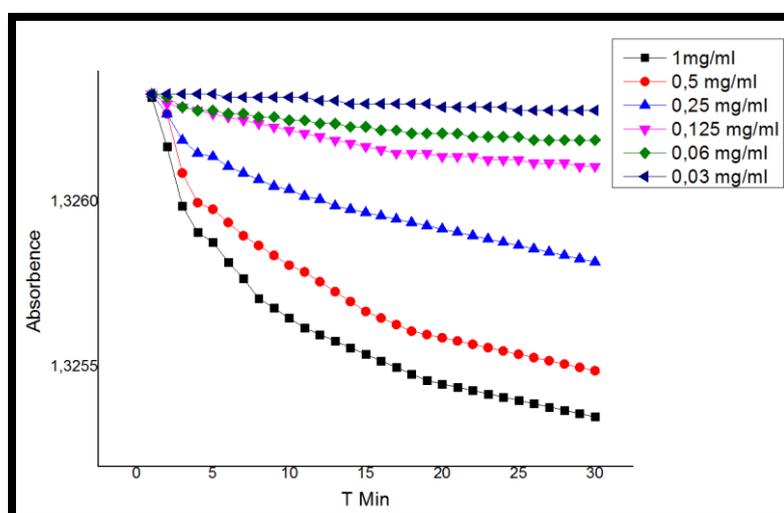


Figure V-15 : Test de DPPH de l'extrait aqueux Feuille

L'analyse des résultats graphiques permet de remarquer que :

La variation de l'absorbance de l'acide ascorbique en fonction du temps T (mn) indique clairement une chute rapide de cette dernière (*variation rapidement descendante*) dans un intervalle de temps **réduit** (environ **5 mn**), contrairement à la majorité des variations de l'Absorbance en fonction du temps, pour les tests de DPPH des multiples cas d'extraits (12 cas, dichlorométhane - acétate d'éthyle-N butanol et phases aqueuses pour graines, fleurs et feuilles) qui présente une *tendance descendante relativement plus lente* étalée sur toute la période de 30 mn .

Au vu de ces variations toutes descendantes, montrant une dégradation de l'extrait, et en conséquence nous relevons une activité antioxydante significative, quoique plus faible par rapport à l'acide ascorbique. Ceci indique un signe de présence des composés phénoliques.

Nous pensons que ces résultats peuvent être beaucoup améliorés en utilisant un matériel adéquat à lectures automatiques et plus performant utilisant des produits non dégradés.

## 2. Méthode de FRAP

Les extraits de n-butanol (graines, fleurs, feuilles) sont comparés avec l'acide ascorbique et donnent sous forme graphique.

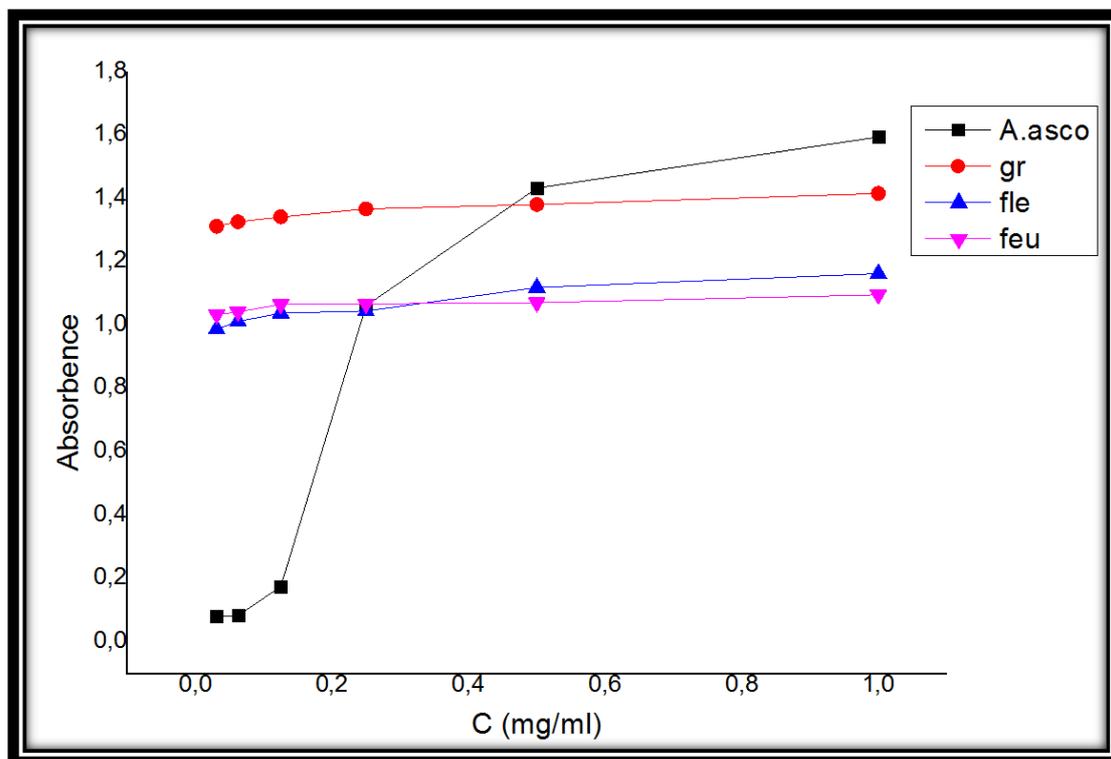


Figure V-16 : Test de FRAP des extraits n-butanol des graines, fleurs et feuilles avec L'acide ascorbique

- a. asco : acide ascorbique
- gr : graine
- fle : fleur
- feu : feuille



On constate un changement dans la coloration des extraits n-butanol, ce qui prouve une augmentation de la réduction du Fer en fonction de l'augmentation de l'absorbance.

Ainsi, on remarque que l'augmentation des extraits n-butanol est inférieure que l'augmentation de l'acide ascorbique.

## Conclusion

Cette étude s'est fixée comme objectif principal la connaissance des propriétés antibactériennes et antioxydantes d'une plante appartenant à la famille des *Malvacées*, très répandue et employée au Nord d'Algérie pour ses propriétés thérapeutiques. Ceci a nécessité bien sûr la recherche des métabolites secondaires, la détermination de leur teneur en polyphénols totaux et spécialement en flavonoïdes, ainsi que la confirmation des activités antibactériennes et aussi antioxydantes correspondantes ; toutes les expériences et mesures ont été réalisées à l'Université de Tébessa (départements de chimie, de biologie et géologie)

Les expériences sur les différents extraits ont permis favorablement l'obtention de résultats révélant la présence de métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les tanins, les quinones, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les sucres réducteurs.

Les analyses quantitatives ont effectivement montré que les extraits hydroalcooliques issus des trois parties de la plante (graines - fleurs - feuilles) sont relativement riches en polyphénols totaux avec une teneur appréciable dans la partie aérienne.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus de l'espèce *Malva Sylvestris* par la méthode de la réduction du fer et par celle du piégeage du radical libre DPPH a montré que les extraits possèdent une activité antioxydante modérée. Celle-ci peut être quantitativement mieux évaluée avec des moyens de mesures plus performants et des produits sans aucune dégradation et avec beaucoup plus de temps spécialement concernant les expériences par DPPH et FRAP.

En effet, l'activité antioxydante la plus élevée a été observée dans les extraits les plus polaires ; il s'agit en occurrence du n-butanol, l'acétate d'éthyle. Ceci s'est avéré vrai par les tests de réduction du radical libre DPPH et FRAP, où cette activité antioxydante était élevée dans les extraits les plus polaires ; cependant elle est relativement faible pour les autres extraits spécialement du dichlorométhane. Ainsi, cette plante de l'espèce *Malva Sylvestris* contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées en conséquence pour des applications thérapeutiques contribuant de manière utile et efficace à la prévention de certaines maladies cancéreuses.

L'activité antibactérienne a été engagée sur quatre souches bactériennes, selon la méthode de diffusion-disque, Les résultats indiquent que la plupart des extraits possèdent une activité antibactérienne.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant, pour des travaux futurs, d'étendre l'ensemble des tests antioxydants, antibactériens et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits à l'identification des différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de la plante.

En définitive, cette plante appartenant à la famille des *Malvacées* est effectivement une plante médicinale qui peut être considérée comme une autre source fiable de principes actifs ayant des propriétés thérapeutiques. En outre, notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières.

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'estimation de l'activité biologique des métabolites secondaires obtenus à partir des extraits des parties aériennes « graines, fleurs et feuilles » de *Malva Sylvestris*, une plante utilisée en médecine traditionnelle reconnue par ses vertus thérapeutiques. Plusieurs séries d'expériences ont été programmées et réalisées dans les laboratoires des départements de chimie, de biologie et de géologie à l'Université de Tébessa

Les résultats phytochimiques obtenus ont révélé la richesse du *Malva Sylvestris* en alcaloïdes, flavonoïdes et en polyphénols.

Les parties aériennes ont été soumises à une macération dans l'éthanol/eau (70/30), à partir de l'extrait méthanolique, en utilisant trois solvants le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et n-butanol. Ceci a permis d'avoir alors douze extraits avec différentes polarités croissantes. Les rendements "R" par rapport au poids du broyat, de même que les rendements "R<sub>1</sub>" par rapport aux extraits éthanoliques de *Malva Sylvestris* des graines, fleurs et feuilles sont considérés acceptables et sont détaillés dans le document. Les extraits préparés ont présenté des activités antibactériennes et antioxydantes. L'activité antioxydante la plus élevée concerne les extraits les plus polaires du n-butanol et de l'acétate d'éthyle. Ceci s'est avéré vrai par les tests de réduction FRAP et du piégeage du radical libre DPPH

## Abstract

The main goal of this study is to estimate the biologic activity of secondary metabolites obtained from aerial parts of extracts that are seeds, flowers et leaves of *Malva Sylvestris*, a plant used in traditional medicine and known by its therapeutic properties. Many experimental series have been programmed and done in Tébessa University departments of chemistry, biology and geology. The obtained phytochemical results revealed the wealth of *Malva Sylvestris* in alkaloids, flavonoids and polyphenols.

The aerial parts have been submitted to ethanol/water (70/30) maceration from the methanol extract, by using three solvents that are the dichloromethane, the ethyl acetate and n-butanol. This allowed to have twelve extracts with different growing polarities. The efficiencies "R" based on the weight of crushed products as well as the efficiencies "R<sub>1</sub>" based on ethanolic extracts of the seeds, flowers and leaves of *Malva Sylvestris* are considered as acceptable and are detailed in the document. The prepared extracts showed anti-bacterial and anti-oxidant activities. The highest anti-oxidant activity concerned the most polar extracts of n-butanol and ethyl acetate. This was true by the mean of reduction tests FRAP and the DPPH.

## ملخص

هدف هذه الدراسة هو تقدير النشاط البيولوجي للأيض الثانوية المستخلصة من مقتطفات الأجزاء الهوائية منها الحبوب و الأزهار والأوراق لنباتة *Malva Sylvestris* / الخبايز المستعملة في الطب التقليدي ومشهورة بفوائدها العلاجية. وقد برمج وأنجز عدد كبير من التجارب في مختبرات أقسام الكيمياء والبلوجيا و الجيولوجيا بجامعة الشيخ العربي التبسي بتبسة.

النتائج الكميائية للنباتة المتحصل عليها اظهرت إمتلاك هذه النبتة لعناصر القلويات و الفلافونويد و البوليفينول. ورضخت الأجزاء الهوائية لعملية النقع داخل الخليط إيثانول/ماء (30/70) إنطلاقا من المستخلص الميثانولي وباستعمال مذيبات ثلاثة وهي ثاني كلوروميثان وخلات الإيثيل و ن- بيوتانول. وسمح هذا بالحصول على 12 مستخلص يتميز كل منها بقطبية متصاعدة ومختلفة. إن المردود R، المحسوب نسبة لوزن المادة المهروسة، والمردود R<sub>1</sub>، المحسوب نسبة للمستخلص الإيثانولي لنباتة الخبايز وهذا لكل من الحبوب والزهور و الأوراق، يعتبران نتائج مقبولة وهي مفصلة عدديا في المذكرة. وأظهرت المقتطفات المعدة نشاطا مضادا للبكتيريا و مضادا للأكسدة. حيث كان أعلى نشاط ضد الأكسدة تابعا للمختطفات أكثر قطبية ل ن- بيوتانول وخلات الإيثيل باختبارات FRAP et DPPH.