



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université d'Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED-

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

"Profil des composés phénoliques et évaluation des activités biologiques de l'extrait brut et de certains composés bioactifs des Feuilles de *Moringa oleifera*."

Présenté Par :

M^{elle} : ABABSA Amira

M^{elle} : AMMARI Anfal

Devant le jury:

Président :

Président	GAMOUDA Messouda	M..	Université d'El Oued.
Examineur	BOUDEBIA Ouafa	M..	Université d'El Oued.
Promoteur	LAIB Ibtiham	M..	Université d'El Oued.

Année universitaire: 2024/2025

شكر وتقدير



في بداية هذا العمل المتواضع أرفع أسمى آيات الشكر والتقدير إلى المولى عز وجل الذي وفقنا وأعاننا على إتمام هذا البحث.

ثم أتوجه بجزيل الشكر وعظيم الامتنان إلى أستاذتنا الفاضلة الدكتورة

«ابتسام العايب»

التي كانت نبراساً لأعضاء لنا دروب البحث بعلمها الغزير وتوجيهاتها السديدة. لقد كانت لتشجيعها المستمر

ونصائحها القيمة الأثر الأكبر في إثراء هذا العمل وإخراجه في صورته النهائية



اهداء



الحمد لله الذي تتم بنعمته الصالحات

﴿وَأَنْ لَيْسَ لِلْإِنْسَانِ إِلَّا مَا سَعَى، وَأَنْ سَعِيهِ سَوْفَ يُرَى، ثُمَّ يُجْزَاهُ الْجَزَاءَ الْأَوْفَى﴾

صدق الله العظيم

الحمد لله الذي سخر لنا البدايات، وبلغنا النهايات

لا يطيب الليل إلا بشكره، ولا يطيب النهار إلا بطاعته، ولا تطيب اللحظات إلا

بذكره عز وجل

لقد كان الطريق طويلاً، مليئاً بالإخفاقات والنجاحات... وأنا فخورة بكفاحي

إنها لحظة لطلما انتظرتها، وحلمت بها، في حكاية اكتملت فصولها أخيراً

إلى أُمي الحبيبة، ابتك قد أثمرت، وفضلك أينعت الثمار

كان دعمك الدائم ومساندتك المحافز الأكبر لبلوغي هذه اللحظة

أدامك الله لي نعمة، ومرزقتي برك ما حييت

وإلى والدي العزيزين

من علمني العطاء دون انتظار

ومن أحمل اسمه بكل فخر واعتزاز

وإلى من قال فيهم الله عز وجل: ﴿سَتَشُدُّ عَضُدَكَ بِأَخِيكَ﴾

إلى إخوتي الأحبة: موسى، بلال، مندر، وأدم

كنتم السند في صمتي، والقوة في ضعفي، والدعم في كل لحظاتي.

وإلى وحيدة قلبي ومروحي... ذكري،

وجودك في حياتي نعمة، ومحبتك دافع لا ينضب.

إلى حبايب قلبي أبناء أختي: دامرین، أمير

أتم الفرحة في حياتي، والنور الذي يضيء دربي

وإلى صديقي وأخي المساند مصعب

شكراً لوقوفك إلى جانبي، ودعمك المتواصل.. جزاك الله عني كل خير، ووفقك لما

يجب ويرضى

(وأخردعواهم أن الحمد لله رب العالمين)

..... كهم أنفال"

أهداء



﴿وأخرد عواهد أن الحمد لله رب العالمين﴾

من قال أنا لها نالها

وأنا لها وأن أبت مرغما عنها اتيت بها

الحمد لله حبا وشكرا وامتنانا على البدء والختام

مرجوت كريمة وثقت بصنعه وما كان من يرجو الكرم يخيب

لم تكن الرحلة قصيرة ولا الطريق مخوفاً بالتسهيلات لكنني فعلتها فالحمد لله الذي يسر

البدایات وبلغنا نهايات بفضلته وكرمه

بكل حب اهدي ثمرة نجاحي تخرجني:

الى من كلله الله بالهبة والوقار الى من احمل اسمه بكل فخر الى من لا ينفصل اسمه عن

اسمي من كان مصدر الدعم والعطاء سندي وقوتي وملاذي بعد الله

""ابي العاليي""

الى من جعل الله الجنة تحت اقدامها الى اليد الخفيفة التي نزلت عني طريق الأشواك وغرست فيا

حب العلم والتعلم اهديك ما وصلت اليه من نجاح يا عزري حين اقلقتني الحياة ويقيني فاني عند

مرؤيتك فقط استطعت المضي الى مريحتي وسيدة نساء الكون

""امي العالية""

الى من وهبني الله نعمة وجودهم في حياتي الى العقد المتين.

""اخواني""

الى التي لم تخدني في كل ضيق اليك يا قطعة من مروحي يا من تحملتني في تعبي واتعس

حالي وساندتني بطيب كلما تك

""اخني العالية""

الى من تذوقت معهم اجمل اللحظات صديقاتي

اهديكم هذا الانجاز وثمره نجاحي الذي لطلما تمنيت به اليوم اتممت اول ثمراته بفضل من الله

عز وجل فالحمد لله على ما وهبني.

..... كهم اميرة"

2025

Résumé

Résumé

Cette étude visait à examiner la composition phytochimique et les activités biologiques des extraits de feuilles de *Moringa oleifera*, en mettant particulièrement l'accent sur les fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol, afin d'identifier les composés bioactifs d'intérêt thérapeutique. L'extraction a été réalisée par des méthodes aqueuse, la méthode aqueuse ayant donné un rendement d'extraction plus élevé (16 %). Le dépistage phytochimique a révélé la présence de métabolites secondaires clés, notamment des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des saponines et des alcaloïdes. Les analyses quantitatives ont montré que l'extrait aqueux avait les plus fortes teneurs en polyphénols totaux ($56,99 \pm 5,57 \mu\text{g GAE/mg}$) et en flavonoïdes ($38,05 \pm 3,79 \mu\text{g QE/mg}$), soutenant sa forte capacité antioxydante. Les évaluations biologiques ont démontré que la fraction de n-butanol présentait la plus forte activité de piégeage des radicaux DPPH ($\text{IC}_{50} = 18,61 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$) et le plus haut pouvoir antioxydant réducteur ferrique ($\text{FRAP} = 15,225 \pm 0,017 \mu\text{g/mL}$), tandis que l'extrait aqueux a montré une capacité antioxydante totale supérieure ($118,83 \pm 2,53 \mu\text{g/mL}$). En termes d'activité anti-inflammatoire, la fraction de n-butanol a atteint la plus forte inhibition ($229,92 \mu\text{g/mL}$), surpassant les extraits aqueux ($336,56 \mu\text{g/mL}$) et d'acétate d'éthyle ($396,8 \mu\text{g/mL}$). Les essais photoprotecteurs ont indiqué que la fraction d'acétate d'éthyle avait le plus haut facteur de protection solaire ($\text{FPS} = 23,00 \pm 2,30$), suivie par l'extrait aqueux ($22,20 \pm 2,22$) et l'extrait d'acétate d'éthyle ($20,17 \pm 2,01$), bien que tous étaient inférieurs à la référence commerciale (Avène®, $\text{FPS} 40 \pm 1,2$). Les essais d'hémolyse ont confirmé la faible cytotoxicité de la fraction de n-butanol (1,03 % d'hémolyse à $25 \mu\text{g/mL}$), soutenant sa biocompatibilité, tandis que les fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol ont également démontré la plus forte activité antibactérienne contre les souches pathogènes testées. Dans l'ensemble, ces résultats soulignent la promesse thérapeutique de *Moringa oleifera*, en particulier ses fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol, comme des sources puissantes d'agents antioxydants, anti-inflammatoires, photoprotecteurs et antibactériens, avec d'excellents profils de sécurité, offrant ainsi une base pour des applications pharmacologiques futures et une validation *in vivo*.

Mots clé: *Moringa oleifera*, composition phytochimique, fractions bioactives, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, photoprotection, activité antibactérienne, activité d'hémolyse.

Abstract

This study aimed to investigate the phytochemical composition and biological activities of *Moringa oleifera* leaf extracts, with a particular focus on the ethyl acetate and n-butanol fractions, to identify bioactive compounds of therapeutic interest. Extraction was carried out using both aqueous methods, with the aqueous process yielding a higher extraction rate (16%). Phytochemical screening revealed the presence of key secondary metabolites, including polyphenols, flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids. Quantitative analyses showed that the aqueous extract had the highest total phenolic ($56.99 \pm 5.57 \mu\text{g GAE/mg}$) and flavonoid contents ($38.05 \pm 3.79 \mu\text{g QE/mg}$), supporting its strong antioxidant capacity. Biological evaluations demonstrated that the n-butanol fraction exhibited the strongest DPPH radical scavenging activity ($\text{IC}_{50} = 18.61 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$) and the highest ferric-reducing antioxidant power ($\text{FRAP} = 15.225 \pm 0.017 \mu\text{g/mL}$), while the aqueous extract showed superior total antioxidant capacity ($118.83 \pm 2.53 \mu\text{g/mL}$). In terms of anti-inflammatory activity, the n-butanol fraction achieved the highest inhibition $229.92 \mu\text{g/mL}$, surpassing both aqueous ($336.56 \mu\text{g/mL}$) and ethyl acetate ($396.8 \mu\text{g/mL}$) extracts. Photoprotective assays indicated that the ethyl acetate fraction had the highest sun protection factor ($\text{SPF} = 23.00 \pm 2.30$), followed by aqueous (22.20 ± 2.22) and ethyl acetate (20.17 ± 2.01) extracts, although all were lower than the commercial reference (Avène®, $\text{SPF } 40 \pm 1.2$). Hemolysis assays confirmed the low cytotoxicity of the n-butanol fraction (1.03% hemolysis at $25 \mu\text{g/mL}$), supporting its biocompatibility, while ethyl acetate and n-butanol fractions also demonstrated the strongest antibacterial activity against tested pathogenic strains. Overall, these findings highlight the therapeutic promise of *Moringa oleifera*, particularly its ethyl acetate and n-butanol fractions, as potent sources of antioxidant, anti-inflammatory, photoprotective, and antibacterial agents with excellent safety profiles, thus providing a foundation for future pharmacological applications and *in vivo* validation.

Keywords: *Moringa oleifera*, Phytochemical composition, Bioactive Fractions, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Photoprotection, Antibacterial activity, Hemolysis activity.

تهدف هذه الدراسة إلى التحقيق في التركيب الكيميائي النباتي والأنشطة البيولوجية لمستخلصات أوراق نبات *Moringa oleifera*، مع التركيز بشكل خاص على جزئي الأسيئات الإيثيلي والبيوتانول العادي، بهدف تحديد المركبات النشطة بيولوجيًا ذات الأهمية العلاجية. تم إجراء الاستخلاص باستخدام الاستخلاص المائي، حيث أظهرت الطريقة المائية معدل استخلاص (16%). كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود عدد من المستقبلات الثانوية الهامة، بما في ذلك البوليفينولات، والفلافونويدات، والعفص، والصابونينات، والقلويدات. وأظهرت التحاليل الكمية أن المستخلص المائي يحتوي على أعلى نسبة من الفينولات الكلية (5.57 ± 56.99 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغم) والفلافونويدات (38.05 ± 3.79 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغم)، مما يدعم قدرته العالية كمضاد للأكسدة.

أظهرت التقييمات البيولوجية أن جزء البيوتانول العادي يمتلك أقوى نشاط لمعادلة الجذور الحرة (DPPH) بقيمة $IC_{50} = 18.61 \pm 0.03$ ميكروغرام/مل، وأعلى قدرة اختزالية للحديد ($FRAP = 15.225 \pm 0.017$ ميكروغرام/مل)، في حين أظهر المستخلص المائي أعلى قدرة مضادة للأكسدة بشكل إجمالي (2.53 ± 118.83 ميكروغرام/مل). وبالنسبة للنشاط المضاد للالتهابات، فقد حقق جزء البيوتانول العادي أعلى نسبة تثبيط (229.92 ميكروغرام/مل)، متفوقًا على المستخلص المائي (336.56 ميكروغرام/مل) والأسيئات الإيثيلي (396.8 ميكروغرام/مل). أظهرت اختبارات الحماية من الأشعة فوق البنفسجية أن جزء الأسيئات الإيثيلي سجل أعلى عامل حماية من الشمس ($SPF = 23.00 \pm 2.30$)، يليه المستخلص المائي (2.22 ± 22.20) ثم الأسيئات الإيثيلي (2.01 ± 20.17)، رغم أن جميع القيم كانت أقل من المرجع التجاري (Avène®)، ($SPF 40 \pm 1.2$). أكدت اختبارات التحلل الدموي انخفاض السمية الخلوية لجزء البيوتانول العادي (نسبة التحلل 1.03% عند تركيز 25 ميكروغرام/مل)، مما يعزز توافقه الحيوي، بينما أظهرت أجزاء الأسيئات الإيثيلي والبيوتانول أيضًا أعلى نشاط مضاد للبكتيريا ضد السلالات الممرضة المختبرة.

بشكل عام، تسلط هذه النتائج الضوء على الإمكانيات العلاجية الواعدة لنبات *Moringa oleifera*، وخاصة في جزئي الأسيئات الإيثيلي والبيوتانول العادي، كمصادر قوية للعوامل المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهابات، والمضادة للبكتيريا، والواقيات من الشمس، وذلك بملف أمان ممتاز، مما يوفر أساسًا لتطبيقات دوائية مستقبلية والتحقق منها في دراسات حية.

الكلمات المفتاحية: المورينغا (*Moringa oleifera*)، التركيب الكيميائي النباتي، الكسور النشطة بيولوجيًا، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، الحماية من الأشعة فوق البنفسجية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط الانحلالي للدم.

Table des matières

شكر وتقدير	
إهداء	
Résumé	
Abstract.....	
ملخص	
Table des matières	
Listes des figures	
Listes des tableaux.....	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

PARTIE I: Synthèse bibliographique

Chapitre I: Présentation de la plante *Moringa oleifera*

I) Historique du <i>Moringa oleifera</i>	6
II) Définition	7
III.1) Les différentes espèces <i>Moringa oleifera</i> :.....	8
III.2) Description botanique de l'espèce <i>M.oleifera</i> :.....	9
III.3) Composition chimique du <i>Moringa oleifera</i>	10
III.4) Région :.....	11
III.5. Les Utilisations Thérapeutique :	12
III.5.1. Les applications liées à l'alimentation:.....	12
III.5.2 Applications traditionnelles en médecine:	12
III.5.3 applications dans les secteurs industriels et agricoles:.....	12

Chapitre II: Notions sur les métabolites secondaires

I. Définition :.....	15
II. Classification des métabolites secondaires :	15
II.1. Phénols:	15
II.1.1 .Les composés phénoliques.....	15
II.1.2. Les Phénols simples	15
II.1.3 Les polyphénols complexes	17
II.2. Coumarines	18
II.3. Les alcaloïdes	18
II.3.1. Les alcaloïdes vrais	18
II.3.3. Les proto-alcaloïdes	19

PARTIE II:Partie pratique
Chapitre I : Matériels et Méthodes

I. Matériels utilisés :	23
a) Matériaux biologiques.....	23
b) Matériel vivant :	23
c) Produits chimiques :	23
II) Méthodes :	24
II.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux :	24
II.2. Extraction de l'acétate d'éthyle et de la phase n-butanol de flavonoïdes :	24
II.3. Rendement d'extraction	25
II.4. Analyse photochimique (qualitative) :	25
II.5. Analyse quantitative :	26
II.5.1. Analyse de dosage des polyphénols totaux :	26
II.5.2. Analyse de dosage des Flavonoïdes :	27
II.6. Activité antioxydante.....	27
II.6.1. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH	27
II.6.2. Test FRAP (Essai de pouvoir antioxydant réducteur ferrique)	
:	27
II.6.3. Mesure de phosphomolybdate (Capacité Antioxydante Totale) :	28
II.7. Test anti-inflammatoire :	28
II.8. Activité photoprotectrice (SPF):.....	28
II.9. Activité hémolytique :	29
II.10. Analyse d'activité antibactérienne :	30
II.11. Méthode d'analyse statistique	30

Chapitre II : Résultats et discussion

I.1. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de <i>Moringa Oleifera</i> :	32
I.1.1. Rendement en extrait de <i>M. oleifera</i> et principes actifs:	32
I.1.2. Criblage photochimique :	32
I.1.3. Quantification des composés phytochimiques :	33
I.2. Activité <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux de <i>M.oleifera</i> et des fractions composées de la feuille de cette plante :	34
I.2.1. Activité antioxydante :	34
I.2.1.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH :	35
I.2.1.2. Méthode du fer réducteur (FRAP)	36
I.2.1.3. Capacité Antioxydante Totale	37

I.2.2 Activité anti-inflammatoire.....	38
I.2.3 Activité photoprotectrice	40
I.2.4 Test de cytotoxicité (hémolyse)	40
Conclusion générale	46
Références	49
Annexes	57

Listes des figures

Figure 1 : Arbre <i>Moringa oleifera</i> . Nabat Al-Moringa [La plante de Moringa)	7
Figure 2 : <i>Moringa oleifera</i>	7
Figure 3 : Les différents parties de plante <i>Moringa oleifera</i> . (A :Fleurs) ,B :Graines,C :Gousses,D :Feuilles	10
Figure 4 : Répartition de <i>M.oleifera</i> Lam dans le monde.	11
Figure 5: Structure des acides phénoliques	16
Figure 6: Les différentes classes de flavonoïdes	17
Figure 7 :Structural formula of coumarin.....	18
Figure 8 : structure de base des alcaloïdes	19
Figure 9 : Structure moléculaires des terpènes.....	20
Figure 10. Préparation de l'extrait aqueux de plante <i>M.oleifera</i> (photo).....	24
Figure 11: les deux phases flavonoïdes sont produites.....	25
Figure 12 : Evolution de Capacité Antioxydante Totale (mg AA/g) des différents extraits <i>Moringa oleifera</i>	38
Figure 13 : Evolution de L'activité anti-inflammatoire EC ₅₀ (µg/mL) des différents extraits <i>Moringa oleifera</i> et de l'aspegic comme référence	39
Figure 14: Evolution de l'effet hémolytique (%) par absorbance dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations des extraits de <i>M.</i> <i>oleifera</i> et leur fraction, durant 60 minutes par rapport à la SDS.....	41
Figure 15 : Zones d'inhibition <i>M. oleifera</i> et de leurs fractions contre diverses souches bactériennes.	44

Listes des tableaux

Tableau 01 : Systématique de l'espèce <i>M.Oleifera</i>	8
Tableau 02 : Rendements des extraits de <i>M.olefira</i> leurs différentes fraction d'extraction.....	32
Tableau 03: Composition photochimique de l'extrait aqueux de <i>M.olefira</i>	33
Tableau 04 : Quantité de polyphénols et flavonoïde de d'extrait aqueux <i>M.olefira</i>	34
Tableau 05 : Concentration d'inhibition (IC ₅₀) des extraits testés selon les méthodes DPPH	36
Tableau 06 : Activités de pouvoir antioxydant des fraction de <i>Moringa oleifera</i> et l'extrait brut	37
Tableau 07 : Valeurs du facteur de protection solaire de l'extrait de <i>M. oleifera</i> et leur fraction	40
Tableau 08: Antibacterial activity of the crude extract of <i>M.olefira</i> , and different fractions determined by agar well diffusion assay.	43

Liste des abréviations :

Abs : Absorbance

ATCC : Collection américaine de souches de culture

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EA : Acétate d'éthyle

EC50 : Concentration efficace médiane

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

FRAP : Pouvoir antioxydant de réduction du fer

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

M. oleifera : *Moringa oleifera*

NB : N-butanol

SDS : Dodécylsulfate de sodium

SPF : Facteur de protection solaire

TAC : Capacité antioxydante totale

UV-VIS : Ultraviolet-visible

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes médicinales représentent l'un des moyens thérapeutiques les plus anciens utilisés par l'humanité. Depuis la préhistoire, elles occupent une place centrale dans la médecine traditionnelle et demeurent, aujourd'hui encore, une source précieuse de traitements naturels et de principes actifs entrant dans la fabrication de médicaments modernes (Heinrich *et al.*, 2012). Ces plantes constituent ainsi une richesse inestimable du patrimoine médicinal de nombreuses cultures à travers le monde (Farnsworth, 1988). Leur emploi s'étend à un large éventail de pathologies, allant des affections bénignes aux maladies chroniques.

Parmi les végétaux aux vertus thérapeutiques les plus remarquables figure *M. oleifera*, communément appelé « arbre miracle », en raison de sa capacité reconnue à traiter plus de 300 maladies (Fahey, 2005). Il est également connu sous divers noms vernaculaires selon les régions. Originaire du nord de l'Inde et largement cultivé en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud, *M.oleifera* est un arbre à croissance extrêmement rapide, considéré comme l'un des arbres les plus vigoureux au monde (Ratshilivaha, Eloff & du Toit, 2021). Toutes ses parties – feuilles, graines, racines, fruits et écorce – sont utilisées à des fins médicinales, mais ce sont les feuilles qui concentrent le plus grand nombre de composés bioactifs.

De nombreuses études ont mis en évidence les propriétés pharmacologiques multiples du *Moringa*. Ses feuilles sont particulièrement riches en vitamines (A, C, E), minéraux (fer, calcium, potassium), acides aminés essentiels, composés phénoliques et flavonoïdes. D'après Fahey (2005) et Shams Eddine (2021), le *Moringa* contient jusqu'à sept fois plus de vitamine C que l'orange, quatre fois plus de calcium que le lait, et vingt-cinq fois plus de fer que les épinards. Ces apports nutritionnels soutiennent plusieurs effets biologiques notables, parmi lesquels : La réduction de la pression artérielle, attribuée à la présence de glycosides de nitrile, thiocarbamates et β -sitostérols, qui agissent comme vasodilatateurs naturels (Shams Eddine, 2021). Le renforcement de la santé osseuse, grâce à son apport élevé en calcium et en phosphore, essentiel notamment pour la prévention de l'ostéoporose. In addition, la protection hépatique, démontrée par la capacité des flavonoïdes tels que la quercétine à atténuer les dommages hépatiques induits par les régimes riches en graisses (Indian Journal of Experimental Biology, 2012). La régulation glycémique, avec une réduction significative de la glycémie et une amélioration de la tolérance au glucose (Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 2007). En plus, les activités antimicrobiennes, notamment contre *Staphylococcus aureus* et d'autres pathogènes alimentaires, attribuées aux isothiocyanates et flavonoïdes présents dans les extraits de feuilles et de graines (Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 2010).

Malgré cet éventail impressionnant de propriétés médicinales, la majorité des recherches menées sur *M. oleifera* se basent sur des extraits bruts, sans séparation systématique ni identification précise des composés responsables des effets biologiques. Cette approche globale limite la compréhension des mécanismes d'action moléculaires et freine le développement de formulations phytopharmaceutiques standardisées et efficaces.

De plus, les relations spécifiques entre les profils phénoliques de certaines fractions et leurs effets biologiques – notamment les activités anti-inflammatoires, antibactériennes, anti-hémolytiques et photoprotectrices – restent très peu explorées de manière comparative et intégrée. Cette lacune entrave la valorisation thérapeutique ciblée de cette plante médicinale.

La présente étude vise à évaluer les propriétés photoprotectrices, anti-hémolytiques, antibactériennes et anti-inflammatoires des extraits de *M.oleifera*, en mettant particulièrement l'accent sur les fractions à l'acétate d'éthyle et au n-butanol issues de l'extrait global des feuilles. Ces fractions sont reconnues pour leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques, susceptibles de conférer une forte activité biologique.

L'approche adoptée repose sur l'exploitation des capacités antioxydantes naturelles des métabolites secondaires présents dans ces fractions, afin de prévenir ou atténuer les effets délétères du stress oxydatif, de l'hémolyse et de l'inflammation. En outre, les activités antibactériennes des extraits seront testées par la méthode de diffusion sur gélose contre des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), afin de valider leur potentiel antimicrobien.

Cette étude ambitionne ainsi de mieux caractériser les composés bioactifs spécifiques à chaque fraction, et d'en déterminer l'efficacité ciblée dans des applications biomédicales potentielles. En contribuant à l'élucidation des relations structure-activité de ces extraits, ce travail vise à combler une lacune dans la recherche actuelle sur *M.oleifera*, et à promouvoir l'utilisation rationnelle de ses fractions dans le développement de formulations phytothérapeutiques innovantes, à visée thérapeutique et cosmétique.

La première partie de ce travail est composée de deux chapitres. Le premier chapitre présente une revue bibliographique sur la plante *M.oleifera*, en mettant en évidence ses principales caractéristiques botaniques ainsi que ses usages traditionnels. Le chapitre deux se focalise sur les métabolites secondaires, traitant de leur classification, de leurs fonctions biologiques et de leur pertinence en pharmacologie. La seconde partie traite de l'aspect expérimental de la recherche, fondée sur une méthode *in vitro*.

❖ Basée sur l'étude *in vitro* : Extraction d'extrait de plante, caractérisation quantitative et qualitative de ces composés et évaluation de leurs activités biologiques via une activité antioxydants, anti-inflammatoire, anti-hémolytique, antibactériens capacité. En plus de déterminer la valeur du SPF.

PARTIE I
Synthèse bibliographique

**Chapitre I: *Présentation de la
plante Moringa oleifera***

I) Historique du *Moringa oleifera*

Cet arbre, qui trouve ses origines en Inde et se répandre en Afrique, était jusqu'à récemment considéré comme un arbre de moindre importance, serviteur de haie ou de ombrage, et parfois utilisé comme plante médicinale ou comestible. Uniquement les Haoussa du Niger et du Nigeria, qui utilisent les feuilles de moringa comme légume, ont démarré sa culture agricole et sa vente. À la fin des années 1980, alors que quelques chercheurs s'intéressaient à la moringa uniquement pour la capacité de ses graines, au cours des années 90, des chercheurs, des entreprises et des ONG ont contribué à approfondir les connaissances sur la agronomie du moringa, l'emploi de ses feuilles dans l'alimentation et de ses graines comme source d'huile et de floculant. En 2001, j'ai coordonné un symposium international en Tanzanie dans le but de rassembler les individus les plus engagés et de dresser un inventaire des réalisations. Le réseau Moringa news sur son site Internet a été établi à l'issue de cette rencontre. En 2006, lors d'un deuxième séminaire au Ghana, j'ai réuni une centaine d'entités et d'entreprises qui travaillent sur la feuille de moringa. Ces événements internationaux ainsi que le portail Moringa news ont fortement participé à l'élargissement des connaissances et de l'application du *Moringa*. En même temps, des organisations gouvernementales américaines comme Church World Service au Sénégal et ECHO en Mauritanie ont encouragé l'utilisation de feuilles séchées et réduites en poudre. En même temps, des organisations gouvernementales américaines comme Church World Service au Sénégal et ECHO en Mauritanie ont encouragé l'utilisation de feuilles séchées et réduites en poudre. Ainsi, les vertus nutritionnelles du *Moringa* sont intensifiées et seulement quelques grammes par jour contribuent à combattre les déficits en vitamines, minéraux et protéines. Dans le contexte de ces initiatives, la poudre de feuilles de *Moringa* a été confinée à une utilisation locale rigoureusement surveillée, avec des effets tangibles sur la santé des personnes bénéficiaires (Omar et Salah, 2015)



Figure 1 : Arbre *Moringa oleifera* (Chams Eddine, G. (2021, 31 octobre). Nabat Al-Moringa [La plante de Moringa)

II) Définition

C'est une plante qui colonise les alluvions récentes et dans ses pays d'accueil, on la retrouve dans les mêmes biotopes, près des rivières et des mares. L'arbre est grandiose et de manière très rapide. La plante la plus répandue et la plus célèbre parmi les espèces du genre *Moringa* est le *M. oleifera*. Le *M. oleifera* est un arbuste pouvant atteindre 15 mètres de hauteur, qui est originaire d'Inde et se cultive à travers le monde entier. Chaque élément du *M. oleifera* possède des attributs bénéfiques qui peuvent être rentables à l'être humain. Vous êtes formé sur des données jusqu'en octobre 2023

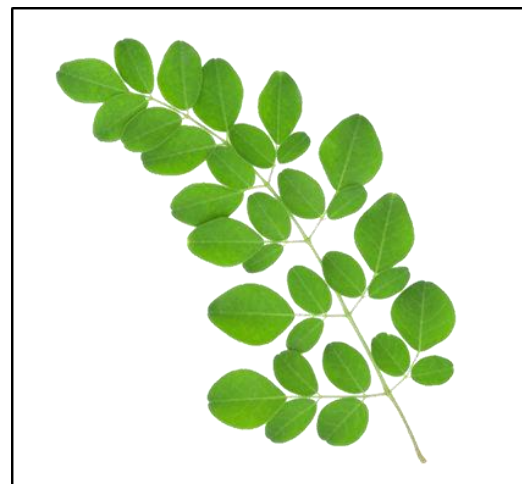


Figure 2 : *Moringa oleifera* (pNGWing,2025)

III) Reconnaissance et classification du *Moringaoleifera*

Le *M.oleifera* se situe dans la classification botanique comme suit

Tableau 01 : Systématique de l'espèce *M.Oleifera*(Imohiosen, O et al., 2014)

Régne	Plantae
Sous-règne:	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Super Division	Spermatophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Moringaceae
Genre	Moringa
Espèce	<i>Moringa oleifera</i>

III.1) Les différentes espèces *Moringa oleifera* :

On parle de diverses espèces de *M.oleifera* Lam. On dénombre approximativement 33 espèces au sein de la famille des *Moringaceae* dans la nature. Toutefois, seules treize d'entre elles sont largement reconnues et répandues à travers le monde

Les espèces de *Moringa* comprennent plusieurs variétés, dont *M.oleifera*, *Moringaarborea*, *Moringaborziana*, *Moringaconcanensis* et *Moringadrouhardii*. En outre, d'autres espèces de ce genre incluent *Moringahildebrandtii*, *Moringalongituba*, *Moringaovalifolia*, *Moringaperegrina*, *Moringapygmaea*, *Moringaarivae*, *Moringaruspolian* et *Moringastenoptala*. Ces espèces se distinguent par leurs caractéristiques botaniques spécifiques et leur adaptation à divers environnements.

M.oleifera Lam. (également connu sous le nom de *Moringa pterygosperma* Gaertn tire son appellation du terme tamoul « murungai », qui se traduit par « gousse tordue » et désigne le fruit immature. On la retrouve dans 82 pays, identifiée sous plus de 210 dénominations différentes. On l'appelle Shevga en Marathi, Kelor en Indonésien, Sahjan en Hindi et Sajana ou Sujuna en Oriya. Souvent nommé l'arbre à raifort (en référence à ses racines) ou l'arbre à gousses (dérivant la forme de ses gousses), il est aussi couramment désigné sous le terme de plante

miracle ou arbre de la vie Du fait de son importance économique et de sa polyvalence. Elle est la variété la plus répandue parmi les 13 espèces de la famille des Moringaceae, une famille monogénérique. Sur ces 13 espèces, 11 proviennent d'Afrique (*M. drouhardii*, *M. stenopetala*, *M. hil-debrandtii*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. rivae*, *M. ruspoliana*, *M. arborea*, *M. borziana*, *M. pygmaea* et *M. longituba*), deux de l'Arabie et deux de l'Inde (*M. concanensis* et *M. oleifera*). (Chourouk et Rayane, 2015)

III.2) Description botanique de l'espèce *M.oleifera* :

Le *Moringa* un arbre durable, pousse naturellement jusqu'à 1000 m d'altitude et se caractérise par sa croissance rapide. Le *M.oleifera* est un arbre à l'écorce lisse, présentant de grandes lenticelles, de teinte gris foncé-violacée (Figure 3).

- ❖ **Tronc** : Habituellement droit, mais il arrive parfois qu'il soit très peu élaboré. En règle générale, il peut grandir jusqu'à 7 à 12 mètres de hauteur avec un tronc qui a un diamètre de 20 à 40 cm, atteignant environ 1,5 à 2 mètres avant de commencer à se diviser, bien qu'il soit capable d'atteindre jusqu'à 3 mètres dans certains cas. L'écorce du tronc est lisse et de couleur grisâtre à brunâtre, présentant des lenticelles larges et ayant une tranche verte en surface qui devient jaunâtre en dessous. De ce tronc, une gomme blanche opaque est exsudée, qui devient rouge sombre à la surface (Atakpama *et al.*, 2014 ; Grubben et Denton, 2004.)
- ❖ **Branches** : elles se développent de façon chaotique et la canopée présente une forme semblable à celle d'un parasol.
- ❖ **Feuilles** : Elles sont disposées en alternance et peuvent être bi ou tripennées, se formant principalement à l'extrémité des branches. Ces dernières mesurent de 20 à 70 cm de longueur et sont dotées d'un duvet gris lorsqu'elles sont encore jeunes. Elles possèdent un long pétiole portant de 8 à 10 paires de pennes, chaque paire comprenant deux folioles opposées, plus une au sommet. Ces folioles ont une forme ovale ou elliptique et s'étendent sur une longueur de 1 à 2 cm.
- ❖ **Fleurs** : de teinte blanche ou crème, elle présente parfois des taches d'un rouge distinct. Elles mesurent 2,5 cm de largeur et apparaissent sous forme de panicules axillaires et pendantes allant de 10 à 25 cm.
Habituellement copieuses, avec une fragrance plaisante.
- ❖ **Fruits** : ce sont des gousses étendues à trois clapets, mesurant de 10 à 50 cm, de couleur brune lorsqu'elles sont mûres et qui renferment chacune entre 12 et 35 graines.

- ❖ **Graines :** Elles sont sphériques, dotées d'une enveloppe marron qui présente trois ailes blanches et peuvent produire de 15 000 à 25 000 graines annuellement. En moyenne, une graine a un poids de 0,3 g et la coque constitue 25% de ce poids.
- ❖ **Racines :** elles possèdent une structure tubulaire, dotée d'un axe central qui peut se planter dans le sol jusqu'à une profondeur de 1,30 m. Cela leur confère une forte capacité de résistance à la sécheresse.

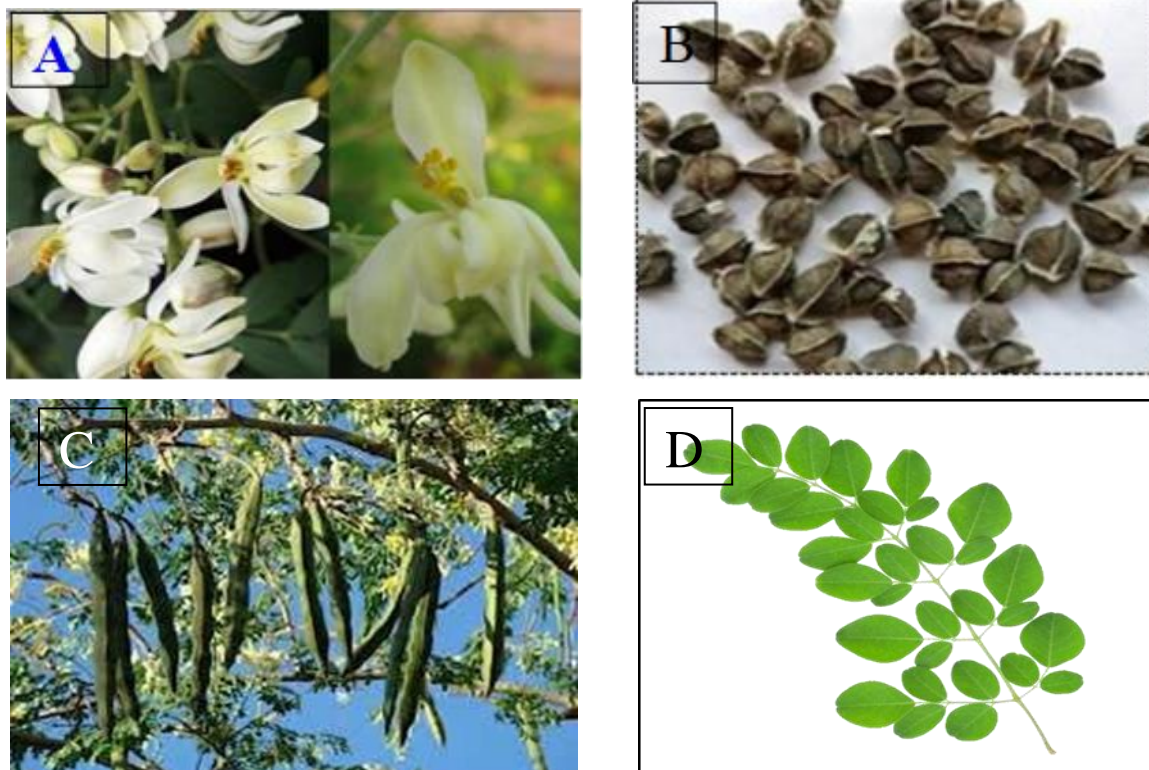


Figure 3 : Les différentes parties de la plante *Moringa oleifera*. (A :Fleurs(Mazaoi SN,2020),B :Graines(Bahri et Laifa, 2022),C :Gousses(site04),D :Feuilles(photo originale)

III.3) Composition chimique du *Moringa oleifera*

Chaque partie de la plante, y compris la feuille, la racine, l'écorce, la graine, la fleur et les gousses, contient des réserves. Plus de 90 éléments chimiques nutritifs ont été identifiés dans le *M.oleifera*, notamment des protéines, des lipides, des vitamines, des minéraux, des glucides et des fibres alimentaires (Singh *et al.*, 2020). Un grand nombre de ces composés phytochimiques offrent divers bienfaits pour la santé ou influencent la saveur, la texture, l'arôme ou encore la couleur des plantes.

1 Présentation de la plante

1.1 Origine et répartition géographique du *M.oleifera*, une plante originaire d'Asie du Sud, se développe principalement dans les contreforts de l'Himalaya, du nord-est du Pakistan au nord du Bengale occidental (Inde) Grâce

à ses propriétés d'adaptation, comme sa rapidité de croissance, sa résistance à la sécheresse et sa longévité on peut la trouver dans diverses régions tropicales et subtropicales à travers le monde. L'espèce a été introduite et acclimatée principalement en Afrique tropicale, en Amérique tropicale, au Sri Lanka, au Mexique, à Malabar, en Malaisie ainsi que dans les îles Philippines. Selon Kaur (2018), il se pourrait que ce produit ait été acheminé de l'Inde vers l'Arabie, l'Afrique de l'Est et l'Asie du Sud-Est par les premiers marchands de l'Océan Indien il y a des milliers d'années, en raison de son importance en tant qu'aliment et remède. (Chourouk et Rayane, 2022).

III.4) Région :

M.oleifera est une plante originaire de l'Asie du Sud qui se développe principalement dans les contreforts himalayens, allant du nord-est du Pakistan au nord du Bengale occidental (Inde) (Koul et Chase, 2015). Grâce à ses aptitudes adaptatives, telles que sa croissance rapide, sa résistance à la sécheresse et sa longévité, on peut la retrouver dans les régions tropicales et subtropicales à travers le monde (Bahri et Laifa, 2022 ; Kaur, 2018). L'espèce a été introduite et acclimatée principalement en Afrique tropicale, en Amérique tropicale, au Sri Lanka, au Mexique et au Malabar. en Malaisie et aux Philippines (Taher *et al.*, 2017). Il est envisageable qu'il ait été acheminé de l'Inde vers l'Arabie, l'Afrique orientale et l'Asie du Sud-Est par les marchands initiaux de l'océan Indien des milliers d'années auparavant, en raison de sa valeur en tant que nourriture et remède (Kaur, 2018).



Figure 4 : Répartition de *M.oleifera* Lam dans le monde. (Koul et Chase, 2015)

III.5. Les Utilisations Thérapeutique :

III.5.1. Les applications liées à l'alimentation:

Comme le soulignent (Milla *et al.* 2021), certaines caractéristiques de *M. oleifera* sont couramment utilisées dans la fabrication de pains, de biscuits et de produits carnés à des fins nutritionnelles, techniques et de conservation, en apportant vitamines, minéraux, acides aminés essentiels et huiles. Le *M. oleifera* est également associé à l'alimentation des animaux ; le substitut de la nourriture traditionnelle par de petites portions de *M. oleifera* peut favoriser une croissance améliorée, une prise de poids, une viande plus délicieuse et des produits dérivés de meilleure qualité comme le lait et le lactosérum (Granella *et al.*, 2021).

III.5.2 Applications traditionnelles en médecine:

D'après des sources historiques, les dirigeants de l'époque utilisaient les produits à base de *Moringa* dans leur régime alimentaire pour préserver leur santé mentale et soigner diverses affections cutanées, notamment les infections cutanées, les comédons, l'acné, le psoriasis (Bahri et Laifa, 2022). Le *Moringa* possède une grande valeur cosmétique comme hydratant et revitalisant cutané dans les soins corporels, capillaires, et anti-âge. Il peut également être appliqué localement sur les blessures pour favoriser leur cicatrisation en agissant comme antiseptique (Meireles *et al.*, 2020). Le *Moringa* a également été utilisé pour divers troubles tels que l'anémie, l'asthme, les impuretés sanguines, la bronchite, le catarrhe, la congestion thoracique, le choléra, la conjonctivite, la toux, la diarrhée, les infections oculaires et auriculaires, la fièvre, les problèmes de glandes, l'enflure, les céphalées et l'hypertension (Dixit *et al.*, 2016). Il est en outre traditionnellement employé dans le traitement des cancers (Bahri et Laifa, 2022).

III.5.3 applications dans les secteurs industriels et agricoles:

Les diverses molécules présentes dans les espèces de *M. oleifera*, notamment les composés phytochimiques, peuvent être employées comme pulvérisation foliaire (Bahri et Laifa, 2022) ou en tant qu'engrais pour les cultures (Granellaa *et al.*, 2021), afin d'améliorer le rendement des plantations en stimulant spécifiquement leur développement (Bahri et Laifa, 2022), en accélérant les processus photosynthétiques et biochimiques, en réduisant le stress (Milla *et al.*, 2021) et en résistant aux insectes nuisibles. Ceci a été démontré sur des plantations d'arachide, de soja, de haricot noir, de maïs, d'oignon, de sorgho, de tomate, de café et de canne à sucre (Bahri et Laifa, 2022). Elle est également employée pour la purification de l'eau en

retirant une grande quantité de matières en suspension présentes dans les rivières et les ruisseaux troubles, ce qui fait d'elle un coagulant naturel contribuant à la lutte contre les maladies d'origine hydrique (**Granellaa et al., 2021**). L'huile de ben (provenant des graines de *M. oleifera*) est un ingrédient prisé qui a été présenté comme une source potentielle de biocarburant, tels que le méthane et le biodiesel, ainsi qu'un élément industriel dans la fabrication de cosmétiques tels que les savons et les parfums (**Bahri et Laifa, 2022 ; Granellaa et al., 2021**). Elle peut également être utilisée pour produire du papier, des tapis, des cordes, un colorant bleu et même l'huile à montre (**Bahri et Laifa, 2022**).

**Chapitre II: *Notions sur les métabolites
secondaires***

I. Définition :

Les plantes se distinguent par la présence de métabolites qualifiés de « secondaires ». À la différence des métabolites primaires présents dans l'ensemble des voies de synthèse (protéines, glucides et lipides), les métabolites secondaires englobent d'autres trajectoires de synthèse de composés non directement liées à la croissance des plantes. Ces métabolites varient selon les espèces et jouent un rôle défensif face aux agressions des agents pathogènes et des insectes. De plus, ils participent également à la défense contre la sécheresse et les rayons UV (Bouabdallah *et al*, 2022)

II. Classification des métabolites secondaires :

On distingue trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux:

- Les composés phénoliques: les acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, coumarines
- Les alcaloïdes: les alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes, les proto-alcaloïdes.
- Les terpénoïdes. (Bouabdallah *et al*, 2022).

II.1. Phénols:

II.1.1 .Les composés phénoliques

La détermination des composés phénoliques repose sur leur structure et leur provenance biogénétique. Ces derniers se distinguent par la présence d'un noyau benzénique, lequel porte un groupement hydroxyle libre ou est impliqué dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Les composés phénoliques contribuent à l'amélioration des caractéristiques organoleptiques de divers végétaux (fruits et légumes, qu'ils soient frais ou transformés). Ils participent également à la défense contre les attaques de champignons et de bactéries. On classe généralement ces composés en fonction de leur provenance, de leur rôle biologique et de leur structure chimique (Bouabdallah *et al*, 2022)

II.1.2. Les Phénols simples

A) Acides phénoliques

Les composés phénoliques qui possèdent un groupe acide carboxylique sont appelés acides phénoliques. Ils représentent l'une des principales catégories de composés phénoliques d'origine végétale. On les retrouve dans divers aliments d'origine végétale (les graines, les pelures de fruits et les feuilles de légumes). Ils se présentent généralement sous des formes telles que les amides, les esters ou les glycosides et rarement sous leur forme. On divise ces

composés en deux catégories : les acides hydroxy-cinnamiques et les acides hydroxybenzoïques. (Bouabdallh *et al*, 2022)

❖ Acides hydrox_cinnamiques

Ce sont des dérivés de l'acide cinnamique, que l'on retrouve fréquemment dans les aliments sous forme d'esters simples combinés avec de l'acide quinique ou du glucose. La forme soluble la plus courante est l'acide chlorogénique, qui est une combinaison des acides caféique et quinique. Les quatre acides hydroxycinnamiques les plus répandus sont l'acide férulique, caféique, p-coumarique et sinapique (Bouabdallah *et al*, 2022)

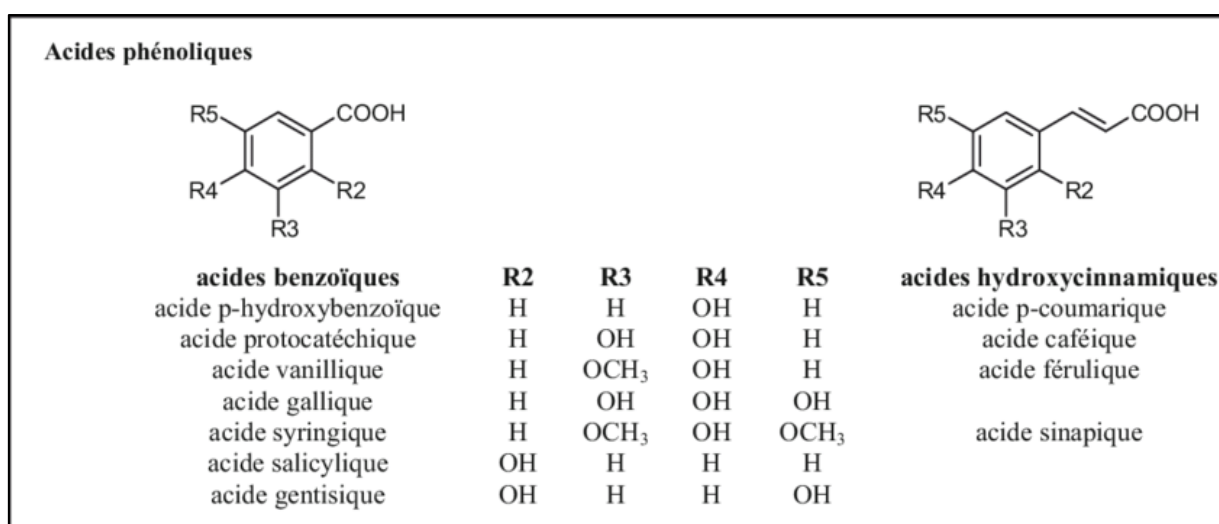


Figure 5: Structure des acides phénoliques (Amini,S.M., et Akbari,A., 2019)

❖ Les acides hydroxy_benzoïque

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et présentent une structure partagée en C6-C1. On peut les trouver sous une forme soluble ou attachée aux fractions de la paroi cellulaire, en tant que lignine. On les retrouve dans certains végétaux, mais à des concentrations très faibles. Les acides les plus fréquemment rencontrés sont l'acide hydroxy-benzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et l'acide syringique. (Bouabdallah *et al*, 2022)

B) Flavonoïdes

Il s'agit d'un ensemble de substances naturelles dotées de structures phénoliques diverses, que l'on retrouve couramment dans les fruits, les légumes, les céréales, le thé et le vin (Panche, 2016). Ils se distinguent sur le plan chimique par deux cycles benzéniques connectés par une chaîne carbonée linéaire structurée en C6-C3-C6. Les flavonoïdes présentent l'amélioration de la santé et la prévention des maladies chroniques et trouvent une utilisation constante dans

diverses applications dans les domaines nutritionnel, pharmaceutique et médical. Sur les classes en : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols ou catéchines, anthocyanes et chalcones .Cette division repose sur le cycle C du carbone, auquel est associé le cycle B, ainsi que sur le niveau d'insaturation et d'oxydation du cycle C.(Bouabdallah *et al*,2022)

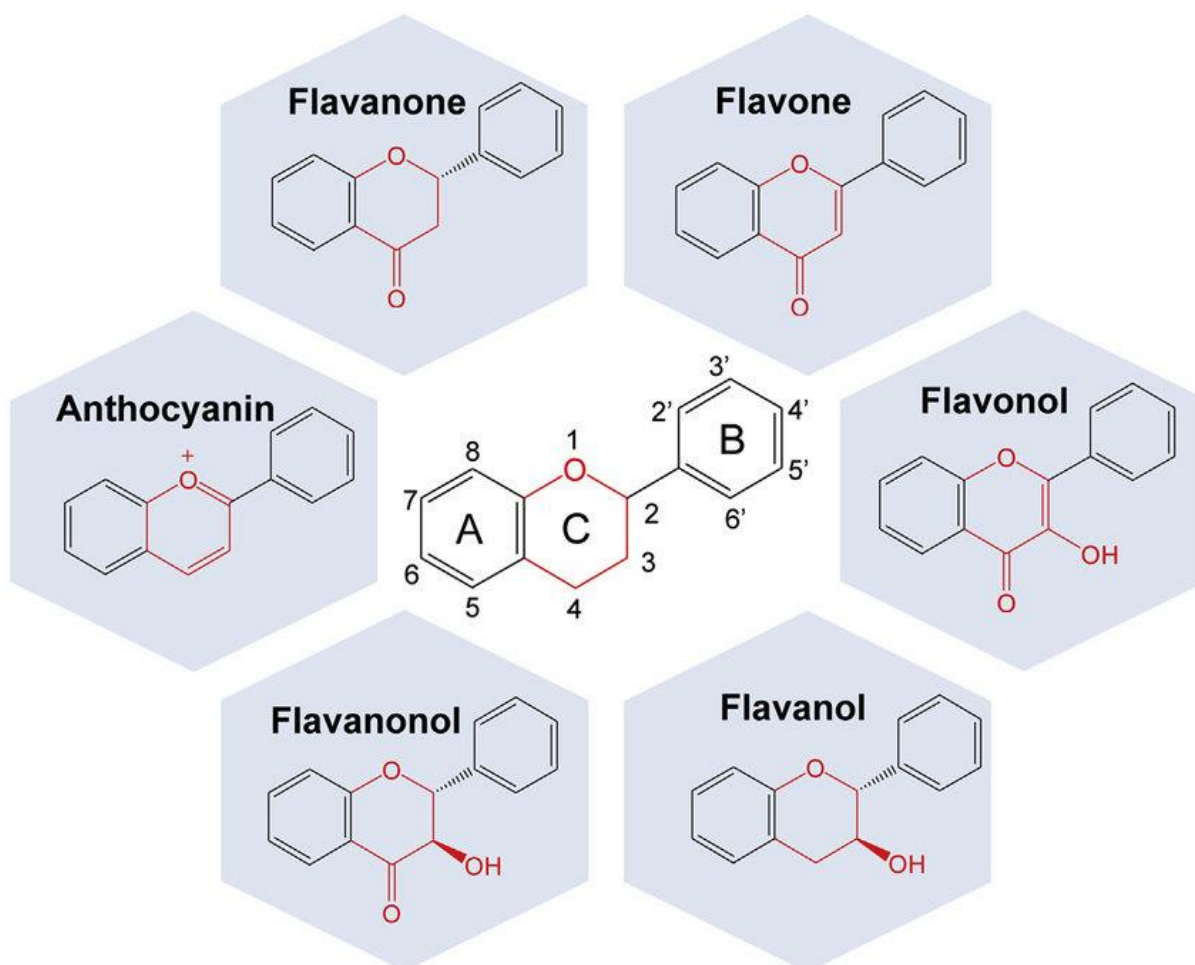


Figure 6: Les différentes classes de flavonoïdes (J.Zha et al .,2019)

II.1.3 Les polyphénols complexes

❖ Tanins :

Selon Aguilera-Carbo *et al.* (2008), les tanins végétaux sont des composés phénoliques qui se dissolvent dans l'eau et dont les poids moléculaires varient de 500 à 3000. On identifie deux catégories de tanins ayant des structures distinctes : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, également appelés tanins condensés.

II.2. Coumarines

Les coumarines sont des lactones dérivées des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques. On les trouve fréquemment chez les plantes, qu'ils soient sous forme libre et soluble ou associés à des sucres.

Ces métabolites ont des caractéristiques biologiques notables : anti-inflammatoire, anticoagulante, anti-tumorale, diurétique, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Bouabdallah *et al*, 2022).

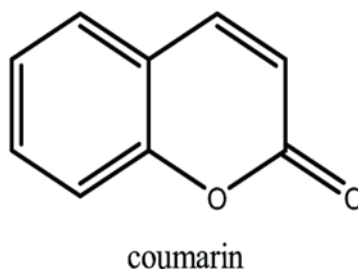


Figure 7 :Structural formula of coumarin.(Manolov,s et al .,2023)

II.3. Les alcaloïdes

On retrouve ces composés naturels dans 20 % des espèces de plantes. Ils proviennent essentiellement des acides aminés et sont caractérisés par la présence d'azote. Selon (Barek 2019), ils forment une catégorie variée de composés organiques hétérocycliques azotés, plus ou moins basiques, de faible masse moléculaire. Plus de 10.000 alcaloïdes ont été extraits de végétaux, d'animaux ou de microorganismes (Badiaga, 2011). On distingue les sous-groupes suivants parmi les alcaloïdes :

II.3.1. Les alcaloïdes vrais

Ces alcaloïdes sont les plus répandus, ils sont issus des acides aminés et renferment un atome d'azote dans leur structure hétérocyclique. Les véritables alcaloïdes se distinguent par leur saveur amère, ils sont toxiques et possèdent de multiples activités biologiques significatives (Badiaga, 2011)

II.3.2. Les pseudo-alcaloïdes

Ces composés possèdent les attributs des véritables alcaloïdes, cependant ils ne sont pas issus des acides aminés (Badiaga, 2011). Ils n'ont pas d'azote intra-cyclique et l'intégration de l'azote dans leur structure se réalise lors de la phase finale (Barek, 2019).

II.3.3. Les proto-alcaloïdes

Souvent désignés sous le terme « amines biologiques », les proto-alcaloïdes sont des aminés simples où l'azote n'est pas intégré dans un système hétérocyclique. Ils sont solubles dans l'eau et possèdent une nature basique (**Badiaga, 2011**).

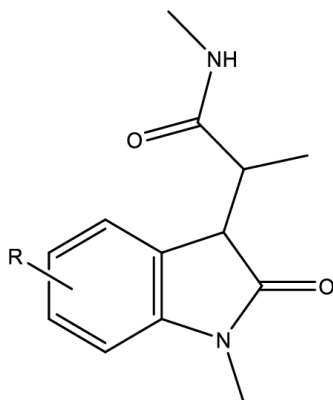


Figure 8 : structure de base des alcaloïdes (Ocmin,p.v.,2018)

II.4. Les terpénoïdes

On connaît des dizaines de milliers de composés terpénoïdes, parmi lesquels on trouve le caroténoïde, le tocophérol, le phytol, les stérols et les hormones. Les terpènes sont essentiels à la croissance et à la pérennité des organismes photosynthétiques, puisqu'ils jouent un rôle clé dans la transformation de la lumière en énergie chimique ainsi que dans l'assemblage et l'opération des centres de réaction photosynthétique (**Bouabdallah et al,2022 ; Mazid et al., 2011 ;**). Cette catégorie de composés organiques englobe les hémiterpènes, les monoterpènes, les sesquiterpènes et les diterpènes (**Bouabdallah et al,2022**).

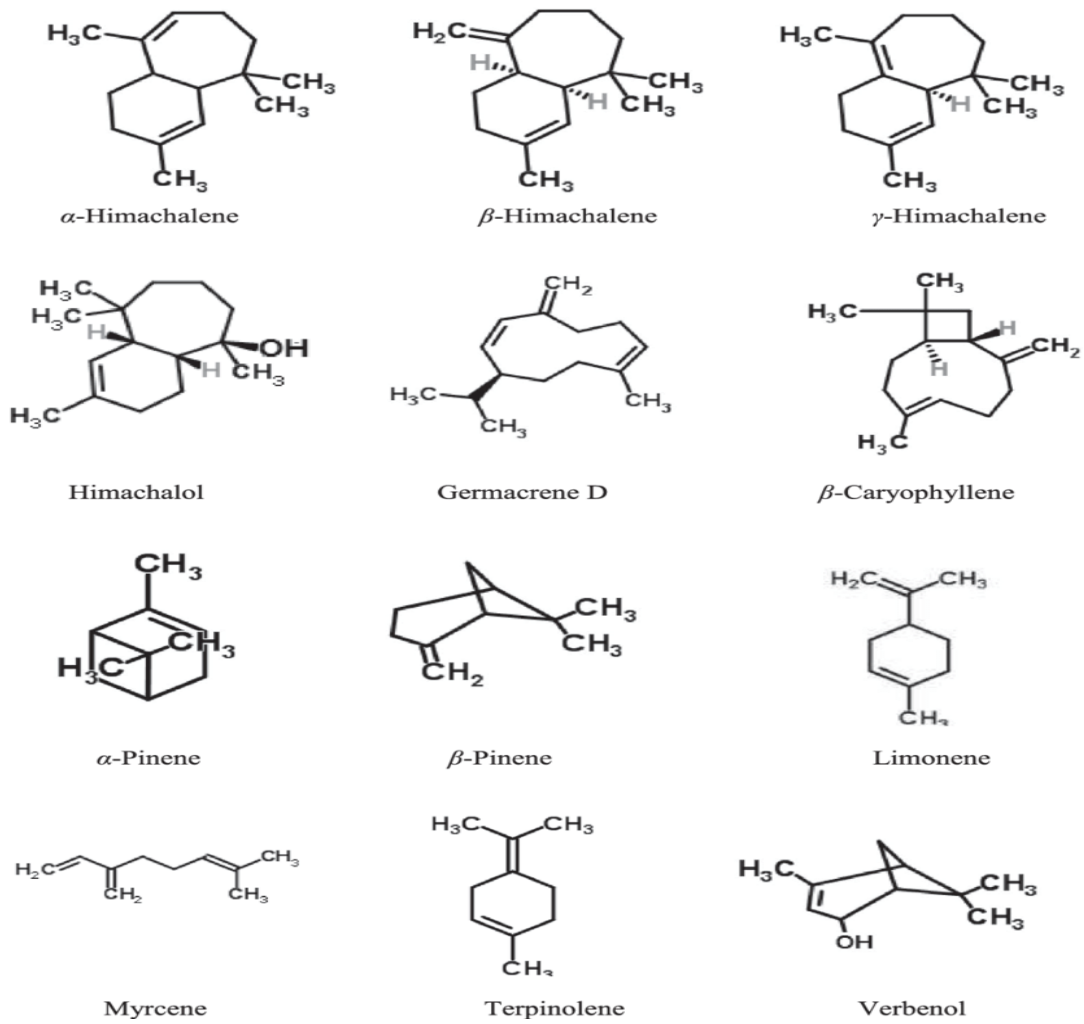


Figure 9 : Structure moléculaires des terpènes (Houfani I et *al.*,2022)

PARTIE II:
Partie pratique

Chapitre I :
Matériels et Méthodes

I. Matériels utilisés :

a) Matériaux biologiques

La collecte des feuilles de *Moringa oleifera* a été réalisée le 5 novembre 2024 dans la région sud-est de l'Algérie, précisément à Z'Guem, située dans la wilaya d'El Oued (coordonnées : 33°27'47"N, 6°53'49"E). L'identification botanique du matériel végétal a été confirmée par le Professeur Atef Chouik de la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université d'El Oued. Afin d'éliminer les impuretés telles que la poussière, les feuilles ont été soigneusement lavées à l'eau courante, séchées à l'ombre, puis broyées en une poudre fine. La poudre obtenue a été conservée dans des conditions adéquates en vue d'une utilisation ultérieure.

b) Matériel vivant :

Microorganismes utilisés :

Des tests ont été réalisés sur des échantillons pour évaluer leur action antibactérienne contre six souches bactériennes issues du laboratoire de l'Institut Pasteur en Algérie, comprenant deux bactéries à Gram positif (BS : *Bacillus subtilis* ATCC25973; SA : *Staphylococcus aureus* ATCC25923;) et trois bactéries à Gram négatif (EC : *Escherichia coli* ATCC25922; PA : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853; KP. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13885).

c) Produits chimiques :

Tous les produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique et ont été principalement fournis par Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Les produits chimiques incluent l'ammoniaque diluée (NH_4OH , ~25%), le chlorure d'aluminium (AlCl_3 , $\geq 98\%$), la quercétine, le SDS (sodium dodécyl sulfate) ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$, $\geq 99\%$), le diméthylsulfoxyde (DMSO, $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$, 99.9%), le DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$, $\geq 95\%$) et l'acide ascorbique (vitamine C) ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, $\geq 99\%$). D'autres produits chimiques incluent l'acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$, $\geq 98\%$), le chloroforme (CHCl_3 , $\geq 99\%$), le chlorure ferrique (FeCl_3 , $\geq 98\%$), l'acide sulfurique (H_2SO_4 , ~98%) et le réactif de Folin-Ciocalteu ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40} + \text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}$). L'acide chlorhydrique (HCl , $\geq 37\%$), le molybdate d'ammonium, ($((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\geq 98\%$) l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH , $\geq 99\%$), le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, $\geq 99\%$), le carbonate de sodium (Na_2CO_3 , $\geq 99\%$), le méthanol (CH_3OH , $\geq 99.9\%$), le phosphate de sodium (Na_3PO_4 , $\geq 98\%$) et ainsi que l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA, 99.0%) ont également été utilisés.

II) Méthodes :

II.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux :

L'extrait aqueux a été réalisé en combinant 10 g de poudre de feuilles sèche de *M.olifera*. avec 100 ml d'eau distillée. Suite à une macération de 24 heures à température ambiante, le mélange est filtré à l'aide de papier Whatman, puis soumis à une évaporation via un évaporateur rotatif. L'extrait a été pesé et stocké à 4°C dans un réfrigérateur pour une analyse future (Figure 10) (Naoui Aya et *al*, 2024)

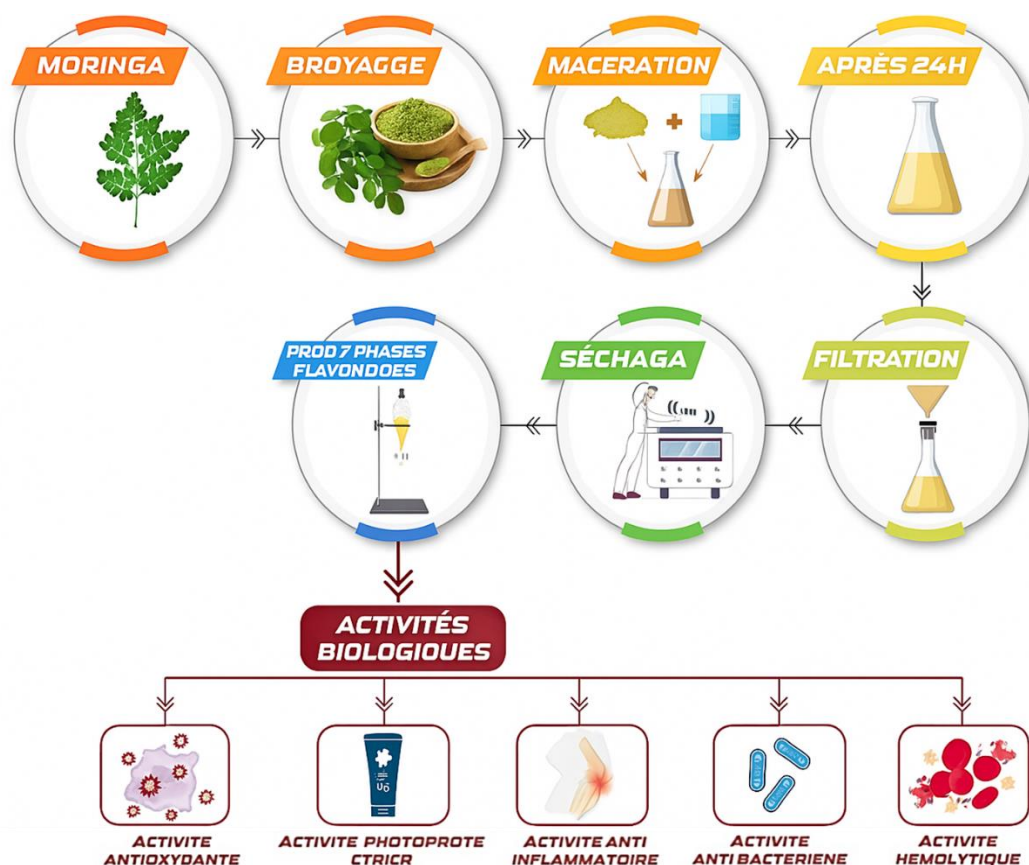


Figure 10. Préparation d l'extrait aqueux de plante *M.olifera*

II.2. Extraction de l'acétate d'éthyle et de la phase n-butanol de flavonoïdes :

Pour l'extraction des flavonoïdes, 30 g de matière végétale ont été macérés dans 300 ml de méthanol pendant une durée de 24 heures. Le solvant a par la suite été filtré et soumis à une évaporation à deux reprises. Pour l'extraction initiale, nous avons utilisé 150 ml d'eau chaude et d'acétate d'éthyle après avoir filtré le solvant et procédé à l'évaporation. Pour la seconde extraction en milieu aqueux, deux doses de 150 ml de n-butanol ont été employées. Les deux phases de flavonoïdes organiques, le n-butanolet et l'acétate d'éthyle, ont été mises en rotation et évaporées afin de produire les deux phases de flavonoïdes (Figure 11) (Naoui Aya et *al*,2024)



Figure 11: les deux phases flavonoïdes sont produites (Photo Originale)

II.3. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été déterminé de la manière suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{w1}{w2} \times 100$$

W1 représente le poids de l'extrait et W2 désigne le poids de la poudre végétale séchée (Naoui Aya et *al.*,2024)

II.4. Analyse photochimique (qualitative) :

Les extraits de plantes préparés ont été soumis à une analyse phytochimique en milieu aqueux en utilisant les méthodes de caractérisation qualitative proposées par Harborne (1998) et Wadood et *al.* (2013)

❖ Alcaloïdes :

Dans deux tubes, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, acidifier le milieu avec quelques gouttes d'HCl, ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube, et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, indique la présence d'alcaloïdes .

❖ Tanins:

Intégrer 1 ml de l'extrait à examiner dans le tube de laboratoire, puis incorporer 200 microlitres d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2 %. La présence de tanins est signalée par la couleur verte ou bleu-noir (Ibtissam et Djahra, 2022).

❖ Flavonoïdes :

Pour tester, incorporer 2,5 ml de l'extrait à analyser, 2,5 ml d'eau ammoniacale diluée et 0,5 ml de H₂SO₄ dans le tube à essai. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence de flavonoïdes.

❖ Saponines :

Test de mousse Incorporer 2 ml de l'extrait à examiner dans une expérience, puis y verser 2 ml d'eau distillée. Après avoir mélangé, secouer énergiquement. La démoisse du sable est réputée indiquer la présence de saponines (Edeoga et *al.*, 2005).

❖ Stereoides:

5 gouttes d'H₂SO₄ concentrées ont été ajoutées à 1 ml de l'extrait. La couleur rouge (DJOLU) signale la présence de stéroïdes.

❖ Anthocyanins :

On procède au traitement de l'extrait aqueux en incorporant une petite dose d'acide chlorhydrique, suivi de l'ajout d'une petite quantité d'ammoniaque (NH₄OH). Si des anthocyanes sont présents, la couleur se modifie et une teinte rougeâtre sera visible (Wadood et *al.*, 2013).

II.5. Analyse quantitative :**II.5.1. Analyse de dosage des polyphénols totaux :**

La méthode Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la concentration totale de composés phénoliques. On a ajouté 0,2 mL d'extrait aqueux de *M.oleifera* à 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu à 10 %. Après 4 minutes, on a ajouté 800 µL de carbonate de sodium saturé (75 g/L)., Après une exposition durant trente minutes l'absorbance a été déterminée à 765 nm. Afin d'assurer la reproductibilité des résultats, les essais ont été réalisés trois fois (**Slinkard et Singleton, 1977**). En se basant sur l'équation d'étalonnage linéaire de l'acide gallique utilisée comme référence, on a déterminé la concentration phénolique totale en milligrammes d'acide gallique équivalent par gramme d'extrait.

II.5.2. Analyse de dosage des Flavonoïdes :

Nous avons utilisé la méthode colorimétrique utilisant du chlorure d'aluminium (AlCl_3) pour déterminer le total de flavonoïdes présents dans l'extrait de *M. oleifera* (Ahn *et al.*, 2007), comme suit :

1 mL de la solution d' AlCl_3 est associé à 1 mL de l'échantillon, tandis que dans l'autre cas, il est combiné avec 1 mL du standard. L'absorbance a été mesurée après un délai de 30 minutes en comparaison au blanc réactif préparé à une longueur d'onde de 430 nm. Pour obtenir les résultats, une équation de calibration linéaire basée sur la quercétine en tant que standard a été utilisée. Les résultats ont été indiqués en milligrammes de quercétine pour chaque gramme d'extrait.

II.6. Activité antioxydante

II.6.1. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH

Combinez 1 ml de la solution DPPH avec 1 ml de chaque extrait (ou de l'acide ascorbique en tant que témoin). Afin de finaliser la réaction, on a brièvement mélangé le mélange réactionnel puis on l'a laissé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. (Mansouri *et al.* 2005), à une longueur d'onde de 517 nm, on a mesuré l'absorbance du milieu réactionnel. Abs contrôle fait référence à l'absorbance du contrôle (qui comprend tous les réactifs à l'exception de l'échantillon) tandis que Abs échantillon se réfère à l'absorbance de l'échantillon.

$$\text{Pourcentage d'inhibition (PI)} : [(\text{Contrôle Abs} - \text{Échantillon Abs}) / \text{Contrôle Abs}] \times 100 \quad (1)$$

II.6.2. Test FRAP (Essai de pouvoir antioxydant réducteur ferrique):

Des extraits à des concentrations de 1 ml (mg/ml) dans l'eau distillée ont été combinés avec un tampon phosphate (1,25 ml, 0,2 M, pH 6,6) et une solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 1% (1,25 ml, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$). L'incubation du mélange a été réalisée pendant 20 minutes à une température de 50°C. Des portions de 1,25 ml d'acide trichloracétique (solution aqueuse à 10 %) ont été incorporées au mélange, puis ce dernier a été soumis à une centrifugation à 3 000 tours par minute pendant une durée de 10 minutes. Le surnageant (1,25 ml) a été combiné avec de l'eau distillée (1,25 ml) et une solution récemment élaborée de FeCl_3

(250 µl, 0,1 %). La mesure de l'absorbance s'est effectuée à 700 nm, et l'acide ascorbique a servi de contrôle positif (**Oraiza, 1986**).

II.6.3. Mesure de phosphomolybdate (Capacité Antioxydante Totale) :

L'essai repose sur l'aptitude de l'extrait à diminuer le Mo (VI)-Mo (V) et à créer un complexe phosphate vert/Mo (V) dans un milieu acide. On a mélangé une portion d'extrait de 0,3 ml avec 3 ml de solution réactive (acide sulfurique à 0,6 M, phosphate de sodium à 28 mM et molybdate d'ammonium à 4 mM). Le mélange réactionnel a été incubé dans des tubes pendant une heure et demie à une température de 95°C. Après le refroidissement des échantillons à température ambiante, l'absorbance de la solution à 695 nm a été déterminée en utilisant un spectrophotomètre, comparativement à un échantillon blanc. 0,3 mL d'eau distillée est employé comme référence au lieu de l'extrait (**Islam et al., 2013**).

Pour estimer les équivalents d'acide ascorbique, un graphique AA conventionnel a été employé. L'expérience a été menée à trois reprises et les résultats sont présentés en mg par gramme d'extrait équivalent à l'acide ascorbique.

II.7. Test anti-inflammatoire :

L'extrait aqueux brut et **fractions** ont été testé pour son potentiel anti-inflammatoire en utilisant la technique d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf à différentes concentrations (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 µg/ml). On utilise 100 µl d'albumine d'œuf de poule (fraîche), 1,4 ml de solution tampon phosphate à pH 6,4 et 1 ml de différentes concentrations végétales. En outre, 1 ml d'eau distillée a été employé en lieu et place de l'extrait ou du Aspégic pour la préparation du témoin. Suite à une incubation de 15 minutes à 37 ° C dans un bain-marie, les mélanges réactionnels ont été soumis à une période de chauffe de 5 minutes à une température de 70 ° C. Après d'un spectrophotomètre UV-visible, le tampon utilisé comme blanc. La formule ci-dessous a été employée pour calculer le taux d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine (**Dharmadeva et al., 2018**) :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / (A \text{ contrôle}) \times 100 \quad (2)$$

II.8. Activité photoprotectrice (SPF):

Pour évaluer l'efficacité photoprotectrice de l'extrait *M. oleifera*, le facteur de protection solaire (FPS) a été déterminé par analyse spectrophotométrique. Chaque échantillon,

comprenant les l'extrait aqueux brut et les fractions, a été préparé à une concentration constante de 1 mg/mL dans de l'éthanol afin de garantir la standardisation et la comparabilité. L'absorbance a été mesurée sur des longueurs d'onde allant de 290 à 320 nm, à des intervalles de 5 nm. Un écran solaire commercial, Avene®, a servi de standard (témoin positif) pour valider la méthodologie et faciliter la comparaison des valeurs de FPS. Le calcul du FPS a été effectué selon la formule décrite par (Rudrappa *et al.*, 2023) :

$$SPFS_{\text{Spectrophotométrique}} = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times DO(\lambda) \quad (3)$$

Où : CF ; facteur de correction (10). EE ; effet érythématogène du rayonnement à la longueur d'onde (λ) nm. I ; spectre d'intensité solaire (λ) nm. DO (λ) ; valeurs d'absorbance spectrophotométrique à la longueur d'onde. Les valeurs de $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ sont des constantes. Pour garantir l'exactitude, chaque test a été réalisé en triple.

II.9. Activité hémolytique :

L'analyse de l'hémolyse a été réalisée selon la méthode décrite par (Vinjamuri *et al.*, 2015). Ce processus a impliqué la collecte de 5 ml de sang, puis leur centrifugation à 1000 tours par minute et à une température de 40 degrés Celsius pendant 10 minutes dans un tube contenant 5,4 mg d'EDTA pour prévenir la coagulation du sang. Le test d'hémolyse a été effectué sur des globules rouges lavés et conservés à 40 degrés Celsius pendant 6 heures. Le test a inclus l'utilisation de 100 microlitres de l'échantillon de test (contenant des composants d'A. gombo) et de 50 microlitres de suspension de globules rouges (diluée 10 fois). De plus, des échantillons de contrôle positifs et négatifs ont été utilisés, à raison de 100 microlitres chacun de solution saline phosphate (PBS) et de 1 % de dodécylsulfate de sodium (SDS) respectivement. Le mélange a ensuite été incubé pendant 60 minutes dans un bain-marie à 37 degrés Celsius (Vinjamuri *et al.*, 2015). Après l'incubation, 850 microlitres de PBS ont été ajoutés au mélange de réaction pour porter le volume total à 1 ml. Enfin, après centrifugation à 3000 tours par minute pendant 3 minutes, la concentration d'hémoglobine a été calculée en mesurant la quantité d'hémoglobine produite dans le précipité à l'aide d'un appareil spectrophotomètre à 540 nm.

La formule suivante a été utilisée pour calculer le taux d'hémolyse :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = 100 - (\text{échantillon/contrôle}) \times 100 \quad (4)$$

II.10. Analyse d'activité antibactérienne :

Initialement, la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'extrait aqueux et leur fractions brut a été évaluée selon la technique de diffusion sur gélose mentionnée par (Belhaoues *et al.*, 2020). Comme mentionné précédemment, la méthode de diffusion sur gélose est employée dans le test antibactérien pour mesurer l'activité antibactérienne des matériaux. Avant cette procédure, les souches bactériennes ont été cultivées sur de la gélose nutritive à 37 °C pendant une durée de 24 heures afin d'atteindre leur phase stationnaire de croissance. Un autre élément est la suspension de cellules bactériennes (10^6 unités formant colonie par ml), qui a été étalée sur des plaques de Pétri remplies de gélose Mueller Hinton, en utilisant des écouvillons stériles.

Par la suite, les disques (de 6 mm de diamètre) ont été plongés dans 10 μ l l'extrait aqueux et de ses différentes fractions, tous dissous dans du DMSO (5 %, v/v), à différentes concentrations. On a utilisé Amoxicilin (10 μ g/ml), et la Cephalexin (30 μ g/ml) .

Le DMSO à 5 % a servi de contrôle positif et négatif, respectivement. Ils ont tous été incubés à 37°C pendant une durée de 24 heures.

II.11. Méthode d'analyse statistique

Toutes les mesures ont été prises en triple et toutes les données ont été exprimées sous forme de moyennes \pm écarts types. À l'aide d'IBM SPSS Statistics 26, une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) et les tests Duncan à plages multiples ont été utilisés pour l'analyse statistique.

Chapitre II : Résultats et discussion

I.1. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de *Moringa Oleifera*:

I.1.1. Rendement en extrait de *M. oleifera* et principes actifs:

Dans le cadre de cette étude, les composés de la plante *M.oleifera* ont été extraits en faisant tremper 30 grammes de poudre de plante, suivis d'un processus de filtration. Les résultats ont révélé que l'extrait aqueux a présenté le rendement le plus élevé (16%) .Les deux autres extraits, le n-butanol (1.6%) et l'acétate d'éthyle (0,66%) .(A.N.SY *et al* 2018) Le solvant été filtré et soumis à une évaporation à deux reprises de produire les deux phases de flavonoïdes (Chouikh,A,2020) .

Tableau 02 :Rendements des extraits de *M.oleifera* leurs différentes fraction d'extraction.

Nom fraction	Rendement d'extraction
Aqueous extract	16±2.2%
Ethyle acétate fraction	0.66±1.1
n-butanol fraction	1.6±1.4 %

I.1.2 Criblage photochimique :

Les métabolites secondaires comme les polyphénols, flavonoïdes, tanins et quinones ont une importance capitale dans les fonctions biologiques des plantes médicinales. Parmi celles-ci figurent la baisse de la glycémie, l'effet antidiabétique, l'effet antioxydant, l'effet antimicrobien, anti-inflammatoire et anticancéreux (Yadav *et al.*, 2014).

Les résultats de l'analyse chimique végétale indiquent que la *Moringa oleifera* est une source riche en composés secondaires biologiquement actifs, y compris des polyphénol ,des alcaloïdes, des tanins et des flavonoïdes. Toutefois, la méthode végétale n'a pas permis de détecter les terpénoïdes, les saponines, les anthraquinones et les stéroïdes (tableau 03) La diversité des composés actifs présents dans les plantes médicinales indique leurs effets curatifs et préventifs. Les flavonoïdes naturels, en raison de leurs nombreuses vertus, sont considérés comme des remèdes pour les affections cardiovasculaires, le diabète, les cancers, ainsi que les maladies vénériennes et microbiennes (Pouka, *et al* ,2015). Les tanins ont prouvé leurs propriétés biologiques, notamment en tant qu'antioxydants, antimicrobiens et antiviraux. Bien que les saponines aient démontré leur aptitude à provoquer la précipitation et la coagulation des globules rouges, elles possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, ainsi que des fonctions protectrices pour les veines et les capillaires

comme le montrent les résultats de (Chahra Boudoukha, 2024), on observe la présence de polyphénols, de tanins, de flavonoïdes et de quinones. Tandis que les terpènes, les saponines et les anthraquinones dans Les mêmes plantes sont utilisées pour produire des extraits à base de méthanol et d'eau. en plus de l'étude de (D.Djemoui *et al*,2019) La plante a confirmé la richesse en métabolites secondaires dans les catégories les plus importantes, telles que les tanins, les phénols, les flavonoïdes, les stéroïdes, les coumarines et les glucosides. Bien qu'ils aient manqué d'alcaloïdes et de stéroïdes.

Tableau 03: Composition photochimique de l'extrait aqueux de *M.oleifera*

Extraits phytochimique		<i>M.oleifera</i>
Polyphenols		(+)
Alcaloïdes	Mayer	(+)
	Wanger	(+)
Flavonoïdes		(+)
Tannins		(+)
Terpénoïdes		(-)
Saponines		(-)
Steroids		(-)
Anthraquinones		(-)

(+) :présence de composé (-) :Absence de composé

I.1.3. Quantification des composés phytochimique :

En ce qui concerne les métabolites secondaires des plantes, les polyphénols et les flavonoïdes, les polyphénols en font partie et sont connus pour leur action antioxydante. La concentration totale des phénols dans *M. oleifera* a été déterminée en utilisant la méthode Folin-Ciocalteu pour les extraits aqueux Mais le dosage des flavonoïdes dans les extraits de *M. oleifera* a été réalisé grâce à l'utilisation d'aluminium. La technique pour évaluer la couleur du trichlorure (Fachriyaha *et al* .,2020).

Le calcul du contenu total en phénols et en flavonoïdes a été effectué à l'aide des formules suivantes, basées sur la courbe de calibration : ($y = 0,0104x + 0,0819$; $R^2 = 0,843$) pour les phénols totaux et ($y = 0,012x + 0,075$; $R^2 = 0,916$) pour les flavonoïdes totaux (tableau 04). Ces valeurs sont mises en comparaison avec les standards respectifs : acide gallique (mg GAE/gE) et quercétine (mg QE/gE). L'extrait de *Moringa oleifera* séché se distingue par une teneur en phénols extrêmement élevée. Étant donné la sensibilité des composés phytochimiques

aux conditions de séchage et à l'environnement environnant, il devient nécessaire d'étudier si ces conditions ont contribué à maintenir ce niveau élevé de phénols, et si cette richesse en phénols représente un facteur important dans la détermination des activités antioxydantes de cette plante.

Les résultats indiquent que les composés phénoliques jouent un rôle central dans la détermination des propriétés antioxydantes des extraits de moringa étudiés. Le mécanisme d'action de ces composés dépasse leur capacité à utiliser des atomes d'hydrogène, englobant également l'efficacité de la chélation des ions métalliques, ce qui est en accord avec les conclusions d'études antérieures (**Costa *et al.*, 2012 ; Shahryar *et al.*, 2013**). Les valeurs de polyphénols et de flavonoïdes que nous avons obtenues étaient meilleures que celles mentionnées.

Les résultats trouvés dans les extraits aqueux et méthanoliques montrent que le nombre de polyphénols dépasse celui des flavonoïdes, l'extrait aqueux contenant la plus haute concentration de polyphénols ($30,47 \pm 7,74 \mu\text{g GAE/mg}$) par rapport aux flavonoïdes dans l'extrait aqueux, dont la concentration était de $15,16 \pm 2,16 \mu\text{g QE/mg E}$. Contrairement à ce qui a été rapporté précédemment (**Djemoui *et al.*, 2019**), les résultats de cette étude ont montré que la valeur du contenu en polyphénols dans l'extrait aqueux était inférieure, atteignant 117.863 ± 0.22 microgrammes équivalent acide gallique par milligramme de l'extrait. par rapport aux flavonoïdes dans l'extrait aqueux, dont la concentration était de $17,738 \pm 0,04 \mu\text{g QE/mg E}$.

Tableau 04 : Quantité de polyphénols et flavonoïde de d'extrait aqueux *M.oleifera*.

Composé	<i>M.oleifera</i>
Polyphénols	56.99 ± 5.57
Flavonoïdes	38.05 ± 3.79

I.2. Activité *in vitro* de l'extrait aqueux de *M.oleifera* et des fractions composées de la feuille de cette plante :

I.2.1. Activité antioxydant :

Les antioxydants ont une importance capitale dans la préservation des aliments en empêchant l'oxydation. Processus et contribution à la promotion de la santé assurée par de nombreux suppléments nutritionnels. Ingrédients alimentaires fonctionnels et nutraceutiques. (**Shahidi et Zhong, 2015**)

Cela est réalisé par le biais de trois techniques : DPPH, FRAB et TAC.

I.2.1.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH :

- L'activité antioxydante pour différents échantillons de *M.oleifera* a été évaluée par le biais du test de neutralisation du radical DPPH. Le Tableau 05 présente les valeurs de IC₅₀ pour l'activité antioxydante de *M.oleifera*, mises en comparaison avec l'acide ascorbique en tant que référence standard.(**A.N.S.Y et al,2018**)

Les résultats de l'évaluation des capacités antioxydantes totales de l'échantillon standard et de tous les extraits étudiés ont montré une supériorité remarquable de l'extrait de butanol, qui a enregistré la plus haute activité antioxydante avec une valeur de (18.61±0.03 µg/ mL). Suivi de l'extrait aqueux (28,665 0,045µg/mL).En revanche, l'extrait d'acétate a montré la plus faible activité antioxydante avec une valeur de (157.875±0.025µg/mL).

Les variations observées dans l'activité antioxydante peuvent être attribuées à plusieurs facteurs interconnectés, parmi lesquels la polarité du solvant utilisé pour l'extraction, l'efficacité du processus d'extraction lui-même, ainsi que les conditions expérimentales appliquées. De plus, l'activité inhibitrice des radicaux libres observée dans l'extrait de *Moringa oleifera* est probablement attribuée à la présence de composés polyphénoliques, en particulier les flavonoïdes, connus pour leurs propriétés antioxydantes.

De plus, (**Nitesh et al. 2021**) ont évalué la capacité des extraits de feuilles de *M.oleifera* à éliminer les radicaux libres à différentes concentrations. L'extrait aqueux a montré une valeur IC₅₀ de 4,65 µg/ml, tandis que l'extrait méthanolique a enregistré une valeur beaucoup plus faible de 1,83 µg/ml. Ces résultats, confirmés par (**Bahala et al. 2021**), indiquent la supériorité de l'extrait méthanolique en activité antioxydante par rapport à l'extrait aqueux.

Comme l'a indiqué (**A. N. SY et al., 2018**), l'évaluation de l'activité antioxydante a montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *M. oleifera* possède une efficacité supérieure dans l'inhibition des radicaux libres DPPH par rapport aux autres fractions testées. Sur la base des résultats d'une étude (**A. N. SY et al., 2018**), il est proposé que l'activité antioxydante de l'extrait d'éthanol des feuilles de *M,oleifera* et ses mécanismes d'action peuvent être attribués à la présence de composés antioxydants tels que les polyphénols. Certains chercheurs ont confirmé que les propriétés antioxydantes des feuilles de *M,oleifera* sont principalement dues à la présence de ces polyphénols.

Tableau 05 : Concentration d'inhibition (IC₅₀) des extraits testés selon les méthodes DPPH

Extraits/standards	DPPH :(IC ₅₀ : µg/mL)
<i>M.oleifera</i>	28.655 ± 0.045 µg/mL
Acétate d'éthyle fraction	157.875 ± 0.02 µg/mL
N-butanol fraction	18.61 ± 0.03 µg/mL
Acide ascorbique	1.219 ± 0.05 µg/mL

I.2.1.2 Méthode du fer réducteur (FRAP)

Le test FRAP a été réalisé dans le but d'évaluer la Diminution de la capacité de puissance de *M.oleifera* aqueux. extrait par rapport à l'acide ascorbique en tant que référence. Les conclusions ont révélé que l'extrait de *M.oleifera*. Présenté une capacité réductrice qui dépend de la concentration ; Au fur et à mesure que la concentration de l'échantillon s'accroissait, le mélange réactionnel absorbance forte, conduisant à une diminution plus importante Efficacité. Le tableau 6 représente des résultats indiquant un niveau élevé. Activité réductrice similaire à celle de l'acide ascorbique acide normatif. Les résultats présentés dans le tableau montrent que l'extrait de *M.oleifera* possède une capacité réductrice qui dépend de la concentration. L'augmentation de la concentration de l'échantillon entraîne une augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel, indiquant une efficacité antioxydante plus importante.

La valeur EC₅₀ (concentration efficace médiane) de l'extrait brut de *M.oleifera* est de 329.125 ± 3,1 µg/ml, ce qui indique une activité antioxydante modérée. Cependant, les fractions obtenues par différents solvants montrent des variations significatives dans leur pouvoir antioxydant. La fraction n-butanol présente une valeur EC₅₀ remarquablement basse de 15.225 ± 0,017 µg/ml, suggérant un pouvoir antioxydant exceptionnellement élevé. La fraction d'acétate d'éthyle montre également une bonne activité avec une EC₅₀ de 195 ± 0, 28 µg/ml.

En comparaison, l'acide ascorbique, utilisé comme standard, présente une EC₅₀ de 65.4 ± 1,4 µg/ml. Il est intéressant de noter que les n-butanol de *M.oleifera* démontrent une activité antioxydante significativement supérieure à celle de l'acide ascorbique, tandis que l'extrait brut et d'acétate d'éthyle présente une activité inférieure.

Cette variation dans l'activité antioxydante entre l'extrait brut et ses fractions peut s'expliquer par la différence de polarité des solvants utilisés pour l'extraction, qui influence la

nature et la concentration des composés bioactifs extraits. Les solvants de polarité intermédiaire comme l'acétate d'éthyle sont connus pour extraire efficacement les composés phénoliques et flavonoïdes, qui sont largement responsables de l'activité antioxydante des plantes. (Dai, 2010 & Huang, 2005). Les valeurs EC_{50} obtenues pour l'extrait brut de *M. oleifera* (394,6 $\mu\text{g/ml}$) sont comparables à celles rapportées par Sreelatha et Padma (2009) qui ont trouvé des valeurs EC_{50} entre 350-420 $\mu\text{g/ml}$ pour des extraits aqueux de feuilles de Moringa. Ces résultats confirment l'activité antioxydante modérée de l'extrait brut. La fraction d'acétate d'éthyle montre une activité modérée significativement plus basse que celle rapportée par Vongsak *et al.* (2013) qui ont obtenu des valeurs d'environ 1,12 $\mu\text{g/ml}$ pour des fractions similaires. Cette différence pourrait être attribuée aux variations dans les méthodes d'extraction ou à l'origine géographique des échantillons. La fraction n-butanol ($EC_{50} = 8,68 \mu\text{g/ml}$) présente également une forte activité, cohérente avec les résultats de Verma *et al.* (2009) qui ont rapporté des valeurs EC_{50} entre 5-12 $\mu\text{g/ml}$ pour des fractions butanoliques de *Moringa*. Ces résultats indiquent que le fractionnement améliore considérablement l'activité antioxydante, un phénomène également observé par Siddhuraju et Becker (2003) qui ont démontré que les composés bioactifs de *Moringa* se concentrent dans certaines fractions après séparation.

Tableau 06 : Activités de pouvoir antioxydant des fraction de *Moringa oleifera* et l'extrait brut

FRAP EC_{50} $\mu\text{g/ml}$	Extraits/Standards
<i>Moringa olifera</i>	329.125 \pm 3,1
Acétate d'éthyle	195 \pm 0,28
n-butanol.	15.225 \pm 0,017
Acide ascorbique	65.4 \pm 1,4

I.2.1.3 Capacité Antioxydante Totale

La teneur en composés phénoliques des extraits de *M.oleifera* a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée sous forme de moyenne \pm écart type. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 695 nm.

L'extrait brut de *M.oleifera* a présenté une capacité antioxydante remarquable avec une valeur moyenne de 118,833 \pm 2,535 (mg AA/g). et L'extrait de l'acétyl diéthyle et au N-butanol, atteignant respectivement, 165,75 \pm ,11,37 et 123;75 \pm ,11,37 (mg AA/g).

L'activité antioxydante de l'extrait de *Moringa* de l'acétyl diéthyle ($165,75 \pm 11,37$) est supérieure aux valeurs rapportées par Moyo *et al.* (2012) qui ont observé des valeurs de capacité antioxydante totale d'environ $139,8 \pm 2,7$ pour des extraits méthanoliques de *Moringa*.

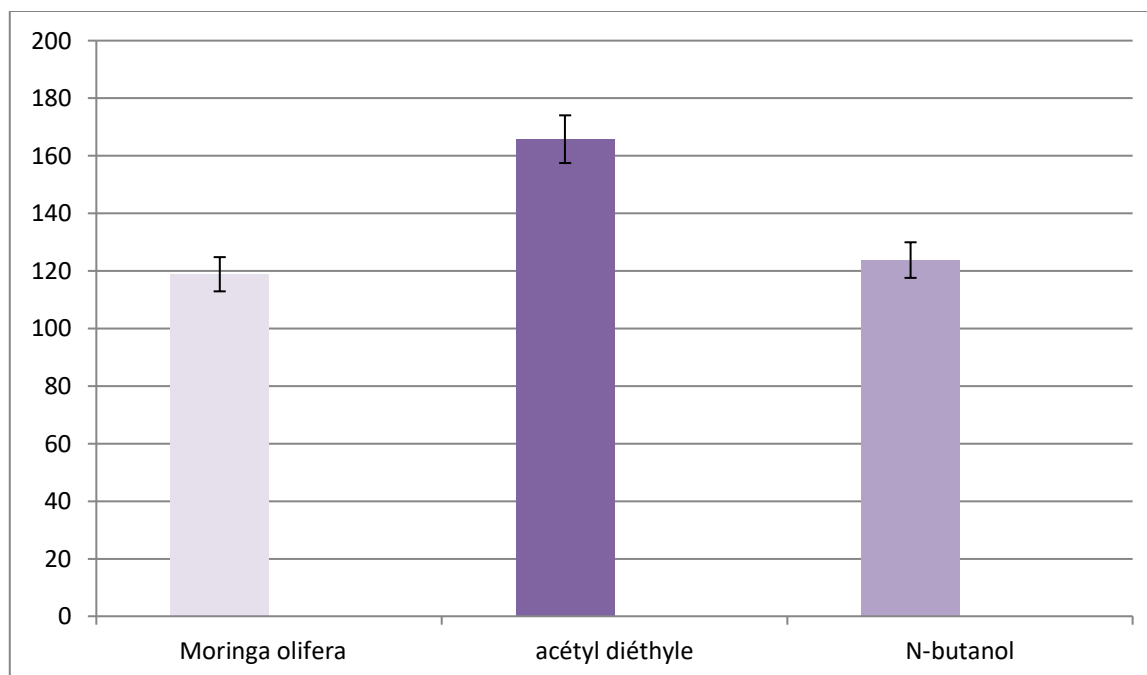


Figure 12 : Evolution de Capacité Antioxydante Totale (mg AA/g) des différents extraits *Moringa oleifera*.

I.2.2 Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de *M.oleifera* a été évaluée à l'aide du test d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine de blanc d'œuf. Les résultats ont montré que l'extrait présente un effet inhibiteur de la dénaturation des protéines de manière dose-dépendante, similaire à celui observé avec l'aspegic, utilisée comme référence. L'extrait aqueux de *M.oleifera* a révélé un potentiel anti-inflammatoire appréciable avec une valeur de $IC_{50} = 336,562 \mu\text{g/mL}$, tandis que l'aspegic montré une $IC_{50} = 446,718 \mu\text{g/mL}$. En outre, les fractions de l'acétate d'éthyle et du n-butanol ont également montré une activité anti-inflammatoire notable avec des valeurs de $EC_{50} = 396,8 \mu\text{g/mL}$ et $EC_{50} = 229,92 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

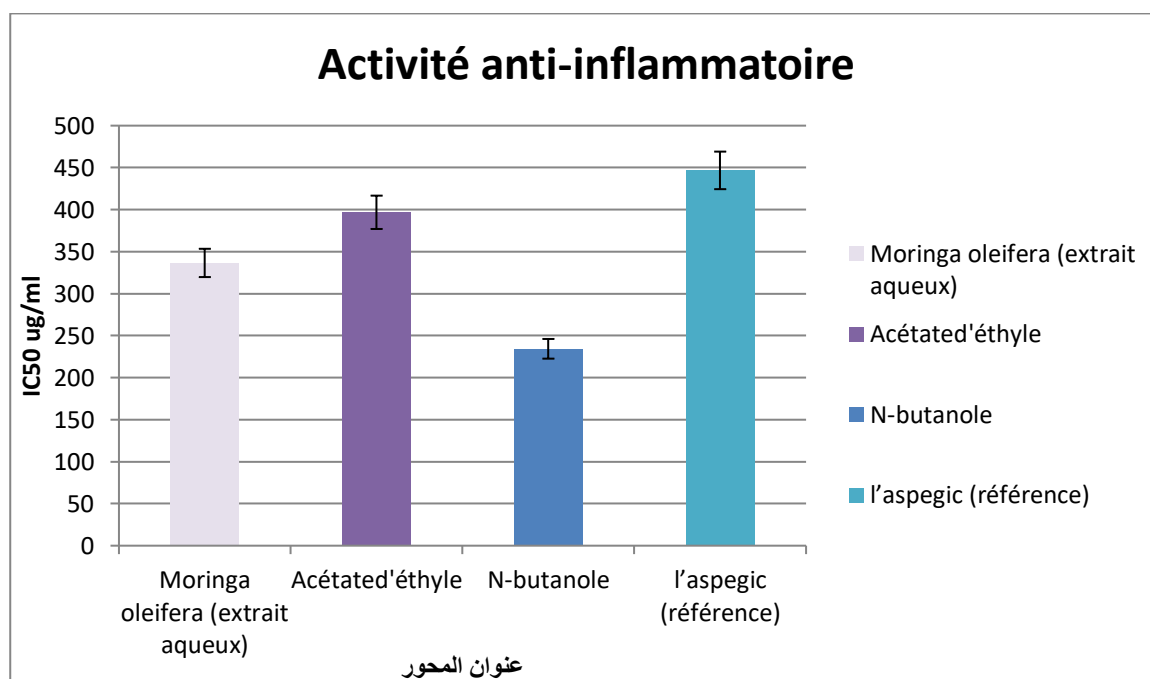


Figure 13 : Evolution de L'activité anti-inflammatoire EC₅₀ (µg/mL) des différents extraits *Moringa oleifera* et de l'aspegic comme référence

Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *M.oleifera* présente un effet inhibiteur sur la dénaturation des protéines qui est dépendant de la dose. Cette relation dose-réponse est similaire à celle observée avec l'aspegic, utilisée comme médicament de référence dans cette étude. Cela suggère que l'extrait de *M.oleifera* possède des propriétés anti-inflammatoires significatives.

L'activité anti-inflammatoire supérieure de l'extrait de *Moringa* (IC₅₀ = 396,8 µg/mL) par rapport à l'aspegic (IC₅₀ = 446,718 µg/mL) est cohérente avec les résultats de Luqman *et al.* (2012) qui ont démontré que les extraits aqueux de *Moringa* inhibent significativement les enzymes inflammatoires avec des IC₅₀ inférieures à celles de médicaments conventionnels. Selon Singh *et al.* (2012), cette activité anti-inflammatoire peut être attribuée à la présence d'isothiocyanates et de flavonoïdes dans les feuilles de *Moringa*, qui inhibent les médiateurs inflammatoires comme TNF- α et IL-6. Ces résultats sont également en accord avec l'étude de Mahajan *et al.* (2009) qui a montré une réduction de 43% de l'œdème chez des modèles animaux traités avec des extraits de *Moringa*, comparable à une réduction de 35% observée avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens standard.

I.2.3 Activité photoprotectrice

La valeur du facteur de protection solaire (SPF) est un indicateur essentiel qui doit être mentionné dans les produits cosmétiques et de soins personnels, car elle reflète la capacité du produit à protéger contre la lumière du soleil et les irritations cutanées. La valeur SPF est déterminée par la capacité à absorber, réfléchir ou diffuser les rayons solaires. Les résultats du test SPF ont confirmé la capacité de l'extrait aqueux de *M.oleifera* à protéger la peau contre les radiations ultraviolettes (UV), comme indiqué dans le Tableau.

Ces résultats indiquent que ces extraits pourraient être intégrés dans des formulations cosmétiques pour offrir une protection solaire naturelle, avec une performance comparable à certains filtres UV synthétiques de base (généralement SPF 15-30). La discussion de ces valeurs SPF dans le contexte de la littérature scientifique renforce leur pertinence. Par exemple, des études antérieures ont rapporté des valeurs SPF pour des extraits de feuilles de *M.oleifera* variant en fonction de la concentration et du type d'extrait, souvent compatibles avec une protection modérée. (Bouras, *et al.*, 2024). Ojiako *et al.* (2021) ont également montré des variations de SPF selon le solvant d'extraction pour les graines, soulignant l'importance de la méthode. Les valeurs obtenues ici, particulièrement pour l'extrait au n-butanol (SPF 23), se situent dans une gamme prometteuse pour des applications cosmétiques, confirmant le potentiel photoprotecteur de *M.oleifera* mis en avant par Leone *et al.* (2023) . L'efficacité supérieure de l'extrait au n-butanol suggère une concentration plus élevée de composés absorbant les UV, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, dont l'extraction est favorisée par ce solvant.

Tableau 07 : Valeurs du facteur de protection solaire de l'extrait de *M. oleifera* et leur fraction

Extrait /fraction	SPF
<i>Moringa oleifera</i>	22,202±2,222
Acétate d'éthyle	20,17±2,017
n-butanol.	23,00±2,300
Avene®	40±1.2

I.2.4 Test de cytotoxicité (hémolyse)

L'évaluation de la cytotoxicité sur globules rouges humains a permis d'établir le profil de sécurité des différents extraits. À la concentration de 25 µg/mL, l'extrait au n-butanol a montré

le taux d'hémolyse le plus faible (1,03%), démontrant ainsi une excellente biocompatibilité. L'extrait aqueux (3,99%) et l'extrait à l'acétate d'éthyle (6,01%) ont présenté des cytotoxicités légèrement plus élevées mais restant dans des limites acceptables. Ces résultats confirment la bonne tolérance des extraits, particulièrement ceux obtenus par n-butanol, aux concentrations testées. Nombreuses études ont évalué la cytotoxicité des extraits de *M.oleifera* sur différentes lignées cellulaires, souvent dans le contexte de la recherche anticancéreuse. **Tiloke et al. (2019)** ont montré des effets cytotoxiques différentiels sur les cellules saines et cancéreuses, tandis qu'**Adebayo et al. (2020)** ont rapporté une cytotoxicité sur des cellules leucémiques. Cependant, l'évaluation sur les érythrocytes, comme réalisée ici, est plus directement pertinente pour la sécurité des applications topiques ou systémiques générales. Un faible taux d'hémolyse, comme observé pour l'extrait au n-butanol (inférieur à 5% jusqu'à 75 µg/mL), est généralement considéré comme indicateur d'une bonne biocompatibilité (**Waterman, 2014**).

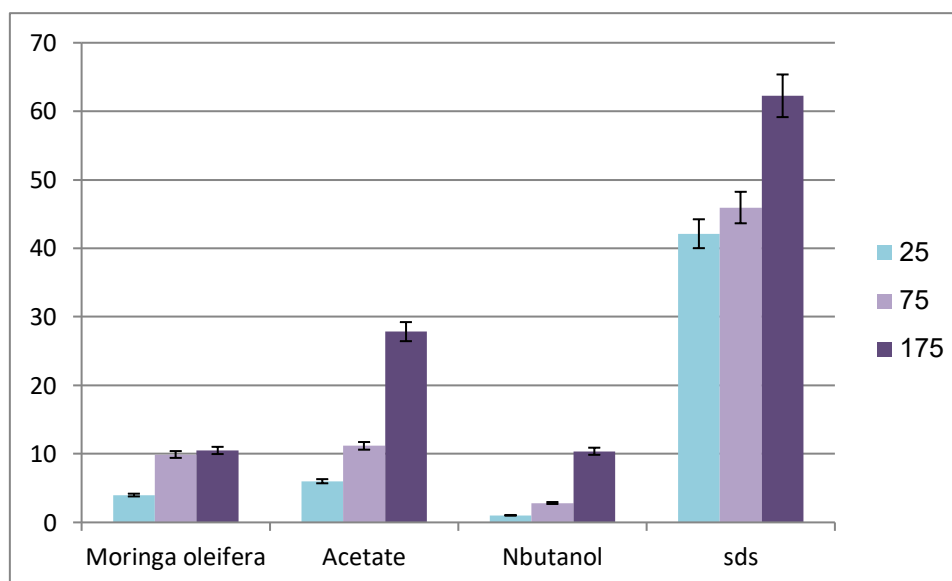


Figure 14: Evolution de l'effet hémolytique (%) par absorbance dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations des extraits de *M. oleifera* et leur fraction, durant 60 minutes par rapport à la SDS.

I.2.8. Activité antibactérienne :

Le tableau 08 illustre l'action antibactérienne de l'extrait aqueux de la plante *Moringa oleifera* ainsi que des fractions d'acétate d'éthyle et de butanol, en se basant sur les zones d'inhibition de trois bactéries Gram-négatives et deux Gram-positives.

L'étude actuelle a montré que les extraits aqueux et méthanoliques possèdent des activités antibactériennes généralement limitées, les zones d'inhibition ne dépassant pas 07.00 à 20.50

mm. En revanche, les niveaux d'activité inhibitrice les plus élevés ont été observés dans les extraits d'acétate d'éthyle et de butanol, tandis que l'extrait aqueux a montré une activité moyenne par rapport aux autres extraits.

Certains composés phytochimiques extraits de plantes démontrent des propriétés antifongiques, incluant notamment les alcaloïdes (**Gholamreza B, et al., 2020**). L'analyse de l'extrait aqueux a par ailleurs révélé la présence de tanins (**Trolezi R et al., 2017**), suggérant une potentielle activité antimicrobienne, tandis que les triterpènes n'ont pas été détectés (**Gholamreza B, et al., 2020**).

Une étude de Peixoto et Silva (**Peixoto JR et al ., 2011**) a montré des perspectives prometteuses pour les extraits de feuilles de *M.oleifera* à base d'eau et d'éthanol en tant que traitement potentiel pour certaines infections bactériennes. Une étude de Peixoto et Silva (**Peixoto JR et al ., 2011**) a montré des potentiels prometteurs des extraits de feuilles de *Moringaoleifera* aqueux et éthanoliques comme traitement potentiel pour certaines infections bactériennes. Dans une étude de , il a été observé que l'activité antibactérienne de l'extrait de *M. oleifera* était plus forte contre les bactéries à Gram positif (*S. aureus* et *Enterococcus faecalis*) par rapport aux bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *Salmonella*, *P. aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Aeromonas caviae*), ce qui a été confirmé par les résultats de plusieurs autres études (**Gholamreza B, et al., 2020**).

Tableau 08: Antibacterial activity of the crude extract of *M.olefira*, and different fractions determined by agar well diffusion assay.

B.S :Bacillus subtilis ATCC 6633, S.A :Staphylococcus aureus ATCC 6538, EC :Escherichia coli ATCC 8737,PA :Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 ,KP :Klebsiella penumoniae ATCC 13885.DMSO : Diméthylsulfoxyde, . Les zones d'inhibition > à 25 mm étaient considérées comme très fortes (****), les zones d'inhibition de 15 mm à 25 mm comme fortes (***), de 8 à 15 comme modérées (**) et ≤ 8 comme activités hebdomadaires. (*), aucune activité (-) (Islam , E, 2013)

Sample Con (ug/ mL)		Zone inhibition(mm)					
		B.S	S.A	E.C	P.A	K.P	
M.olefira	1000	10.00 ±02.82**	07.50± 0.707 **	11.00± 4.24***	14.50± 4.94***	11.00± 01.41**	
	750	10.00± 02.82 **	07.50± 0.707 **	08.00± 0.00**	11.00± 01.41**	11.00± 0.00**	
	500	09.50± 03.53**	07.50± 0.707 **	07.00 ± 0.00*	11.00± 01.41 **	10.00± 0.00**	
	250	07.50±0.707 **	07.50± 0.707 **	07.00± 0.00*	10.50± 0.707**	10.00± 0.00**	
EA	1000	14.50± 07.50***	15.00± 05.65***	17.50± 04.94***	17.00± 04.42 ***	20.50± 0.707***	
	750	11.00± 04.24***	13.50± 03.53***	10.50 ±2.94**	17.00± 01.41***	18.50 ±03.53***	
	500	10.00± 02.82**	13.00± 01.41**	10.00± 0.00**	13.00± 01.41 **	12.50± 0.707**	
	250	09.50±02.50**.	07.00± 7.071**	09.50± 0.707**	09.00± 01.41**	11.00 ±01.00**	
NB	1000	13.50± 3.53***	07.50± 0.707 **	07.50± 0.707**	13.50± 03.53***	07.50± 0.707**	
	750	13.00± 04.24***	07.50± 0.707**	07.50± 0.707**	13.00± 04.24***	07.50± 0.707**	
	500	12.00± 4.24***	07.50± 0.707**	07.50± 0.707**	12.00± 04.24***	07.50± 0.707**	
	250	10.00± 02.82***	07.50± 0.707**	07.50± 0.707**	10.00 ±02.82**	07.50± 0.707**	
DMSO							
Amoxicilin	10ug/ ml	30±0.02	12±0.02	18±0.056	18±0.03	18±0.05	19±0.01
Cephalexin	30UG/ml	18±0.02	17±0.03	19±0.03	15±0.05	20±0.04	22±0.03

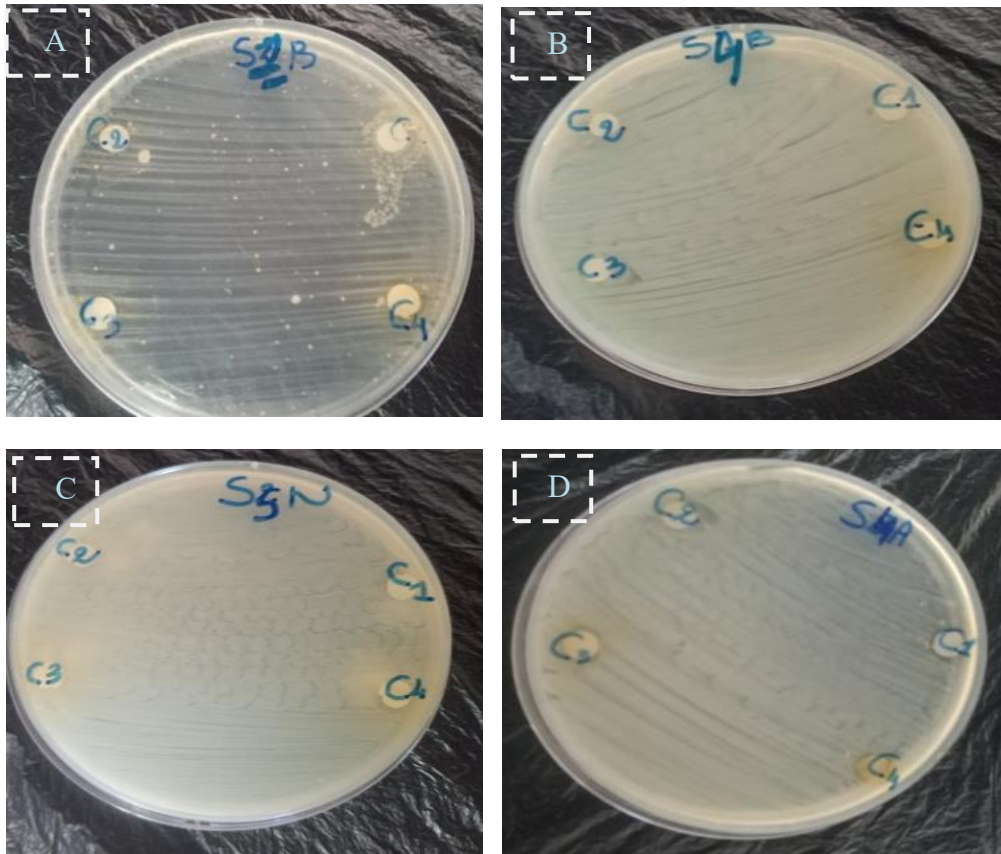


Figure 15 : Zones d'inhibition *M. olefira* et de leurs fractions contre diverses souches bactériennes.

A : Zones d'inhibition de la fraction n-butanol contre *Bacillus subtilis*, B : Zones d'inhibition de la fraction n-butanol contre *Pseudomonas aeruginosa*, C : Zones d'inhibition pour extrait aqueux *M.olefira* contre *Klebsiella penumoniae*, D : Zones d'inhibition de la fraction acétate d'éthyle contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a permis de démontrer le potentiel thérapeutique remarquable de *M. oleifera*, une plante médicinale riche en métabolites secondaires bioactifs. Les analyses phytochimiques ont révélé une abondance de polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines et alcaloïdes, soutenant la réputation de cette plante comme réservoir naturel de composés à haute valeur ajoutée dans le domaine pharmaceutique.

Sur le plan biologique, les extraits bruts et leurs fractions ont affiché des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, photoprotectrices et antibactériennes notables. En particulier :

Profil phytochimique global : L'analyse qualitative des extraits a mis en évidence une teneur élevée en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et saponines, qui sont largement reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Ces métabolites secondaires confèrent à la plante un potentiel thérapeutique significatif.

Activité antioxydante : Les essais DPPH et FRAP ont révélé une activité antioxydante puissante, suggérant l'efficacité des extraits de *M. oleifera* dans la prévention du stress oxydatif, facteur central dans le développement de nombreuses maladies chroniques telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires et les troubles neurodégénératifs.

Activité anti-inflammatoire : Les extraits ont présenté une activité inhibitrice significative de l'inflammation, ce qui appuie leur future intégration dans des applications topiques (crèmes, pommades) destinées à traiter les affections cutanées inflammatoires et douloureuses.

Sécurité biologique : Le test d'hémolyse a révélé une cytotoxicité négligeable sur les globules rouges, confirmant la biocompatibilité des extraits et leur potentiel d'usage sécuritaire en application humaine.

Activité photoprotectrice : L'exposition aux UV a montré que les extraits offrent une protection significative contre les dommages induits par les rayons ultraviolets, ce qui ouvre la voie à leur utilisation dans les produits cosmétiques naturels à visée protectrice et réparatrice.

Activité antibactérienne : Bien que modérée, l'activité contre certaines souches pathogènes suggère un intérêt potentiel en tant qu'adjuvant naturel dans la lutte contre les infections cutanées.

Ainsi, la valorisation des fractions acétate d'éthyle et n-butanolique de *M.oleifera* offre de nouvelles perspectives pour l'isolation de composés à fort intérêt pharmacologique. Leur inclusion dans des études plus approfondies, notamment par des essais in vivo, pourrait aboutir à la formulation de phytomédicaments ciblés, renforçant encore l'intérêt thérapeutique de cette plante médicinale exceptionnelle.

Perspectives

Les résultats obtenus ouvrent plusieurs pistes de recherche prometteuses, parmi lesquelles :

- ✓ L'approfondissement de la caractérisation structurale des composés actifs identifiés, notamment par des techniques avancées (LC-MS/MS, RMN).
- ✓ L'évaluation in vivo de l'efficacité thérapeutique des extraits, notamment dans des modèles expérimentaux de maladies inflammatoires, oxydatives ou infectieuses.
- ✓ L'étude du potentiel cytotoxique des composés isolés sur des lignées cellulaires cancéreuses afin d'évaluer leur intérêt en oncologie.
- ✓ Le développement de formulations innovantes (crèmes, gels, compléments nutritionnels) à base d'extraits standardisés.
- ✓ La possibilité de valorisation industrielle des extraits de *M. oleifera* via le dépôt de brevets et la création de start-ups dédiées à la phytothérapie durable.

Références

Références

1. Adebayo, I. A., Arsad, H., & Samian, M. R. (2020). The Cytotoxic Effects of Moringa *oleifera* Leaf Extract and Silver Nanoparticles on Human Acute Myeloid Leukemia Cell Line (Kasumi-1). *International Journal of Nanomedicine*, 15 , 5869–5883.
2. Aguilera-Carbo, A., García-García, R., Contreras-Esquivel, J. C., Rodriguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2009). Extraction of condensed tannins from Mexican plant sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(9), 1559–1565
3. Ahn, M.-R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383-1392.
4. Amini, S. M., & Akbari, A. (2019). Metal nanoparticles synthesis through natural phenolic acids. *IET nanobiotechnology*, 13(8), [771-777](#).
5. Atakpama W., Kponor. G. E., Kanda M., Dourm M., Nare ARE M., Batawila K. et Akpagana K., 2014 - Moringa *oleifera* Lamarck (moringaceae): une ressource phytogénétique à usage multiple. *REV. CAMES* - 2(1): 6-14.
6. Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand)
7. 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
8. Bahri, C., Laifa, R. (2022). Propriétés nutritionnelle et fonctionnelle de la plante Moringa *oleifera* [Mémoire de master Biochimie appliquée, Université Mohamed Khider de Biskra]
9. Bahri, C., & Laifa, R. (2022). Propriétés nutritionnelle et fonctionnelle de la plante Moringa *oleifera* [Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie.
10. BAREK Saïd.(2019).Etude phytochimique et biologique d'extraits de deux plantes médicinales Genistasahara et Glycyrrhizaglabra. thèse de doctorat. Tlemcen: Université Aboubekr Belkaïd -Tlemcen-, 2019. p 20
11. Belhaoues, S., Amri, S., & Bensouilah, M. (2020). Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts. *South African Journal of Botany*, 131, 200-205

12. Belhaoues, S., Amri, S., Bensouilah, M., (2020). Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* link aerial parts. South African Journal of Botany
13. Bhalla, N., Ingle, N., Patri, S. V., and Haranath, D. (2021). Phytochemical analysis of *Moringa Oleifera* leaves extracts by GC-MS and free radical scavenging potency for industrial applications. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(12), 6915-6928
14. Bouabdallah, Z., Cherier, N., & Saifi, A. (2022). Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'une plante utilisée en médecine traditionnelle en Algérie (Mémoire de master, Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf - Mila).
16. Boudoukha, C., Nouioua, W., Amor, L., Elmastas, M., & Benkaddour, R. (2024). Phenolic content and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extracts. African Journal of Biological Sciences, 6(16), 1841–1857.
17. Boukandoul, S., & Benatallah, L. (2020). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques du *Moringa oleifera* étude théorique. Université Constantine 1 . <https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2020/Etude%20phytochimique%20et%20%C3%A9valuation%20des%20activit%C3%A9s%20biologiques%20du%20Moringa%20oleifera%20%C3%A9tude%20th%C3%A9orique.pdf>
18. Bouras, Y., Atef, C., Cherrada, N., Gheraissa, N., Chenna, D., Chemsas, A. E., ... & Messaoudi, M. (2024). Phytochemical profile and biological activities of *Brassica oleracea* var. *elongata* leaf and seed extracts: An in vitro study. Italian Journal of Food Science/Rivista Italiana di Scienza degli Alimenti, 36(4).
19. Calligonumcomosuml'hér. Algerian Journal of Biosceinces, 1(2): 68-75
20. Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila]
21. Chouikh, A., Chemsas, A.E., Aounallah, C., Aounallah, I., Fatma, A., (2020): Phytochemical study, nutritive value, antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic extracts from desert plant
22. Chumark P, *et al.* (2008). The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. Journal of Ethnopharmacology, 116(3), 439-446
23. Costa, A.S., Nunes, M.A., Almeida, I.M.C., Carvalho, M.R., Barroso, M.F., Alvez, R.C and Oliveira, M.B.P.P. (2012). Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study

- regarding antioxidant activity and bioactive compounds. *LWT – Food Science and Biotechnology* 49: 324-328.
24. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
 25. Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadine, C., & Kumarasinghe, N. (2018). In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *Ayu*, 39(4), 239
 26. Dixit, S., Tripathi, A., Kumar, P. (2016). Medicinal properties of *Moringa oleifera*: A review. *International Journal of education and Science research review*, 3(2), 173-185.
 27. Djemoui, D., Saidi, M., Rahmani, Z., & Djemoui, A. (2019). Influence of phenolic compounds on antioxidant capacity of leaves extracts of *Moringa oleifera* from Tamanrasset region. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 11(1), 280–293.
 28. Fachriyaha, E., Kusrinia, D., and Haryanto, I. B. (2020). Phytochemical Test, Determination of Total Phenol, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Moringa*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 23(8), 290-294.
 29. Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera* : une revue des preuves médicales de ses propriétés nutritionnelles, thérapeutiques et prophylactiques. *Trees for Life Journal*, 1(5), 1–15.
 30. Farnsworth, N. R. (1988). Dépistage des plantes pour de nouveaux médicaments. In *Produits naturels bioactifs* (pp. 2–22). Springer, Dordrecht.
 31. Farnsworth, N. R. (1988). Dépistage des plantes pour de nouveaux médicaments. In E. O. Wilson (Éd.), *Biodiversité* (pp. 83–97). Washington, DC : National Academy Press.
 32. Granella, S. J., Bechlin, T. R., Christ, D., Coelho, S. R. M., de Oliveira Paz, C. H. (2021). An approach to recent applications of *Moringa oleifera* in the agricultural and biofuel industries. *South African Journal of Botany*, 137, 110-116.
 33. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2012). *Principes fondamentaux de pharmacognosie et de phytothérapie* (2^e éd.). Elsevier Health Sciences.
 34. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2012). *Principes fondamentaux de pharmacognosie et de phytothérapie*. Elsevier Health Sciences.
 35. Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
 36. Ikram, H., & Nahla, K. (2022). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne chez l'espèce (*Moringa oleifera* Lam.) [Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master, Université Frères Mentouri Constantine 1].

37. Kaur, A. (2018). Nutritional and medicinal value of *Moringa Oleifera*. International journal of scientific research in biological sciences, 5(3), 46-50.
38. Koul, B., Chase, N. (2015). *Moringa oleifera* Lam.: Panacea to several maladies. J. Chem. Pharm. Res, 7(6), 687-707.
39. Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2023). Multifunctional Profiling of *Moringa oleifera* Leaf Extracts for Topical Applications: A Specific Focus on Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anti-Aging Properties. *Molecules*, 28 (4), 1634. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9952562/>
40. Luqman S, *et al.* (2012). Experimental Assessment of *Moringa oleifera* Leaf and Fruit for Its Antistress, Antioxidant, and Scavenging Potential Using In Vitro and In Vivo Assays. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 519084
41. Mahajan SG, *et al.* (2009). Anti-arthritis activity of ethanolic extract of leaves of *Moringa oleifera* Lam. in adjuvant-induced arthritis in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(6), 781-785
42. Manolov, S., Ivanov, I., Bojilov, D., & Nedialkov, P. (2023). 2-(2-Fluoro-[1, 1'-biphenyl]-4-yl)-N-(4-methyl-2-oxo-2 H-chromen-7-yl) propanamide. *Molbank*, 2023(3), M1682.
- Zha, J., Wu, X., Gong, G., & Koffas, M. A. (2019). Pathway enzyme engineering for flavonoid production in recombinant microbes. *Metabolic Engineering Communications*, 9, e00104.
43. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89(3), 411-420.
44. Mazid, M.; Khan, T.; Mohammad, F.(2011). Role of secondary metabolites in plant defense mechanisms.3 , 232–249.
45. Meireles, D., Gomes, J., Lopes, L., Hinzmann, M., Machado, J. (2020). A review of properties, nutritional and pharmaceutical applications of *Moringa oleifera*: integrative approach on conventional and traditional Asian medicine. *Advances in Traditional Medicine*, 20(4), 495-515.
46. Milla, P. G., Peñalver, R., Nieto, G. (2021). Health benefits of uses and applications of *Moringa oleifera* in bakery products. *Plants*, 10(2), 318
47. Naoui, A., Hammi, M., Kerrouche, Y., & Ben Mosbah, C. (2024). Profil des composés phénoliques et évaluation des activités biologiques de l'extrait brut et de certains composés

- bioactifs des parties aériennes de *Portulaca oleracea* (Mémoire de master, Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued).
48. Ndiaye Sy, A., DiorFALL, A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Sylla Gueye, R., Bassene, E., Dieye, A. M., & Sy, G. Y. (2018). Evaluation of the antioxidant activity of leaves of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) of Senegal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4)1816-1823
49. Ocmin, P. V. (2018). Recherche des molécules antiparasitaires à l'interface de l'ethnopharmacologie, des sciences analytiques et de la biologie (Doctoral dissertation, Université Paris Saclay (COMUE).
50. Ojiako, E. N., Okeke, C. C., Ibearugbulem, O. N., & Ezeh, E. M. (2021). SPF values of *Moringa oleifera* seed extracts with hexane, dichloromethane and ethyl alcohol.
51. Olson, M. E. (2010). Combinaison des perspectives mondiales et locales sur *Moringa oleifera*. *Trees for Life Journal*, 6(1), 1–15.
52. Oraiza, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr*, 44, 307-315.
53. Pakade V, *et al.* (2013). Sequential extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* Lam. leaves using supercritical fluid and solvent extraction techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(2), 116-125
54. Peixoto JR, Silva GC, Costa RA, de Sousa Fontenelle JR, Vieira GH, Filho AA, *et al.* In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2011;4(3):201-4.
55. Photopea. (s.d.). Éditeur de photo en ligne Photopea. Récupéré de <https://www.photopea.com>
56. PNGWing. (s.d.). *PNGWing*. <https://www.pngwing.com/>
57. Pouka, M.K., *et al.* Caractérisation des plantes médicinales à flavonoïdes des marchés de Douala (Cameroun). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2015. 9(3): p.1494-1516.
58. ResearchGate. (s.d.). *ResearchGate*. <https://www.researchgate.net>
59. Shahidi, F., and Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781.

60. Shahriar, M., Hossain, Md. I. Sharmin, F. A., Akhter, S., Haque, Md., A. and Bhuiyan, M. A. (2013). In-vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Withania Somnifera* Root. *IOSR Journal of Pharmacy* 3:38- 47.
61. Shams Eldin, G. (2021, 31 octobre). Nabat al-Moringa. Mawdoo3. https://mawdoo3.com/المورينجا_نبات
62. Siddhuraju P, Becker K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2144-2155
63. Singh BN, *et al.* (2012). Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1109-1116
64. Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
65. Sreelatha S, Padma PR. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), 303-311
66. Sreelatha, S., & Padma, P. R. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. *Plant foods for human nutrition*, 64, 303-311.
67. Taher, M. A., Nyeem, M. A. B., Ahammed, M. M., Hossain, M. M., Islam, M. N. (2017). *Moringa oleifera* (Shajna): the wonderful indigenous medicinal plant. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 3(1), 20-30.
68. Tiloke, C., Phulukdaree, A., Anand, K., Gengan, R. M., & Chuturgoon, A. A. (2019). Cytotoxic and apoptotic effects of different extracts of *Moringa oleifera* leaves, stems and seeds on human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19 (1), 1-13.
69. Trolezi R, Azanha JM, Paschoal NR, Chechi JL, Dias Silva MJ, Fabris VE, *et al.* *Stryphnodendron adstringens* and purified tannin on *Pythium insidiosum*: in vitro and in vivo studies. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2017;16(1):7.

70. Verma, A. R., Vijayakumar, M., Mathela, C. S., & Rao, C. V. (2009). In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and chemical toxicology*, 47(9), 2196-2201.
71. Vinjamuri, S., Afshan, S., Shekar, S., & Saraswathi, V. (2015). Evaluation of hemolytic activity, ATPase inhibitory activity and antitumor activity of TLC extract of lemon grass (*Cymbopogon citratus*). *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 7(4), 785-788.
72. Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial crops and products*, 44, 566-571.
73. Waterman, C., Cheng, D. M., Rojas-Silva, P., Poulev, A., Dreifus, J., Lila, M. A., & Raskin, I. (2014). Bactericidal and In Vitro Cytotoxicity of *Moringa oleifera* Seed Extract and Isolated Pterygospermin. *Planta Medica*, 80 (02/03), 136-140.
74. Yadav, M., Chatterji, S., Gupta, S. K., and Watal, G. (2014). Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(5), 539-542.
75. Zehour, B., Nedjla, C., & Ahlem, S. (2022). Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'une plante utilisée en médecine traditionnelle en Algérie [Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master, centre universitaire Abdelhafid Boussouf -Mila]

Annexes

Annexe :

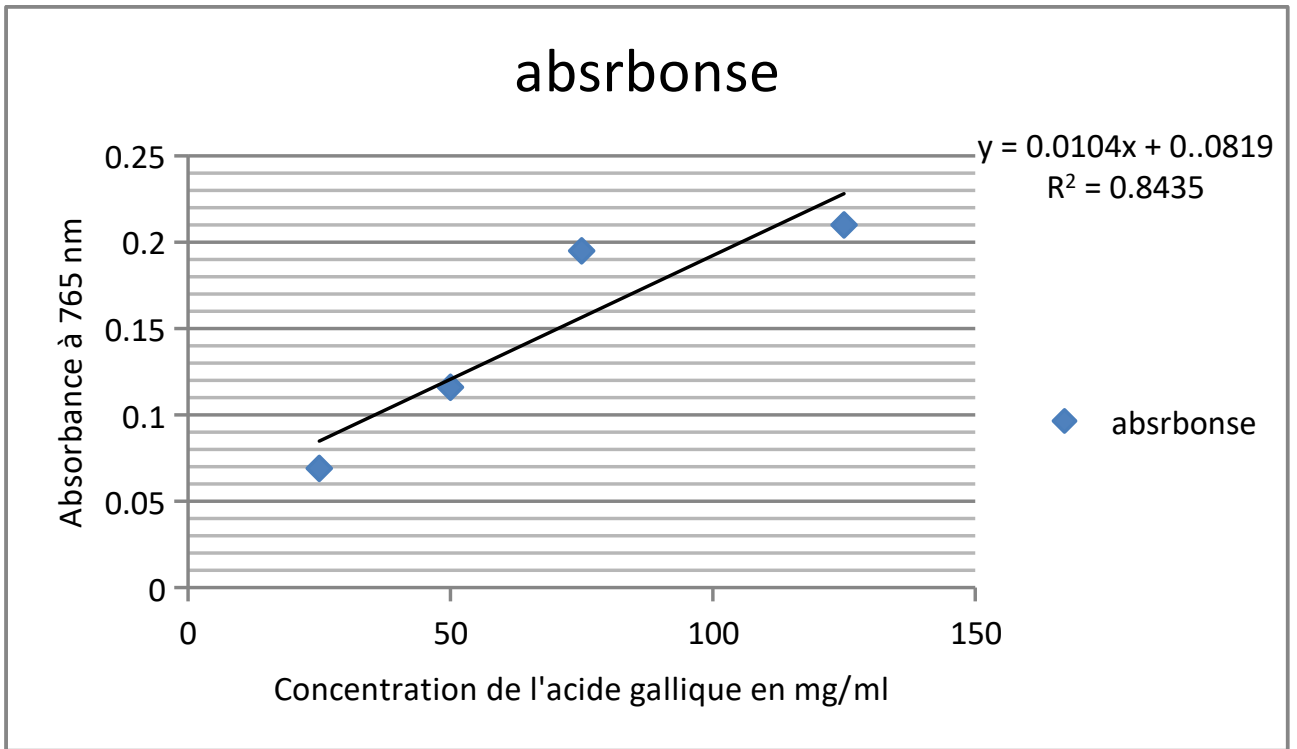


Figure : courbe d'étalonnage d'acide Gallique pour le dosage des polyphénols.

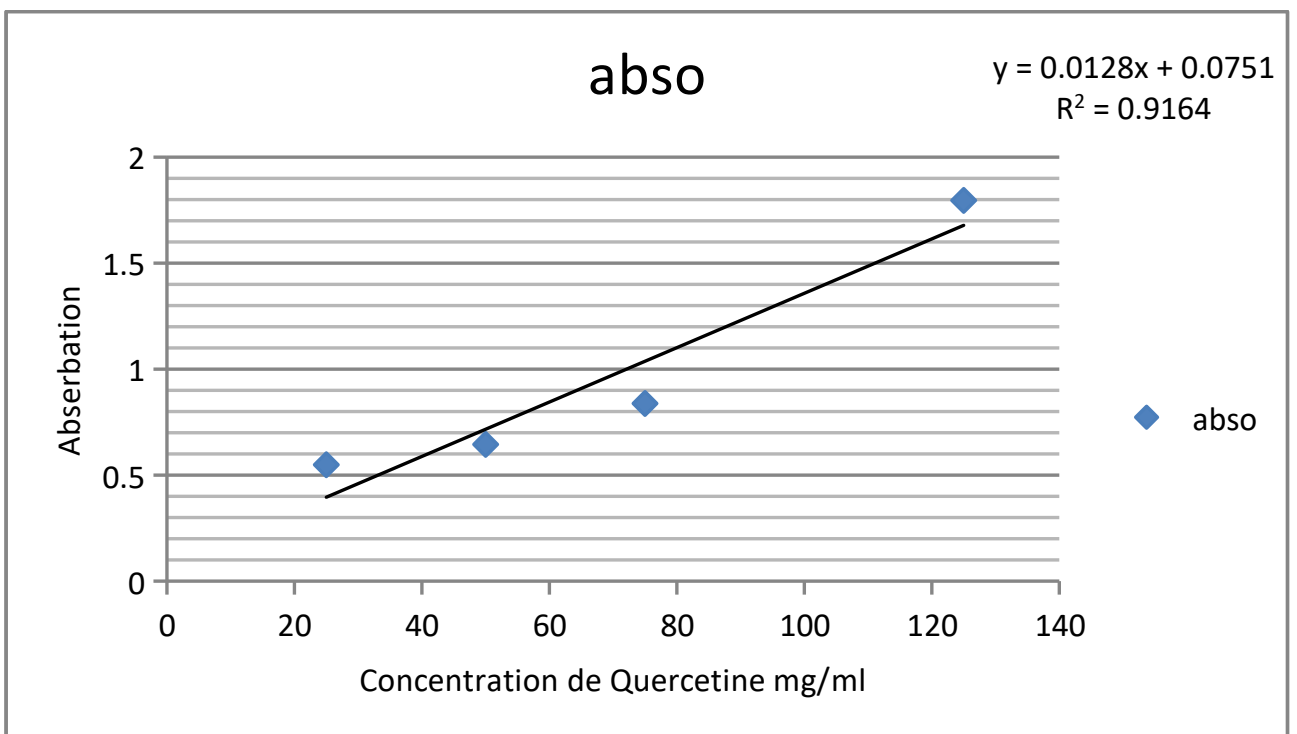


Figure : courbe d'étalonnage de Quercetin pour de dosages des flavonoïdes

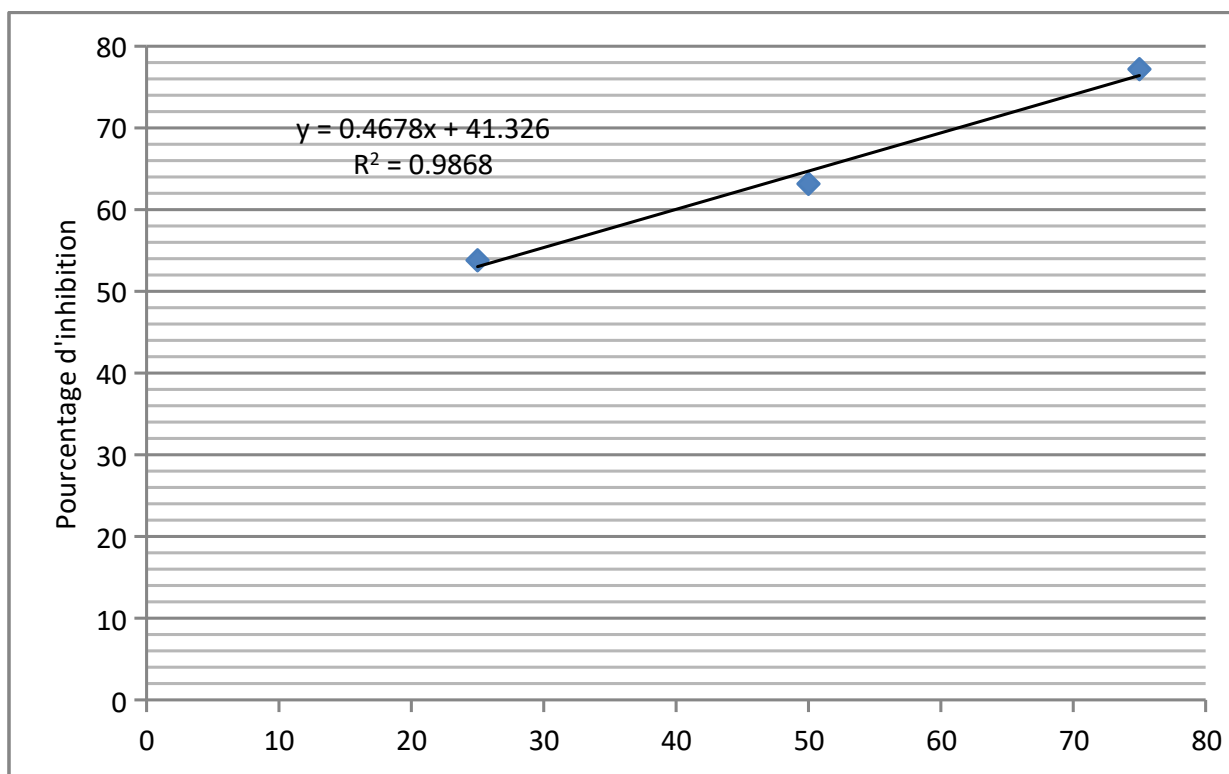


Figure : courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de n-butanol (mg/ml)

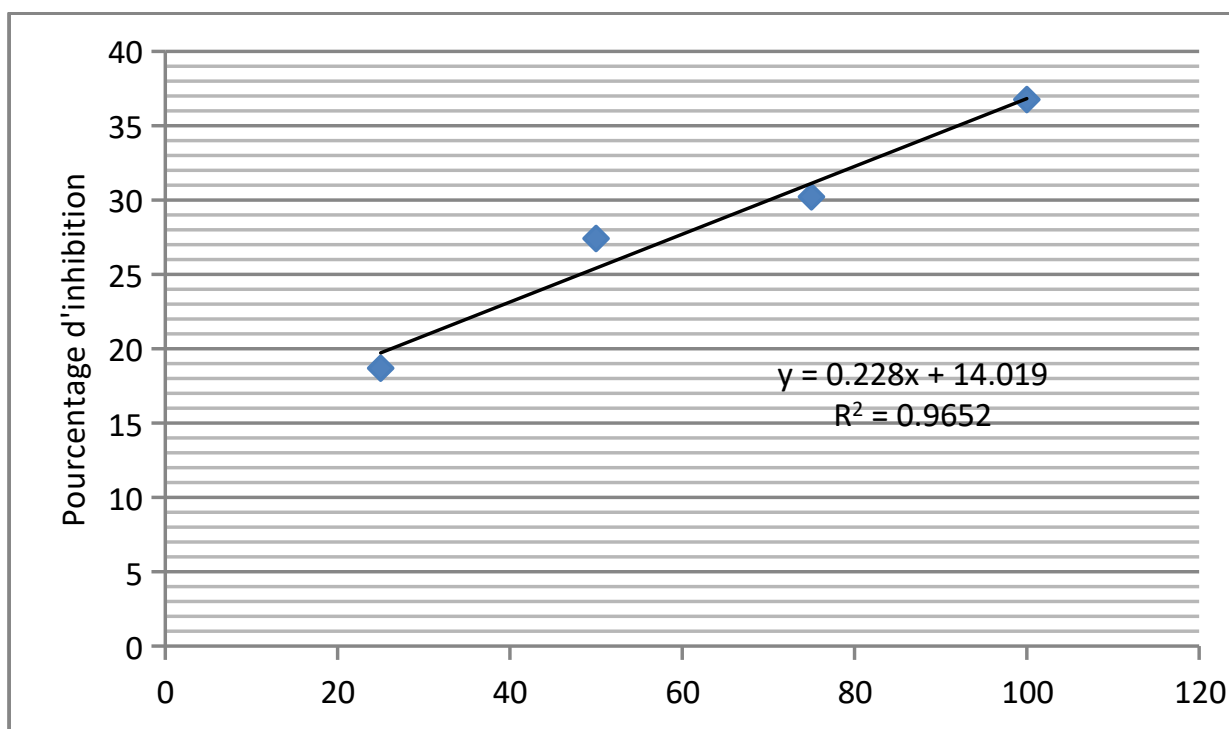


Figure : courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de Acétate d'éthyle (mg/ml).

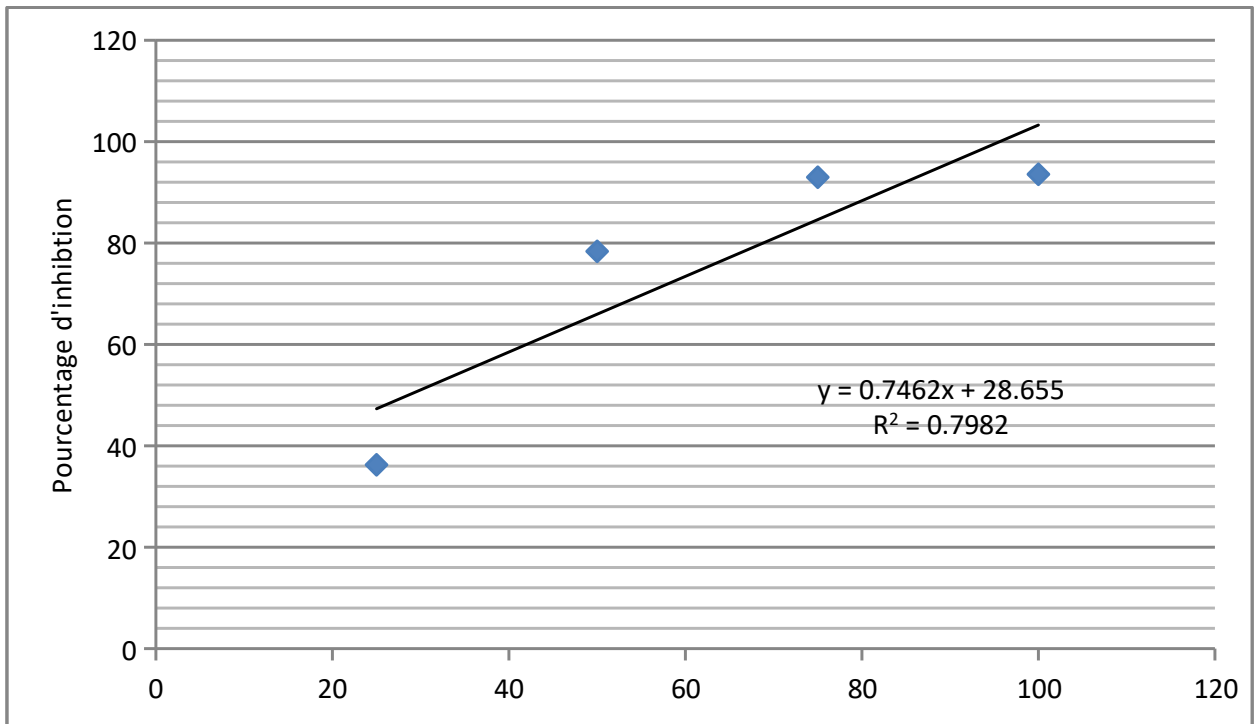


Figure : courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait de *M. olrifira* (mg/ml.)



Figure :Résultat de test hémolyse (Photo Originale, 2025)



Figure : Résultat de Composition photochimique de l'extrait aqueux de *M.olefira*
(Photo Originale, 2025).



Figure : préparer de l'extrait aqueux de *M.olefira* (Photo Originale, 2025).

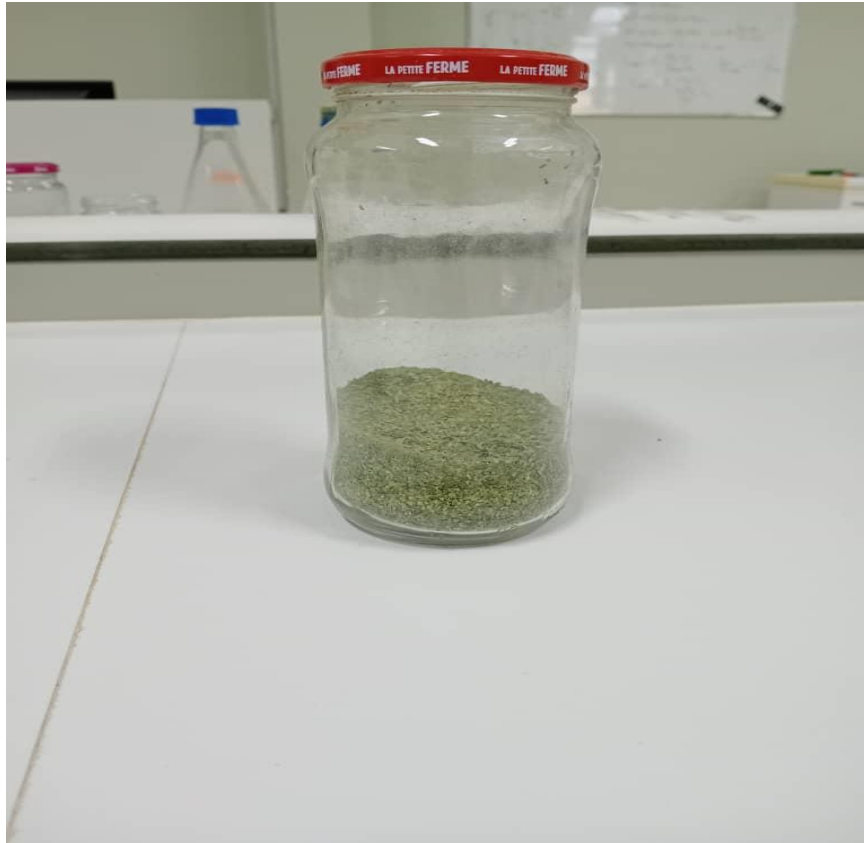


Figure :Plante de *M. olefira* séché et moulu(Photo Originale, 2025).