



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de  
la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière: Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée

Référence ..... / 2022

---

Présenté et soutenu par :  
**Gouacem Zohra et Guendouzi Nesrine**

Le: **28/06/2022**

# Propriétés nutritionnelles et activités biologiques de la plante *Malva sylvestris* L.

---

### Jury:

Mme. Yaakoub Fadjeria	MAA	Université de Biskra	Présidente
M. Deghima Amirouche	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Bouatrous Yamina	Pr	Université de Biskra	Examinatrice

Année universitaire: 2021-2022

## **Remerciement**

*En préambule à ce mémoire nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme nos études et de pouvoir réaliser ce travail.*

*Nos remerciements les plus chaleureux à nos parents nos piliers et nos premiers supporteurs merci pour vos prières merci d'avoir cru en nous. Merci à nos frères et sœurs pour votre soutien constant et vos encouragements.*

*Ce travail ne sera pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de notre promoteur Mr. **Amirouche Deghima.**; nous avons eu l'honneur et de la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences; ses précieux conseils, son suivi. Le fait d'être toujours à l'écoute ainsi que sa rigueur scientifique impose l'estime et le respect... on vous remercie infiniment.*

*Merci notamment aux membres de jury qui nous font le grand honneur d'évaluer ce travail.*

*Nous adressons également des remerciements à l'ensemble des enseignants espérant que vous allez voir dans ce manuscrit les fruits de dévouement avec lequel vous avez fait preuve durant les enseignements que vous nous avez prodigués. Merci aussi à tout le personnel pédagogique de l'université Mohamed Khider - Biskra - ainsi qu'à l'ensemble des étudiants de notre promotion.*

*De peur d'en avoir oublié, nous souhaitons remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ce parcours universitaire.*

## *Dédicace*

*Avec l'expression de mes reconnaissances ; je dédie ce modeste travail à ceux qui quelques soient les termes embrassés, je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*J'ai tant de raisons d'être reconnaissante aujourd'hui simplement parce que dieu m'a béni avec des merveilleux parents comme vous. Ma mère **Souad** et mon père **Moustafa** merci pour tous vos sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être, votre tendresse, soutien et vos prières tout au long de mes études. Puisse dieu vous accorder santé, bonheur, prospérité et longue vie afin que je puisse un jour combler de joie vos vieux jours.*

*A mes chères sœurs « **Lilia, Manel** », c'est par vos mots apaisés, vos conseils inestimables et vos encouragements permanents, vous avez toujours su me pousser à croire et aller vers l'avant. Puisse nos liens fraternels se consolider et se pérenniser.*

*A tout le reste de mes deux familles « **Amir Ali et Guendouzi** », particulièrement ma grande mère. Merci pour votre présence.*

*Sans oublier ma chère binôme « **Zahra** » qui m'a accompagné durant ce modeste travail.*

*A mes chers amis: **Rofaida, Nada, Oumaima, Jedelhak et Abdelraouf**. Merci d'être toujours là pour moi et j'espère que notre amitié durera éternellement.*

*Mes collègues: **Nesrine, Maram, Ibtissem, Achwak et abdefateh** et à tous les étudiants de la promotion 2022.*

*Je vous souhaite une vie pleine de santé, bonheur et succès.*

*« Enfin, jamais un simple MERCI ne suffira à vous témoigner mes reconnaissances »*

**NESSRINE**

## *Dédicace*

*A l'aide de dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail  
que je dédie:*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a  
apporté son appui durant toute mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont  
donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour  
son sacrifice et ses conseils et ses encouragements.*

*A mes grands-parents*

*A ma très cher **Loubna***

*A mes frères **Nizar, Mehdi***

*A ma chère binôme d'étude **Nesrine** qui a partagé avec moi tous les moments d'émotion lors  
de la réalisation de ce travail.*

*A ma chère et adorable **Asma** qui a toujours été à mes côtés pour m'apporter leurs aides et  
leurs encouragements que dieu la protège.*

*A tout le reste de mes deux familles « **Gouacem et Letaief** »*

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

*A tous ceux qui m'aiment...*

**Zohra**

# Table des matières

<b>Remerciement</b> .....	
<b>Dédicace</b> .....	
<b>Dédicace</b> .....	
<b>Table des matières</b> .....	
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>I</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>II</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>III</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>

## Synthèse bibliographique

### Chapitre 1

#### Généralité sur la plante d'intérêt

1.1. Description botanique.....	3
1.2. Dénominations vernaculaires internationales.....	5
1.3. Situation botanique de l'espèce <i>Malva sylvestris</i> L. ....	5
1.4. Distribution géographique et habitat.....	6
1.5. Composition chimique.....	6
1.5.1. Mucilages.....	6
1.5.2. Flavonoïdes.....	7
1.5.3. Terpénoïdes.....	7
1.5.4. Vitamines.....	7
1.5.5. Enzyme.....	7
1.6. Utilisations traditionnelles.....	8
1.6.1. Usages médicaux.....	8
1.6.2. Utilisations culinaires.....	9
1.6.3. Utilisations vétérinaires.....	9

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre 2**

#### **Matériels et Méthodes**

2.3. Matériels .....	10
2.3.1. Matériels végétales .....	10
2.2 Méthodes.....	11
2.2.1. Détermination de la composition chimique proximale .....	11
2.2.1.1. Protéines .....	11
2.2.1.2. Matière grasse brute .....	11
2.2.1.3. Teneur en cendres .....	11
2.2.1.4. Carbohydrates .....	11
2.2.2. Analyse des minéraux.....	11
2.2.3. Analyse des acides gras .....	12
2.2.4. Extraction.....	13
2.2.5. Dosage des composés phénoliques .....	14
2.2.5.1. Teneur totale en polyphénols (TPC) .....	14
2.2.5.2. Teneur total en flavonoïdes (TFC).....	15
2.2.6. Analyse chromatographique par HPLC.....	16
2.2.7. Activité antioxydants.....	16
2.2.7.1. Piégeage des radicaux libres DPPH .....	16
2.2.7.2. Pouvoir antioxydants réducteur ferrique (FRAP).....	17
2.2.8. Activité anti-proliférative .....	18

### **Chapitre 3**

#### **Résultats et discussions**

3.1. Composition chimique proximale .....	20
3.2. Analyse des minéraux.....	21

3.3. Analyse des acides gras .....	22
3.4. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.....	23
3.5. Analyse chromatographique (HPLC) .....	25
3.6. Activité antioxydante.....	28
3.6.1. Test DPPH .....	28
3.6.2. Test FRAP .....	29
3.7. Activité anti-proliférative .....	30
<b>Conclusion .....</b>	<b>33</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>34</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Noms vernaculaires de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	5
<b>Tableau 2.</b> Classification botanique de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	6
<b>Tableau 3.</b> Dates et lieux de récolte des différentes parties <i>Malva sylvestris</i> L. ....	10
<b>Tableau 4.</b> Composition chimique proximale des différentes parties de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	20
<b>Tableau 5.</b> Teneur des principaux minéraux présents dans la plante <i>Malva sylvestris</i> L. ....	21
<b>Tableau 6.</b> Composition en acides gras des différentes parties de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	22
<b>Tableau 7.</b> Teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	24
<b>Tableau 8.</b> Polyphénols détectés par HPLC dans les extraits méthanoliques des feuilles vertes de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	26
<b>Tableau 9.</b> Flavonoïdes détectés par HPLC dans les extraits méthanolique des feuilles vertes de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	27
<b>Tableau 10.</b> Résultats de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	28
<b>Tableau 11.</b> Inhibition de la prolifération cellulaire induite par les extraits de <i>Malva sylvestris</i> L. sur des lignées cellulaires cancéreuses. ....	30



## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> <i>Malva sylvestris</i> L.....	3
<b>Figure 2.</b> Différentes parties de <i>Malva sylvestris</i> L.....	4
<b>Figure 3.</b> (a)Fruits secs de la mauve, (b)Fruits immatures. ....	5
<b>Figure 4.</b> Protocole d'extraction des feuilles vertes de <i>Malva sylvestris</i> L. ....	14

## Liste des abréviations

<b>A549:</b>	Cancer des poumons
<b>AA:</b>	Acide ascorbique
<b>AG:</b>	Acide gallique.
<b>BHT:</b>	Hydroxytoluène butylé
<b>CE:</b>	Equivalent en catéchines
<b>DCM:</b>	Dichlorométhane
<b>DMSO:</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DPPH:</b>	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
<b>EAq:</b>	Extrait aqueux
<b>EC50:</b>	Concentration efficace
<b>EEth:</b>	Extrait éthanolique
<b>EHex:</b>	Extrait d'hexane
<b>EHMet:</b>	Extrait hydro-méthanolique
<b>EMet:</b>	Extrait méthanolique
<b>Epp:</b>	Extrait des polysaccharides purifiés
<b>FC:</b>	Folin-Ciocalteu
<b>FCS :</b>	Sérum de veau foetal
<b>FRAP:</b>	Pouvoir antioxydant réducteur ferrique
<b>GAE:</b>	Equivalent en acide gallique
<b>GC:</b>	Chromatographie en phase gazeuse
<b>Hep 2:</b>	Cancer d'épiglotte
<b>HepG2:</b>	Les cellules de carcinome hépato-cellulaire
<b>HPLC:</b>	Chromatographie liquide à haute performance
<b>IC 50:</b>	Concentration inhibitrice à 50 %
<b><i>M.sylvestris</i> L.:</b>	<i>Malva sylvestris</i> L.
<b>MCF-7:</b>	Carcinome mammaire humain
<b>RE:</b>	Equivalent en rutine
<b>QE:</b>	Equivalent en quercétine
<b>TFC:</b>	Teneur des composés flavonoïdes
<b>TPC :</b>	Teneur des composés polyphénoliques

**UV-VIS :** Ultra-Violet-Visible  
**WEHI:** Leucémie de Souris

# **Introduction**

## Introduction

Depuis des années, les problèmes de la sécurité alimentaire et nutritionnelle constituent une préoccupation majeure et un nouveau défi pour certains pays du monde. Environ deux milliards de personnes souffrent de carences en micronutriments qui les rendent plus vulnérables aux maladies, ce qui peut constituer un obstacle important à la croissance économique (Duguma, 2020). Ces populations sont souvent confrontées à des périodes où les rendements des cultures sont généralement insuffisants en raison de conditions météorologiques défavorables, ou des troubles dans l'agriculture ou le commerce et la distribution alimentaire résultants d'une instabilité sociale ou politique (Sena *et al.*, 1998). Dans les pays sous-développés, la pénurie, le coût élevé et l'approvisionnement irrégulier d'aliments sains ont conduit à la recherche de sources alternatives à faible coût d'aliments bons et nutritifs (Duguma, 2020).

Actuellement, la diversification des modes de production et de consommation pour inclure une plus grande gamme d'espèces végétales pourrait être considérablement bénéfique pour la santé et la nutrition, ainsi que pour les moyens de subsistance et la durabilité écologique (Romojaro *et al.*, 2013). Les gens se tournent parfois vers ce que l'on appelle les « plantes sauvages spontanées » ou les « repas de famine ». Ces plantes sauvages comestibles non cultivées sont une source de nourriture alternative saine et nutritive, dans des nombreuses régions rurales du monde, ces plantes ont joué un rôle important dans la satisfaction des besoins alimentaires et nutritionnels, ainsi que dans l'amélioration de la santé des populations défavorisées et dans l'amélioration de l'état de santé des communautés pauvres (Duguma, 2020). Cependant, la connaissance du contenu en facteurs nutritionnels critiques de ces aliments végétaux permet aux habitants de construire ou de compléter leur alimentation à partir de diverses sources végétales afin d'obtenir une alimentation équilibrée (Sena *et al.*, 1998).

Parmi ces nombreuses plantes sauvages comestibles notre étude se base sur la plante *Malva sylvestris* L. qui est une espèce de genre *Malva* et de la famille des Malvaceae. Plusieurs études épidémiologiques suggèrent que cette espèce a une longue histoire d'utilisation en raison de leur intérêt comme aliment et comme source de nutraceutiques et thérapeutique (Gasparettoa *et al.*, 2011). Les consommateurs apprécient de substituer les additifs synthétiques par des additifs naturels, ainsi les oxydants naturels présents dans les plantes sauvages pourraient être

une alternative possible pour les industries agro-alimentaires, ainsi que pour la gastronomie (Romero *et al.*, 2013). Les applications comestibles sont celles qui relèvent de la gastronomie populaire et se retrouvent typiquement dans le régime dit mineure. Traditionnellement, les utilisations thérapeutiques de la mauve commune ont été menées pour le traitement des problèmes spécifiques de nombreux systèmes physiologiques (Barros *et al.*, 2010).

L'objectif de notre travail qui est basé sur la recherche et la synthèse bibliographique est de collecter les recherches scientifiques qui visent à démontrer les propriétés nutritionnelles et les différentes activités biologiques de *Malva sylvestris* L. tel que l'activité antioxydante et antiproliférative.

Ce travail a été divisé en deux parties; la première est consacrée à une synthèse bibliographique, constituée d'un seul chapitre regroupant les principales informations sur la plante étudiée et leur composition chimique et leurs utilisations traditionnelles médicinales, culinaires et vétérinaires. La deuxième consiste à une partie expérimentale qui regroupe deux chapitres, le 2<sup>ème</sup> chapitre contient le matériel végétal utilisé, les méthodes d'extraction, et la composition chimique proximale, les tests utilisés pour évaluer la capacité antioxydante et l'activité antiproliférative de la mauve tandis que le 3<sup>ème</sup> chapitre résultats et discussions consiste à la comparaison et la discussion des résultats trouvés à partir des tests réalisés précédemment.

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Généralité sur la plante**

### **d'intérêt**



### 1.1. Description botanique

*Malva sylvestris* L. est une plante herbacée, généralement bisannuelle mais elle peut être éventuellement vivace par des bourgeons souterrains. Elle appartient à la famille des Malvaceae et mesure 30 à 120 cm de haut (Jan *et al.*, 2021).



**Figure 1.** *Malva sylvestris* L. (Ghédira et Goetz, 2016)

La racine principale de la mauve est pivotante et fusiforme, de couleur blanche, forte et riche en mucilage (Flores, 2011). La tige est dressée, rarement ascendante, majoritairement ramifiée, assez longs, simples, à 2 volets. Elle est généralement couverte de poils étoilés plus petits, formant un pelage densément poilu (Jan *et al.*, 2021). Les feuilles sont simples, membraneuses, veloutées des deux côtés et arrondies mesurent 7 à 15 cm de diamètre et présentent un limbe de la forme d'une demi-circonférence, il est fin et légèrement pubescent. Elles ont une couleur verte foncée même lorsqu'elles sont sèches, ont de très longs pétioles et sont orbiculaires à réniformes, palmatilobées la plupart du temps avec cinq lobes mais le nombre peut varier de 3 à 7 lobes. Les jeunes feuilles sont couvertes de poils des deux côtés, elles deviennent plus lisses en vieillissant. Les stipules sont oblongues à lancéolées, aiguës, verts pâles, à nervures parallèles, bord long-cilié (Jan *et al.*, 2021). Au fil du temps les feuilles se font dévorer par les insectes et les escargots ce qui donne à l'ensemble de la plante un aspect négligé (Flores, 2011). Les fleurs de *Malva sylvestris* L. sont nombreuses, rarement solitaires,

bisexuées, constituées d'un calicule de 3 pièces libres, oblongues ou elliptiques-lancéolées, suivi au-dessus par un calice à cinq sépales triangulaires pubescents et gamosépale à la base. La corolle est de taille 3 à 4 fois plus longue que le calice, présente 5 pétales violet pâle ou rose-violet vif parcourus par des veines foncées devenant bleu-violet au cours de la dessiccation. Elles mesurent 3 à 5 cm de large, presque inodores et ont un goût mucilagineux lorsqu'elles sont mâchées (Gasparettoa *et al.*, 2011).



**Figure 2.** Différentes parties de *Malva sylvestris* L. (A)Tige, (B)Fleurs, (C)Feuilles, (D)Racine (Flores, 2011).

Le nom khubbazi vient du fait que ses fruits ressemblent au pain arabe (khubz). Il a une forme de meule de fromage ronde et plate, déprimé au centre, de couleur blanche ou brune. Il est glabre à 10-12 méricarpes réticulés cohésifs, portant chacun une graine solitaire et réniforme, de 5 à 6 mm de diamètre et de couleur brun rougeâtre. Ces fruits sont souvent consommés beaucoup plus par les enfants (Lim, 2020).



**Figure 3.** (a)Fruits secs de la mauve (Akbar, 2020), (b)Fruits immatures (Gasparetto *et al.*, 2011).

### 1.2. Dénominations vernaculaires internationales

Les différents noms vernaculaires de la plante sont présentés dans le **tableau 1**.

**Tableau 1.** Noms vernaculaires de *Malva sylvestris* L. (Ghédira et Goetz, 2016)

Nom commun	Mauve
Français	Mauve des bois, Grande Mauve, mauve sauvage, fromageon
Anglais	Blue Mallow, High Mallow
Arabe	خبازة برية

### 1.3. Situation botanique de l'espèce *Malva sylvestris* L.

La classification de *Malva sylvestris* L. est montrée dans le **tableau 2**.

**Tableau 2.** Classification botanique de *Malva sylvestris* L. (Ghédira et Goetz, 2016).

<b>Règne</b>	Plantae (plantes)
<b>Super division</b>	Embryophyta
<b>Division</b>	Tracheophyta
<b>Subdivision</b>	Spermatophytina (Spermatophytes)
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Super ordre</b>	Rosanae
<b>Ordre</b>	Malvales
<b>Famille</b>	Malvaceae
<b>Genre</b>	<i>Malva</i> L.
<b>Espèce</b>	<i>Malva sylvestris</i> L.

#### 1.4. Distribution géographique et habitat

La grande mauve est une plante très commune en Europe. L'espèce peut être trouvée à l'état sauvage spontané de l'Europe tempérée à l'Afrique du Nord. Elle est native aussi en Europe occidentale, l'Himalaya et la Sibérie en Asie centrale. On la trouve aujourd'hui dans presque tous les régions tempérées et s'est naturalisé dans nombre d'entre eux, échappant à la culture dans l'est de l'Australie, aux États-Unis, au Canada et au Mexique (Lim, 2014).

Cette plante préfère les environnements humides, tels que les marais, les fossés, les mers et les prairies (Mousavi *et al.*, 2021). Il s'agit d'une plante nitrophile; préférant les sols pollués par les nitrates. Elle n'a pas été introduite directement ou indirectement par l'homme c'est pourquoi on la trouve sauvagement dans le bord des chemins ou le bord des cultures (Flores, 2011).

#### 1.5. Composition chimique

L'analyse phytochimique de *Malva sylvestris* L. a montré la présence des mucilages, des flavonoïdes (anthocyanines et anthocyanidines), polyphénols, terpénoïdes, vitamines, coumarines, et tanins.

##### 1.5.1. Mucilages

Les mucilages sont l'un des principales substances retrouvées dans toutes les parties de la mauve mais en général les feuilles sont les plus riches d'eux. Ce sont des polysaccharides hétérogènes acides et neutres, constituées principalement du galactose, glucose, mannose, rhamnose, arabinose et d'acides glucuronique et galacturonique (Ghédira et Goetz, 2016). Ils

ont une viscosité élevée, une faible vitesse de sédimentation et un pH légèrement basique (Lim, 2014).

Ces composés sont responsables des effets thérapeutiques de cette plante, principalement en raison de leurs activité anti-complémentaire, fonctionnent comme un agent antimicrobien essentiel en raison de sa résistance au pathogène *Verticillium dahliae* (Gasparetto *et al.*, 2011) et également comme un désirritant pour les muqueuses du côlon (Jan *et al.*, 2021).

### **1.5.2. Flavonoïdes**

La mauve contient des quantités importantes des flavonoïdes que l'on trouve principalement dans les feuilles et les fleurs, ce qui explique leur propriété thérapeutique (activité antioxydante). Les anthocyanines et les anthocyanidines donnent la coloration des fleurs qui attirent les pollinisateurs. Ils ont aussi un rôle de défense contre les agressions pathogènes et permet la protection vis-à-vis les U.V (Flores, 2011).

### **1.5.3. Terpénoïdes**

Tel que les monoterpènes, les diterpènes, les sesquiterpènes et nor-terpènes sont également présents chez la mauve. Le principal terpène contenu dans l'huile de graines est le terpinéol, tandis que les caroténoïdes qui sont des tétraterpénoïdes sont présents dans les feuilles, les fleurs et les fruits immatures. Parmi ces composés, la malvone A se distingue par sa résistance à la maladie *Verticillium dahliae*, elle est donc considérée comme un agent antibactérien important (Gasparetto *et al.*, 2011).

### **1.5.4. Vitamines**

Les vitamines tel que l'acide ascorbique (vitamine C), les tocophérols (vitamine E), des provitamines (vitamine A, vitamine B12, B1, B2) (Barros *et al.*, 2010). L'acide ascorbique a été détecté à des niveaux plus importants dans les fleurs tandis que les tocophérols sont présents par des concentrations élevées dans les feuilles. Ces vitamines soulignent l'importance de *M. sylvestris* L. en tant qu'agent antioxydant contre les espèces réactives de l'oxygène et permet la prévention du cancer dans le corps humain (Gasparetto *et al.*, 2011).

### **1.5.5. Enzyme**

L'enzyme sulfite oxydase est responsable de la dernière étape de la dégradation oxydative des acides aminés soufrés. Cette enzyme est physiologiquement importante car son absence peut entraîner la mort (Mousavi *et al.*, 2021).

## 1.6. Utilisations traditionnelles

Pendant des siècles, la phytothérapie est considérée comme partie de la médecine populaire ou traditionnelle qui implique l'utilisation des plantes médicinales ainsi que leurs produits pour guérir des troubles de plusieurs systèmes du corps. De nos jours nombreuses recherches ont démontré la pertinence mondiale de *Malva sylvestris* L. Toutes les parties de la mauve ont des usages médicaux et sont appliqués dans infusions, décoctions, cataplasmes, liniments, lotions, pommades, bains de tisane et gargarismes pour soulager ou prévenir de nombreuses maladies humaines ou animales et elle est fréquemment utilisée aussi en cuisine (Gasparetto *et al.*, 2011).

### 1.6.1. Usages médicaux

La mauve a été citée avec la plus grande fréquence relative et importance culturelle en tant que plante médicinale en Iran, les infusions de fleurs et de feuilles ont été utilisées pour traiter les fébrifuges, les affections respiratoires, les dépuratifs, les aphtes, ictère, pharyngite, ulcères aphteux, la constipation chez les jeunes enfants en tant que laxatif modéré, elle est considérée aussi comme antitussif, sédatif et lubrifiant et immunomodulant (Azab, 2017).

En Italie, la décoction de la plante entière se gargarise pour soulager les inflammations des voies respiratoires supérieures tel que: le rhume, la rhinite, les maux de gorge, les inflammations buccales (les aphtes, maux de dents, les inflammations gingivales), la toux; grâce à ses propriétés anti-inflammatoire, antitussif et analgésique. Elle est également recommandée pour soigner les irritations cutanées comme: l'acné, les ulcères, les furoncles, le blastème, les brûlures, les plaies hémorroïdes, les verrues, où la teinture a été administrée par voie topique (Azab, 2017).

L'infusion des fleurs en Algérie a été appliquée pour traiter les abcès, les furoncles, les gonflements, les piqûres d'insectes, adoucissante, antiprurigineux, trophique protecteur d'affections dermatologiques, antiseptique, astringente, les coliques abdominales, les otites, l'asthme, la constipation, les rhumes, les aphtes, antiseptique pour le système reproducteur (Azab, 2017).

En Turquie, les parties aériennes de la mauve ont été employées pour guérir les blessures, les abcès, vermifuge, mal de gorge, oreillons, plaies, les troubles gastro-intestinaux, les troubles hépatiques pour minimiser les dommages au foie causés par le tétrachlorure de carbone, cancer, diabète, problèmes gynécologiques, les infections urinaires et les infections des ongles (Azab, 2017).

### 1.6.2. Utilisations culinaires

En plus que cette plante est employé dans la médecine traditionnelle, elle est incluse aussi dans les usages comestibles telles que:

- Les jeunes feuilles se consomment crues comme salade et les fleurs sont ajoutées pour la garniture.
- Les feuilles et les branches sont utilisées dans les soupes ou comme légumes bouillis.
- Le thé peut être cuité à partir de feuilles, fleurs et les racines.
- Les pigments des fleurs sont utilisés comme colorant naturel pour les aliments, les flavonoïdes/anthocyanes sont la principale source de ces couleurs.
- Les graines sont utilisées pour aromatiser.
- Les fruits immatures sont sucés ou mâchés par les enfants, les bergers et les chasseurs (Lim, 2014).

### 1.6.3. Utilisations vétérinaires

*M. sylvestris* L. a été utilisée pour plusieurs raisons vétérinaires. Des décoctions de plantes entières, parfois bouillies dans de l'huile peuvent être administrées aux animaux pour soigner les coliques et désengorger le ruminant. La plante écrasée a été utilisée pour vider les abcès chez le bétail, et pour traiter les maladies de la peau, de la reproduction et mentales. Les feuilles se sont révélées assez efficaces dans le traitement de la mammite chez les bovins. En plus d'être utilisées comme laxatifs chez les chevaux, antimastitique et pour réduire la production de méthane chez les ruminants par ingestion directe. Les infusions et décoctions de parties aériennes fleuries ont montré une action contre l'inflammation, l'infection des plaies, la diarrhée chez les jeunes veaux, les difficultés respiratoires chez les chevaux et l'inflammation intestinale chez les vaches et les truies. Elle peut être utilisé comme galactagogue chez les truies lorsqu'il est utilisé comme bain, et la préparation de lavement peut être utilisée pour traiter la fièvre aphteuse et comme antiseptique (Gasparettoa *et al.*, 2011).

# **Partie expérimentale**



# **Chapitre 2**

## **Matériels et Méthodes**

## 2.2. Matériels

### 2.2.1. Matériels végétales

Le matériel végétal est constitué des différentes parties (feuilles, fleurs, tiges, pétioles, graines) de la plante *Malva sylvestris* L. (**Tableau 3**), qui ont été récoltées dans différents pays pendant différentes périodes de l'année.

**Tableau 3.** Dates et lieux de récolte des différentes parties *Malva sylvestris* L.

Références	Partie récolté	Date	Lieu	Traitement
El Sayed <i>et al.</i> , (2018)	Feuilles vertes	2015	La ville d'Etay Elbarod gouvernorat El Bahera, Egypte	Les feuilles ont été nettoyées à l'eau et séchées dans un four à 40°C à 50 °C puis broyées à l'aide d'un mixeur électrique.
Mihaylova <i>et al.</i> , (2015)	Feuilles et fleurs fraîches	Mai 2014	Région de Plovdiv Bulgarie	Non mentionner
Ben Saad <i>et al.</i> , (2016)	Feuilles fraîches	Mars 2014	Zone rurale autour de Gafsa en Tunisie	Les feuilles ont été nettoyées à l'ombre et broyées en poudre fine.
Tabaraki <i>et al.</i> , (2011)	Les feuilles et les pétioles	Septembre 2009	Ilam, Dehloran et Dezful en Iran	Les tissus ont été lavés à l'eau distillée, séparés en feuilles et pétioles, et stockés à -18°C.
Delfine <i>et al.</i> , (2017)	Les parties aériennes	Saison de croissance 2009-2010	La région de Molise (centre-sud Italie)	Les parties aériennes ont été séchées à l'air à température ambiante et soumise à un broyage en poudre fine.
Beghdad <i>et al.</i> , (2013)	Feuilles, fleurs, tiges et graines	Janvier 2010	Marché local nord-ouest de l'Algérie	Les parties collectées ont été lavées et séchées, coupées en carrés et séchées à l'étuve à 60°C pendant au moins 24 h, puis broyées.

## 2.2.Méthodes

### 2.2.1. Détermination de la composition chimique proximale

Les échantillons ont été analysés pour leur composition chimique (humidité, protéines, matières grasses, glucides, cendres, fibres) à l'aide des méthodes standard de l'AOAC (Association officielle des chimistes analytiques). Ces méthodes ont été utilisées par Barros *et al.* (2010); Tabaraki *et al.* (2011); El Sayed *et al.* (2018).

#### 2.2.1.1.Protéines

La technique Kjeldahl a été utilisée par Barros *et al.* (2010) et Tabaraki *et al.* (2011) pour déterminer la teneur en protéines brutes des échantillons, qui est basée sur l'évaluation du taux d'azote et le facteur 6,25 a été utilisé pour convertir l'azote en protéines brutes.

#### 2.2.1.2.Matière grasse brute

La matière grasse a été déterminée à l'aide d'un appareil Soxhlet par Tabaraki *et al.* (2011), ainsi que Barros *et al.* (2010) en utilisant l'éther de pétrole comme solvant d'extraction.

#### 2.2.1.3.Teneur en cendres

La teneur en cendres a été déterminée par incinération à  $600 \pm 15^\circ\text{C}$  pour Barros *et al.* (2010), tandis que Tabaraki *et al.* (2011) a incinéré les échantillons à  $550^\circ\text{C}$ .

#### 2.2.1.4. Carbohydrates

Les carbohydrates ont été calculés par Barros *et al.* (2010) et El Sayed *et al.* (2018) selon l'équation suivante:

$$\text{Glucides totaux} = 100 - (\text{g protéines} + \text{g lipides} + \text{g cendres})$$

### 2.2.2. Analyse des minéraux

Tabaraki *et al.* (2011) et Ben Saad *et al.* (2016) ont utilisé la même méthode d'analyse qui est la Spectrophotométrie d'absorption atomique (AAS) à l'aide d'un appareil Chemtech CTA-2000, England (Tabaraki *et al.*, 2011) et l'appareil analytique Jenna model NovAA400 (Ben Saad *et al.*, 2016) pour déterminer les différents constituants minéraux suivants: Fer (Fe), magnésium (Mg), calcium (Ca), potassium (K), zinc (Zn) et sodium (Na) retrouvés dans les échantillons de la mauve, sachant que Ben Saad *et al.* (2016) l'a fait après minéralisation nitroperchlorique ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ) alors qu'une incinération sèche a été utilisée pour digérer les échantillons, qui ont ensuite été dissous dans du HCl 1 M pour Tabaraki *et al.* (2011).

Contrairement aux deux autres études Hiçsönmez *et al.* (2008) ont utilisé la technique ICP-OES à l'aide d'un Spectrophotomètre Perkin-Elmer 2001 pour la détermination des éléments majeurs et mineurs dans la *Malva sylvestris* L. La spectroscopie d'émission (ICP: Inductively

Coupled Plasma) utilise un plasma induit par un générateur de haute fréquence comme source de rayonnement, et c'est l'outil idéal pour l'analyses de métaux en solution.

Les échantillons ont été digérés par deux méthodes différentes en utilisant un mélange d'acide nitrique et peroxyde d'hydrogène ou bien un mélange acide nitrique avec l'acide hydrochlorique.

### 2.2.3. Analyse des acides gras

Les acides gras ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse par Delfine *et al.* (2017). L'identification a été réalisé par comparaison des indices de rétention ( $K_i$ ) des différents acides gras avec ceux des composés authentiques disponibles dans les laboratoires. Dans les mêmes conditions de travail, les indices de rétention ont été calculés en référence à une séquence homologue de n-alcanes (C8-C24). Leurs spectres de masse sur les deux colonnes ont été comparés à ceux contenus dans les bibliothèques NIST 02, Wiley 275 pour une identification plus approfondie. Les pourcentages relatifs des composants ont été calculés sur la base des surfaces des pics GC en utilisant des facteurs de correction.

Après trans-estérification, les acides gras ont été mesurés par Barros *et al.* (2010) à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC-FID) /colonne capillaire). Les acides gras obtenus après extraction au Soxhlet ont été méthylés avec 5 ml de mélange méthanol, acide sulfurique, toluène (2/1/1 v : v) dans un bain à 50 °C et 160 rpm pendant au moins 12h puis 3 ml d'eau déminéralisée ont été ajoutés pour obtenir une séparation de phases. Les FAME (Acides gras méthyle esters) ont été récupérés par agitation dans un vortex avec 3 ml d'éther diéthylique, et la phase supérieure a été passée à travers une micro-colonne de sulfate de sodium anhydre pour éliminer l'eau. L'échantillon a été récupéré dans un flacon en Teflon, et avant injection, il a été filtré avec un filtre nylon Milipore 0,2  $\mu$ m. Un appareil DANI modèle GC 1000 avec un injecteur split/splitless, un détecteur à ionisation de flamme (FID) et une colonne Macherey – Nagel (30 m 0,32 mm ID 0,25  $\mu$ m df) a été utilisé pour examiner le profil des acides gras. Les temps de rétention relatives des pics FAME des échantillons et des standards ont été comparées pour identifier les acides gras. Le logiciel CSW 1.7 (DataApex 1.7) a été utilisé pour enregistrer et traiter les données, qui étaient représentées en pourcentages relatifs de chaque acide gras.

Pour Tabaraki *et al.* (2011), 50 mg d'huile extraite ont été saponifiés avec 5 ml d'une solution méthanolique de NaOH (2%) en chauffant au reflux pendant 10 min à 90 °C. Après addition de 2,2 ml de BF<sub>3</sub>-méthanol, l'échantillon a été bouilli pendant 5 min. Les FAME ont été extraits d'un mélange de sel saturé avec de l'hexane. Un chromatographe en phase gazeuse (modèle UNICAM 4600, Cambridge, Royaume-Uni) avec un détecteur FID a été utilisé pour

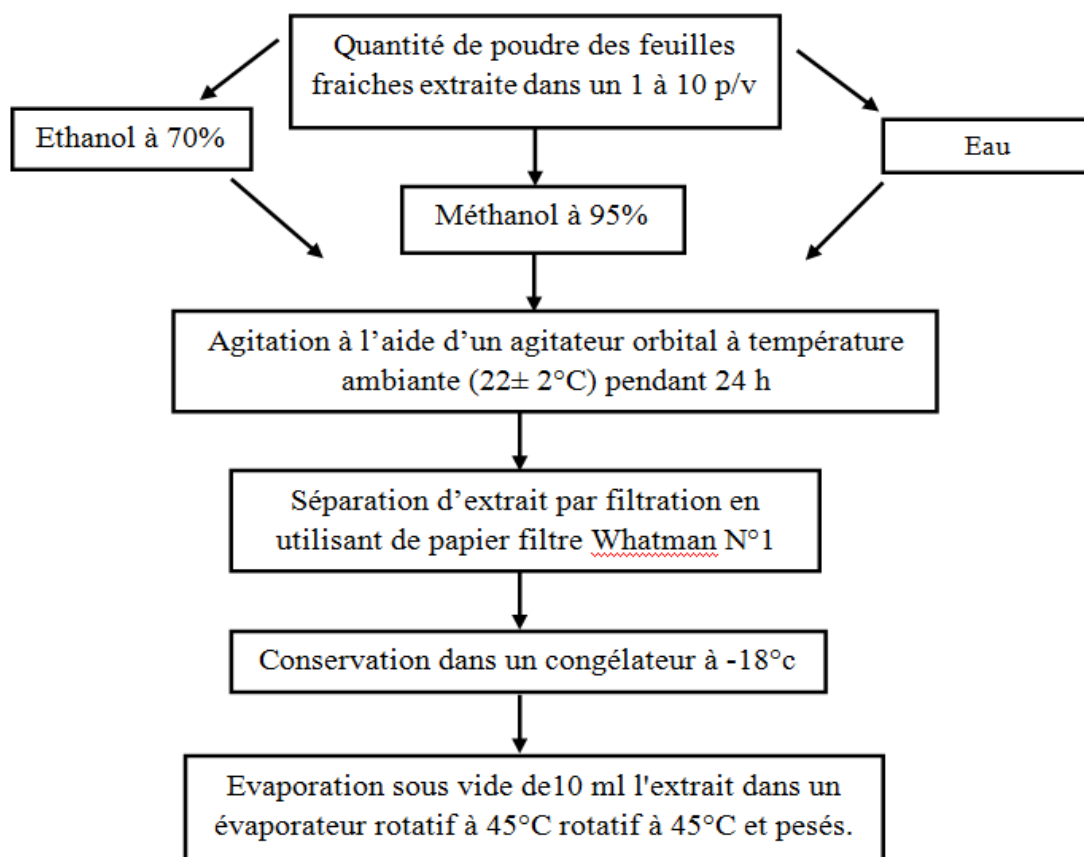
examiner les FAME. Une colonne de silice fondue BPX70 (30 m 0,22 mm i.d. 25 m d'épaisseur de film) a été utilisée pour la séparation des acides gras. Les étalons internes (acide pentadécanoïque) ont été utilisés dans l'analyse quantitative.

#### 2.2.4. Extraction

Trois types d'extractions différents ont été réalisés sur les feuilles et les fleurs fraîches par Mihaylova *et al.* (2015):

- **Décoction:** Il s'agit d'une extraction par ébullition du matériel végétal pendant 30 min avec de l'eau distillée.
- **Infusion:** Il s'agit d'une extraction en faisant bouillir de l'eau puis en la versant sur le matériel végétal, en le laissant macérer dans le liquide pendant 20min.
- **Extraction assistée par micro-ondes (MAE):** Les expériences ont été réalisées avec de l'eau comme solvant dans un four à micro-ondes domestique (LG MB4047C) avec une fréquence des ondes de 2450 MHz et une puissance de sortie de 800 W.

Pour El Sayed *et al.* (2018), une quantité de poudre des feuilles fraîches est soumise à une extraction sélective liquide-solide en utilisant trois solvants de différentes polarités (éthanol à 70 %, méthanol à 95 % et eau) à température ambiante pendant 24 heures, la **figure 1** résume le protocole d'extraction des feuilles vertes de *Malva sylvestris* L. Après cela, l'extrait a été filtré pour le séparer et conservé jusqu'à son utilisation. Un volume de 10 ml de l'extrait a été évaporés sous vide à l'évaporateur rotatif à 45°C et pesés pour estimer le rendement d'extraction des échantillons.



**Figure 4.** Protocole d'extraction des feuilles vertes de *Malva sylvestris* L. (El Sayed *et al.*, 2018).

Une extraction par méthanol a été réalisée par Ben Saad *et al.* (2016), avec 30g de la poudre fine mélangée avec 500 ml de méthanol à 50%, pendant 24h à température ambiante sous agitation magnétique.

### 2.2.5. Dosage des composés phénoliques

#### 2.2.5.1. Teneur totale en polyphénols (TPC)

L'examen quantitatif de la teneur en phénol est couramment effectué à l'aide du spectrophotomètre UV-Visible. Le TPC dans l'extrait de plante a été mesuré à l'aide d'une technique colorimétrique Folin-Ciocalteu (FC); qui est un réactif très sensible qui contient du phosphomolybdate et du phosphotungstate, qui sont combinés pour former un complexe bleu en présence d'échantillons antioxydants, la couleur bleue a été mesurée par spectrophotométrie à 750-765 nm, en utilisant l'acide gallique (GA) comme standard de calibration.

Ce test a été utilisé par Tabaraki *et al.* (2011); Beghdad *et al.* (2013); Mihaylova *et al.* (2015); El Sayed *et al.* (2018); Boutennoun *et al.* (2019) et Irfan *et al.* (2021) avec quelques

variations dans les volumes et concentration des réactifs, les temps d'incubations et la longueur d'onde du spectrophotomètre.

Pour Tabaraki *et al.* (2011), 50 µl d'extrait éthanolique ont été combinés avec 2,5 ml (0,2 N) de réactif Folin-Ciocalteu (FC) dilué 10 fois, après 5 minutes, 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5 % p/v) ont été ajoutés. Pendant 15 minutes, le mélange a été incubé dans un bain-marie (45°C). Un spectrophotomètre UV-Vis (série 3000, Cecil, Cambridge, Angleterre) a été utilisé pour mesurer l'absorbance des échantillons à 765 nm. Les mesures ont été prises en triple et les résultats ont été exprimés en équivalents d'acide gallique (GAE) poids sec de matière végétale.

Dans l'étude de Boutennoun *et al.* (2019), une aliquote de 0,2 ml de l'extrait ou le standard a été mélangé avec 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange a été laissé au repos pendant 5 min à température ambiante, suivie de l'ajout de 1.5 ml d'une solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7.5%. Ensuite, le mélange a été agité puis incubé à température ambiante. Après 90 min, son absorbance à 750 nm a été mesuré contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UV mini 1240 (USA) dans laquelle l'acide gallique (GA) a été utilisé comme standard pour faire la courbe d'étalonnage. Les analyses ont été effectuées 5 fois et la valeur moyenne a été calculée.

#### **2.2.5.2. Teneur total en flavonoïdes (TFC)**

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par une méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium.

Ce test a été utilisé par Barros *et al.* (2010); Tabaraki *et al.* (2011); Beghdad *et al.* (2013); Boutennoun *et al.* (2019) et Irfan *et al.* (2021) avec quelques modifications.

Dans l'étude de Tabaraki *et al.* (2011), une quantité de 250 µl de chaque extrait ou solution standard a été mélangée avec 1.25 ml d'H<sub>2</sub>O doublement distillée et ensuite avec 75 µl de solution de nitrite de sodium NaNO<sub>2</sub> (5%). Après 6 min, 150 µl d'une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub> à 10%) a été ajoutée et laissée reposer pendant 6 min supplémentaires. Un volume de 0.5 ml de solution d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1M) a été ajouté au mélange réactionnel et le volume final a été complété jusqu'à 2.5 ml avec de l'eau distillée. Le mélange a été vortexé puis laissé au repos pendant 15 min. Dans un spectrophotomètre, l'intensité de la couleur rose était mesurée à 510 nm. La catéchine a été utilisé pour construire la courbe standard.

Barros *et al.* (2010) ont utilisé tous ces étapes et réactifs avec quelques variations dans les volumes, tandis que Irfan *et al.* (2021) ont utilisé la rutine comme solution standard.

Beghdad *et al.* (2013) et Boutennoun *et al.* (2019) ont mélangé un volume d'extrait brute ou d'étalon avec un volume de trichlorure d'aluminium 2% puis ils ont mesuré l'absorbance à

430 nm sachant que Beghdad *et al.* (2013) ont utilisés la rutine comme standard et Boutennoun *et al.* (2019) ont utilisé la quercétine.

### 2.2.6. Analyse chromatographique par HPLC

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (High-performance liquide chromatographie: HPLC) de l'extrait de *M. sylvestris* L. a révélé la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes.

Pour El Sayed *et al.* (2018), les composés phénoliques et les flavonoïdes de l'échantillon de mauve ont été identifiés et quantifiés à l'aide de la technique HPLC-DAD. L'analyse HPLC a été réalisée avec un système de chromatographie liquide Hewlett Packard Series 1050 avec un détecteur à barrette de diodes (DAD). Les chercheurs ont utilisé une colonne Lichrosorb RP18 (diamètre interne de 4,0 mm x 250 mm; taille des particules 5 m) pour la séparation des composés phénoliques. L'élution a été effectuée à un débit de 1 ml/min avec une phase mobile d'eau/acide acétique (98:2, vol/vol) (solvant A) et de méthanol/acétonitrile (50:50, vol/vol) (solvant B).

Ben Saad *et al.* (2016) ont utilisé la même technique avec un équipement différent, qui est un système HPLC Varian Prostar avec un détecteur à barrette de diodes ProStar 330. Une colonne en phase inverse C-18 à particules de 5 mm (Zorbax, 250 4 mm) a été utilisée pour séparer les produits chimiques actifs par HPLC. Pour l'élution, ils ont utilisé un solvant A: eau et acide acétique (98:2 v/v) et un solvant B : eau, acétonitrile et acide acétique (58:40:2 v/v) comme phase mobile. Le gradient d'élution utilisé était de 0 à 80 % de B pendant 55 minutes, de 80 à 100 % de B pendant 15 minutes et de 100 à 0 % de B pendant 5 minutes. Les acides phénoliques ont été identifiés à 280 nm tandis que les flavonoïdes ont été identifiés à 360 nm sur la base d'une comparaison entre le temps de rétention ainsi que les spectres de masse des pics dans les extraits injectés et ceux des composés standards HPLC.

### 2.2.7. Activité antioxydants

La capacité antioxydants des extraits de *Malva sylvestris* L. a été évaluée dans les différentes études par de deux testes visant la détermination du piégeage du radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), et le pouvoir antioxydants réducteur ferrique (FRAP).

#### 2.2.7.1. Piégeage des radicaux libres DPPH

Sur la base du principe qu'un donneur d'hydrogène -H est un antioxydant, des tests de piégeage du DPPH ont été utilisés pour mesurer la capacité antioxydants. Le potentiel antioxydants est proportionnel à la quantité de radicaux DPPH qui ont disparus de l'échantillon; ce qui conduit un changement de sa couleur du violet au jaune.



Dans l'étude de Tabaraki *et al.* (2011), 1 ml de l'extrait à diverses concentrations a été ajouté à une solution de DPPH 0,004 % dans du méthanol et le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et laissé reposer à température ambiante pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance a été enregistrée par spectrophotomètre à 517 nm où le DPPH présente un fort maximum d'absorption. L'inhibition des radicaux libres (I %) a été calculée à l'aide de la formule suivante:

$$I \% = (\text{Ablanc} - \text{Aéchantillon}) / \text{Ablanc} \times 100$$

- Ablanc est l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sauf le composé à tester).
- Aéchantillon est l'absorbance de l'extrait à tester (l'échantillon).

Une mesure quantitative est déterminée graphiquement des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés, c'est la concentration inhibitrice à 50 % (IC50). Elle représente une mesure de l'efficacité d'un composé ou d'un extrait donné pour réduire 50% du radical DPPH. L'hydroxytoluène butylé (BHT) a été utilisé comme contrôle positif. L'IC50 pour le BHT était de  $0,184 \pm 0,011 \text{ mg.ml}^{-1}$ .

Bien que le principe soit le même pour les autres articles Barros *et al.* (2010); Ben Saad *et al.* (2016) et Boutennoun *et al.* (2019), une variété de protocole existe pour ce test, utilisant différents volumes et concentrations des réactifs.

#### **2.2.7.2. Pouvoir antioxydants réducteur ferrique (FRAP)**

Ce test est basé sur la réduction des ions ferriques ( $\text{Fe}^{+3}$ ) qui sont présents dans le composé  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en ions ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ) en présence d'un antioxydant qui possède le pouvoir de céder des électrons.

Pour Boutennoun *et al.* (2019), 1ml d'extrait ou du standard ( $\alpha$  tocophérol) à différentes concentration (25 à 125 $\mu\text{g/ml}$ ) a été ajouté à 1ml de tampon phosphate (0.2M, pH =6.6) et 1ml de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) 1%. Les mélanges ont été incubés à 50° C pendant 20 min puis 1ml d'acide trichloracétique 10% (p/v) a été ajouté et ensuite centrifugés 3000 g pendant 10 min. Le surnageant 1.5 ml a été mélangé avec 1.5 ml d'eau distillé et 150 $\mu\text{l}$  de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) 0.1%. L'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UV mini 1240 (USA).

Ben Saad *et al.* (2016) ont aussi utilisé cette méthode avec quelques variations dans les volumes et ils ont utilisé l'acide ascorbique comme standard.

Une variante du même teste a été utilisée dans l'étude de Tabaraki *et al.* (2011). Cette variante est basée sur la réduction du complexe  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ (2, 4,6-tripiridyl-2-triazine) dans des conditions acides. A 593 nm, l'augmentation de l'absorbance de la forme ferreuse de

couleur bleue (complexe  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) est détectée. Le réactif FRAP fraîchement préparé comprenait un volume de TPTZ (40mM d'HCL), un volume de  $\text{FeCl}_3$ (20mM) et 10 volumes de tampon acétate (300mM). Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de chaque extrait éthanolique dilué a été ajouté à 3 ml de réactif FRAP, agité et incubé à 37°C pendant 30min. Absorbance à 593 nm a été déterminée par rapport à un blanc d'eau distillée.

### 2.2.8. Activité anti-proliférative

Dans cette partie nous nous intéressons à l'étude de l'activité antiproliférative *in vitro* des différents extraits de *Malva sylvestris* L.

Boutennoun *et al.* (2019) ont évaluée l'activité antiproliférative en utilisant trois lignées cellulaire cancéreuses *in vitro*; deux lignées cellulaires cancéreuses humaines MCF-7, Hep2 et une lignée cellulaires cancéreuse de souris WEHI, des macrophages de souris et des lymphocytes humains ont été utilisés comme des cellules témoins saines. Toutes les lignées cellulaires cancéreuses ont été cultivées dans un milieu RPMI-1640 et complétées par 10% de FCS, 100 unité/ml de pénicilline et 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de streptomycine. Les cellules ont été incubées à 37°C dans 95% d'humidité et 5% de  $\text{CO}_2$  pendant 3 jours jusqu'à la formation de monocouche confluente de cellules. Le test MTT (le bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphényltétrazolium)) a été utilisé pour évaluer les activités antiprolifératives de l'extrait dans les cellules. Dans une plaque de 96 puits les monocouches ont été trypsinés et placés dans 100  $\mu\text{l}$  de milieu. Le milieu a été retiré après une nuit d'incubation à 37°C dans un environnement humidifié avec 5% de  $\text{CO}_2$ . Puis différentes quantités d'extrait de plante ont été ajoutés séparément (5, 25, 50, 125, 250 et 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dissoutes dans du DMSO (Diméthylsulfoxyde) dilués avec du RPMI-1640. La colchicine a été utilisée comme témoin positif et les cellules témoins ont été cultivés dans un milieu contenant une quantité de solvant identique sans les ingrédients du test. Après 68 heures d'incubation à 37°C avec 5% de  $\text{CO}_2$ , le milieu a été retiré et 20 $\mu\text{l}$  de 5 mg/ml de MTT ont été ajoutés à chaque puits et cultivées à nouveau pendant 4 h puit on a éliminé le surnageant. Pour dissoudre les cristaux de formazan, 100  $\mu\text{l}$  de DMSO ont été ajoutés à chaque puits et agités pendant 15 minutes. L'absorbance à 570 nm a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques. Toutes les expériences ont été réalisées en triple. La cytotoxicité (%) des échantillons contre la prolifération de MCF-7, Hep2 et WEHI a été calculé à l'aide de la formule ci-dessous:

$$\% \text{ Cytotoxicité} = [(\text{Contrôle d'absorbance} - \text{Test d'absorbance}) / \text{Contrôle d'absorbance}] \times 100$$

En fin pour Rostami *et al.* (2017), dans une plaque de 96 puits à une densité de  $1 \times 10^4$  (cellules/puits) les lignées cellulaires cancéreuses HepG2 et A549 ont été dissoutes dans 100  $\mu$ l de milieu de culture. Pour adhérer, les cellules ont été traitées à 37°C pendant 24 heures, après traitement par des concentrations d'extrait polysaccharidique de *Malva sylvestris* L. (50,100, 200, 300, 400, 500, 1000  $\mu$ g/ml) pendant 24 h. Les cellules non traitées ont servi de témoin négatif. A la fin du traitement, le milieu de chaque puits a été retiré et 100  $\mu$ l de MTT (1 mg/ml) ont été ajoutés. Après 4 heures supplémentaires d'incubation, le surnageant a été aspiré et 150  $\mu$ l de DMSO ont été ajoutés pour dissoudre complètement les cristaux de formazan. L'absorbance à 570 nm a été déterminée à l'aide d'un lecteur de microplaques. L'équation suivantes a été utilisé pour calculer le taux d'inhibition tumorale des MSP purs.

$$\text{Taux d'inhibition \%} = (1 - (A1/A0)) \times 100$$

# **Chapitre 3**

## **Résultats et discussions**

### 3.1. Composition chimique proximale

La composition chimique proximale effectuée par Barros *et al.* (2010); Tabaraki *et al.* (2011) et El Sayed *et al.* (2018) est présentée dans le **tableau 4**. Les résultats ont été exprimés en pourcentage %, tandis que la valeur énergétique est en kcal/100 g de poids sec.

**Tableau 4.** Composition chimique proximale des différentes parties de *Malva sylvestris* L.

Références	Partie utilisée	Humidité	Glucides	Protéines	Matière grasse	Cendres	Fibres	Énergie
Barros <i>et al.</i> , (2010)	Feuilles	76.30	71.46	12.25	2.76	13.53	/	359.72
	Fleurs	72.49	78.12	8.50	2.84	10.54	/	372.02
	Fruits immatures	45.60	74.96	3.26	8.96	12.83	/	393.45
	Tiges	77.26	71.89	14.26	3.09	10.76	/	372.43
Tabaraki <i>et al.</i> , (2011)	Feuilles	83.85	/	2.81	0.24	13.53	3.76	/
	Pétioles	82.65	/	2.92	0.12	14.57	4.76	/
El Sayed <i>et al.</i> , (2018)	Feuilles	74.22	83.34	8.50	/	4.58	5.65	/

Différentes parties de la plante (Feuilles, fleurs, fruits immatures et tiges fleuries feuillues) ont été utilisées par Barros *et al.* (2010) pour évaluer la composition chimique proximale. D'après les résultats de **tableau 2** on trouve que les tiges fleuries feuillées ont la teneur la plus élevée en humidité avec 77,26 % de poids frais et en protéines avec 14,26% de poids sec. Par ailleurs les fruits immatures de *Malva sylvestris* L. ont la valeur énergétique la plus élevée (393,45 kcal/100g de poids sec), en raison de la grande teneur en matière grasse (8,96% de poids sec). La teneur en cendres présente dans les feuilles (13,53% de poids sec) est supérieure à celle des autres parties de la mauve et concernant la teneur en glucides on trouve que les valeurs sont très proches dans les différentes parties de la plante sachant que les fleurs représentent la valeur la plus élevée (78,12% de poids sec), par contre les feuilles vertes examinées par El Sayed *et al.*, (2018) représentent la partie la plus riche en glucides avec un pourcentage égal à 83.34% de poids frais. Cependant les feuilles étudiées par Tabaraki *et al.* (2011) ont un taux plus élevé en humidité égal à 83.85% de poids frais et en matière grasse

égale à 0.24 % tandis que sa teneur en protéines, en cendres et en fibres est de 2.92; 14.57% et 4.76 %, respectivement, est plus élevée dans les pétioles.

Ces résultats suggèrent que les parties vertes de la mauve notamment les feuilles sont très riches en glucides et en humidité, avec une quantité modérée de protéines, cendres et fibres.

Les résultats montrent que la consommation des feuilles de la mauve peut être intéressante pour leur nutraceutique, leur contenu en glucides et en humidité la plus élevé, ainsi que la consommation de leurs fruits immatures qui contient une grande valeur énergétique, donc on peut la manger comme collation pour le but particulier de satisfaire la faim et donner l'énergie (Barros *et al.*, 2010).

### 3.2. Analyse des minéraux

**Tableau 5.** Teneur des principaux minéraux présents dans la plante *Malva sylvestris* L.

Références	Hiçsönmez <i>et al.</i> , (2008) (mg/kg de poids sec)		Tabaraki <i>et al.</i> , (2011) (mg/kg de poids frais)		Ben Saad <i>et al.</i> , (2016) (mg/ml)
	Feuilles		Feuilles	Pétioles	Feuilles
	Méthode 1	Méthode 2			
<b>Fe</b>	84.2	105.7	4.39	3.87	0.05
<b>Mg</b>	2.246	1.717	149.47	128.47	125.07
<b>K</b>	371.3	653.8	539.94	304.78	670
<b>Ca</b>	12.920	9.539	689.74	771.10	96.02
<b>Zn</b>	14.1	10.2	0.34	0.25	0.25
<b>Na</b>	34.7	50.7	209.60	171.18	705.28

Concernant l'analyse des éléments minéraux des différentes parties de la plante *Malva sylvestris* L. Hiçsönmez *et al.* (2008) ont analysé les feuilles de la mauve par deux méthodes I et II (mentionnées dans la partie matériel et méthode) et les résultats analytiques sont présentés dans le **Tableau 5**. Le contenu en potassium (K) et en fer (Fe) était très élevé selon les deux méthodes, sachant que le potassium représente l'élément le plus abondant [MI (371.3 mg/kg de poids sec), M II (653.8 mg/kg de poids sec)]. Les autres éléments sont classés par ordre décroissant de quantité: Sodium (Na) > zinc (Zn) > calcium (Ca) > magnésium (Mg). Tandis que Tabaraki *et al.* (2011) ont montré que les éléments majeurs dans les deux parties examinées (Feuilles et pétioles) sont le calcium (Ca), potassium (K), sodium (Na) et le magnésium (Mg), noté que le calcium (Ca) représente la teneur la plus élevée dans les feuilles et les pétioles

(689.74 mg/100g de poids frais et 771.10mg/100g de poids frais, respectivement). De plus une quantité négligeable en fer et en zinc a été détectée dans les deux parties analysées. Le même résultat a été obtenu par Ben Saad *et al.* (2016) sachant que le zinc et le fer ont une quantité de 0.25mg/ml et de 0.05 mg/ml, respectivement. Les feuilles analysées par Ben Saad *et al.* (2016) contiennent aussi une forte concentration en sodium (705.28mg/ml) et en potassium (670mg/ml), suivi par des concentrations modérées en calcium et en magnésium.

Les résultats des analyses approximatives des constituants minéraux en Turquie des feuilles de *Malva sylvestris* L. (Hiçsönmez *et al.*, 2008) comparés à ceux obtenues dans les autres études en Iran (Tabaraki *et al.*, 2011) et en Tunisie (Ben Saad *et al.*, 2016), ont montré une certaine variation dans la composition sachant que le potassium (K) est l'un des macronutriments les plus abondants et essentiels à la croissance des plantes. Cette variation peut avoir une certaine relation avec l'environnement de croissance de la mauve.

### 3.3. Analyse des acides gras

**Tableau 6.** Composition en acides gras des différentes parties de *Malva sylvestris* L.

Références	Barros <i>et al.</i> , (2010)				Tabaraki <i>et al.</i> , (2011)		Delfine <i>et al.</i> , (2017)
	Feuilles	Fleurs	Fruits immatures	Tige	Feuilles	Pétioles	/
<b>Acide pentadécanoïque</b>	0.06	0.07	0,19	0.04	7,71	1.65	/
<b>Acide palmitique</b>	9.79	17.17	19.76	12.88	17.92	25.97	19.0
<b>Acide oléique</b>	3.31	6.10	6,15	3.15	4.46	10.22	1.9
<b>Acide linoléique</b>	11.96	23.54	46.02	15.70	11.96	24.10	5.7
<b>Acide <math>\alpha</math>-linoléique</b>	67.79	33.50	10.33	53.09	50.15	23.86	28.9
<b>Acide tricosanoïque</b>	2.48	9.99	7.77	5.82	/	/	/
<b>Total saturés</b>	16.32	35.83	36.79	24.62	23.79	31.83	/
<b>Monoinsaturés</b>	3.65	6.84	6.52	3.48	14.24	13.08	/
<b>Polyinsaturés</b>	80.03	57.33	56.69	71.90	61.97	55.09	/

Barros *et al.* (2010) ont analysé les acides gras de l'extrait méthanolique des différentes parties de la mauve (feuilles, fleurs, fruits immatures et tige). Vingt-deux acides gras ont été quantifiés, dont les majeurs acides gras sont résumés dans le **tableau 6**. Les principaux acides gras retrouvés dans toutes les parties de la plante sont l'acide  $\alpha$ -linoléique, linoléique et palmitique sachant que l'acide  $\alpha$ -linoléique a un apport significatif plus élevé dans les feuilles, fleurs et les tiges par rapport aux autres acides, suivi par l'acide linoléique puis l'acide palmitique tandis que les fruits immatures ont une grande teneur en acide linoléique avec une valeur de 46.02 %. Dans tous les échantillons de Barros *et al.* (2010) ainsi que de Tabaraki *et al.* (2011), on trouve que les acides gras polyinsaturés sont prédominants par rapport aux acides gras saturés totaux et aux monoinsaturés. Parmi les douze acides gras quantifiés par Tabaraki *et al.* (2011), seulement quatre acides gras mentionnés dans le **tableau 6** sont principaux et communs avec ceux obtenus par Barros *et al.* (2010) (acides  $\alpha$ -linoléique, palmitique, linoléique et oléique). Pour les feuilles, l'acide  $\alpha$ -linoléique représente l'acide le plus dominant avec 50.15% suivi par l'acide palmitique, ce dernier a une valeur de 25.97% dans les pétioles suivis par l'acide linoléique (24.10%). Quatre acides gras ont été révélés par Delfine *et al.* (2017), leurs résultats sont similaires à ceux retrouvés par Barros *et al.* (2010), ces AG sont organisés dans l'ordre décroissant suivant: Acide  $\alpha$ -linoléique > Acide palmitique > Acide linoléique > Acide oléique.

D'après tous ces résultats, on constate que l'acide  $\alpha$ -linoléique est le plus abondant par rapport aux autres acides gras, presque dans tous les échantillons quel que soit la région ou la partie utilisée cet acide fait partie du groupe des acides gras essentiels appelés acides gras oméga-3. L'acide  $\alpha$ -linoléique a un rôle dans la santé cardiovasculaire, y compris la prévention primaire et secondaire des maladies coronariennes (Delfine *et al.*, 2017).

#### **3.4. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes**

Dans le but d'évaluer les teneurs en molécules actives des extraits préparés à partir de la poudre de *Malva sylvestris* L. un dosage des polyphénols totaux est effectué selon une méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et une méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) pour le dosage des flavonoïdes totaux. Ces méthodes sont utilisées par Tabaraki *et al.*, (2011); Beghdad *et al.*, (2013); Boutennoun *et al.*, (2019); Irfan *et al.*, (2021). Les résultats sont représentés dans le **tableau 7**.



**Tableau 7.** Teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits de *Malva sylvestris* L.

Références	Solvants	TPC	TFC
Tabaraki <i>et al.</i> , (2011)	Hydro-éthanolique à 70% dans un rapport de 1 à 10 p/v	Feuilles: 15.11 Pétioles: 1.68 (mg GAE/g de poids sec)	Feuilles: 27.18 Pétioles: 4.31 (mg CE/g de poids sec )
Beghdad <i>et al.</i> , (2013)	EEth 96%	Feuilles: 24.123 Fleur: 6.978 Tige: 2.173 Graines: 3.714 (mg GAE/g de poids sec)	Feuilles: 5.694 Fleur: 0.170 Tige: 0.018 Graines: 0.031 (mg RE/100 g de poids sec)
Boutennoun <i>et al.</i> , (2019)	Hydro-méthanolique 80/20 (v/v)	Feuilles: 135.55 (mg GAE/g d'extrait brute )	Feuilles: 52.40 (mg QE/g d'extrait brute)
		(mg GAE/g d'extrait)	(mg RE/100 g d'extrait)
Irfan <i>et al.</i> , (2021)	EHex	41.73	38.13
	DCM	73.31	69.22
	EMet	59.91	61.12
	EAq	40.91	37.22

**EEth:** Extrait éthanolique, **EHex:** Extrait d'hexane, **DCM:** Dichlorométhane, **EMet:** Extrait méthanlique, **EAq:** Extrait aqueux, **GAE:** Equivalent en acide gallique, **CE:** Equivalent en catéchines, **RE:** Equivalent en rutine.

D'après les résultats du **tableau 7**, Tabaraki *et al.* (2011) ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux (15.11 mg GAE/g de poids sec) et en flavonoïdes totaux (27.18 mg CE/g de poids sec) de l'extrait hydro-éthanolique 70% dans les feuilles sont plus élevée que celle des pétioles. Ces résultats sont similaires avec Beghdad *et al.* (2013) qui montrent que la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux d'extrait éthanolique 96% dans les feuilles est de 24.123 mg GAE/g de poids sec, 5.694 mg RE/100 g de poids sec, respectivement. Ce qui est plus élevée que dans les autres parties de la plante (fleurs tiges, graines) sachant que cet extrait donne des valeurs phénoliques supérieures que l'extrait hydro-éthanolique 70% utilisé par Tabaraki *et al.* (2011), mais on n'arrive pas à faire la comparaison entre les valeurs de flavonoïdes totaux à cause de la différence des unités entre les deux études. Pour Boutennoun *et al.* (2019), l'extrait hydro-méthanolique donne une teneur de 135.55 mg GAE/g d'extrait brute de polyphénols totaux, et de 52.40 mg QE/g d'extrait brute des flavonoïdes totaux. Cela

indique que les feuilles de *Malva sylvestris* L. sont riches en composés phénoliques. La teneur phénolique dans les différents extraits examinés par Irfan *et al.* (2021) est comprise entre 73,31 mg GAE/g pour l'extrait dichloro-méthanoïque (DCM) et 40,91 mg GAE/g pour l'extrait aqueux (H<sub>2</sub>O). Tandis que la teneur en flavonoïdes des extraits testés est comprise entre 69,22 mg RE/g d'extrait DCM et 37,22 mg RE/100 g d'extrait aqueux. Les teneurs en TPC et en TFC ont diminué dans l'ordre suivant: Dichlorométhane > méthanol > n-hexane > eau. Ces résultats montrent que les composés phénoliques extraite par le DCM donnent un plus grand nombre de métabolites intéressants.

D'après le **tableau 7**, on constate une différence notable entre les différents extraits et les différentes parties de *Malva sylvestris* L., Les feuilles contiennent une teneur supérieure en polyphénols et flavonoïdes par rapport aux autres parties de la plante. En effet, l'extrait hydro-méthanolique était le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols, tandis que le DCM permet l'obtention d'une grande quantité de flavonoïdes, cela indique que cette variation est probablement due à la nature et la polarité du solvant et la solubilité des composés extraits. De plus la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux peut être affectée aussi par la région géographique (Ilam-Iran (Tabaraki *et al.*, 2011); Tlemcen-Algérie (Beghdad *et al.*, 2013); Jijel-Algérie (Boutennoun *et al.*, 2019); Khyber pakhtunkhwa-Pakistan (Irfan *et al.*, 2021)), les conditions climatiques, la partie récoltée, les méthodes de séchage et les méthodes d'extractions.

### 3.5. Analyse chromatographique (HPLC)

À travers l'analyse des composés phénoliques et des flavonoïdes des extraits méthanoliques des feuilles vertes de *Malva sylvestris* L. par la chromatographie en phase liquide à haute performance. Les résultats obtenus par Ben Saad *et al.* (2016); El Sayed *et al.* (2018) sont présentés en pourcentage (%) et identifiés dans les **tableaux 8 et 9**.

**Tableau 8.** Polyphénols détectés par HPLC dans les extraits méthanoliques des feuilles vertes de *Malva sylvestris* L.

<b>Polyphénols</b>	Ben Saad <i>et al.</i> , (2016)	El Sayed <i>et al.</i> , (2018)
<b>Pyrgallol</b>	/	15.57%
<b>Acide galique</b>	12.31%	1.35%
<b>Acide catéchique</b>	2.15%	14.79%
<b>Acide épicatechique</b>	15.82%	0.63%
<b>Acide vanillique</b>	3.33%	12.73%
<b>e-vanillique</b>	/	30.79%
<b>Acide coumarique</b>	7.96%	0.85%

Le profil d'élution HPLC des acides phénoliques obtenue par Ben Saad *et al.* (2016) a révélé la présence de cinq acides phénoliques absorbant à 280 nm et leurs résultats sont présentés dans le **tableau 8**; l'acide galique (12.31%), acide catéchique (2.15%), acide épicatechique (15.82%), acide e-vanillique (3.33%) et l'acide coumarique (7.96%) sachant que l'acide épicatechique (15.82%) représente le composé phénolique le plus abondant au contraire à l'acide catéchique (2.15%). Alors que El Sayed *et al.* (2018) montre que l'acide e-vanillique est le composé phénolique majeur avec 30.79% d'après les sept composées identifiés dans le tableau 6 parmi les vingt-trois composées phénoliques quantifiés. L'acide coumarique a été retrouvés en très faible quantité (0.85%).

**Tableau 9.** Flavonoïdes détectés par HPLC dans les extraits méthanolique des feuilles vertes de *Malva sylvestris* L.

Flavonoïdes	Ben Saad <i>et al.</i> , (2016)	El Sayed <i>et al.</i> , (2018)
<b>Lutéo 6-arbinose 8-glucose</b>	/	27.95
<b>Naringine</b>	/	4.88
<b>Hespirdin</b>	/	6.98
<b>Rutine</b>	15.21%	2.00
<b>Quercétine</b>	4.01%	0.60
<b>Kaemp. 3,(2-p comaroyl)glucose</b>	/	19.58
<b>Naringénine</b>	/	6.23
<b>Kaempférol</b>	12.15%	0.98
<b>Acacétine</b>	/	13.32
<b>Lutéoline</b>	5.70%	/

Les résultats d'analyse des flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles vertes de mauve obtenue par Ben Saad *et al.* (2016) montre la présence de sept composés chimiques absorbant à 360 nm mentionné dans le **tableau 9**, dont quatre flavonoïdes reconnus: La rutine (15,21%), quercétine (4.01%), kaempférol (12,15%) et la lutéoline (5,70%). Le flavonoïde principal était la rutine (15,21%) et la quercétine (4.01%) a la plus faible quantité dans l'extrait. Tandis que les résultats de El Sayed *et al.* (2018) signifié que le Lutéo 6-arbinose 8-glucose est le principal composé flavonoïde dans l'extrait méthanolique et représente (27.95%) des neufs flavonoïdes mentionnés dans le **tableau 9** parmi les 21 flavonoïdes totaux. La quercétine (0.60%) est présente en plus faibles quantité dans l'extrait.

D'après les résultats, l'analyse des constituants de *M. sylvestris* L Tunisiennes de Ben Saad *et al.* (2016) compare à ceux obtenus dans les études égyptiennes de El Sayed *et al.* (2018), a montré une certaine variation dans la composition et les pourcentages des acides phénoliques et des flavonoïdes analysés par HPLC, malgré que les deux articles faisant leurs études sur la même partie de la plante (les feuilles vertes de la mauve) et ont extrait par le même solvant (le méthanol). Ces variations peuvent être attribuées à la diversité des milieux géographiques (sol, ensoleillement, température, précipitations, etc.).

### 3.6. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de différentes parties de *Malva sylvestris* L. a été réalisée par deux techniques chimiques *in vitro* (le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir antioxydant réducteur ferrique FRAP), l'utilisation de plus d'une méthode est recommandée pour donner une prédiction complète de l'activité antioxydante (**Tableau 10**).

#### 3.6.1. Test DPPH

Cette méthode évalue la capacité de piégeage des radicaux d'un composé par sa réaction avec le radical DPPH stable. Le potentiel antioxydant a été évalué par Barros *et al.* (2010) en mesurant la diminution de l'absorption radicalaire des extraits hydro-méthanoliques de quatre parties de *M. sylvestris* L. et exprimé en IC50. Les résultats mentionnés dans le **tableau 10** montrent que la concentration d'extrait de plante nécessaire pour diminuer 50 % des radicaux libres DPPH est comprise entre [0.43 – 4.47 mg/ml] dont la plus faible IC50 obtenue est celle des feuilles avec 0.43 mg/ml, cela signifie que la capacité de piégeage est plus importante chez elles, et les valeurs d'IC50 ont augmenté dans l'ordre suivant: IC50(Feuilles) < IC50(Fleurs) < IC50(Tiges fleuries feuillues) < IC50(Fruits immatures).

**Tableau 10.** Résultats de l'activité antioxydante *in vitro* de *Malva sylvestris* L.

Références	Extrait	Partie analysée	DPPH (IC50) (mg/ml)	FRAP
Tabaraki <i>et al.</i> , (2011)	EEth	Feuilles	0.075	0.149 (mmolFe(II)/gPS)
		Pétioles	0.077	0.051 (mmol Fe(II)/gPS)
	BHT	/	0.184	/
Barros <i>et al.</i> , (2010)	Emet	Feuilles	0.43	/
		Fleurs	0.55	/
		Fruits immatures	4.47	/
		Tiges fleuries feuillues	0.59	/
			<b>IC50 (µg/ml)</b>	<b>IC50 (µg/ml)</b>
Ben Saad <i>et al.</i> , (2016)	EMet	Feuilles	333.5	670
	AA	/	97.01	100
Boutennoun <i>et al.</i> , (2019)	Hydro-méthanolique	Feuilles	100	130
	AG	/	50	/
	α-tocophérol	/	75	130

**IC 50:** Concentration inhibitrice à 50 %, **EMet:** Extrait méthanolique, **EEth:** Extrait éthanolique, **BHT:** Hydroxytoluène butylé, **AA:** Acide ascorbique, **AG:** Acide gallique.

Par ailleurs les valeurs obtenues par Tabaraki *et al.* (2011) indiquent que l'IC50 de l'extrait éthanolique des feuilles (0.075 mg/ml) est plus faible par rapport au IC50 des pétioles ainsi qu'au contrôle positif BHT (hydroxytoluène butylé) qui a une IC50= 0.184 mg/ml, ces résultats étaient en accord avec les études précédentes de Barros *et al.* (2010). En revanche, on ne peut pas comparer les études de Ben Saad *et al.* (2016); Boutennoun *et al.* (2019) avec les deux études précédentes à cause de la différence des unités. L'extrait méthanolique des feuilles du mauve examiné par Ben Saad *et al.* (2016) a montré une activité de piégeage significativement inférieure à celle de l'acide ascorbique utilisé comme standards synthétique (IC50=97,01 µg/ ml), ainsi que les standards (acide gallique,  $\alpha$ -tocophérol) utilisés par Boutennoun *et al.* (2019) qui présentent des valeurs d'IC50 inférieures à celles obtenues à partir de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles, ce qui signifie que les feuilles ont une capacité de piégeage des radicaux libres, mais reste significativement inférieure par rapport aux activités antioxydante présentées par les standards.

D'après les résultats du test DPPH et ceux de TPC et TFC, on peut déduire que les composants phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) présents dans les extraits de plantes et surtout dans les feuilles sont susceptibles d'offrir une inhibition des radicaux libres. Ce qui suggère que la plante *M. sylvestris* L. présente un effet antioxydant remarquable vis-à-vis du radicale DPPH.

### 3.6.2. Test FRAP

Le pouvoir réducteur des extraits de *Malva sylvestris* L. a été basé sur l'évaluation de ses capacités à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) à la forme ferreuse ( $Fe^{2+}$ ) à différentes plages de concentration. La formation du  $Fe^{2+}$  peut être contrôlée en mesurant la formation du bleu de Prusse de Perl à 700 nm. Le **tableau 8** montre que les extraits méthanoliques des feuilles testées par Ben Saad *et al.* (2016) présentent une concentration efficace EC50 égale à 670 µg/ml fournissant une absorbance de 0.5, ce résultat est significativement inférieure à celui de l'acide ascorbique (EC50 = 100 µg/ml) utilisé comme standard. Cependant, les résultats de Boutennoun *et al.* (2019) indiquent une EC50 similaire (130 µg/ml). Cela montre que l'extrait méthanolique présente une activité réductrice importante par rapport à l'extrait hydro-méthanolique. Par ailleurs, Tabaraki *et al.* (2011) montre que l'extrait éthanolique des feuilles permet l'obtention de 0.149 mmol  $Fe^{2+}$  /g de poids sec, cette quantité est supérieure à celle obtenue par l'extrait éthanolique des pétioles (0.051mmol  $Fe^{2+}$  /g de poids sec).

Les résultats suggèrent qu'il existe une corrélation entre le pouvoir réducteur ferrique et l'activité antioxydante. Des flavonoïdes dans l'extrait de plante semblent fonctionner comme de bons donneurs d'électrons et d'atomes d'hydrogène et devrait donc être capable de mettre fin aux réactions radicalaires, en convertissant les radicaux libres en produits plus stables. (Boutennoun *et al.*, 2019).

### 3.7. Activité anti-proliférative

Différentes lignées cellulaires cancéreuses sont traitées par des extraits de *Malva sylvestris* L. L'évaluation de l'activité anti-proliférative de ces derniers est réalisée à l'aide d'un test colorimétrique MTT. (Boutennoun *et al.*, 2019; Rostami *et al.*, 2017) ont traité les cellules par plusieurs concentrations mais on a choisi uniquement les concentrations communes. Le **tableau 11** rapporte l'inhibition de la viabilité cellulaire observé à des concentrations différentes des extraits de la plante.

**Tableau 11.** Inhibition de la prolifération cellulaire induite par les extraits de *Malva sylvestris* L. sur des lignées cellulaires cancéreuses.

Références	Extrait	Concentration (µg/ml)	WEHI	Hep2	MCF-7	A549	HepG2
Boutennoun <i>et al.</i> , (2019)	Hydro-méthanolique	50 µg/ml	78.42%	62.24%	36.22%	/	/
		500 µg/ml	86.27%	64.51%	50.05%	/	/
	Colchicine	/	81.01%	60.83%	42.04%	/	/
Rostami <i>et al.</i> , (2017)	Epp	50µg/ml	/	/	/	3%	5%
		100 µg/ml	/	/	/	5%	10%
		500µg/ml	/	/	/	35%	45%

**MCF-7:** carcinome mammaire humain, **Hep 2:** cancer d'épiglotte, **WEHI:** leucémie de Souris, **A549:** cancer des poumons, **HepG2:** les cellules de carcinome hépato-cellulaire, **EHMet:** Extrait hydro-méthanolique, **Epp:** extrait des polysaccharides purifiés.

Les études de Boutennoun *et al.* (2019) ont été réalisées à l'aide des différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de mauve et toutes les lignées cancéreuses ont montré des effets antiprolifératifs allant de 36.22% jusqu'à 86.27%, en bref, les résultats indiquent que les lignées cellulaires (WEHI) et (Hep2) étaient sensibles à la cytotoxicité de l'extrait testé mais la lignée cellulaire humaine (MCF-7) était raisonnablement résistante à la cytotoxicité de l'extrait utilisé. Le pourcentage de toxicité de (MCF-7, Hep2 et WEHI) s'est avéré être de (50.05%, 64,51 % et 86,27 %, respectivement) à concentration de 500 µg/ml qui étaient supérieures à celles de la colchicine. Pour les cellules témoins saines (macrophages de souris et des lymphocytes humains) l'extrait n'était pas actif sur elles. Les résultats de Rostami *et al.* (2017) indique que les pourcentages d'inhibition de la prolifération de l'extrait des polysaccharides purifiés sur les cellules de carcinome hépato-cellulaire (HepG2) était plus important que celui des cellules de cancer des poumons (A549) et leurs pourcentages sont augmenté avec l'augmentation de la concentration, bien que ces pourcentages sont inférieurs aux pourcentages de l'étude précédente.

En fin, on constate que ces variabilités des pourcentages d'inhibition de la prolifération reviennent à plusieurs causes telles que la sensibilité des cellules aux extraits utilisés dans le traitement des cellules et c'est ce qui nous révèle à travers l'étude de Rostami *et al.* (2017) qui utilisent l'extrait des polysaccharides purifiés et obtient des résultats inférieurs par rapport à l'autre auteur, alors que les résultats de Boutennoun *et al.* (2019) ont des meilleures inhibitions de la viabilité cellulaire par l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Malva sylvestris* L. surtout pour les lignées cellulaires de leucémie des souris (WEHI). De plus la richesse de la partie de plante utilisées en polyphénols et flavonoïdes qui peuvent aider à neutraliser les radicaux libres qui s'accumulent dans les cellules et causent des dommages à d'autres molécules ce qui peut accroître le risque de cancer.



# **Conclusion**

## Conclusion

L'étude des activités biologiques et des propriétés nutritionnelles des plantes sauvages comestibles a augmenté considérablement ces dernières années et cela dans divers pays. Ceci montre que les molécules isolées telles que les composés phénoliques à partir de ces plantes sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances bioactives.

Dans le cadre de notre travail, on a analysé les résultats de onze articles scientifiques sélectionnés pour le but d'évaluer les propriétés nutritionnelles, l'activité antioxydante et antiproliférative de la plante *Malva sylvestris* L. On a commencé par analyser la composition chimique proximal et les résultats ont permis l'obtenir des teneurs élevés en glucides (71.46 ;83.34 %) et en protéines (2.81 ;14.26%) dans les parties vertes de la mauve notamment les feuilles.

Dans le deuxième volet, nous avons procédé à analyser les minéraux, où on a constaté que le potassium (K) est l'un des macronutriments les plus abondants dans les feuilles de la mauve. Dans le troisième volet, l'analyse des acides gras montre que l'acide  $\alpha$ -linoléique est le plus abondant par rapport aux autres acides gras dans toutes les parties de la plante. Dans le quatrième volet, il y avait l'évaluation du contenu en polyphénols et en flavonoïdes totaux, qui révèle que les feuilles contiennent une teneur supérieure en polyphénols et flavonoïdes par rapport aux autres parties de la plante et le mélange hydro-méthanolique était le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols, tandis que le dichlorométhane permet l'obtention d'une grande quantité de flavonoïdes. Pour le 5<sup>ème</sup> volet, l'analyse qualitative par HPLC de l'extrait méthanolique des feuilles de *Malva sylvestris* L. donne une certaine variation dans la composition et les pourcentages des acides phénoliques et des flavonoïdes analysés. Dans le 6<sup>ème</sup> volet, l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* (DPPH, FRAP) des différents extraits et parties de la mauve reflète un effet antioxydant important et remarquable vis-à-vis des radicaux libres.

Dans le dernier volet, l'évaluation de l'activité antiproliférative *in vitro* des extraits de la mauve sur des différentes lignées cancéreuses permet l'obtention des meilleures inhibitions de la viabilité cellulaire par l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Malva sylvestris* L. surtout pour les lignées cellulaires de leucémie des souris (WEHI).

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

1. Azab A. 2017. Malva: food, medicine and chemistry. Journal European-Chemical-Bulletin 6(7):295-320.
2. Barros L., Carvalho M.A., Ferreira I.C.F.R. 2010. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food and Chemical Toxicology 48(6):1466–1472.
3. Beghdad M. C., Benammar C., Bensalah F., Sabri F. Z., Belarbi M., Chemat F. 2014. Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris* L.) from North Western of Algeria. African Journal of Biotechnology 13(3):486-491.
4. Ben Saad A., Rjeibi I., Brahmi D., Smida A., Ncib S., Zouaric N., Zourgui L. 2016. *Malva sylvestris* extract protects upon lithium carboante-induced kidney damages in male rat. Biomedicine and Pharmacotherapy 84:1099–1107.
5. Boutennoun H., Bousouf L., Kebieche M., Al-Qaoud K., Madani K. 2019. Phenolics Content, Antiproliferative and Antioxidant Activities of Algerian *Malva sylvestris*. European Journal of Biological Research 9(1):10-19.
6. Delfine S., Marrelli M., Conforti F., Formisano C., Rigano D., Menichini F., Senatore F. 2017. Variation of *Malva sylvestris* essential oil yield, chemical composition and biological activity in response to different environments across Southern Italy. Industrial Crops and Products 98:29–37.
7. Duguma H.T. 2020. Wild Edible Plant Nutritional Contribution and Consumer Perception in Ethiopia. International Journal of Food Science 1–16.
8. El-Sayed M.E., Salem M.A., Eisa M.I. 2018. Effect of solvent type on the extracted bioactive compounds of mallow (*Malva sylvestris*) leave. Food and dairy science 3(3):63-73.
9. Flores M. 2011. *Malva sylvestris* L. et autres mauves de France. Thèse de doctorat d'état, université de Nantes, France, 221 p.
10. Gasparetto J.C., Martins C.A.F., Hayashia S.S., Otuky M.F., Pontarolo R. 2011. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. Journal of Pharmacy and Pharmacology 64:172–189.

11. Ghédira K., Goetz P. 2016. *Malva sylvestris* L. (Malvaceae): Mauve. *Phytothérapie* 14(1):68–72.
12. Hiçsönmez Ü., Ereeş F. S., Özdemir C., Özdemir A., Çam S. 2008. Determination of Major and Minor Elements in the *Malva sylvestris* L. from Turkey Using ICP-OES Techniques. *Biological trace element research* 128:248–257.
13. Irfan A., Imran M., Khalid M., Sami Ullah M., Khalid N., Assiri M. A., Thomas R., Muthu S., Raza Basra M. A., Hussein M., Al-Sehemi A. G., Shahzad M. 2021. Phenolic and flavonoid contents in *Malva sylvestris* and exploration of active drugs as antioxidant and anti-COVID19 by quantum chemical and molecular docking studies. *Journal of Saudi Chemical Society* 25(8):101– 277
14. Jan H. A., Turi M. A., Kunwar R. M., Bussmann R. W., Zambrana N. Y. P. 2021. Ethnobotany of the Himalayas. *Malva neglecta* Wallr. MALVACEAE. pp 1239–1246.
15. Lim T. K. 2014. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, vol 8, *Malva sylvestris*, pp. 395-404.
16. Mihaylova D., Popova A., Denkova R., Alexieva I., Krastanov A. 2015. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activity of extracts of bulgarian *malva sylvestris* L. 100:41-48.
17. Mousavi S. M, Hashemi S.A., Behbudi G., Mazraedoost S., Omidifar N., Gholami A., Chiang W., Babapoor A., Pymadathdaphu Rumjit N. 2021. A Review on Health Benefits of *Malva sylvestris* L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, and Anti-Inflammatory, Anticancer, and Antimicrobial Applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 13 p.
18. Romojaro A., Botella M.A., Obon C., Pretel M.T. 2013. Nutritional and antioxidant properties of wild edible plants and their use as potential ingredients in the modern diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 64(8): 944–952.
19. Rosatami H., Gharibzahedi S. M. T. 2017. Cellulase-assisted extraction of polysaccharides from *Malva sylvestris* Process optimization and potential functionalities. *International Journal of Biological Macromolecules* 101:196-206.
20. Sena L.B., Vanderjagt D.J., Rivera C., Tsin A.T.C., Muhamadu I., Mahamadou O., Millson M., Pastuszyn A., Glew R.H.1998. Analysis of nutritional components of eight famine foods of the Republic of Niger. *Plant Foods for Human Nutrition* 52:17–30.
21. Tabaraki R., Yosefi Z., Gharneh H. A. A., .2011. Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research in Agricultural science* 8(1): 59-68.

## ملخص

*Malva sylvestris* L. المعروف بالاسم العامي " الخبيزة " هو نبات بري صالح للأكل من عائلة Malvaceae ، ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج العديد من الأمراض. من أجل دراسة النشاط المضاد للأكسدة ومضاد التكاثر للخبيز بالإضافة إلى خصائصه الغذائية، قمنا بتحليل إحدى عشر مقالات علمية. أظهر تحليل التركيب الكيميائي القريب أن الخبيزة غنية جدًا بالكربوهيدرات والبروتينات. البوتاسيوم (K) هو العنصر المعدني الأكثر وفرة في الأوراق والحمض الدهني الرئيسي الموجود في جميع أجزاء *M.sylvestris* L. هو حمض ألفا لينولينيك. كشف التحليل الكيميائي النباتي عن ثراء الأوراق بالبوليفينول والفلافونويد، مما يشير إلى قوة مضادات الأكسدة الممتازة ضد DPPH وFRAP. يمثل خط خلايا سرطان الدم لدى الفئران (WEHI) الخط الأكثر حساسية للمستخلص المائي الميثانولي للأوراق.

**الكلمات المفتاحية:** *Malva sylvestris* L.، التركيب القريب، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للتكاثر.

## Résumé

*Malva sylvestris* L. connue sous le nom vernaculaire « Khobiz » est une plante sauvage comestible de la famille des Malvaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. Dans le but d'étudier l'activité antioxydante et anti-proliférative de la mauve ainsi que ses propriétés nutritionnelles, nous avons analysés onze articles scientifiques. L'analyse de la composition chimique proximale a montré que la mauve est très riche en glucides et en protéines. Le potassium (K) représente l'élément minéral le plus abondant dans les feuilles et le principal acide gras retrouvé dans toutes les parties de *M.sylvestris* L. est l'acides  $\alpha$ -linoléique. L'analyse phytochimique a révélé la richesse des feuilles en polyphénols et en flavonoïdes, ce qui indique un excellent pouvoir antioxydant conte le DPPH et FRAP. La lignée cellulaire de leucémie des souris (WEHI) représente la lignée la plus sensible à l'extrait hydro-méthanolique des feuilles.

**Mots clés:** *Malva sylvestris* L., composition proximale, activité antioxydante, activité antiproliférative.

## Abstract

*Malva sylvestris* L. known under the vernacular name "Khobiz" is an edible wild plant of the Malvaceae family, widely used in traditional medicine to treat several diseases. In order to study the antioxidant and anti-proliferative activity of mallow as well as its nutritional properties, we analyzed eleven scientific articles. Analysis of the proximal chemical composition showed that mallow is very rich in carbohydrates and proteins. Potassium (K) is the most abundant mineral element in the leaves and the main fatty acid found in all parts of *M.sylvestris* L. is  $\alpha$ -linolenic acid. The phytochemical analysis revealed the richness of the leaves in polyphenols and flavonoids, which indicates an excellent antioxidant power against DPPH and FRAP. The mouse leukemia cell line (WEHI) represents the line most sensitive to the hydro-methanolic extract of the leaves.

**Key words:** *Malva sylvestris* L., proximal composition, antioxidant activity, antiproliferative activity.