

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
UNIVERSITE DJILLALI BOUNAAMA DE KHEMIS MILIANA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département des Sciences Biologiques



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de **Master** en Sciences Biologiques

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Biotechnologie Microbienne

***Tests phytochimiques et évaluation de
quelques activités biologiques de l'extrait
méthanolique de Moringa oleifera Lam.***

Présenté par :

BELKACEMI Marwa

CHAIBI Slimane

Devant le jury composé de :

Présidente	Mr. AROUS A.	MCB	Univ-DBKM
Promotrice	M ^{me} . KACI Z.	MCB	Univ-DBKM
Examinatrice	M ^{me} . BENZAOUK S.	MAA	Univ-DBKM

Année universitaire 2021/2022

الاختبارات الكيميائية النباتية وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية للمستخلص الميثانولي للمورينجا أوليفيرا

الملخص

لا يزال الطب التقليدي منتشرًا في جميع أنحاء العالم النامي ويستمر استخدامه في النمو في البلدان الصناعية. من أجل تثمين نبات طبي مزروع في منطقة المنيا، كنا مهتمين بتحديد المركبات الفينولية وكذلك تقييم الأنشطة البيولوجية المميزة لأوراق المورينجا أوليفيرا.

أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية الأولية التي أجريت على مستخلصات مختلفة (مائي، إيثانولي، أثيري) وكذلك على مسحوق نباتي ثراء الأوراق في المستقلبات الثانوية. تم تقييم محتوى الرطوبة ونقاوة الدواء العشبي بنسب 7.6% و 1.8% على التوالي. أفضل محصول هو مستخلص الميثانول بواسطة Soxhlet بنسبة 5.7% مقابل 3.2% للمستخلص الميثانولي عن طريق الصوتنة.

أظهر التحديد الكمي بواسطة مقياس الطيف الضوئي UV-Vis للمستخلصات الميثانولية بواسطة Soxhlet وعن طريق الصوتنة محتويات مختلفة من مادة البوليفينول. هذه المحتويات هي على التوالي (19.2 مجم EqAG / جم من المادة النباتية) للمستخلص الميثانولي الذي تم الحصول عليه بواسطة Soxhlet و (74.5 مجم EqAG / جم من المادة النباتية) للمستخلص الميثانولي الذي تم الحصول عليه عن طريق الصوتنة.

تم الكشف عن نشاط مضاد للأكسدة كبير للمستخلصات العضوية لأوراق المورينجا أوليفيرا، وأكثرها وضوحًا هو نشاط المستخلص الميثانولي الذي تم الحصول عليه بواسطة Soxhlet والذي عبر عن قيمة IC50 بترتيب 0.009 مجم / مل. هذه قوة رائعة من مضادات الأكسدة، والتي تظل مع ذلك أقل وضوحًا من تلك الموجودة في حمض الأسكوربيك المضاد للأكسدة المرجعي، حيث تبلغ نسبة تركيز IC50 فيها 0.003 مجم / مل.

أظهر فحص السمية الدوائية نشاطًا معتدلاً مضادًا للالتهاب مع نسبة تثبيط للوذمة 35.3% مقابل 50.3% للمنتج المرجعي ديكلوفيناك صوديوم.

تم تقييم نشاط مضادات الميكروبات بطريقة القرص. سمحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها بملاحظة أن النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي الذي تم الحصول عليه بواسطة sonication كان أكبر من المستخلص الميثانولي الذي تم الحصول عليه عن طريق Soxhlet ، لا سيما فيما يتعلق بالسلالات *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Candida albicans* و *Bacillus subtilis*

الكلمات المفتاحية: المورينجا أوليفيرا، الكيمياء النباتية، البوليفينول، الأنشطة البيولوجية.

Tests phytochimiques et évaluation de quelques activités biologiques de l'extrait méthanolique de Moringa oleifera

RÉSUMÉ

La médecine traditionnelle reste très répandue dans toutes les régions du monde en développement et son usage ne cesse de croître dans les pays industrialisés. Dans le but de valoriser une plante médicinale cultivée dans la région de Meniaa, nous nous sommes intéressés à l'identification des composés phénoliques ainsi qu'à l'évaluation des activités biologiques caractéristiques des feuilles de *Moringa oleifera*.

Les tests phytochimiques préliminaires réalisés sur différents extraits (aqueux, éthanolique et éthéré) ainsi que sur la poudre végétale ont révélés la richesse des feuilles en métabolites secondaires. Le taux d'humidité et la pureté de la drogue végétale ont été évalués, ils sont respectivement de 7,6% et 1,8%. Le meilleur rendement d'extraction est celui de l'extrait méthanolique par soxhlet avec 5,7% contre 3,2% pour l'extrait méthanolique par sonication.

Le dosage quantitatif par spectrophotomètre UV-Vis des extraits méthanoliques par soxhlet et par sonication ont exprimés des teneurs variées en polyphénols. Ces teneurs sont respectivement de (19,2mg EqAG/g de la matière végétale) pour l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet et (74,5mg EqAG/g de la matière végétale) pour l'extrait méthanolique obtenu par sonication.

Une considérable activité antioxydante des extraits organiques des feuilles du *Moringa oleifera* a été révélée, la plus prononcée est celle de l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet qui a exprimé une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 0,009 mg/ml. Il s'agit d'un remarquable pouvoir antioxydant, qui reste cependant moins prononcé que celui de l'antioxydant de référence acide ascorbique, avec une IC₅₀ de l'ordre de 0,003mg/ml.

L'examen pharmaco-toxicologique a révélé une activité anti-inflammatoire modérée avec un pourcentage d'inhibition de l'œdème de 35,3% comparé à 50,3% pour le diclofenac sodique produit de référence.

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode des disques. Les résultats obtenus nous ont permis de noter que l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique obtenu par Sonication était plus importante que celle de l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet notamment les souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Bacillus subtilis*

Mots clés : *Moringa oleifera*, phytochimie, polyphénols, activités biologiques.

Phytochemical tests and evaluation of some biological activities of the methanolic extract of *Moringa oleifera*

ABSTRACT

The traditional medicine remains very wide-spread in developing countries and its use is increasing in developed countries. In order to valorise a medicinal plant cultivated in the Meniaa region, we were interested in the identification of phenolic compounds as well as in the evaluation of biological activities characteristic of *Moringa oleifera* leaves.

Preliminary phytochemical tests carried out on different extracts (aqueous, ethanolic and etheric) as well as on the plant powder revealed the richness of the leaves in secondary metabolites. The moisture content and the purity of the plant drug were evaluated; they are respectively 7.6% and 1.8%. The best extraction yield was for the methanolic extract by soxhlet with 5.7% against 3.2% for the methanolic extract by sonication.

Quantitative determination by UV-Vis spectrophotometer of the methanolic extracts by soxhlet and by sonication expressed various contents of polyphenols. These contents are respectively (19.2mg EqAG/g plant material) for the methanolic extract obtained by soxhlet and (74.5mg EqAG/g plant material) for the methanolic extract obtained by sonication.

A considerable antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf organic extracts was revealed; the most pronounced is obtained from the methanolic extract by Soxhlet, which expressed an IC₅₀ value of about 0.009 mg/ml. This represents a significant antioxidant power, which is however less pronounced than that of the reference antioxidant ascorbic acid, with an IC₅₀ of around 0.003mg/ml.

The pharmaco-toxicological investigation revealed a moderate anti-inflammatory activity with a 35.3% oedema inhibition percentage compared to 50.3% for the reference product diclofenac sodium.

The antimicrobial activity was evaluated by the disc method. The results obtained allowed us to note that the antibacterial activity of the methanolic extract obtained by sonication was more important than that of the methanolic extract obtained by sonication in regard to *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* and *Bacillus subtilis*, whereas the methanolic extract obtained by Soxhlet.

Keywords :

Moringa oleifera, phytochemistry, polyphenols, biological activities.

Dédicace

A la mémoire de ma très chère Mère, mon cher Père et mon Frère. Qu'ALLAH vous accueille dans son vaste paradis

A ma femme, mes enfants Yacine, Maria, Hadjer, Wassim et au nouveau qui arrivera bientôt inchaAllah

A toute ma famille, mes amis, surtout Mohammed MAKHLOUFI

Slimane CHAIBI

Dédicace

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tellement attendu Je dédie cette mémoire:

A ma très chère mère AZOUZ CH, Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A mon très cher père BELKACEMI M, Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheurs.

A mon chère KHachai N que je remercie de tout mon cœur, pour m'avoir accompagné, encouragé, aidé et surtout soutenu moralement J'ai toujours trouvé auprès de toi, compréhension et soutien. Tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout le temps pendant ces années ; qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance.

Ma grande Mère : hamrani F.

Mes chers frères : Omar, Aboubaker et Abderrahmane .

Ma belle-sœur : Halima .

Mon binôme : Chaïbi Slimane.

A tous mes amies et amis sans oublier: ROMAÏSSA Yetto , mellakhi fatiha , khawla Benrabah , Amara Khdraoui et à tous ce qui me donne l'aide et l'encouragement de près ou de loin.

A tous les étudiants de la promotion Master 2 Biotechnologie Microbienne.

Remerciements

Avant tout, nous remercions le bon Dieu tout-puissant, de nous avoir accordés la force, le courage, la volonté les moyens et beaucoup plus de la Santé pour la réalisation de ce travail

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Zakia KACI Maitre de conférences Classe B à l'université Djilali BOUNAAMA Khemis Miliana, pour avoir accepté de diriger ce mémoire, pour son exceptionnelle qualité d'encadrement. Sa rigueur, sa patience et sa disponibilité resteront gravées dans nos mémoires.

J'adresse mes vifs remerciements à Mme Sihem BOUBEKEUR chef de département au CRD SAIDAL pour le co-encadrement de ce travail. Ses orientations, sa disponibilité et ses conseils ont été d'un grand apport.

Nous exprimons notre grande reconnaissance à Madame Hafidha BENCHABANE, Directrice du Centre de Recherche et de Développement du Groupe SAIDAL, de nous avoir autorisés à effectuer notre stage aux différents laboratoires du Centre.

Nos remerciements vont également à Mr Ali AROUS Maitre de Conférences Classe B , à l'université Djilali BOUNAAMA Khemis Miliana d'avoir accepté de présider notre travail

Nous tenons à remercier Mme Salima BENAZZOUK , Maitre-Assistant Classe B, à l'université Djilali BOUNAAMA Khemis Miliana pour avoir accepté d'examiner et juger notre travail.

Nous tenons à remercier Madame Nassima MAKAOUI Directrice du Laboratoire de Chimie Analytique, son appui et ses encouragements nous ont permis de mener à terme ce travail.

A Madame Latifa HALLI Directrice du Laboratoire des Substances Naturelles, à Madame Salima OUAREK Directrice du laboratoire de Microbiologie et Madame Kenza AZINE Directrice du laboratoire de Pharmacotoxicologie au niveau du Centre de Recherche et de Développement CRD SAIDAL, pour nous avoir autorisés à réaliser les contrôles au niveau de leurs laboratoires.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce travail.

Liste des figures

	Pages	
Figure 01	Répartition géographique du <i>Moringa oleifera</i> (indiqué en couleur verte)	3
Figure 02	Arbre, tronc de <i>Moringa oleifera</i>	5
Figure 03	Racine de <i>Moringa oleifera</i>	6
Figure 04	Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	6
Figure 05	Fleurs de <i>Moringa oleifera</i>	7
Figure 06	Graines et gousses mûres de <i>Moringa oleifera</i>	7
Figure 07	Différentes classes des métabolites secondaires	10
Figure 08	Dérivés de l'acide hydroxycinnamique	11
Figure 09	Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	11
Figure 10	Structure de base des flavonoïdes	12
Figure 11	Les différentes classes de flavonoïdes	12
Figure 12	Structure de base des tannins	13
Figure 13	Le stress oxydant, toute une question d'équilibre	15
Figure 14	Différentes sources exogènes des radicaux libres	15
Figure 15	Classification des antioxydants	17
Figure 16	Feuilles fraîches(A) feuilles séchées (B) poudre de feuilles (C).	20
Figure 17	Souris Swiss Albinos	21
Figure 18	Broyage de la plante	22
Figure 19	Schéma de l'extraction par Soxhlet	26
Figure 20	Schéma de l'extraction par sonication	27
Figure 21	Réduction du radical DPPH	28
Figure 22	Administration orale de l'infusé (a), et injection sub-plantaire de la carragénine d'administration (b).	30
Figure 23	Pattes gauches et droites coupées et mesure du poids des pattes	30
Figure 24	Préparation de la 1 ^{ère} et la 2 ^{ème} couche du milieu	33
Figure 25	Dépôt de disques	33
Figure 26	Teneur en eau des feuilles de Moringa	35
Figure 27	La pureté de drogue végétale	35
Figure 28	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	38
Figure 29	Réaction du radical DPPH [•] avec un antioxydant AH	39
Figure 30	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (extrait méthanolique par soxhlet des feuilles du <i>Moringa oleifera</i>)	40
Figure 31	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (extrait méthanolique par sonication des feuilles du <i>Moringa oleifera</i>)	41
Figure 32	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (acide ascorbique)	42

Liste des Tableaux

	Pages
Tableau 01	La systématique de <i>Moringa oleifera</i> 4
Tableau 02	Quelques noms vernaculaires du <i>Moringa oliefera</i> Lam 4
Tableau 03	Principales exigences écologiques de <i>Moringa oleifera</i> 8
Tableau 04	Composition des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en métabolites secondaires 8
Tableau 05	Composition moyenne des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> 9
Tableau 06	Activités biologiques des composés phénoliques 14
Tableau 07	Espèces réactives de l'oxygène 16
Tableau 08	Caractéristiques générales des microorganismes utilisés 21
Tableau 09	Echelle d'estimation de l'activité antimicrobienne 34
Tableau 10	Résultats des tests phytochimiques 36
Tableau 11	Rendement en extrait sec 37
Tableau 12	Récapitulatif des absorbances de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique 38
Tableau 13	Teneur en polyphénols totaux des feuilles du <i>Moringa oleifera</i> 38
Tableau 14	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique par soxhlet 39
Tableau 15	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique par sonication 40
Tableau 16	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide ascorbique 41
Tableau 17	Evaluation de l'IC50 des extraits méthanoliques par soxhlet et par sonication ainsi que celle de l'acide ascorbique 42
Tableau 18	Résultats de l'activité anti inflammatoire 43
Tableau 19	Diamètre des zones d'inhibition (mm) 44

Dédicaces	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I Partie bibliographique

1. Les plantes médicinales.....	3
1.1. Généralité sur les plantes médicinales.....	3
1.2. Origine et répartition géographique.....	3
1.3. Systématique et nomenclature.....	4
1.4. Description botanique.....	5
1.5. Ecologie de <i>Moringa oleifera</i>	8
2. Les métabolites secondaires et stress oxydant.....	8
2.1. Différentes classes des métabolites secondaires.....	9
2.1.1. Les composés phénoliques.....	10
2.1.1.1. Principaux groupes des polyphénols.....	10
2.1.1.2. Les flavonoïdes.....	11
2.1.1.3. Les tanins.....	12
2.1.1.4. Les coumarines.....	13
2.1.1.5. Les lignines.....	13
2.1.2. Les alcaloïdes.....	14
2.1.3. Les terpènes.....	14
2.2. Stress oxydant et radicaux libres.....	14
2.2.1. Stress oxydant.....	14
2.2.2. Les radicaux libres.....	15
2.2.2.1. Les principales sources des radicaux libres.....	15
2.2.2.2. Les espèces réactives de l'oxygène.....	16
2.3. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif.....	16
3. Activités biologiques et complément alimentaire.....	18
3.1. Activité antimicrobienne.....	18
3.2. L'activité anti-inflammatoire.....	18
3.2.1. Inflammation.....	18
3.2.2. Anti-inflammatoires naturels.....	19

Chapitre 2 Matériel et Méthodes

1. Matériel utilisé.....	20
1.1. Matériel biologique.....	20
1.1.1. Matériel végétal.....	20
1.1.2. Souches microbiennes testées.....	20
1.1.3. Matériel animal.....	21
1.2. Matériel non biologique.....	22
2. Méthodes.....	22
2.1. Séchage du matériel végétal.....	22
2.2. Broyage de la plante.....	22
2.3. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité).....	22

2.4. Pureté de la drogue végétale.....	23
2.5. Screening phytochimique.....	23
2.5.1. Préparation de l'infusé.....	23
2.5.2. Identification des anthocyanes.....	23
2.5.3. Identification des tanins.....	23
2.5.4. Tanins condensés.....	24
2.5.5. Tanins galliques.....	24
2.5.6. Identification des saponosides.....	24
2.5.7. Identification des flavonoïdes.....	24
2.5.8. Identification des alcaloïdes.....	24
2.5.9. Identification des coumarines.....	25
2.5.10. Identification des leuco-anthocyanes.....	25
2.5.11. Identification des quinones libres.....	25
2.5.12. Identification de quinones combinées.....	25
3. Extraction des polyphénols.....	25
3.1. Extrait méthanolique par Soxhlet.....	25
3.2. Extrait méthanolique par sonication.....	26
3.3. Calcul du rendement.....	27
4. Dosage des polyphénols totaux.....	27
5. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényl- picrylhydrazyl DPPH• (DPPH scavenging activity).....	28
6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	29
6.1. Principe.....	29
6.2. Protocole expérimental.....	29
7. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	31
7.1. Revivification des souches microbiennes.....	31
7.2. Aromatogramme.....	31
7.3. Protocole expérimental.....	32
7.3.1. Préparation de l'inoculum.....	32
7.3.2 Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes.....	32
7.3.3. Dépôt de disques.....	33
7.3.4. Incubation.....	33
7.3.5. Lecture.....	34

Chapitre 3

Résultats et discussions

1. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité).....	35
2. Pureté de la drogue végétale.....	35
3. Etude phytochimique.....	36
4. Rendement d'extraction.....	37
5. Dosage des polyphénols totaux.....	38
6. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényl- picrylhydrazyl DPPH• (DPPH scavenging activity).....	39
6.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH• « <i>Moringa oleifera</i> ».....	39
6.2. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux.....	42
7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	43
8. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	44
Conclusion générale.....	46
Reference bibliographique.....	48

INTRODUCTION

La phytothérapie correspond à l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques dans le but de prévenir ou traiter certains troubles. Elles peuvent être utilisées spontanées ou cultivées (Létard *et al.*, 2015).

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis l'antiquité pour leurs valeurs médicinales ainsi que pour influencer la saveur des aliments (Baydar *et al.*, 2004). Elles sont considérées comme matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires pour la mise au point de nouveaux médicaments plus efficaces avec moins d'effets secondaires (Bidie *et al.*, 2011),

Beaucoup de plante médicinale contiennent un large spectre des substances phytochimiques qui sont des sources d'antioxydants naturels tel que l' α tocophérols, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. Ces composés possèdent en plus de leurs activités antioxydantes d'autres propriétés biologiques, activité anti-inflammatoire ; antimicrobienne et anticancéreuse (Rached, 2009).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (Baba Aissa 1999).

Actuellement l'industrie pharmaceutique et la recherche scientifique cherchent à mieux connaître cette richesse. Leurs modes d'utilisations, leurs indications dans diverses pathologies ainsi les principes actifs sont étudiés depuis une vingtaine d'année (Bouattoura, 1988 ; Maizak, 1993). L'une des exploitations possibles de cette richesse naturelle, est l'extraction de leurs essences, produits très recherchés par les industries de l'aromatisation, de la parfumerie, des cosmétiques, de la pharmacie, de la chimie,...etc. Dans le but de la valorisation des plantes médicinales Algériennes et une meilleure exploitation de nos ressources phylogénétique, notre choix s'est porté sur une espèce végétale, *Moringa oleifera*.

Le *Moringa oleifera* est une plante médicinale cultivé en Algérie, elle a apparu ces dernières années par ses vertus diverses, grâce à sa facilité de culture (Foidl *et al.*, 2001). Elle est connue par ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, et anti-inflammatoires. Le *Moringa* est cultivé pour ses gousses nutritives, ses feuilles, ses fleurs comestibles et peut être utilisée comme aliment, huile cosmétique et médicament (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017).

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'activité antioxydante et quelques activités biologiques de feuilles de *Moringa oleifera*. Le travail est subdivisé en 03 chapitres :

- ✚ Le premier chapitre englobe des données théoriques sur la plante étudiée et ses substances bioactifs, ainsi sur ses activités biologiques.
- ✚ Le second traite la partie expérimentale ; qui comporte une description du matériel végétal ainsi que du matériel et méthodes utilisés pour évaluer quelques activités biologiques de *Moringa oleifera*
- ✚ Le troisième chapitre est consacré aux analyses et à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les plantes médicinales

1.1. Généralité sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales constituent un patrimoine pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelle, produisant des substances actives biochimiques naturels : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins (Schauenberg *et al.*, 1997). L'emploi des plantes médicinales en phytothérapie est basé sur des connaissances issues de la tradition.

La Phytothérapie avant tout se définit comme étant une discipline allopathique, fondée sur l'utilisation thérapeutique de la plante médicinale, qui est basée sur des connaissances issues de la tradition. Elle est destinée à prévenir ou à traiter certains troubles fonctionnels mineurs ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe (Bellamine ,2017).

1.2. Origine et répartition géographique

Le *Moringa Oleifera* est d'origine des piémonts himalayens et plus particulièrement, de l'UttarPradesh (Nord de l'Inde) (Alido *et al.*, 2015). Cette plante était utilisée par les grecs, égyptiens et romains (Panchalet *et al.*, 2011). Elle est largement distribuée dans de nombreux pays d'Afrique, d'Asie, d'Amérique et d'Australie (Gandji *et al.*, 2018) (Figure 01). Le *Moringa* pousse dans les zones arides et côtières. Il est cultivé dans les zones tropicales semi arides, tropicales et subtropicales de 250 à 1600 m d'altitude, il résiste à la sécheresse (Lim, 2012). Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^{ème} siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période (foidl *et al.*, 2001).

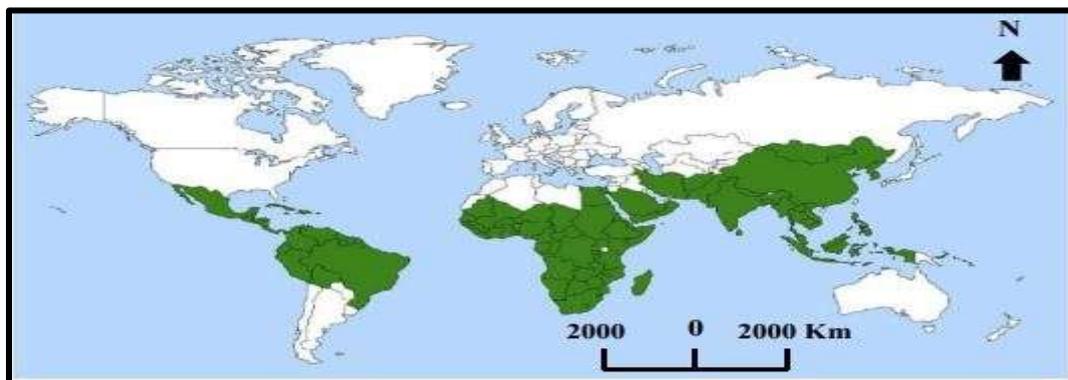


Figure 01. Répartition géographique du *Moringa Oleifera*, (indiqué en couleur verte) (Gandji *et al.*, 2018).

Dans la nature il existe 13 espèces de *Moringa*, l'espèce *Moringa oleifera* étant la plus connue (Laleye *et al.*, 2015). Ces espèces appartiennent à la famille monogénérique des arbustes et arbres des *Moringaceae* (Foidl *et al.*, 2001 ; Price *et al.*, 2007).

1.3. Systématique et nomenclature

Tableau 1. La systématique de *Moringa oleifera* (Laleye *et al.*, 2015).

Règne	<i>Plantae.</i>
Sous-règne	<i>Tracheobiophyta.</i>
Division	<i>Magnoliophyta.</i>
Classe	<i>Mangoliopsida.</i>
Sous-classe	<i>Dilleniidae.</i>
Ordre	<i>Capparales .</i>
Famille	<i>Moringaceae.</i>
Genre	<i>Moringa</i>
Espèce	<i>oleifera.</i>

- ✓ **Nom scientifique :** *Moringa oleifera* Lamark (Agroconsult, 2016).
- ✓ **Nom vernaculaire :** « *Moringa* » vient de *muringaen* malayalam une langue indienne (Fuglie, 2001).
- ✓ Quelques noms vernaculaires du *Moringa oleifera*.

Tableau 2. Quelques noms vernaculaires du *Moringa oleifera* Lam.

Région	Nom vernaculaire	Les références
Les pays anglophones	West Indian tree, Drumstick Tree, ou encore Never die tree en référence à sa résistance à la sécheresse	(HEDJI <i>et al.</i> , 2014).
Les pays francophones	Ben ailé, Moringa ailé, morungue	(FOIDL <i>et al.</i> , 2001).
Les pays arabes	Shagara Al Ruwag, Habbah Ghaliah, Rawag	(YONGABI <i>et al.</i> , 2012, YUSOFF, 2016).
Inde	Shajnah pour rappeler la forme du fruit qui ressemble à une baguette	(POUSSET., 1999).

1.4. Description botanique

Moringa oleifera ou « arbre miracle » est une plante à croissance rapide elle peut atteindre jusqu'à 7 à 12 m de hauteur, c'est une espèce qui nécessite très peu d'eau. Le tronc est généralement droit, mais parfois il est très peu développé. En général, il peut atteindre 1,5 à 2m de haut avant de se ramifier et parfois il puisse atteindre les 3m. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol (Foidl *et al.*, 2001). Le bois de *Moringa oleifera* est utilisée comme une excellente pâte à papier (Price *et al.*, 2007) (Figure 02).

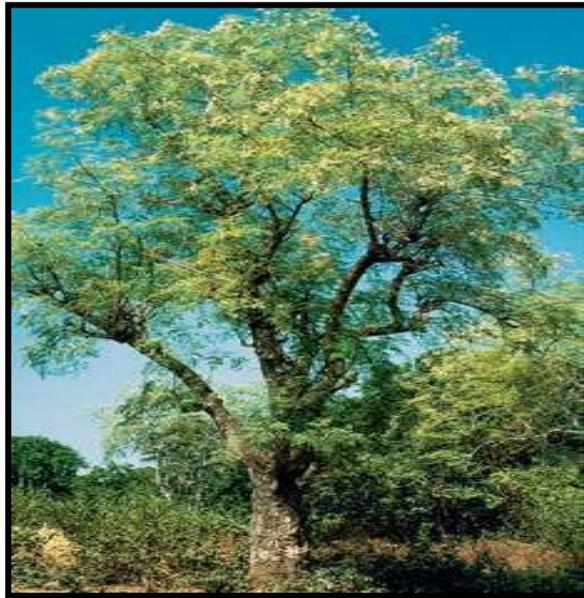


Figure 02. arbre, tronc de *Moringa oleifera* (Roloff *et al.*, 2009).

- **Racine**

La racine de *Moringa oleifera* est une racine blanche gonflée, tubéreuse qui a une odeur piquante caractéristique et dotée de racines latérales plutôt clairsemées. Les arbres cultivés à partir de graines développent une profonde racine pivotante robuste avec un système à large diffusion composée d'épaisses racines latérales tubéreuses (Agroconsult, 2016). La racine permet de traiter les inflammations, les douleurs articulaires, les douleurs lombaires ou rénales (Anwar *et al.*, 2007) (Figure 03).



Figure 03. Racine de *Moringa oleifera* (Agroconsult, 2016).

- **Feuilles**

Les feuilles de *Moringa oleifera* sont alternes, et bi ou tripennées se développent principalement dans la partie terminale des branches (Foidl *et al.* 2001). Elles mesurent 20 à 70 cm longs .Les feuilles comptent 2 à 6 paires de pinnules comprenant chacune 2 à 5 paires de pinnules secondaires (Agroconsult, 2016).Les feuilles de *Moringa oleifera* sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires et infectieuses, les gonflements, les coupures, les maladies de la peau, l'hypertension et le diabète (Leone *et al.*, 2015) (Figure 04).



Figure 04. Feuilles de *Moringa oleifera* (Roloff *et al.*, 2009).

- **Fleurs**

L'arbre commence à fleurir après 8 à 12 mois sur une base continue tout au long de l'année. Ses fleurs de 2,5 cm de large se développent en panicules axillaires et tombantes de 10 à 25cm. Elles sont agréablement parfumées, de couleur blanche ou crémeuse, avec des points

jaunes à la base. Les fleurs attirent les oiseaux et de nombreux insectes butineurs. Le miel de *Moringa* est généralement de bonne qualité (Agroconsult, 2016 ; Foidl *et al.*2001).Les fleurs sont utilisées comme un excellent tonique à base de plantes pour l'infertilité fonctionnelle des hommes et des femmes (Arise *et al.*, 2014) (Figure 05).



Figure 05. Fleurs de *Moringa oleifera* (Roloff *et al.*, 2009).

- **Fruits et grains**

Les fruits de *Moringaoleifera*sont en forme de gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long qui pendent des branches.Lorsque les fruits sont secs, ils s'ouvrent en trois parties, en libérant 12 à 35 graines de forme ronde, à trois angles (Foidl *et al.*, 2001) . Les graines sont rondes, noires, empilées sur trois rangéescentrales. Elles ont un diamètre de 10 à 12 mm (Agroconsult, 2016). Ils Sont consommées pour traiter les maux d'estomac, la mauvaise vision, les douleurs articulaires, l'anémie et l'hypertension, le diabète, les maux de dents, les hémorroïdes et les troubles utérins (Leone *et al.*, 2015) (Figure 06).



Figure 06. Graines et gousses mûres de *Moringa oleifera* (Agroconsult, 2016).

1.5. Ecologie de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est un arbre peu exigeant en eau et en matières minérales. Ainsi, son introduction dans un environnement riche en biodiversité est bénéfique à la fois pour l'exploitant et pour l'écosystème environnant (Foidl *et al.*, 2001) (tableau 3).

Tableau 3. Principales exigences écologiques de *Moringa oleifera* (Louni, 2009).

Caractéristiques	Conditions	Conditions optimales
Altitude	0-1500m	100-700m
T° moyenne	8°C-45°C	22°C-25°C
Précipitation	100-1500mm	700-900mm
Type de sols	Tous les sols sauf les Vertisols	Les sols sablonneux ou limoneux bien drainés
pH du sol	4,5 et 8	Neutres et légèrement acide

2. Les métabolites secondaires et stress oxydant

À côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéines et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix *et al.*, 2005) (Tableau 4).

Tableau 4. Composition des feuilles de *Moringa oleifera* en métabolites secondaires.

Métabolite	Composition	Référence
Alcaloïdes (mg/gm)	0.38	(Gokila <i>et al.</i> , 2017)
Flavonoïdes (mg/gm)	0.21	
Terpénoïdes (mg/gm)	0.32	
Saponines (mg/gm)	0.23	
Phénols totaux(%)	3.4	(Foidl <i>et al.</i> , 2001)
Tanins (%)	1.4	

Les feuilles du *Moringa* contiennent une très grande concentration de métabolites primaires et phénomène assez rare pour une plante, elle possède les acides aminés et les acides gras essentiels (Broin, 2005). En effet, la teneur en ces éléments est élevée pour 100 grammes de matière sèche (Tableau 5).

Tableau 5. Composition moyenne des feuilles de *Moringa oleifera* (Broin, 2005).

Données pour 100 grammes de matière sèche			
Composition Globale		Acides aminés (mg)	
Calories (kcal)	300	Arginine	1600
Protéines (g)	25	Valine	1400
Glucides (g)	40	Isoleucine	1140
Lipides (g)	8	Leucine	2050
Minéraux (g)	12	Lysine	1200
Fibres (g)	15	Thréonine	1080
Teneur en eau	75%	Phénylalanine	1400
Minéraux (mg)		Acide aspartique	1670
Calcium	2100	Acide glutamique	2470
Sodium	100	Alanine	1260
Fer	27	Proline	1230
Potassium	1300	Acides gras	
Magnésium	405	C 16: 0	530
Phosphore	310	C 18: 3	1140
Manganèse	8	C 18 : 2	170
Soufre	740	Vitamines	
Sélénium	2,6	Vitamine A (UI)	14300
Zinc	2,6	Vitamine C (mg)	850

2.1. Différentes classes des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures (Hartmann, 2007). Ils peuvent être créés par des voies synthétiques modifiées à partir de métabolites primaires, ou partager des substrats d'origine primaire. Ces composés sont utilisés comme des médicaments, des arômes, en particulier les huiles essentielles. (Kabera *et al.*, 2014). Trois grandes familles de métabolites secondaires ont été définies, en fonction de leurs voies de biosynthèses : les composés phénoliques, les terpénoïdes, et les alcaloïdes (Macheix *et al.*, 2005).

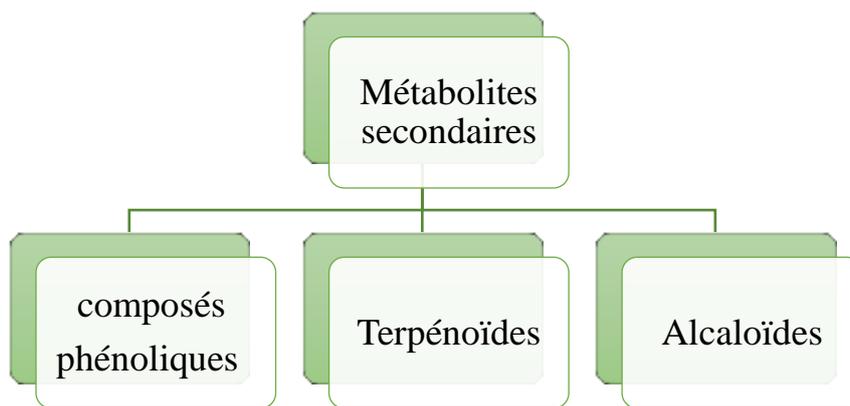


Figure 07. Différentes classes des métabolites secondaires (Macheix *et al.*, 2005).

2.1.1. Les composés phénoliques

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (glycoside, méthyle ester, ester ...etc.) (Bruneton., 2009).

2.1.1.1. Principaux groupes des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être divisés en plusieurs catégories. D'abord par la complexité du squelette de base (du simple C6 aux formes très polymérisées) (Macheix *et al.*, 2005). Un acide phénolique est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Singla *et al.*, 2019). Les acides phénoliques sont divisés en deux classes :

➤ Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

L'Acide hydroxycinnamique est un dérivé appartenant à la famille des phénylpropanoïdes, qui représentent une classe très importante dont la structure de base (C6- C3) provient de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques sont l'acide caféique, p-coumarique, ferulique et l'acide sinapique (Bijalwan *et al.*, 2016) (figure 08).

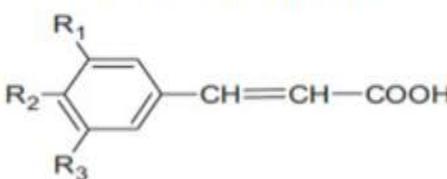
Cinnamic Acid Derivatives	Substitutions		
	R1	R2	R3
Cinnamic acid	H	H	H
<i>p</i> -Coumaric acid	H	OH	H
Caffeic acid	OH	OH	H
Ferulic acid	CH ₃ O	OH	H
Sinapic acid	CH ₃ O	OH	CH ₃ O

Figure 08. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (Calinoiu et Vodnar, 2018).

➤ Acides hydroxybenzoïques (C₆-C₁)

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque (dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque) et ont une formule de base de type C₆C₁ (figure 09).

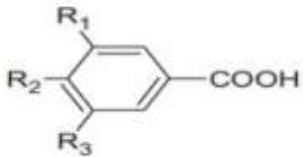
Benzoic Acid Derivatives	Substitutions		
	R1	R2	R3
Benzoic acid	H	H	H
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	H	OH	H
Protocatechuic acid	H	OH	OH
Vanillic acid	CH ₃ O	OH	H
Syringic acid	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Galic acid	OH	OH	OH

Figure 09. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Calinoiu et Vodnar, 2018).

2.1.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires issus des plantes, occupant une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes renforcent les effets de la vitamine C et fonctionnent comme des antioxydants (Patel *et al.*, 2014) (figure 10).

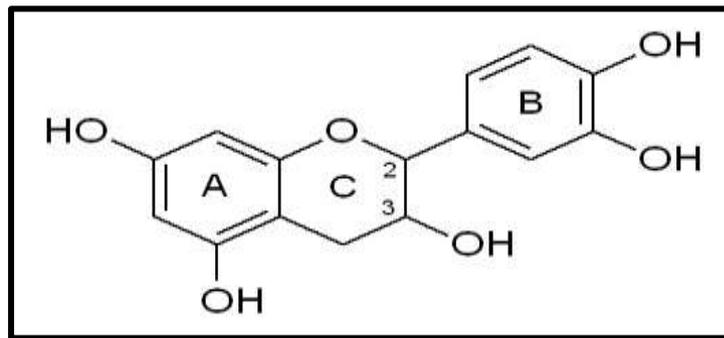


Figure 10. Structure de base des flavonoïdes (Boubakeri, 2014).

✦ Classification de flavonoïdes

Les différentes classes de flavonoïdes diffèrent par le modèle de substitution du cycle C et le niveau d'oxydation, tandis que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par le modèle de substitution des cycles (Perez et Fraga, 2018) (figure11).

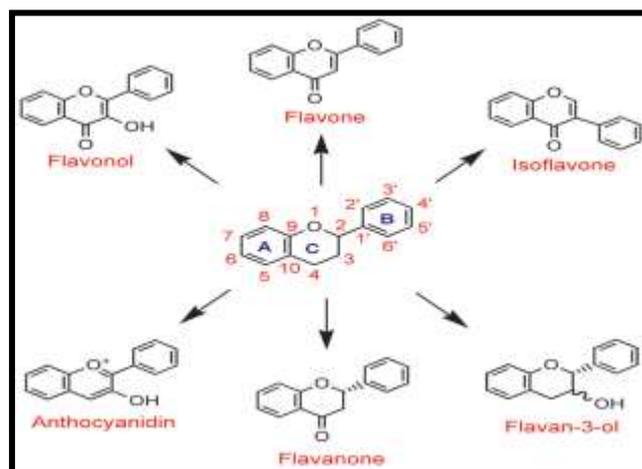


Figure 11. Les différentes classes de flavonoïdes (Crozier *et al.*, 2006).

2.1.1.3. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines ce qui explique leur capacité à tanner la peau. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Roux et Catier, 2007). Les structures chimiques des tanins sont variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes (Dahmani, 2013) (Figure 12).

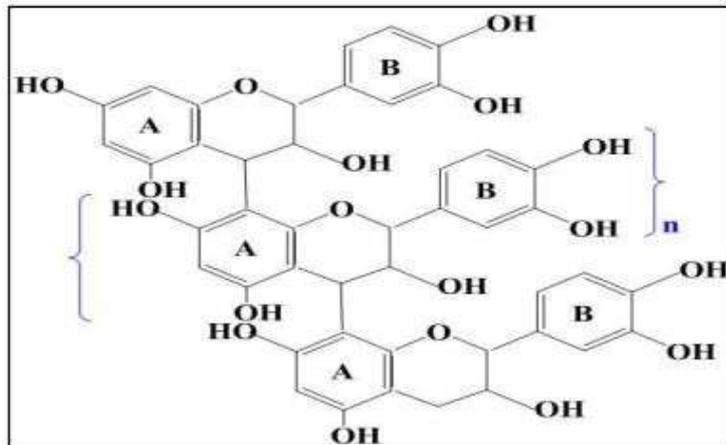


Figure 12. Structure de base des tannins (Dahmani, 2013).

Le mot tanin est utilisé pour faire référence à deux classes de composés phénoliques avec des natures chimiques différentes :

- Les tanins hydrolysables.
- Les tanins condensés.

2.1.1.4. Les coumarines

Ce sont des composés phénoliques cyclisés qui dérivent des acides t-cinnamique et p-coumarique pour la majorité d'entre eux. Cependant, leur voie de biosynthèse peut varier d'une espèce à l'autre (Hoffmann, 2003) La coumarine est utilisée en parfumerie. Son odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé (Cowan, 1999).

2.1.1.5. Les lignines

C'est un polymère naturel aromatique, Elle est rattachée aux composés phénoliques en raison de sa structure chimique et des voies de biosynthèse qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes (Edeas *et al.*, 2007). Ses principales fonctions sont de rendre la rigidité et l'imperméabilité des parois des cellules (Hopkins, 2003).

➤ Les propriétés biologiques des composés phénoliques

L'activité antioxydant des composés phénoliques est due à leur capacité à piéger les radicaux libres, donner l'atome d'hydrogène et un électron (Balasundram *et al.*, 2006). Pour les flavonoïdes, la relation structure activité antioxydant est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de la molécule de flavonoïdes (Bors *et al.*, 1997).

Tableau 6. Activités biologiques des composés phénoliques (Senani ,2018).

Les composés phénoliques	Les activités
Acides phénoliques simples	Antibactériens, Antifongiques, Antioxydantes
Coumarines	Vasoprotectrices, Antioédémateuses, Antitumorales, Anti-inflammatoires
Flavonoïdes	Antitumorales, Anti-inflammatoires, Antioxydant Hypotenseurs et diurétiques
Tannins galliques et condensés	Antioxydants Antibactérienne

2.1.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes ce sont des substances organiques souvent d'origine végétale comportant un ou plusieurs atomes d'azote de structure basique. Ils existent rarement à l'état libre dans la plante mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Roux et Catier, 2007).

2.1.3. Les terpènes

Les terpènes constituent le groupe le plus important et le plus diversifié de composés secondaires végétaux. Ils sont tous dérivés chimiquement d'unités isoprènes à 5 atomes de carbone, assemblées de différentes manières (Hoffmann, 2003).

2.2. Stress oxydant et radicaux libres

Les métabolites secondaires ce sont des antioxydants naturels qui possèdent la capacité de protéger l'organisme contre les dommages causés par le stress oxydatif induit par les radicaux libres. Ils sont présents dans les plantes médicinales et alimentaires, qui pourraient aider à prévenir les dommages oxydatifs (Ozsoy *et al.*, 2008).

2.2.1. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les capacités antioxydantes et les systèmes oxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut être due à une augmentation de production des radicaux libres ou a diminution des défenses antioxydants (Orban, 2010) (Figure 13).

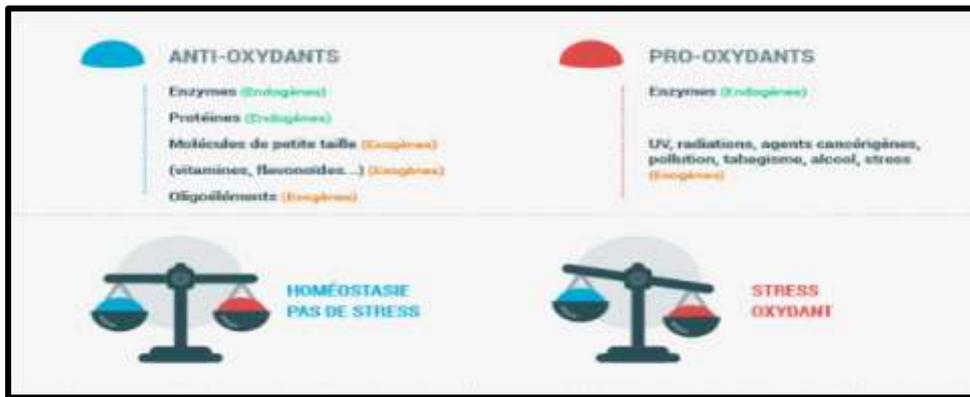


Figure 13. Le stress oxydant, toute une question d'équilibre (Ros *et al.*, 2013).

2.2.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui manquent d'un électron au niveau de la couche électronique la plus externe ce qui les rend instables et deviennent très réactives afin de se combiner à d'autres molécules et d'obtenir un état stable. (Dacosta, 2003).

2.2.2.1. Les principales sources des radicaux libres

➤ Exogène

L'humain est soumis à l'agression de divers agents capables d'induire la synthèse des radicaux libres parmi ces agents citant les rayonnements UV, Des médicaments ,pesticides, température élevée, le tabac, solvants industriels et cuisson à l'alcool qui sont capable de donner naissance au radicaux libres (Pham-Huy *et al.*, 2008) (Figure 14).



Figure 14. Différentes sources exogènes des radicaux libres (Chellouai ,2019).

➤ Endogènes

Les mitochondries constituent la principale source de production des ERO dans les systèmes biologiques. Pendant la respiration cellulaire l'oxygène est transformé en anion superoxyde

($O_2^{\cdot-}$) (Di Meo *et al.*, 2016). La NADPH oxydase des cellules non phagocytaires, produit aussi des radicaux libres en faible quantité (Ewald *et al.*, 2017). La dismutation de $O_2^{\cdot-}$ spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de H_2O_2 (Zhao *et al.*, 2019).

2.2.2.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives d'oxygène (ERO) ; est un terme collectif utilisé pour un groupe d'oxydants, qui sont soit des radicaux libres, soit des espèces moléculaires non radicalaires facilement transformés en radicaux libres (dérivés primaires non radicalaires) (Kunwar et Priyadarsini., 2011). Les espèces réactives de l'oxygène sont de petites molécules dérivées des molécules d'oxygène (Bedard et Krause ., 2007) (Tableau 7).

Tableau 7. Espèces réactives de l'oxygène (Mittal, 2014).

Les espèces réactives de l'oxygène radicalaires	
Radical perhydroxyle HO_2^{\cdot}	Radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$
Radical peroxyde RO_2^{\cdot}	Radical hydroxyle OH^{\cdot}
Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires	
Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	

2.3. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

Les antioxydants sont définis comme des substances qui retardent ou empêchent l'oxydation des substrats biologiques (Boyd *et al.*, 2003). C'est une molécule qui réagit et neutralise les formes réactives de l'oxygène. Il aide également à maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres (Mates *et al.*, 1999) (Figure 15).

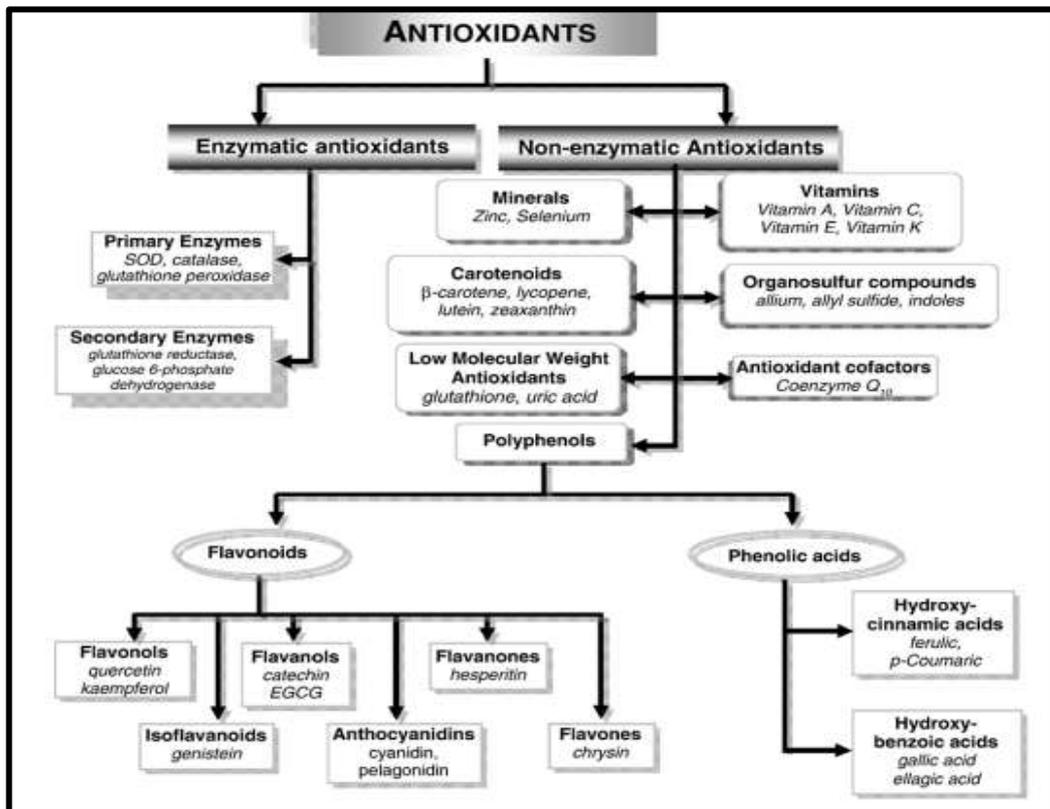


Figure 15. Classification des antioxydants (Ratnam *et al.*, 2006).

3. Activités biologiques et complément alimentaire

Les métabolites secondaires sont réputés par leurs activités biologiques nombreuses comme activité antibactérienne, activité antifongique, activité anti-inflammatoire (Bruneton, 2009). Le *Moringa oleifera* est considéré comme un arbre polyvalent. Il a de nombreuses applications agricoles, médicales et surtout industrielles, notamment la fabrication d'aliments pour animaux et de compléments alimentaires.

Les feuilles, Les graines et les fruits de *Moringa oleifera* sont des sources appréciables des tanins, des flavonoïdes et des acides phénoliques. Ils présentent diverses propriétés biologiques : anticancéreuse, antibactérienne anti-inflammatoire (Leone *et al.*, 2015).

3.1. Activité antimicrobienne

Diverses recherches ont été étudiées les espèces de *Moringa* pour leur activité antimicrobienne. Ces espèces ont été largement utilisées comme purificateurs d'eau et antiseptiques pour le traitement de l'eau en raison de leur forte activité antimicrobienne (Walter *et al.*, 2011). Les préparations aqueuses de poudre de feuilles de *M. oleifera* ont montré une plus forte inhibition microbienne que les préparations séchées, l'étude a rapporté que cette activité pourrait être due à la présence de saponine dans l'extrait qui avait des propriétés tensioactives (Torondel *et al.*, 2014).

3.2. L'activité anti-inflammatoire

Une étude a rapporté qu'un extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* réduisait l'effet œdémogène de l'œdème de la patte induit par la carragénine et par l'histamine (Adedapo *et al.*, 2015). La réponse inflammatoire après l'administration d'un extrait éthanolique de feuilles de *M. oleifera* a été observée sur des souris atteintes de dermatite atopique et des kératinocytes humains (Choi *et al.*, 2016). Un extrait de *M. oleifera* a réduit les lésions gastriques provoquées par l'acide acétylsalicylique, la sérotonine et l'indométacine (Pal *et al.*, 1995).

3.2.1. Inflammation

L'inflammation est un mécanisme physiologique de défense de l'hôte contre l'invasion par des agents pathogènes. Cependant, elle peut avoir des effets néfastes si elle n'est pas régulée. Elle est accompagnée par la production de divers médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les leucotriènes et les prostaglandines (Noak *et al.*, 2018). En outre, les cellules

inflammatoires peuvent produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de nitrogène qui peut déclencher des réactions d'oxydation toxiques, conduisant à des lésions tissulaires (Majdalawieh et Fayyad, 2015). L'inflammation peut être aiguë ou chronique. La première est une réponse immédiate de courte durée, habituellement, elle disparaît spontanément ou avec un traitement. Toutefois, elle peut évoluer vers une inflammation chronique à laquelle plusieurs maladies peuvent être liées (Roifman *et al.*, 2011; Noak *et al.*, 2018).

3.2.2. Anti-inflammatoires naturels

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique variée. Cependant ces plantes ont toutes en commun la présence de composés phénoliques, qui sont des molécules à plusieurs activités biologiques connues et reconnues. Les polyphénols présentent une capacité très importante à prévenir et traiter les maladies inflammatoires, et encore à éliminer les causes de l'inflammation comme par exemple élimination des aliments pro-inflammatoires (graisses saturés, excès de sucre...etc) (Bierhaus, 1997).

CHAPITRE 2

Matériel et Méthodes

Dans le but de valoriser et d'exploiter les plantes poussant en Algérie et qui sont réputées par leurs vertus médicinales, nous avons choisi *Moringa oleifera* en raison de son utilisation croissante par la population locale.

Le travail a été effectué au Centre de Recherche et de Développement CRD du groupe SAIDAL.

1. Matériel utilisé

On a utilisé un matériel biologique et un matériel non biologique.

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par la partie aérienne du *Moringa oleifera* récoltée au mois de mars (2022) en phase de floraison dans la wilaya de Meniaa. L'espèce est identifiée au niveau du Département de Botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El – Harrach (ENSA). Après le nettoyage et le séchage de la plante, des feuilles de *M. oleifera* ont été broyées à l'aide d'un moulin électrique. La poudre obtenue est conservée dans un bocal en verre fermé hermétiquement est stocké à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation (Figure 16).



Figure 16. Feuilles fraîches(A) feuilles séchées (B) poudre de feuilles (C) (photos originales).

1.1.2. Souches microbiennes testées

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera*, cinq souches microbiennes ont été testées dont quatre bactéries soit *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* et une levure ; *Candida albicans*.

Tableau 8. Caractéristiques générales des microorganismes utilisés.

Nom de la souche	Référence	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	+	<i>Micrococcaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	-	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	+	<i>Bacillaceae</i>
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	/	<i>Cryptococcaceae</i>

1.1.3. Matériel animal

Il s'agit de souris Swiss Albinos mâles et femelles avec un poids moyen 23g (figure. 17). Elles ont été placées dans des cages plastiques contenant des copeaux de bois. Ainsi, elles ont été mises à jeun pendant 17 heures avant l'administration de l'extrait aqueux. Elles ont accès libre à l'eau et l'alimentation. Ces animaux ont été procurés auprès de l'Institut Pasteur. Les animaux expérimentaux sont utilisés pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles.

**Figure 17.** Souris Swiss Albinos

1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique est constitué d'un ensemble de réactifs, de produits chimiques, d'appareils, et de verreries. Il est utilisé tout le long de l'expérimentation.

2. Méthodes

2.1. Séchage du matériel végétal

Les feuilles de *Moringa oleifera* récoltée sont séchées à une température ambiante dans un endroit aéré et ombragé pendant 15 jours, et ce afin d'éviter tout dépôt de moisissures

2.2. Broyage de la plante

Après le séchage le broyage est réalisé à l'aide d'un mixeur électrique (Figure 18). Le broyage de la plante permet l'augmentation de la surface de contact solvant échantillon et une meilleure infiltration du solvant au sein du matériel végétal ce qui a pour conséquence une augmentation de l'extraction (solide-liquide).



Figure 18. Broyage de la plante

2.3. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité)

Afin de déterminer les taux de pertes en eau pour avoir une idée sur le séchage et la possibilité de conservation, une prise d'essai de 1 g exactement pesée de la partie aérienne de plante étudiée est séchée dans une étuve réglée à une température comprise entre 100 et 105° C, pendant 2 heures (Pharmacopée Européenne 2020, 10^{ème} édition).

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \left(\frac{m1 - m2}{m1} \right) \times 100$$

H(%) : teneur en eau (humidité).

m1 : masse (en g) de la prise d'essai avant le séchage.

m2 : masse (en g) de la prise d'essai après séchage.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$\text{MS}\% = 100 - \text{H}\%$$

2.4. Pureté de la drogue végétale

La pureté de la drogue végétale étudiée consiste à rechercher les éléments étrangers et les parties étrangères dans cette dernière, une prise d'essai de 100g de la plante étudiés est débarrassée de tout élément étranger. Elle est ensuite pesée pour déterminer le pourcentage par la formule suivante :

$$\% \text{ des éléments étrangers} = \frac{m}{M} \times 100$$

m : masse (en g) des éléments étrangers.

M : masse (en g) de la prise d'essai au départ de la plante étudiée.

2.5. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques réalisées sur la poudre et l'infusé des feuilles et des fruits de *Moringa oleifera* ont pour objectif de rechercher les métabolites secondaires existants. Le protocole de la recherche de ces métabolites est résumé par Bruneton *et al.*; (1993) et Harborne *et al* (1998).

2.5.1. Préparation de l'infusé

20g de poudre sont placés dans 100ml d'eau bouillant. On laisse infuser pendant 20 minutes. Après le mélange est filtré par un papier filtre.

2.5.2. Identification des anthocyanes

Pour ce test, on rajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à 5 ml de l'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

2.5.3. Identification des tanins

On rajoute quelques gouttes de (FeCl₃ à 5%) à 5 ml de l'infusé. La réaction donne une coloration bleue noir en présence des tanins.

2.5.4. Tanins condensés

15 ml de l'infusé sont additionnée à 7 ml de réactif de Stiasny (2 volumes de formol à 30% et 1 volume acide chlorhydrique concentré). La réaction donne une coloration rouge en présence de tanins condensés.

2.5.5. Tanins galliques

A 15 ml d'infusé, on ajoute 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 . La réaction donne une coloration bleu foncée.

2.5.6. Identification des saponosides

Dans un tube à essai, on introduit 5 ml d'HCl à 0,1 N. Dans un deuxième tube, on ajoute 5 ml de NaOH à 0,1N. Ensuite, on rajoute dans chaque tube quelques gouttes de l'infusé après une bonne agitation. La formation de mousse indique la présence des saponosides.

2.5.7. Identification des flavonoïdes

A 5 ml d'infusé, on ajoute 5 ml d'HCl, un copeau de magnésium et 1 ml d'alcool iso-amylque. La réaction donne une coloration rouge orangé en présence de flavonoïdes.

2.5.8. Identification des alcaloïdes

L'identification est réalisée en utilisant le réactif de Dragendorff qui se prépare comme suit :

Réactif de Dragendorff :

- sous nitrate de bismuth.....0.85g
- acide acétique glacial.....30ml
- iodure de potassium (KI).....8g
- eau distillée.....60ml

Préparation :

- Solution A : dissoudre 0.85g de sous nitrate de bismuth dans un mélange composé de 10ml d'acide acétique glacial et de 40ml d'eau distillée.
- Solution B : dissoudre 8g d'iodure de potassium dans 20ml d'eau distillée.

Immédiatement avant l'emploi, mélanger 15ml de la solution A et 15ml de la solution B, puis ajouter 20ml d'acide acétique glacial et compléter à 100ml avec de l'eau distillée. (La solution de Dragendorff doit être fraîche et conservée dans des flacons jaunes, à l'abri de la lumière).

Test d'identification :

5 g de poudre végétale sont humectés avec de l'ammoniaque $\frac{1}{2}$ pendant 24 h dans 50 ml d'un mélange (éther/chloroforme, 3V/1V) et ce dans un récipient bien fermé. Le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique 2 N. Le réactif de Dragendorff donne un précipité rouge en présence d'alcaloïdes.

2.5.9. Identification des coumarines

On fait bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 minutes. Puis, on procède à une filtration. A 5 ml de filtrat, on ajoute 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10 %.

La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

2.5.10. Identification des leuco-anthocyanes

2g de poudre végétale sont introduite dans 20 ml d'un mélange (propanol / acide chlorhydrique, 50ml/50ml). Le mélange est porté au bain-marie bouillant pendant quelques minutes. Une coloration rouge se développe en présence de leuco-anthocyanes.

2.5.11. Identification des quinones libres

A 2g de poudre, on ajoute 2ml de HCl 1N et 20 ml de chloroforme bien fermé, afin d'éviter l'évaporation de ce dernier. Après trois heures, on procède à une filtration. Le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque $\frac{1}{2}$. On remarque une coloration rouge en présence de quinones libres.

2.5.12. Identification de quinones combinées

A 2 g de poudre, on ajoute 15 ml de H₂SO₄ 2N, porté à reflux pendant 15 min. On filtre et on rajoute 20ml de chloroforme. On laisse le chloroforme s'évaporer. Puis, on rajoute en excès de l'ammoniaque $\frac{1}{2}$. La réaction donne une coloration rouge en présence de quinones combinées.

3. Extraction des polyphénols

3.1. Extrait méthanolique par Soxhlet

L'extraction est effectuée par épuisement du matériel végétal en utilisant le méthanol. La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de la matière végétale dont nous disposant. Dans notre cas nous avons utilisé 25g de plante broyée contre 400 ml de méthanol. Le Soxhlet (figure 19) est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation.

Dans le montage l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le solvant est chauffé à ébullition. Les vapeurs ainsi produite passent par la cartouche contenant le matériel végétal à extraire. Le réfrigérant placé au-dessus du dispositif servira à condenser les vapeurs du solvant.



Figure 19. Schéma de l'extraction par Soxhlet (originale, 2022)

Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. L'extraction est complète lorsque le solvant d'extraction devient limpide. Après filtration sur papier filtre, l'extrait obtenu est introduit dans un ballon pré-pesé pour être ensuite concentré par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif, jusqu'à élimination du solvant. Le résidu sec est repris dans 20 ml de méthanol (Zygler et al., 2012).

3.2. Extrait méthanolique par sonication

Cette technique est basée sur l'utilisation des ultrasons pour l'extraction des principes actifs. Afin de réaliser une étude comparative entre deux méthodes d'extraction, nous avons choisi de procéder à une extraction par sonication. 10g de matériel végétal sont mis en contact avec 100ml de méthanol dans un bain à ultrason et ce pendant une durée totale de 60 minutes.



Figure 20. Schéma de l'extraction par sonication

Après filtration sur papier filtre, l'extrait obtenu est introduit dans un ballon pré- pesé pour être ensuite concentré par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif, jusqu'à élimination du solvant. Le résidu sec est repris dans 20 ml de méthanol (Wang et Weller, 2006)

3.3. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse d'extrait obtenu après extraction sur la masse totale de la plante utilisée dans l'extraction.

$$R\% = \frac{(M - M0)}{MT} \times 100$$

M : Masse du ballon après évaporation du solvant et récupération de l'extrait

M0 : Masse du ballon vide

MT : masse de plante, après élimination du taux d'humidité

$$MT = MVF \times (1-H)$$

MVF = Masse de la plante fraîche

H : Taux d'humidité

4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols pour les différents extraits de plantes a été réalisé par la méthode (Singleton et Rossi, 1965).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est à 750 nm, étant proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

0,2 ml de l'extrait est introduit dans un tube qui contient initialement 1,8 ml d'eau distillée, 0,2ml de réactif Folin-Ciocalteu est ajouté. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un vortex. Après 5 min, 2 ml d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7%) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est finalement laissé à incuber durant 90 min à l'obscurité. L'absorbance est lue à 750 nm (Arnous et al., 2002)

Une droite d'étalonnage est préalablement réalisée avec de l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. La quantité de polyphénols totaux de l'extrait testé est calculée à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage.

La quantité des composés phénoliques totaux est exprimée en mg Equivalent Acide Gallique EAG /g de plante sèche.

5. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl DPPH[•] (DPPH scavenging activity)

Dans le cas des composés phénoliques, 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 DPPH-H. Dans cette analyse, le radical libre stable DPPH[•] de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle.

DPPH (violet)

DPPH (jaune)

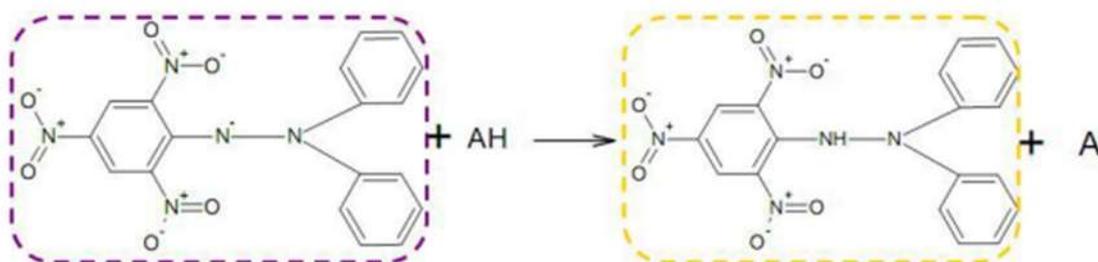


Figure 21. Réduction du radical DPPH[•]

La capacité de piégeage est généralement évaluée dans les milieux organiques en suivant la diminution de l'absorbance à 517nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante (Brand-

William *et al.*, 1995). L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes de concentration inhibitrice de 50% (IC₅₀).

100µl de chaque extrait de plante à différentes concentrations, sont ajoutés à 2ml d'une solution méthanolique de DPPH• à 0,04mg/ml. Après incubation à l'obscurité pendant 30min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour réaliser cette mesure, on a utilisé l'acide ascorbique comme référence. Le contrôle négatif est composé de 100 µl de méthanol et de 2ml d'une solution méthanolique de DPPH• à 0,04mg/ml.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : Absorbance du contrôle négatif

A_T : Absorbance du test effectué

6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

La recherche de la propriété anti-inflammatoire a été réalisée sur l'infusé des feuilles de *Moringa oleifera*.

6.1. Principe

Le principe de cette étude consiste à injecter sous l'aponévrose plantaire de la patte gauche de la souris de la carragénine à 0,1% pour évaluer ses propriétés anti-inflammatoires. Les produits testés ont été administrés par injection intramusculaire 30 min avant l'injection de la carragénine. Cette étude permet la comparaison de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester soit l'extrait de la plante à 10% et du produit de référence correspondant (diclofenac sodique) (Amezouar *et al.*, 2013).

6.2. Protocole expérimental

Les souris ont été réparties en 3 lots. Chaque lot contient 5 souris dont le poids corporel est compris entre 27 et 32g. Il s'agit d'un lot témoin, d'un lot de référence et d'un lot essai.

Première étape : Au temps T₀

Les souris ont été mises à jeun pendant 16 heures. Au temps T₀, on a mesuré l'épaisseur de la patte gauche de chaque souris à l'aide d'un pied à coulisse digital. Ensuite, on a administré par voie intra-gastrique (gavage) pour les trois lots les suspensions suivantes. Pour le lot

témoin, chaque souris reçoit 0,5ml de l'eau distillée. Ce qui est du lot de référence, chaque souris reçoit 0,5ml de l'Ibuprofène à 400 mg. Enfin, au niveau du lot essai, chaque souris reçoit 0,5ml de l'infusé de la Moringa (Fig. 21).



(a)



(b)

Figure 22. Administration orale de l'infusé (a), et injection sub-plantaire de la carragénine d'administration (b).

Deuxième étape : (après 30min)

Les souris des trois lots ont reçu 0,025 ml de la carragénine 0,1% sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche.

Troisième étape (Après 4 heures)

Les animaux sont sacrifiés par rupture de la nuque. Puis les pattes postérieures sont coupées à hauteur de l'articulation et pesées sur une balance analytique (Fig. 22).



Figure 23. Pattes gauches et droites coupées et mesure du poids des pattes

Expression des résultats

On a calculé les moyennes arithmétiques des poids des pattes gauches et des pattes droites pour chaque lot pour évaluer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) selon Amezouar *et al.*, (2013) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

On a calculé le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins par la formule suivante d'après Amezouar *et al.*, (2013)

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

Selon Amezouar *et al.*, (2013), on a calculé le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par l'extrait de la plante par rapport à l'Ibuprofène

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème de référence}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

7. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Elle se fait à travers les différentes étapes suivantes :

7.1. Revivification des souches microbiennes

La revivification des souches a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemencer quelques colonies de souches conservées en stries la surface de la gélose préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri. Il s'agit de Mueller-Hinton pour les bactéries et de Sabouraud pour les levures. Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche microbienne sont incubées à $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24h pour les bactéries et à $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 48h pour les levures (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).

7.2. Aromatogramme

L'aromatogramme ou la méthode de diffusion sur milieu gélosé consiste à mesurer in vitro le pouvoir antibactérien des extraits. Cette méthode est l'équivalent d'un antibiogramme ou l'antibiotique est remplacé par l'extrait à étudier.

L'aromatogramme s'effectue par un dépôt de disques en cellulose stériles, imbibés de d'extrait à étudier, sur un milieu gélosé préalablement coulé dans une boîte de Pétri. Il est à noter que chaque boîte de Pétri estensemencée par 10^8 UFC/ml du microorganisme testé.

Après incubation, l'évaluation du pouvoir antimicrobien de l'extrait se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se traduit par un halo clair autour du disque absorbant (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).

7.3. Protocole expérimental

7.3.1. Préparation de l'inoculum

On a préparé des tubes stériles contenant 5 ml d'eau physiologique stérile. Ensuite, on prélève quelques colonies soit 3 à 5 colonies de bactéries ou de levures bien isolées et identiques, et on les additionne à cette eau pour réaliser une suspension microbienne. On agite les tubes pendant quelques secondes. Après, on réalise une lecture de la densité optique (DO) de chacune des suspensions préparées. À l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de ($\lambda = 620$ nm) et qui doit être comprise entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries et entre 2 et 3 pour les levures, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml. Il s'agit de la concentration minimale qui assure la croissance microbienne.

Il faut noter que l'incubation peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture si la concentration de la suspension est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte.

Ainsi, l'ensemencement doit se faire dans les 30 minutes qui surviennent la préparation de l'inoculum (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).

7.3.2 Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes

Préparation de la première couche du milieu

Les milieux gélosés MH et SAB sont fondus dans un bain-marie à 95 °C. On verse aseptiquement une première couche dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte avec 3 répétitions par souche. On laisse ce milieu refroidir et se solidifier sur la paillasse (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).

Préparation de la deuxième couche

Les milieux gélosés MH et SAB sont fondus dans un bain-marie à 95 °C encore une seconde fois. Ensuite, on fait baisser la température jusqu'à 45 °C. Après, on remplit des flacons en verres stériles avec 50 ml de MH et 50 ml de SAB. Onensemence les milieux de culture avec 200 μ l de la suspension dans chaque flacon.

On agite manuellement les flacons. Ensuite, on transverse rapidement 5 ml de chaque milieu inoculé en 2^{ème} couche sur la surface des boîtes contenant déjà la 1^{ière} couche de gélose. On étale rapidement en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme. Enfin, on laisse solidifier sur la pailleasse (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).



Figure 24. Préparation de la 1^{ère} et la 2^{ème} couche du milieu

7.3.3. Dépôt de disques

Une fois que les milieux sont solidifiés, on prélève à l'aide d'une pince stérile un disque absorbant stérile et imbibé avec l'extrait, en mettant seulement en contact avec le bout du disque. Celui-ci va absorber progressivement l'extrait jusqu'à imprégnation totale du disque. On dépose les disques imbibés sur la surface de la gélose. Enfin, on laisse ces boîtes sur la pailleasse pendant 30 minutes pour permettre la diffusion de l'extrait (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).



Figure. 25. Dépôt de disques

7.3.4. Incubation

On incube les boîtes de Pétri à $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 24 h pour les bactéries et à $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 48 h pour les champignons (Pharmacopée européenne, 2020, 10^{ème} édition).

7.3.5. Lecture

Après incubation, la sensibilité des germes à l'extrait se traduit par la présence d'une zone claire autour des disques (zone d'inhibition en mm) :

- Présence de zone clair autour du puits = présence de l'activité inhibitrice
- Absence de zone claire autour du puits = absence de l'activité inhibitrice

Selon Vaquero *et al.*, (2007), les pouvoirs antimicrobienne ont été classés en fonction des diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne en quatre classes. L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée dans le tableau 9.

Tableau 9. Echelle d'estimation de l'activité antimicrobienne selon Vaquero *et al.*, (2007).

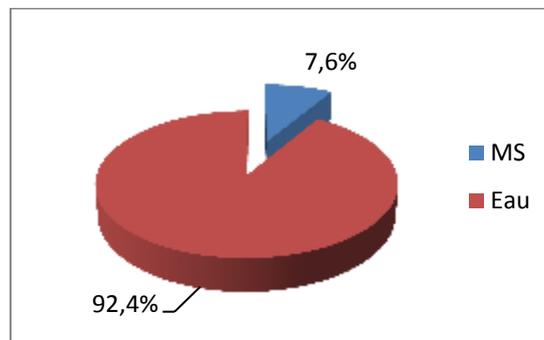
Diamètre de la zone d'inhibition	Pouvoir antimicrobien
$\geq 28\text{mm}$	Fortement inhibitrice
$16\text{mm} \leq \text{diamètre} \leq 28\text{mm}$	Modérément inhibitrice
$10\text{mm} \leq \text{diamètre} \leq 16\text{mm}$	Légèrement inhibitrice
$< 10\text{mm}$	Non inhibitrice

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité)

Les végétaux sont riches en eau. Ainsi, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % (PARIS et MOYSE, 1965). On a utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans la poudre des feuilles sèches de la plante. Il s'agit de la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve. Les résultats de cette analyse ont révélé un taux d'humidité inférieure à 10% correspondant à 7,6%. Cette teneur en eau, inférieure à 10% confère à la poudre une meilleure conservation à long terme, alors qu'une humidité résiduelle (supérieure à 10%) favorise la prolifération des microorganismes à savoir les bactéries, les levures, et les moisissures.



MS: la matière sèche

Figure 26. Teneur en eau des feuilles de Moringa

2. Pureté de la drogue végétale

Les résultats obtenus après élimination de tous éléments étrangers de la partie aérienne de la plante ont révélé un pourcentage d'éléments étrangers de 1,8% (Figure 27).

Selon la Pharmacopée Européenne (2020), les éléments étrangers sont séparés en deux catégories à savoir les parties étrangères qui font partie de la plante-mère et les matières étrangères à la plante mère qui sont d'origine végétale ou animale. La Pharmacopée tolère en général un taux maximal de 2 % d'éléments étrangers.

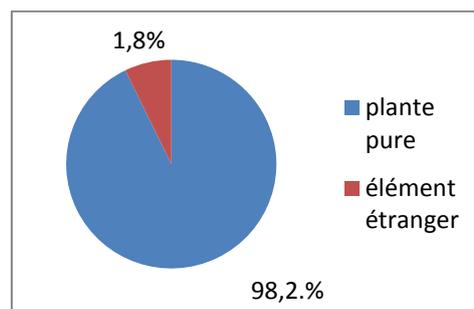


Figure 27. La pureté de drogue végétale

3. Etude phytochimique

Plusieurs métabolites secondaires ont été mis en évidence dans les feuilles du Moringa, les résultats sont représentés dans le tableau n° 10.

Tableau 10. Résultats des tests phytochimiques

Tests	Réactions positives	Résultats
Anthocyanes	Coloration bleue	-
Leuco-anthocyanes	Coloration rouge	-
Tanins	Coloration bleue	++
Tanins galliques	Coloration bleu foncé	+++
Tanins catéchiques	Coloration rouge	-
Saponosides	Formation de mousse	++
Flavonoïdes	Coloration rouge orangé	+++
Glucosides	Coloration rouge puis violette	++
Coumarines	Apparition d'un trouble	+++
Quinones libres	Coloration orange	-
Quinones combinées	Coloration rouge	-
Alcaloïdes	Précipité rouge	-

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existants dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés

- ✓ Présence forte du métabolite secondaire, représentée par : +++
- ✓ Présence moyenne du métabolite secondaire, représentée par : ++
- ✓ Présence à l'état de trace du métabolite secondaire, représentée par : +
- ✓ Absence du métabolite secondaire, représentée par : -

L'étude phytochimique a fait ressortir la présence de métabolites secondaire majoritaire à savoir les tanins galliques, les flavonoïdes, et les coumarines, confirmant les différentes vertus thérapeutiques attribuées à la plante.

Nous notons également la présence des tanins et des saponosides à des teneurs moyennes, alors que les anthocyanes, les leucoanthocyanes, les tanins catéchiques, les quinones et les alcaloïdes sont inexistant dans notre plante (*Moringa oleifera*).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par Issa *et al.*; (2021), qui ont travaillé sur la même plante récoltée dans la région d'Ilorin (Nigéria). Ces auteurs ont noté la présence des tanins, des flavonoïdes et des saponines. En revanche, ils diffèrent légèrement de ceux de Patel *et al.* ; (2014) traitant la plante de la région de Gujarat (Inde), qui ont noté la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes et des saponines et l'absence totale des tanins, des sucres réducteurs et des glucosides. D'autre part, les résultats de Bagheri *et al* (2020), montrent la présence des alcaloïdes, des tanins, des composés phénoliques et des terpénoïdes. Cette différence de compositions est due à plusieurs facteurs notamment la région, les conditions climatiques, la dessiccation et la période de récolte.

Les composés phénoliques possèdent un grand nombre de propriétés biologiques, Selon la littérature les polyphénols sont des agents antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires, anti- analgésiques, antiallergiques (Diebolt, 2003). Les flavonoïdes renforcent les effets de la vitamine C et agissent comme des antioxydants. Ils sont également connus pour être biologiquement actifs contre les toxines du foie et les tumeurs. Les tannins ont montré des effets potentiels antiviraux, antibactériens et antiparasitaires. Les saponines provoquent l'hémolyse des globules rouges (Patel *et al.* , 2014).

4. Rendement d'extraction

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée par soxhlet et par sonication à l'aide d'un bain ultrason. Les rendements en extrait sec sont regroupés dans le tableau n° 11.

Tableau 11. Rendement en extrait sec

Extraits	Rendement (%)
Extrait méthanolique par soxhlet	5,7%
Extrait méthanolique par sonication	3,2%

Ces résultats restent inférieurs à ceux de Jacob Olalekan Arawande *et al.*, 2021 qui soulignent un rendement de 8% pour l'extrait méthanolique des feuilles du Moringa ainsi qu'à ceux de Awa *et al.*, 2018 qui rapportent un rendement de 14% pour l'extrait alcoolique des feuilles de Moringa. En générale cette variabilité du rendement pourrait être due à plusieurs facteurs, tels que l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité) et la période de récolte.

5. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif Folin Ciocalteu comme décrit dans la partie matériel et méthodes (tableau 12).

Tableau 12. Récapitulatif des absorbances de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Concentration en acide gallique (mg/ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Absorbance	0,156	0,649	1,057	1,42	1,665

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale (mg EqAG/g de la matière végétale) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

$Y=3,789X-0,1473$ avec $R^2= 0,9855$ (figure 28)

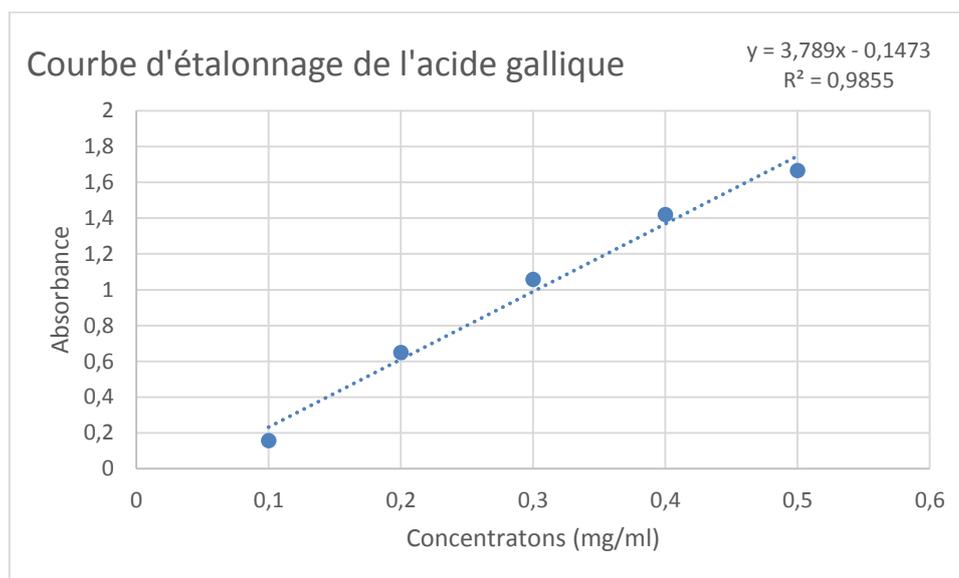


Figure 28. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau n°13 :

Tableau 13. Teneur en polyphénols totaux des feuilles du *Moringa oleifera*

Extraits	T (mg EqAG/g de la matière)
Méthanolique soxhlet	19,2
Méthanolique ultrason	74,5

Ces résultats confirment la richesse des feuilles du *Moringa* en composés phénoliques.

6. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl DPPH[•] (DPPH scavenging activity):

Dans cet essai, le radical DPPH[•] fixe un radical H[•] qu'il arrache à l'antioxydant AH. Ainsi, il perd sa couleur violette et son absorbance à 517 nm pour se transformer en DPPH-H de couleur jaunâtre (Figure N°29).

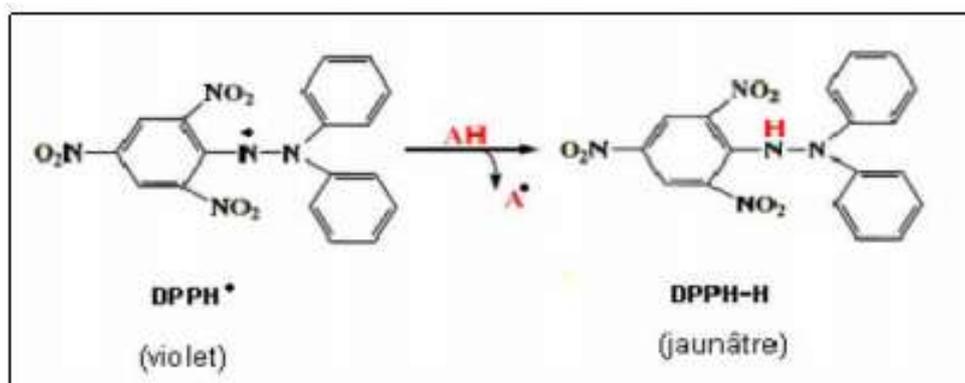


Figure 29. Réaction du radical DPPH[•] avec un antioxydant AH

6.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH[•] « *Moringa oleifera* »

Le tableau n°14 représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet.

Tableau 14. Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique par soxhlet

	Extrait méthanolique par soxhlet				
Concentration (mg/ml)	0,0001	0,001	0,01	0,1	1
Pourcentage d'inhibition (%)	8,18	16,44	54,90	85,34	90,20

Ces résultats sont représentés dans la figure 30 qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* obtenu par soxhlet.

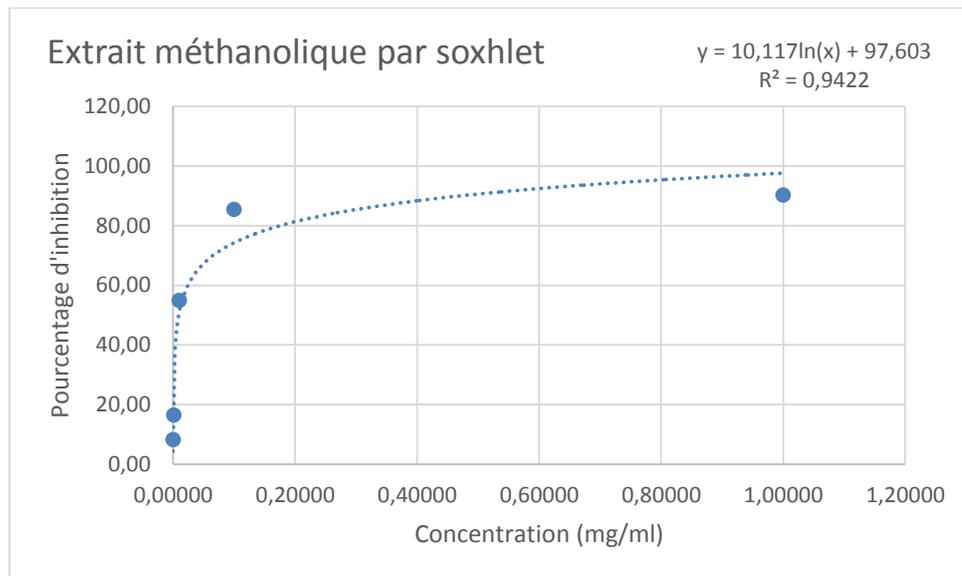


Figure 30. Variation du pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration (extrait méthanolique par soxhlet des feuilles du *Moringa oleifera*)

Le tableau n°15 représente la variation du pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration de l’extrait méthanolique obtenu par sonication.

Tableau 15. Variation du pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration de l’extrait méthanolique par sonication.

	Extrait méthanolique par sonication				
Concentration (mg/ml)	0,0001	0,001	0,01	0,1	1
Pourcentage d’inhibition (%)	9,07	14,98	44,78	69,15	80,65

Ces résultats sont représentés dans la figure 31 qui représente la variation du pourcentage d’inhibition en fonction de différentes concentrations de l’extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* obtenu par sonication.

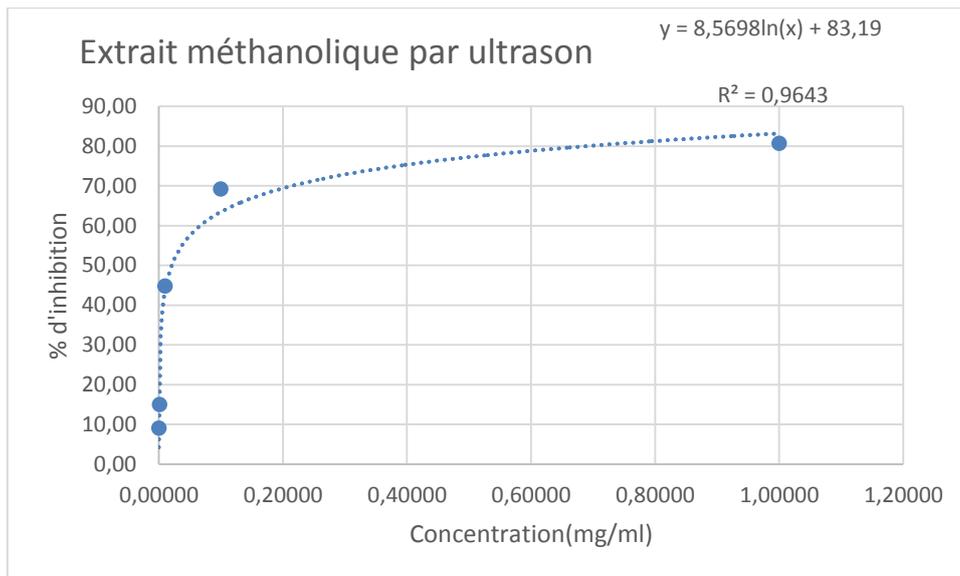


Figure 31. Variation du pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration (extrait méthanolique par sonication des feuilles du *Moringa oleifera*)

Le tableau n°16 représente la variation du pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration de l’acide ascorbique.

Tableau 16. Variation du pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration de l’acide ascorbique

	Acide ascorbique				
Concentration (mg/ml)	0,0001	0,001	0,01	0,1	1
Pourcentage d’inhibition (%)	23,89	27,85	54,66	96,14	96,99

Ces résultats sont représentés dans la figure 32 qui représente la variation du pourcentage d’inhibition en fonction de différentes concentrations de l’acide ascorbique.

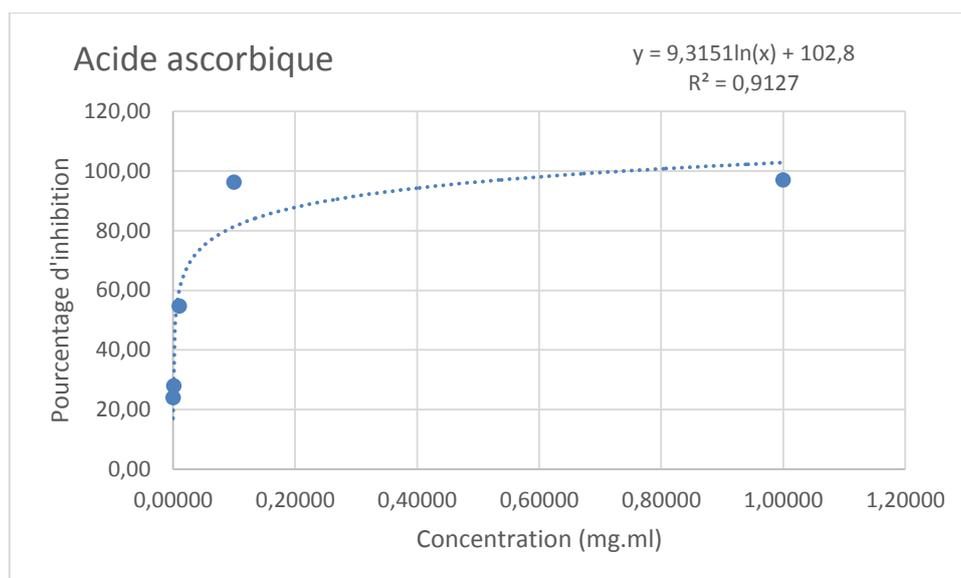


Figure 32. Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (acide ascorbique)

6.2. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux

L'IC₅₀ est un paramètre utilisé pour estimer l'activité antioxydante, elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de l'IC₅₀ est petite, plus l'effet antioxydant est très élevé. Les IC₅₀ ont été évaluées à partir des équations qui déterminent le pourcentage de réduction en fonction de la concentration des extraits en question.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire exprimée en IC₅₀ sont représentés dans le tableau n°17.

Tableau 17. Evaluation de l'IC₅₀ des extraits méthanoliques par soxhlet et par sonication ainsi que celle de l'acide ascorbique

Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait méthanolique soxhlet	0,009
Extrait méthanolique ultrason	0,02
Acide ascorbique	0,003

Les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour capturer les radicaux libres et d'après certaines études, ils sembleraient être responsables de l'activité de piégeage de ces derniers (Santos-Gomes et al., 2002; Babu et al., 2006).

Il ressort de cette étude que l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* possède une activité antioxydante significative qui est dose-dépendante. L'activité la plus importante ait été observée avec l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet avec une concentration inhibitrice IC50 de 9 µg/ml, bien qu'elle reste moins importante que celle de l'acide ascorbique avec 3µg/ml. Il est à noter que ces résultats ne rejoignent pas celui de Awa *et al* (2018), qui a souligné une IC50 d'une valeur de 87,8 µg/ml. Il a été également établi une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de plantes (Ouattara *et al.*, 2011).

Ces résultats suggèrent que les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent des substances à propriétés antioxydantes qui pourraient contribuer à la prévention de certaines maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires entre autres (Awa *et al.*, 2018).

7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Le tableau 18 regroupe l'ensemble des résultats de l'activité anti-inflammatoire

Tableau 18. Résultats de l'activité anti inflammatoire

	Poids des pattes gauches	Poids des pattes droites	% d'œdème	% de réduction de l'œdème
Témoin « Eau physiologique »	109mg	76mg	43,42%	0%
Référence « Diclofenac sodique »	169mg	139mg	21,58%	50,3%
Extrait aqueux <i>Moringa oleifera</i>	155mg	121mg	28,1%	35,3%

Ces résultats montrent que les souris prétraitées par l'extrait aqueux de *Moringa oleifera* à 10%, correspondant à 2000 mg/kg marquent une réduction significative de l'œdème des pattes gauches postérieures avec un pourcentage de réduction est de 35,3%. Cependant les souris traitées par diclofenac sodique manifestent un effet nettement supérieur à celui engendré par l'extrait aqueux de la plante avec un pourcentage de réduction de l'œdème de 50.3%. Ces résultats rejoignent ceux de Sy, Awa Ndiaye *et al.*, 2016 dont les résultats suggèrent que les feuilles de *Moringa oleifera* pourraient constituer une source potentielle d'anti-inflammatoires dans le traitement des pathologies ayant une composante inflammatoire.

8. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 19. Diamètre des zones d'inhibition (mm)

Souches bactériennes	Extrait Méthanolique par soxhlet	Extrait Méthanolique ultrason
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<9mm	12
		12
		13
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	<9mm
	15	
	15	
<i>Escherichia coli</i>	12	13
	13	13
	12	13
<i>Bacillus subtilis</i>	15	23
	14	23
	14	22
<i>Candida albicans.</i>	<9mm	11
		11
		11

L'exploitation des résultats énumérés dans le tableau 19 nous a permis de noter que l'extrait méthanolique obtenu par Soxhlet possède une activité légèrement inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, d'*Escherichia coli* et de *Bacillus subtilis* avec un diamètre de la zone d'inhibition qui varie entre 12 et 15mm. Sur les deux souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*, aucune activité antimicrobienne n'a été enregistré (ZI<9mm).

Pour ce qui est de l'extrait méthanolique par sonication vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, nous avons enregistré un diamètre de 23 mm, cela suggère que le pouvoir antimicrobien est modéré. Nous notons également une activité antimicrobienne légèrement inhibitrice vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Candida albicans* (10mm ≤ diamètre ≤

16mm). En revanche, aucune activité n'a été signalée avec *Staphylococcus aureus* (diamètre <9mm)/

Les résultats expérimentaux de l'effet antimicrobien des extraits de notre plante indiquent que ces souches présentent plus ou moins une résistance du fait que les diamètres de la zone d'inhibition varient entre nul, faible et modéré.

CONCLUSION

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale, une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Mais encore aujourd'hui, de nombreuses substances naturelles dont l'usage médical est traditionnellement répandu sont mal connues des praticiens.

Notre travail s'inscrit dans une démarche visant à contribuer à l'étude phytochimique et à évaluer quelques activités biologiques d'une plante médicinale originaire de l'Inde, mais qui est également indigène dans de nombreux pays d'Afrique. Il s'agit du *Moringa oleifera* cultivée dans la wilaya de Meniaa, sur laquelle très peu d'investigations scientifiques ont été entrepris.

Les résultats obtenus ont révélés la richesse de la plante en métabolites secondaires notamment les tanins galliques, les flavonoïdes, et les coumarines, confirmant les différentes vertus thérapeutiques attribuées à la plante. En effet, l'extraction des métabolites secondaires est une étape préliminaire essentielle pour la valorisation des principes actifs à effet thérapeutique, cette étape dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

Cette étude montre aussi qu'en raison de la diversité et de la complexité des mélanges naturels en composés phénoliques dans les extraits de plantes, il est difficile de corréliser systématiquement une forte teneur en polyphénols totaux avec une meilleure activité antioxydante. Les résultats obtenus montrent que l'activité antioxydante de l'extrait analysé dépend de la teneur en polyphénols totaux sans pour autant en être proportionnelle, en effet, bien que la teneur en polyphénols totaux est plus prononcée dans l'extrait méthanolique obtenu par sonication, l'effet antioxydant est plus prononcé pour l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet. Le *Moringa oleifera* peut être considéré comme une véritable source quotidienne d'antioxydant naturel.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion en milieu solide a montré d'une part que l'extrait méthanolique obtenu par Soxhlet possède une activité légèrement inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, d'*Escherichia coli* et de *Bacillus subtilis*. En revanche il n'a aucune activité antibactérienne vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. D'autre part, l'extrait méthanolique par sonication a enregistré une activité antimicrobienne modérée vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, une activité légèrement inhibitrice vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Candida albicans*, en revanche, aucune activité n'a été enregistrée vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

L'étude pharmaco-toxicologique de l'extrait aqueux a mis en évidence la présence d'une activité anti-inflammatoire modérée.

Au terme de ce travail, nous pouvons dire que notre plante manifeste des vertus thérapeutiques importantes, grâce à la présence de plusieurs catégories de métabolites secondaires.

Les perspectives envisagées dans les prochaines recherches concernant la plante *M. oleifera* :

- Extraire les autres principes actifs de la plante et tester leur pouvoir antibactérien sur un large panel de souches bactériennes et fongiques, devenues à l'heure actuelle multi résistantes aux antibiotiques.
- Déterminer les composants actifs responsables de chaque activité thérapeutique
- Développer les activités biologiques avec d'autres extraits aqueux des racines, des fleurs et les graines de *M. oleifera*
- Développer des produits à base des substances naturelles à usage pharmaceutique afin de réaliser des tests cliniques pour confirmer les vertus citées dans le présent travail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A. (2007). *Moringa oleifera* : a food plant with multiple biochemical and medicinal uses. *Phytother Res*, 21, 17–25.
- Agroconsult Haiti. (2016). Analyse des Potentialités de l'Exploitation du *Moringa* en Haïti. In: Ministère de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et du Développement Rural (MARNDR), p.191.
- Alidou, C., Salifou, A., Tchobo, F. P., & Soumanou, M. M. (2015). Connaissance endogène et utilisations du *Moringa oléifera* pour les populations autochtones de huit départements du Bénin [Endogenous knowledge and applications of *Moringa oleifera* for indigenous peoples from eight departments of Benin]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 13(2), 316.
- Arise, A., Arise, R., Sanusi, M., Esan, O., & Oyeyinka, S. (2014). Effect of *Moringa oleifera* flower fortification on the nutritional quality and sensory properties of weaning food. *Croatian journal of food science and technology*, 6(2), 65-71.
- Adedapo, A. A., Falayi, O. O., and Oyagbemi, A. A. (2015). Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory, anti-oxidant, phytochemical and toxicological properties of the methanolic leaf extract of commercially processed *Moringa oleifera* in some laboratory animals. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 26, 491–499. doi: 10.1515/jbcpp-2014-0105
- Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2002), Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 655–665.
- Amezouar, F., Badri, W., Hsaine, M., Bourhim, N., & Fougrach, H. (2013). Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc. *Pathologie Biologie*, 61(6), 254-258.
- Broin, M. (2005). Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. *Moringa news*.<http://www.moringanews.org>.
- Baba Aissa F. (1999) Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident, Ed. Edas, 178 p
- Baydar H., Sağdic, O., Ozkan G., Karadoğan T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15:169-172.
- Bidie, A. P., N'Guessan, B. B., Yapo, A. F., N'Guessan, J. D., Djaman, A. J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1-2), 1-12.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème éd. Lavoisier. Tec et Doc. Paris. pp 783-785.

- Bijalwan V., Ali U., Kesarwani A.K., Yadav K. & Mazumder K. (2016). Hydroxycinnamic acid bound arabinoxylans from millet brans-structural features and antioxidant activity. *Int J Biol Macromol.*88: 296-305.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations.* Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- Boyd, B., Ford C., Koepke, M., Gary, K., Horn, E., McAnalley S., McAnalley, B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco Science & Nutrition.* 4 (6), p 7.
- Bedard K., Krause KH. (2007). The NOX family of ROS- generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87, 245–313.
- Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1): 191-203.
- Bors W., Michel C. and Stettmaier K. (1997). Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors.* 6(4): 399-402.
- Bierhaus, A., Illmer, T., Kasper, M., Luther, T., Quehenberger, P., Tritschler, H., Wahl, P., Ziegler, R., Müller, M. et Nawroth, P.P. (1997). Le produit final de glycation avancée (AGE) - Induction Médie du facteur tissulaire dans les cellules endothéliales cultivées dépend du RAGE, 965(8), 2262- 2271.
- Bruneton, J., & Pharmacognosie, P. (1993). *Plantes médicinales*, 2^{ème} édition TEC&DOC-Lavoisier.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Babu, P. V. A., Sabitha, K. E., & Shyamaladevi, C. S. (2006). Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-biological interactions*, 162(2), 114-120.
- Bagheri, G., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Salehi, B., & Sharifi-Rad, J. (2020). Phytochemical screening of *Moringa oleifera* leaf extracts and their antimicrobial activities. *Cellular and Molecular Biology*, 66(1), 20-26.
- Călinoiu L. & Vodnar D. (2018). Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. *Nutrients.* 10(11): 1615-1624.
- Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564- 582
- Choi, E. J., Debnath, T., Tang, Y., Ryu, Y. B., Moon, S. H., and Kim, E. K. (2016). Topical application of *Moringa oleifera* leaf extract ameliorates experimentally induced atopic dermatitis by the regulation of Th1/Th2/Th17 balance. *Biomed. Pharmacother.* 84, 870–877. doi: 10.1016/j.biopha.2016.09.085

- Dahmani, S. (2013). Utilisation des Extraits du café, du thé et la farine du caroubier pour l'obtention des nanoparticules de divers métaux. Mémoire du Master. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen. p 23.
- Di Meo S., Reed T.T., Venditti P. & Victor V.M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016: 1245049.
- Diebolt, M. (2003). *Effets pharmacologiques des polyphénols végétaux sur la vasomotricité et études des mécanismes dans un modèle de vaisseaux humains reconstitués par ingénierie tissulaire* (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)(1971-2008)).
- Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264- 270.
- Ewald C.Y., Hourihan J.M., Bland M.S., Obieglo C., Katic I., Moronetti M.L.E., Alcedo J., Blackwell T.K. & Hynes N.E. (2017). NADPH oxidase-mediated redox signaling promotes oxidative stress resistance and longevity through memo-1 in *C. elegans*. *Elife*. 6:11-22.
- Foidl N., Makkar H.P.S. and Becker K. (2001). Potentiel de Moringa oleifera en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du Moringa. *Dar es Salaam.Tanzanie*. 29 octobre - 2 novembre 2001.
- Fuglie, L., (2001). Le *Moringa* : une arme dans la lutte contre la malnutrition. *Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest*. Disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 25/05/2015.
- Gandji, K., Chadare, F., Idohou, R., Salako, V., Assogbadjo, A., & Kakaï, R. G. (2018). Status and utilisation of Moringa oleifera Lam: A review. *African Crop Science Journal*, 26(1), 137-156.
- Guenne, S. A. M. S. O. N., Ouattara, N. A. B. E. R. E., Hilou, A. D. A. M. A., Millogo, J. F., & Nacoulma, O. G. (2011). Antioxidant, enzyme inhibition activities and polyphenol contents of three Asteraceae species used in Burkina Faso traditionally medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(5), 524-528.
- HOFFMANN, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse de Doctorat : Université de LOUIS PASTEUR-STRASBOURG I
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*, 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris. p 514.
- Issa, S. B., & Muazu, M. (2021). Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Moringa oleifera Leaves Extracts against Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. *Phytochemical Analysis*, 7(1).
- Jacob Olalekan Arawande, Adekemi Racheal Adeleke, Olamide Racheal Orimoloye, Segun. Akanmu Adebisi, Edgar Uzzezi. Amuho, et al., Extractive Values and Antioxidant Properties of Leaves,

- Seeds, Pods and Coats Moringa Plant. Biomed J Sci & Tech Res 39(4)-2021. BJSTR. MS.ID.006334.
- Kunwar, A., Priyadarsini, K.I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. J. Med. Allied Sci. 1, 53–60.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2015). Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: an overview. *International journal of molecular sciences*, 16(6), 12791-12835.
- Létard, J. C., Canard, J. M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., & Lapuelle, J. (2015). Phytothérapie–Principes généraux. *Hegel*, (1), 29-35.
- Lim, T. K. (2012). *Moringa oleifera*. 453-485.
- Price, M. L. (2007). The moringa tree. *ECHO technical note*, 17391, 1-19
- Louni, S. (2009). *Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile de graines de Moringa oleifera*. Thèse, 107.
- Laleye O.A.F., Ahissou H., Olounlade Ap., Azando E.V.B and Laleye A. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétique de la flore béninoise : *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (*Meliaceae*), *Momordica charantia* Linn (*cucurbitaceae*) et *Moringa oleifera* Lam (*Moringaceae*). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9 (5): 2682-2700.
- Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. Collection Biologie, pp.1-11.
- Mates, J. M., Perez-Gomez, C., Nunez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *ClinBiochem*. 32, 596.
- Majdalawieh, A.F., Fayyad, M.W. (2015). Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol*, 28: p295-304.
- Noack, M., Kolopp-Sarda, M.N. (2018). Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et Utilisation thérapeutique. *Rev Fr Lab*, 489 (3):p28- 37
- Orban, J. C. (2010). Oxygène, stress oxydant. Chapitre : Désordres métaboliques et réanimation, p, 427-437.
- Perez-Vizcaino F. & Fraga C.G. (2018). Research trends in flavonoids and health. *Arch Biochem Biophys*. 646: 107-112.
- Pham-Huy, L, Hua, H, Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*, 4(2), 89–96.
- Pal, S. K., Mukherjee, P. K., and Saha, B. P. (1995). Studies on the antiulcer activity of *Moringa oleifera* leaf extract on gastric ulcer models in rats. *Phytother. Res*. 9, 463–465. doi: 10.1002/ptr.2650090618
- Pharmacopée Européenne 2020, 10^{ème} édition
- Paris R. et Moysse M. (1965). Précis de matière médicale. *Edit. Masson. Paris*. 412 p.

- Patel, P., Patel, N., Patel, D., Desai, S., & Meshram, D. (2014). Phytochemical analysis and antifungal activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 144-147.
- Roloff A., Weisgerber H., Lang U. and Stimm B. (2009). *Moringa oleifera Lam., 1785*. Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch and Atlas der Dendrologie. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. *Enzyklopädie der Holzgewächse - 40. Erg.Lfg. 6/05*. 8p.
- Roux, D. & Catier, O. (2007). *Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie*. Wolters Kluwer France Edition, p 74.
- Ratnam VD, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar RMNV. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 189–207.
- Roifman, I., Beck, P.L., Anderson, T.J., Eisenberg, M.J., Genest J. (2011). Chronic inflammatory diseases and cardiovascular risk: a systematic review. *Can J Cardiol*, 27 :p174-182.
- Singla R.K., Dubey A.K., Garg A., Sharma R.K., Fiorino M., Ameen S.M. & Al-Hiary M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *J AOAC Int*. 102: 1-5
- Singleton V. L. and Rossi J. A. (1965), Colorimetry of total phenols with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Santos-Gomes, P. C., Seabra, R. M., Andrade, P. B., & Fernandes-Ferreira, M. (2002). Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Science*, 162(6), 981-987.
- Sy, A. N., Dior FALL, A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Gueye, R. S., Bassene, E., ... & Sy, G. Y. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1816-1823.
- Sy, A. N., Fall, A. D., Ndiaye, M., Sall, A. O., Sy, G. Y., Bassène, E., & Dièye, A. M. (2016). Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire des sous-fractions méthanoliques des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) chez le rat. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(2), 760-768.
- Torondel, B., Opare, D., Brandberg, B., Cobb, E., and Cairncross, S. (2014). Efficacy of *Moringa oleifera* leaf powder as a hand-washing product: a crossover controlled study among healthy volunteers. *BMC Complement Altern. Med.* 14:57. doi: 10.1186/1472-6882-14-57
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4), 91.

- Rodriguez Vaquero, M. J., Alberto, M. R., & Manca, M. C. (2007). Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, vol. 18, no 5, p. 587-593.
- Walter, A., Samuel, W., Peter, A., and Josphe, O. (2011). Antibacterial activity of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala* methanol and n-hexane seed extracts on bacteria implicated in water borne diseases. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5, 153–157. doi: 10.5897/AJMR10.457
- Wang, L. et Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17:300-312).
- Z. Chellouai, Y. Hadeif, R. Moussaoui, S.A. Benaissa, M. Nachi., (2019). Le dosage du malondialdéhyde (MDA) et la maladie rénale chronique (MRC).
- Zhao R.Z., Jiang S., Zhang L. & Yu Z.B. (2019). Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. *Int J Mol Med.* 44(1): 3-15.
- Zygler, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, 65–82. doi:10.1016/b978-0-12-381373-2.00037-5