

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de  
l'Univers

## Département de biologie

*Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activités  
biologiques*

# MEMOIRE

Présenté par :

**M. SANOGO Idrissa**  
**M. SISSOKO Amara**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER en BIOLOGIE**

**Option : BIOCHIMIE APPLIQUEE**

**Thème**

Contribution à l'étude phytochimique et l'activité  
antioxydante des extraits de *Moringa oleifera* de la région  
de Bamako au Mali

Soutenu le 29/06/2020, devant le jury composé de :

Président	Dr. AZZI R.	M.C.A	Université de Tlemcen
Encadreur	Dr. BENARIBA N.	M.C.A	Université de Tlemcen
Examineur	Dr. MEDJDOUB H.	M.C.B	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2019/2020**

## Résumé

*Moringa oleifera* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Moringaceae*. C'est une plante d'intérêt médicinal et nutritionnel décrite pour sa richesse en molécules bioactives. L'objectif de ce travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir antiradicalaire et pouvoir réducteur du fer) de quelques extraits des feuilles et de graines de *M. oleifera* ainsi que la détermination de leur teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux.

Le dosage de polyphénols et de flavonoïdes a révélé dans les extraits organiques : fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux des feuilles (**EAcq**), fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**EAcM**), fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des graines (**AcMG**), fraction n-butanol de l'extrait aqueux des feuilles (**En-Baq**) des teneurs de 798,87 ; 757,52 ; 612,41 et 543,76 µg GAE/mg d'extrait pour les polyphénols et des teneurs de 124,97 ; 120,24 ; 17,45 et 90,76 µg CEQ/mg d'extrait pour les flavonoïdes, respectivement.

L'activité antioxydante des fractions acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**EAcM**), n-butanol de l'extrait aqueux des feuilles (**En-Baq**) et n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**En-BM**) évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et la méthode du FRAP a montré une forte capacité de ces extraits à piéger le radical libre DPPH avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> respectives de 19,43 et 26,10 µg/ml. La fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**En-BM**) a présenté une forte activité réductrice du fer, par rapport aux autres extraits avec une valeur EC<sub>50</sub> de 5,27 mg/ml. Le potentiel antioxydant révélé dans les extraits de *M. Oleifera* est proportionnel à leur concentration en polyphénols et en flavonoïdes.

**Mots clés** : *Moringa oleifera*, stress oxydatif, polyphénols, flavonoïdes, DPPH, FRAP

## Abstract

*Moringa oleifera* is a medicinal plant belonging to the Moringaceae family. It has a great medicinal and nutritional interest described for its richness in bioactive molecules.

The aim of the present study consists of the determination of total polyphenols and flavonoids content in the leaves and seeds *M. oleifera* extracts, and to evaluate the antioxidant activity (antiradical and reducing power) of some extracts.

The organic extracts : ethyl acetate fraction of the aqueous extract of the leaves (**EAcq**), ethyl acetate fraction of the water-methanolic extract of the leaves (**EAcM**), acetate fraction ethyl of the water-methanolic extract of the seeds (**AcMG**), n-butanol fraction of the aqueous extract of the leaves (**En-Baq**) revealed high levels of polyphenols and flavonoids, 798,87 ; 757,52 ; 612,41 ; et 543,76  $\mu\text{g}$  GAE/mg extract for polyphenols and contents of 124,97 ; 120,24 ; 17,45 ; et 90,76  $\mu\text{g}$  CEQ/mg extract for flavonoids, respectively.

The antioxidant activity of the ethyl acetate fractions of the water-methanolic extract of the leaves (**EAcM**), n-butanol of the aqueous extract of the leaves (**En-Baq**) and n-butanol of the water-methanolic extract of leaves (**En-BM**) evaluated by the DPPH free radical trapping method and the FRAP method showed a high capacity of these extracts to trap the DPPH free radical with respective **IC**<sub>50</sub> values of 19.43 and 26.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The n-butanol fraction of the water-methanolic extract of the leaves (**En-BM**) exhibited a strong iron-reducing activity, compared to the other extracts with an **EC**<sub>50</sub> value of 5.27 mg/ml. The antioxidant potential revealed in the extracts of *M. Oleifera* is proportional to their concentration of polyphenols and flavonoids.

**Keywords:** *Moringa oleifera*, oxidative stress polyphenols, flavonoids, DPPH, FRAP

## ملخص

*Moringa oleifera* هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Moringaceae. إنه نبات ذو أهمية طبية وغذائية موصوف لثرائه في الجزيئات النشطة بيولوجيًا. يتعلق الهدف من هذا العمل بتقييم النشاط المضاد للأكسدة (الطاقة المضادة للجذور وقوة الحد من الحديد) لبعض مستخلصات أوراق و بذور *M. oleifera* وكذلك تحديد البوليفينول ومحتوى الفلافونويد الكلي. . تحديد مركبات البوليفينول والفلافونويد التي تم الكشف عنها في المستخلصات العضوية: جزء أسيتات إيثيل من المستخلص المائي للأوراق (EAcM) ، جزء أسيتات إيثيل من مستخلص أوراق ميثانول الماء (EAcM) ، جزء أسيتات إيثيل مستخلص الماء والميثانول من البذور (AcMG) ، جزء n-بيوتانول من المستخلص المائي لأوراق (En-Baq) من محتويات 798.87 ؛ 757.52 ؛ 612.41 و 543.76 ميكروغرام GAE / mg من خلاصة البوليفينول ومحتويات 124.97 ؛ 120.24 ؛ 17.45 و 90.76 ميكروغرام مستخلص CEQ / mg للفلافونويد ، على التوالي. النشاط المضاد للأكسدة من أجزاء أسيتات إيثيل مستخلص الماء والميثانول من الأوراق (EAcM)، ن-بيوتانول من المستخلص المائي للأوراق (En-) (Baq) و n-butanol من مستخلص ميثانول الماء من الأوراق (En-BM) التي تم تقييمها بواسطة طريقة اصطياد الجذور الحرة DPPH وأظهرت طريقة FRAP قدرة عالية من هذه المستخلصات لاحتجاز الجذور الحرة DPPH مع قيم  $IC_{50}$  من 19.43 و 26.10 على التوالي. ميكروغرام / مل. أظهر جزء n-butanol من مستخلص أوراق الميثانول المائي (En-) (BM) نشاطاً قوياً في تقليل الحديد ، مقارنة بالمستخلصات الأخرى بقيمة  $EC_{50}$  البالغة 5.27 مجم / مل. تتناسب القدرة المضادة للأكسدة التي تم الكشف عنها في مقتطفات *M. Oleifera* مع تركيزها من مركبات البوليفينول والفلافونويد.

الكلمات المفتاحية: مورينجا أوليفيرا ، الإجهاد التأكسدي ، البوليفينول ، الفلافونويد ، DPPH ، FRAP

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail, du plus profond de mon cœur*

*A ma très chère mère, qui m'a donné tant d'amour inconditionnel, de m'avoir accompagné durant tout mon cursus, malgré cette longue distance, pour ses précieux conseils, ses bénédictions et surtout ses prières.*

*A mon très cher père « Mon Héro favoris », qui n'a ménagé aucun effort afin que je puisse atteindre ce moment tant attendu, pour sa confiance, ses encouragements et surtout ses sacrifices de tous les jours.*

*A toute ma famille : mes grand-mères, mes tontons, mes tantes, mes frères, mes cousins et mes cousines sans exception aucune, pour leur soutien de toute sorte.*

*A mon binôme, mon cher ami, qui a fait preuve d'un esprit d'équipe indéniable, pour m'avoir supporté durant tout ce parcours ; et à toute sa famille.*

*A tous les professeurs qui m'ont enseigné.*

*A mes amis de loin ou de près, pour leurs encouragements.*

*A tous les étudiants que j'ai rencontrés en Algérie, surtout les étudiants maliens de Mostaganem et de Tlemcen, qui m'ont rendu la vie en Algérie facile, et m'ont fait sentir en famille.*

**SANOGO Idrissa**

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail :*

***A toute ma famille.***

***A mes chers parents*** pour les nombreux efforts et sacrifices consentis à mon égard, pour leur patience, leur soutien et leur encouragement durant toutes mes années d'études. Tous les mots ne sauraient exprimer ce que je ressens pour vous.

***A ma chère tante Fanta***, pour tous ces efforts effectués, ces sacrifices consentis pour la réussite de ma personne, pour son encouragement, son soutien inconditionnel et toute l'affection dont elle me témoigne depuis tout petit. Trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon affection.

***A ma grand-mère*** pour son encouragement, ses bénédictions, ses prières et l'éducation qu'elle m'a inculquée. Merci pour tout.

***A mes frères et sœurs, et à tous mes amis*** ; votre soutien et vos prières m'ont beaucoup accompagné pour ce travail. Trouvez ici ma reconnaissance.

***A mon binôme, mon cher ami*** pour m'avoir supporté durant tout ce parcours ; et ***à toute sa famille.***

***A tous les professeurs*** qui m'ont enseigné durant tout mon parcours universitaire, j'ai énormément appris de chacun de vous.

***A tous ceux qui ont contribué, d'une manière ou d'une autre, à l'élaboration de ce travail.***

***A toutes les personnes que j'aime.***

***SISSOKO Amara***

## **Remerciements**

*Nous rendons grâce à **Dieu** le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux de nous avoir donné le courage, la patience et surtout la force de réaliser ce modeste travail.*

*Nous ne saurions présenter ce travail sans exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à son aboutissement.*

*En premier lieu, nous remercions spécialement notre encadrante **Dr. Benariba N.** maître de conférences A à la faculté de SNV/STU (Université de Tlemcen), pour l'assistance et les critiques constructifs qu'elle nous a apportés, pour nous avoir guidé tout au long de la réalisation de ce travail. Vos qualités humaines et votre rigueur resteront pour nous l'exemple. Nos sincères reconnaissances.*

*Nous remercions chaleureusement **Dr. Azzi R.** maître de conférences A au département de biologie à l'Université de Tlemcen de nous avoir fait honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Nos sincères remerciements vont également à l'endroit de **Dr. Medjdoub H.** maître de conférences B au département de biologie d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail. Nous remercions **Mlle Zohra** et **Mlle Hanane**, doctorantes à l'université de Tlemcen, qui nous ont apportés leur expérience et leur assistance au laboratoire.*

*Nous remercions également **M. Ferouani M., M. Habi S., Mlle Zazoua Leila** et **Mme Bouali Samira**, les ingénieurs aux laboratoires de la faculté SNV-STU, pôle Biochimie, pour nous avoir bien accueillis dans le laboratoire et pour leur disponibilité pour tous nos besoins.*

*Merci à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Production en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir d'O <sub>2</sub> °...	3
<b>Figure 2</b> : Les différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des antioxydants régulateurs de leur production.....	4
<b>Figure 3</b> : Principaux types d'acide hydroxybenzoïque. ....	8
<b>Figure 4</b> : Principaux types d'acide hydroxycinnamique. ....	8
<b>Figure 5</b> : Structure de base des flavonoïdes. ....	9
<b>Figure 6</b> : Différentes classes de flavonoïdes. ....	9
<b>Figure 7</b> : Structure de tanins hydrolysables.....	10
<b>Figure 8</b> : Structure de tanins condensés. ....	11
<b>Figure 9</b> : Structures chimiques de quelques terpènes.....	13
<b>Figure 10</b> : Hyoscyamine.....	14
<b>Figure 11</b> : Tyramine.....	14
<b>Figure 12</b> : Caféine.....	15
<b>Figure 13</b> : Carte de répartition de <i>M. oleifera</i> . ....	16
<b>Figure 14</b> : Différentes parties de <i>M. oleifera</i> : (i) : l'arbre de moringa ; (ii) : les feuilles ; (iii) : les fleurs ; (iv) : le fruit.....	18
<b>Figure 15</b> : Quelques parties de <i>M. oleifera</i> : a) : les graines ; b) : la racine.....	18
<b>Figure 16</b> : La poudre des feuilles (a) et des graines broyées (b) de <i>Moringa Oleifera</i> . ....	22
<b>Figure 17</b> : Organigramme explicatif de la préparation des extraits de <i>Moringa olifeira</i> . ....	25
<b>Figure 18</b> : Forme radicalaire et réduite du DPPH.....	30
<b>Figure 19</b> : Courbe étalonnage de l'acide gallique .....	35
<b>Figure 20</b> : Courbe étalonnage de la catéchine .....	35



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Activités biologiques des composés phénoliques.....	12
<b>Tableau 2</b> : Les propriétés biologiques de quelques terpenoïdes.....	13
<b>Tableau 3</b> : Les propriétés biologiques de quelques alcaloïdes.....	15
<b>Tableau 4</b> : La systématique de <i>M. Oleifera</i> .....	17
<b>Tableau 5</b> : Composés phytochimiques des différentes parties de <i>M. oleifera</i> . ....	20
<b>Tableau 6</b> : Dosage de polyphénols totaux dans les extraits de <i>Moringa oleifera</i> . ....	27
<b>Tableau 7</b> : Dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits de <i>Moringa oleifera</i> .....	29
<b>Tableau 8</b> : Mode opératoire du test du DPPH des extraits de <i>Moringa oleifera</i> .....	31
<b>Tableau 9</b> : Mode opératoire du test du FRAP des extraits de <i>Moringa oleifera</i> . ....	32
<b>Tableau 10</b> : Caractéristiques et rendements des extraits des feuilles et des graines de <i>M. oleifera</i> .....	34
<b>Tableau 11</b> : Teneurs en polyphénols et flavonoides totaux dans les extraits de <i>M. oleifera</i> ..	36
<b>Tableau 12</b> : Effet de l'acide ascorbique sur la réduction du radical libre DPPH exprimé en pourcentage.....	37
<b>Tableau 13</b> : Effet antioxydant des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles sur piégeage du DPPH exprimé en pourcentage.....	37
<b>Tableau 14</b> : Effet de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles de <i>M. oléifera</i> sur la réduction du fer.....	38

## Liste des abréviations

**$^1\text{O}_2$**  : Oxygène singulet

**AcMG** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des graines

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl

**$e^-$**  : Electron

**EAcq** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux

**EAcM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles

**EAR** : Extrait aqueux sous reflux des feuilles

**EM** : Extrait eau-méthanolique des feuilles

**EMG** : Extrait eau-méthanolique des graines

**En-Baq** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux

**En-BM** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles

**En-BMG** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des graines

**ERO** : Espèce réactive de l'oxygène

**FRAP** : Ferric Reducing Antioxydant Power

**$\text{H}^+$**  : Proton

**$\text{H}_2\text{O}_2$**  : Peroxyde d'hydrogène

**$\text{IC}_{50}$**  : Concentration inhibitrice de 50%

**$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$**  : Ferricyanure de potassium

**MeOH** : Méthanol

**Métal<sup>2+</sup>** : Ion métallique

**Métal<sup>3+</sup>** : Ion métallique

**$\text{O}_2^\circ$**  : Anion superoxyde

**$\text{OH}^\circ$**  : Radical hydroxyle

**$\text{OH}^-$**  : Ion hydroxyle

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity

**PBS** : Solution tampon phosphate

**TCA** : Acide trichloracétique

**$\mu\text{g EAG}/\text{mg E}$**  : microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

**$\mu\text{g EC}/\text{mg E}$**  : microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait

## Table des matières

### Préambule

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

### Chapitre I : Stress oxydant

1. Définition.....	2
2. Les Radicaux libres oxygénés .....	2
2.1. Définition .....	2
2.2. Origines .....	2
3. Antioxydants .....	4

### Chapitre II : Métabolites secondaire

1. Définition.....	6
2. Classification .....	6
2.1. Les composés phénoliques .....	6
2.2. Terpènes .....	12
2.3. Les alcaloïdes .....	13

### Chapitre III : Généralités sur le *Moringa oleifera*

1. Origine et répartition géographique .....	16
2. Systématique et nomenclature.....	16
3. Description botanique de <i>Moringa oleifera</i> .....	17
4. Valeurs nutritives et usage.....	19
5. Composition chimique .....	19
6. Vertus thérapeutiques.....	20
7. Utilisation industrielle.....	20

### Matériel et Méthodes

I. Préparation des extraits à partir des feuilles et des graines de <i>Moringa oleifera</i> .....	22
1. Matériel végétal.....	22

<b>2. Préparation des extraits.....</b>	<b>22</b>
2.1. Extrait aqueux de la poudre des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .....	22
2.2. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait aqueux de la poudre des feuilles de <i>M. oleifera</i> .....	23
2.3. Extrait eau-méthanol des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .....	23
2.4. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .....	23
2.5. Dégraissage des graines de <i>Moringa oleifera</i> .....	24
2.6. Extrait eau-méthanol des graines dégraissées de <i>Moringa oleifera</i> .....	24
2.7. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol des graines dégraissées de <i>Moringa oleifera</i> .....	24
<b>3. Calcul du rendement.....</b>	<b>24</b>
<b>II. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux .....</b>	<b>26</b>
<b>1. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>26</b>
<b>2. Dosage des flavonoïdes totaux .....</b>	<b>27</b>
<b>III. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Moringa oleifera</i> .....</b>	<b>29</b>
<b>1. Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de <i>Moringa oleifera</i> : Test du DPPH29</b>	
<b>2. Test FRAP Pouvoir réducteur du fer (FRAP) .....</b>	<b>31</b>
<b><u>Résultats et interprétation</u></b>	
<b>1. Caractéristiques et rendements des extraits de <i>Moringa oleifera</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>2. Taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans les extraits de <i>Moringa oleifera</i>.....</b>	<b>35</b>
<b>3. Effet antiradicalaire de quelques extraits de <i>Moringa oleifera</i> sur le DPPH .....</b>	<b>37</b>
<b>4. Effet de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles de <i>M. oléifera</i> sur la réduction du fer (FRAP) .....</b>	<b>38</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>45</b>



## **Préambule**

Au début, le sujet de mémoire de fin d'études qui nous a été proposé, portait sur la préparation des extraits des feuilles et des graines de *M. Oleifera* et l'évaluation *in vitro* de leur activité antioxydante en utilisant le test du DPPH, FRAP et blanchiment du  $\beta$ -carotène, ainsi que leur effet sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase, mais en raison de la propagation de la pandémie Covid-19 et du confinement sanitaire, qui a duré plus de trois mois, nous ne pouvions pas achever la partie expérimentale de notre étude. Nous avons été obligés de présenter dans notre manuscrit juste la partie réalisée sur quelques extraits et leur effet antiradicalaire sur le DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

# ***INTRODUCTION***

Depuis des temps immémoriaux, l'humanité a recherché des médicaments pour éliminer la douleur et guérir diverses maladies. Il existe des preuves de l'utilisation de plantes médicinales, il y a jusqu'à 60000 ans, mais plus récemment une plaque d'argile sumérienne vieille de 5000 ans a été découverte, vérifiant l'utilisation de plantes médicinales pour la préparation de médicaments. De nos jours, on estime que plus de 50% des médicaments disponibles proviennent d'une manière ou d'une autre de plantes (**Sewell et Rafeian-Kopaei, 2014**). Selon l'OMS, 80% de la population mondiale utilisent des médicaments traditionnels, principalement des plantes, qui constituent la principale source des soins de santé (**Jamshidi-Kia et al., 2018**).

La plupart des espèces végétales, qui poussent dans le monde entier, possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, le traitement à base de plantes offre de multiples avantages.

Les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Iserin, 2001**). Le développement de nouveaux médicaments plus efficaces, moins toxiques et moins coûteux pour les patients a suscité un grand intérêt de la recherche scientifique dans le domaine pharmaceutique, et s'appuie largement sur l'exploitation des plantes médicinales comme source de nouveaux principes actifs d'origine végétale.

L'objectif principal des recherches actuelles se résume à l'évaluation des activités biologiques des extraits de plantes médicinales endémiques ou locales, utilisées en médecine traditionnelle, afin de mettre en évidence leurs effets thérapeutiques. Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés dans notre étude à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Moringa oleifera* récolté dans la région de Bamako au Mali.

Notre approche expérimentale consiste à déterminer la teneur en composés phénoliques dans les extraits des feuilles et des graines de *M. oleifera* et à évaluer le pouvoir antioxydant de quelques extraits de feuilles par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode du FRAP.



***CHAPITRE I***  
***STRESS OXYDANT***

## 1. Définition

La compréhension des mécanismes biologiques a été bouleversée par la découverte d'espèces chimiques radicalaires, qui sont normalement présentes dans l'organisme (**Favier, 2003**). Une production excessive, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés provoque une situation anormale chez les cellules ou un tissu appelée Stress oxydant. L'excès de radicaux libres, lorsqu'il n'est pas maîtrisé par les systèmes de défense, s'avère très dommageable pour les biomolécules essentielles (**Favier, 2006**). Par ailleurs, ils peuvent jouer un rôle physiologique important, notamment dans la phagocytose des bactéries par les cellules polymorphonucléaires.

Le stress oxydant, par définition, est un déséquilibre entre les antioxydants et les prooxydants (espèces réactives de l'oxygène) en faveur de ces derniers. Il peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'une activation des systèmes enzymatiques, d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules comme le glucose et surtout d'une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants (**Pincemail et al., 2002**).

## 2. Les Radicaux libres oxygénés

### 2.1. Définition

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes, qui présentent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, ce qui leur confère une instabilité énergétique et cinétique. Du fait de leur instabilité, ils tendent à retrouver immédiatement un état stable en réagissant avec une autre molécule, soit par une perte ou un gain d'électron. Ces radicaux libres, comme accepteur ou donneur d'électrons, ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, qui ont une durée de demi-vie très courte (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

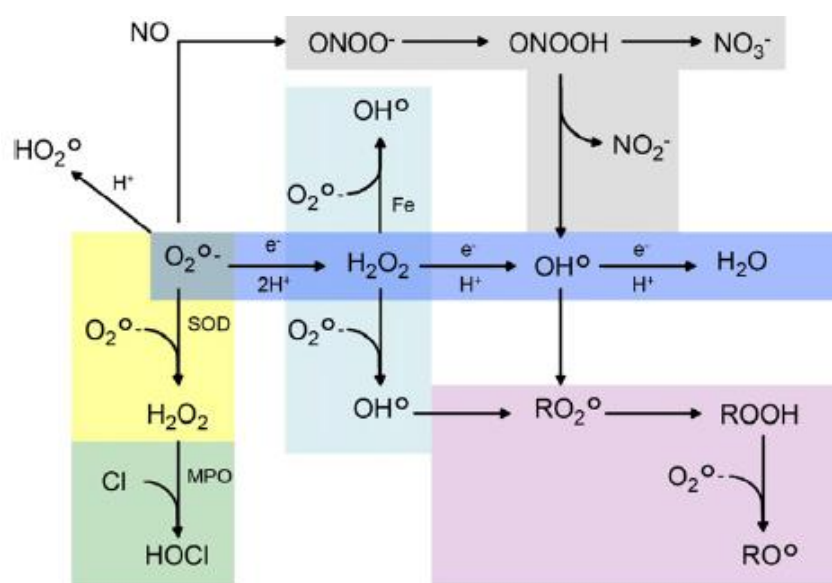
### 2.2. Origines

Les espèces réactives de l'oxygène possèdent deux sources possibles : source endogène et source exogène.

- **Source endogène**

La chaîne respiratoire, source d'énergie chez les êtres aérobies, assure un rôle primordial dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs de protons H<sup>+</sup> ou d'électrons

$e^-$  avec la phosphorylation de l'ADP en ATP. L'une des conséquences de cette activité mitochondriale demeure la fuite d'une quantité d'électrons (environ 0,4 à 4%), qui réagit directement avec l'oxygène dissout dans le cytoplasme, donnant ainsi naissance aux espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Haleng et al., 2007**). Ces ERO sont des radicaux libres anions superoxydes ( $O_2^{\circ-}$ ), ceux-ci conduisent, par la suite, à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le radical hydroxyle ( $OH^\circ$ ), l'acide hypochloreux, des dérivés nitrés... (**figure 1**) (**Pincemail et al., 2002**).

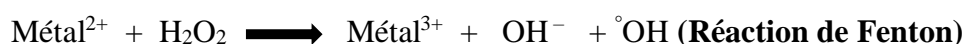


**Figure 1** : Production en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir d' $O_2^{\circ-}$  (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

- **Source exogène**

Cette source renferme plusieurs facteurs comme, le tabac, dont la fumée contient de nombreux oxydants et radicaux libres ainsi que le superoxyde et l'oxyde nitrique. L'inhalation de cette fumée active certains mécanismes endogènes, qui augmentent les dommages causés par l'oxydant. Le rayonnement ionisant, en présence de l'oxygène, convertit le radical hydroxyle, le superoxyde et les radicaux organiques en peroxyde d'hydrogène et hydroperoxydes organiques et ces espèces d'hydroperoxyde réagissent avec les ions métalliques via la réaction de Fenton et induisent ainsi le stress oxydatif (**Birben et al., 2012**). L'exposition à la couche d'ozone peut engendrer une peroxydation lipidique (**Birben**

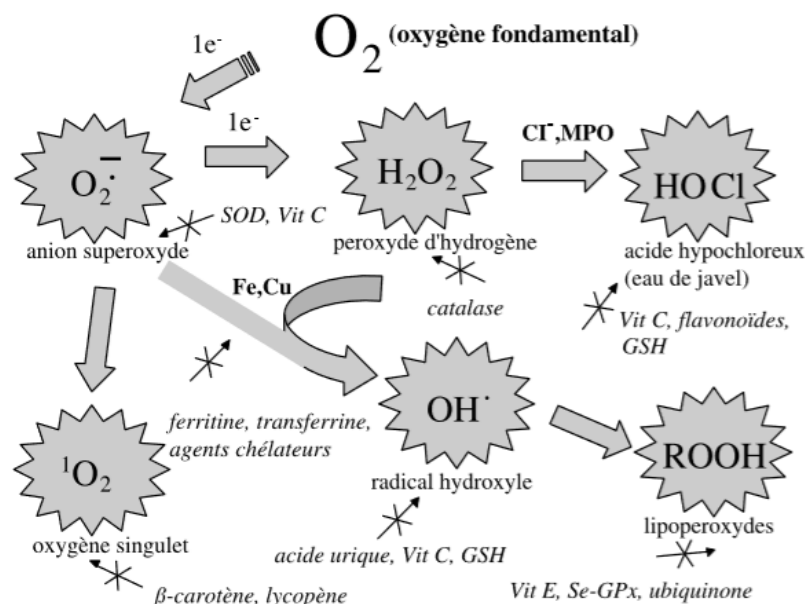
*et al.*, 2012). A ceux-ci s'ajoutent l'alcoolisme, l'obésité, les exercices physiques intenses (Haleng *et al.*, 2007).



### 3. Antioxydants

Les antioxydants sont des composés, qui peuvent ralentir ou empêcher l'oxydation des lipides ou d'autres molécules en inhibant l'initiation ou la propagation des réactions oxydantes en chaîne (Karou *et al.*, 2005).

L'organisme possède un ensemble de défenses antioxydantes, qui proviennent de deux sources possibles. Une source exogène apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C et E, caroténoïdes, ubiquinones, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque (Haleng *et al.*, 2007). Et une source endogène composée d'enzymes comme le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase, la catalase, de protéines comme la ferritine, la transferrine, la céruléoplasmine, l'albumine et de système de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases (figure 2) (Haleng *et al.*, 2007).



**Figure 2 :** Les différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des antioxydants régulateurs de leur production (Pincemail *et al.*, 2002).

Certains oligoéléments tels que le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont les cofacteurs de plusieurs enzymes à activité antioxydante, constituent de puissants antioxydants qui agissent en synergie (Defraigne *et Pincemail*, 2008).

Les antioxydants peuvent également être issus du monde animal, minéral ou encore végétal. Plusieurs plantes possèdent des substances naturelles ou « métabolites secondaires » qui sont utilisés comme antioxydants naturels. Les antioxydants naturels présentent l'intérêt d'être moins toxiques et bien acceptés par l'organisme que les antioxydants de synthèse. Ils constituent ainsi un moyen de pallier aux effets secondaires causés par ces derniers (**Adida *et al.*, 2016**). En effet, ces substances naturelles trouvent des applications dans plusieurs domaines, surtout dans les industries pharmaceutique et alimentaire (**Marc *et al.*, 2004 ; Hartmann, 2007**).

***CHAPITRE II***  
***METABOLITES SECONDAIRES***

## 1. Définition

On désigne sous le nom de « métabolites secondaires » des composés chimiques, qui ne sont pas impliqués directement dans la croissance et le développement des plantes (**Achakzai et al., 2009**). Ils sont synthétisés à partir des précurseurs, acétyl Coenzyme A, acide shikimique, acide mévalonique et 1-désoxyxylulose 5-phosphate, provenant du métabolisme primaire (**Kabera et al., 2014**).

Les métabolites secondaires ont une importance significative dans la protection contre les infections herbivores et microbiennes, comme attractifs pour les pollinisateurs et les animaux qui dispersent les graines, et comme agents allélopathiques, produits chimiques influençant la concurrence entre les plantes (**Croteau et al., 2000**). Ils jouent également un rôle majeur dans l'adaptation de la plante à l'environnement et dans la maîtrise des conditions de stress, agressions abiotiques (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011**).

## 2. Classification

Les métabolites secondaires sont subdivisés en trois classes majeures : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Kabera et al., 2014**).

### 2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols constituent l'un des groupes de substances les plus nombreux et les plus largement distribués dans le règne végétal. Ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes et sont retrouvés dans tous les organes végétaux. Du point de vue biosynthétique, ils proviennent de deux voies métaboliques principales : la voie shikimate et la voie acétate (**Lugasi et al., 2003**).

Les polyphénols contribuent d'une manière significative à la physiologie végétale. Ils jouent un rôle important dans la pigmentation, la croissance, le développement, la reproduction, et la résistance aux agents pathogènes et aux prédateurs à raison de leur puissante astringence (**Martin et Appel, 2009**). Ce sont également des composants importants de l'alimentation humaine (**Martin et Appel, 2009**), car ils sont caractérisés par des propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, anticancérigène, antibactérienne, antiseptique et d'autres propriétés biologiques, et peuvent protéger contre le stress oxydatif et d'autres maladies (**Kabera et al., 2014**). Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme (1g) de polyphénols par jour plus que tout autre antioxydant alimentaire ; soit 10 fois de plus que la vitamine C et 100 fois de plus que la vitamine E et les caroténoïdes (**Scalbert et al., 2005**).

Plus de 8000 composés phénoliques ont été identifiés à ce jour et tous sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique au moins, avec un ou plusieurs groupes hydroxyles attachés. Ils varient des composés simples à faible poids moléculaire et à cycle aromatique unique aux tanins volumineux et complexes et aux polyphénols dérivés. Ils peuvent être classés en plusieurs groupes distincts (**Crozier *et al.*, 2006**).

➤ **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques non flavonoïdes qui peuvent être divisés en deux principaux types : les acides hydroxybenzoïques (C1-C6) et les acides hydroxycinnamiques (C3-C6) (**Tsao, 2010**). Ce sont de simples molécules telles que l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide coumarique, l'acide gallique et représentent un tiers (1/3) de l'apport alimentaire en polyphénols (**Martin *et Appel*, 2009**).

Ils existent dans tous les aliments d'origine végétale (fruits, légumes et céréales). Seule une fraction mineure existe sous forme d'acide libre ; la fraction principale est liée par des liaisons ester, éther ou acétal à la cellulose, aux protéines, aux flavonoïdes, terpènes etc. (**Stalikas, 2007**).

Ils sont obtenus à partir de l'acide aminé aromatique L-phénylalanine, lui-même synthétisé à partir du chorismate, le produit final dans la voie du shikimtae (**Robbins, 2003**).

▪ **Acides hydroxybenzoïques**

Les acides hydroxybenzoïques possèdent une structure de base C6-C1, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. Ils dérivent de l'acide benzoïque par hydroxylation (**Chira *et al.*, 2008**). Les principaux acides hydroxybenzoïques (**figure 3**) sont les acides, gallique, ellagique, protocatéchique et 4-hydroxybenzoïque (**Lafay *et Gil-Izquierdo*, 2008**).



	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>Noms</b>
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p-hydroxybenzoïque
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OH	OH	H	Acide protocatechuique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique
	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Acide veratrique
OH	H	H	H	Acide salicylique	

**Figure 3** : Principaux types d'acide hydroxybenzoïque (Stalikas, 2007).

#### ▪ Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique, un composé de structure de base C6-C3 et produit par une désamination de la phénylalanine. Ils sont aussi désignés sous le nom de phénylpropanoïdes. Leur squelette est constitué d'un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en ester d'alcool aliphatique (**figure 4**). On peut trouver les acides, caféique, p-coumarique, férulique et snapique (Chira *et al.*, 2008).

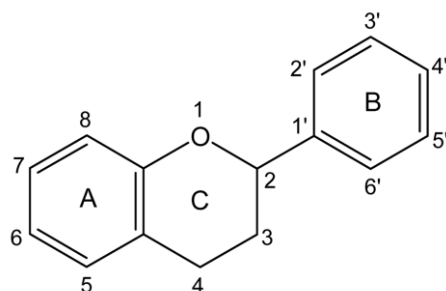
	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>Noms</b>
	H	H	H	H	Acide cinnamique
	OH	H	H	H	Acide o-coumarique
	H	OH	H	H	Acide m-coumarique
	H	H	OH	H	Acide p-coumarique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide férulique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide sinapique
	H	OH	OH	H	Acide caféique

**Figure 4** : Principaux types d'acide hydroxycinnamique (Stalikas, 2007).

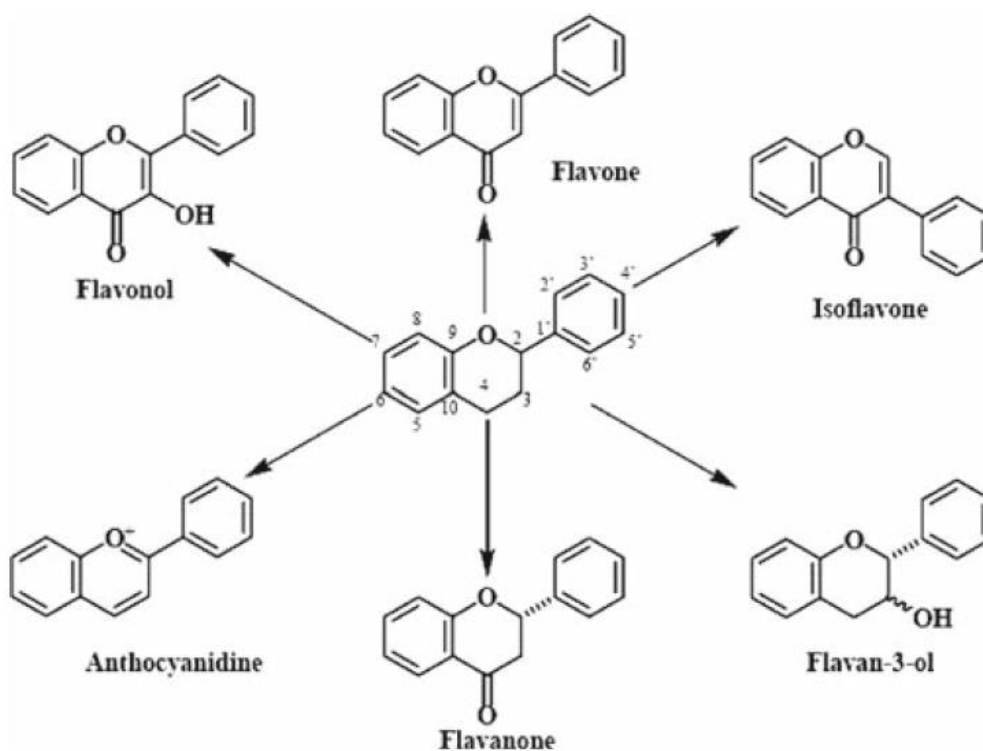
#### ➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6 (**figure 5**), soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils sont impliqués, chez la plante, dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies (Chira *et al.*, 2008). Ils agissent également comme catalyseurs en phase lumineuse de la photosynthèse et comme régulateurs des canaux ioniques impliqués dans la phosphorylation (Stalikas, 2007).

Les différents groupes de flavonoïdes sont constitués par substitution (**figure 6**) ; les groupements hydroxyles sont généralement en position 4, 5, 7. La plupart des flavonoïdes existent sous forme de glycosides (**Chira et al., 2008**).



**Figure 5** : Structure de base des flavonoïdes (**Stalikas, 2007**).



**Figure 6** : Différentes classes de flavonoïdes (**Chira et al., 2008**).

### ➤ Tanins

Les tanins sont un groupe hétérogène de composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 g/mol, qui présente la propriété de former des complexes réversibles et irréversibles avec des protéines (principalement), des polysaccharides, alcaloïdes, acides nucléiques et minéraux, etc. (**Frutos et al., 2004 ; Aguilera-Carbo et al.,**

2008). Ils ont la propriété de se lier et de précipiter les protéines de collagène dans les peaux d'animaux. Cela transforme la peau en cuir, ce qui la rend résistante à la putréfaction. Ils constituent un élément important de l'industrie du tannage depuis de nombreuses années. Les tanins peuvent également se lier aux protéines salivaires produisant un goût de caractère astringent (Crozier *et al.*, 2006). Ils sont impliqués dans le système de défense des plantes contre les attaques microbiennes et animales en raison de leur capacité astringente et de leur capacité à former des complexes avec des protéines et des polysaccharides (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008).

Nous distinguons deux grands groupes de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Frutos *et al.*, 2004).

- **Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des oligo- ou poly-ester d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique (figure 7). Le sucre est généralement le glucose, l'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide éllagique dans le cas des tanins éllagiques (Sereme *et al.*, 2008). Ces tanins sont hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (Oqkuda *et Ito*, 2011).

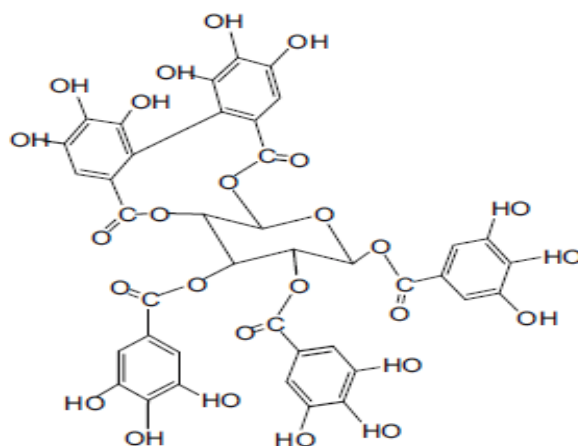


Figure 7 : Structure de tanins hydrolysables (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008).

- **Tanins condensés**

Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères de flavan-3-ol ou flavan-3,4-diol ne contenant pas de résidus de sucre (figure 8). Leurs liaisons carbone-carbone ne sont pas susceptibles de former de nouvelles liaisons après leur hydrolyse (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008).

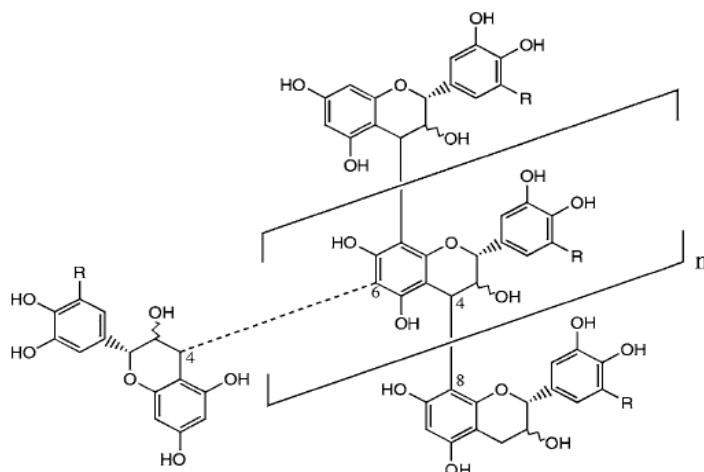


Figure 8 : Structure de tanins condensés (Schofield *et al.*, 2001).

### ❖ Propriétés des composés phénoliques

#### ▪ Propriétés physico-chimiques

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, selon laquelle ils sont simples ou polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir plusieurs types de polyphénols tels que les acides phénoliques, anthocyanines, tanins.... Cette diversité structurale se trouve à la base des multiples propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. En outre, leur solubilité est également affectée par la polarité du solvant utilisé. En effet, ils sont solubles dans les solvants polaires : l'eau, méthanol, éthanol, acétone... (Mahmoudi *et al.*, 2013).

#### ▪ Propriétés antioxydante

L'activité antioxydante des polyphénols est due à leur capacité à piéger les radicaux libres, à donner soit des protons  $H^+$ , soit des électrons  $e^-$ , ou à chélater des cations métalliques, et leur structure est un élément significatif de ces activités de piégeage et de chélation (Balasundram *et al.*, 2006).

#### ▪ Autres propriétés Biologiques

Outre leur activité antioxydante, les polyphénols contribuent fortement à la prévention des maladies cardiovasculaires, des cancers, et de l'ostéoporose et montrent également des intérêts dans la prévention des maladies neurodégénératives. En plus, ils possèdent également une activité antidiabétique (Scalbert *et al.*, 2005). Quelques propriétés biologiques de certains polyphénols sont résumées dans le **tableau 1**.

**Tableau 1** : Activités biologiques des composés phénoliques (**Bahorun, 1998**).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antiœdémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes

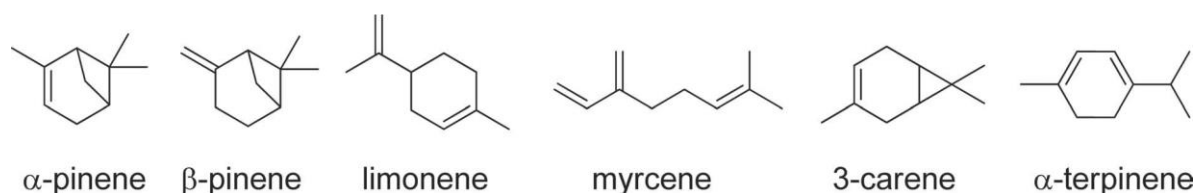
## 2.2. Terpènes

Les terpènes représentent l'une des classes de métabolites secondaires les plus importantes et les plus diversifiées, avec plus de 55000 membres isolés à ce jour (**Maimone et Baran, 2007**). Ils dérivent d'une unité simple à cinq atomes de carbone nommée isoprène. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne, ainsi que dans les divers modes d'assemblage. Les unités d'isoprène peuvent être liées « tête à queue » pour former des chaînes linéaires ou elles peuvent être disposées pour former des anneaux. Les terpènes peuvent exister sous forme d'hydrocarbures ou avoir des composés contenant de l'oxygène tels que les groupes hydroxyle, carbonyle, cétone ou aldéhyde (**Paduch et al., 2007**).

Selon le nombre d'unités isopréniques on distingue (**figure 9**) les monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les triterpènes en C30, les tetraterpènes en C40 et les polyterpènes (**Aqil et al., 2007**).

Les terpènes, dans les plantes, jouent principalement un rôle écologique en agissant comme dissuasifs contre l'alimentation des herbivores, comme défenses antifongiques et attractifs pour les pollinisateurs. Chez les mammifères, ils sont impliqués dans la stabilisation des membranes cellulaires, les voies métaboliques et en tant que régulateurs des réactions enzymatiques. Les

herbes et les plantes supérieures contenant des terpénoïdes et leurs dérivés oxygénés sont utilisés comme parfums et saveurs depuis des siècles (De carvalho *et al.*, 2006).



**Figure 9** : Structures chimiques de quelques terpènes (Wilbon *et al.*, 2013).

Les terpénoïdes sont caractérisés par différentes propriétés biologiques, le **tableau 2** résume quelques propriétés de certains composés terpéniques.

**Tableau 2** : Les propriétés biologiques de quelques terpenoïdes (Kabera *et al.*, 2014).

Terpénoïdes	Activités
Acide isovalérique (Hemiterpène)	Agent anticonvulsivant, utilisé largement dans la parfumerie
Limonène (Monoterpène)	Insecticide botanique parfumé, anticancérigène, antibactérien
Linalol (Monoterpène)	Antibactérien, Agit sur le système nerveux central (SNC)
Acide abscissique (ABA) (Sesquiterpène)	Antitranspirant
Phytoalexines	Antioxydants, antimicrobiens, et effets neurotrophiques
Brassinostéroïdes (Triterpène)	Impliqués dans la protection des plantes
Stérols (Triterpènes)	Compléments nutritionnels et médicinaux
Caroténoïdes (Tetraterpène)	Antioxydants, protection solaire, fonction immunitaire

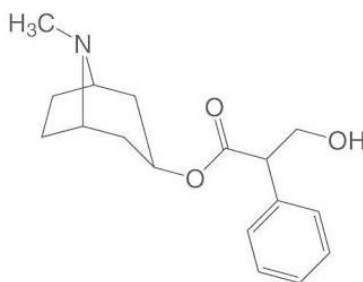
### 2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés naturels qui contiennent du carbone, de l'hydrogène, de l'azote et généralement de l'oxygène (Hussain *et al.*, 2018). Ils sont produits par divers organismes notamment les bactéries, les champignons, les animaux mais surtout par les plantes comme métabolites secondaires. Les alcaloïdes ont un riche potentiel thérapeutique notamment : antiprolifératif, antibactérien, antioxydant, pouvant être utilisé pour le développement de médicaments (Dey *et al.*, 2020). Ils sont l'un des plus grands groupes de

métabolites secondaires avec environ 10000 structures différentes, parfois d'une complexité considérable (Stöckigt *et al.*, 2002). Il existe trois principaux types d'alcaloïdes : les vrais alcaloïdes, les protoalcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes :

➤ **Les vrais alcaloïdes**

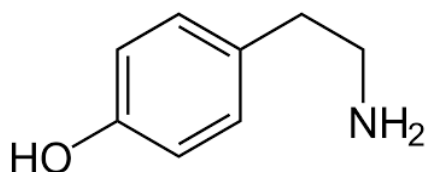
Ils sont issus des acides aminés et partagent un hétérocycle contenant de l'azote (**figure 10**). Naturellement, ils sont très réactifs et possèdent une activité biologique puissante. Ils sont sous forme de sels solubles dans l'eau et plusieurs sont de nature cristalline, qui forment un sel en se conjuguant avec l'acide (Dey *et al.*, 2020).



**Figure 10 :** Hyoscyamine (Croteau *et al.*, 2000).

➤ **Les protoalcaloïdes**

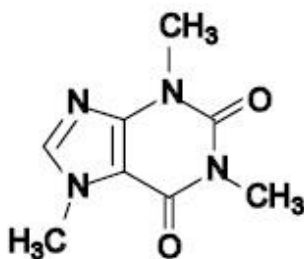
Tout comme les vrais alcaloïdes, les protoalcaloïdes sont également dérivés des acides aminés mais leur atome d'azote n'est pas contenu dans un système hétérocyclique (**figure 11**). Ils sont également utilisés dans plusieurs troubles de la santé comme : les maladies mentales, les douleurs et la névralgie (Dey *et al.*, 2020).



**Figure 11:** Tyramine (Croteau *et al.*, 2000).

➤ **Les pseudo-alcaloïdes**

A l'inverse des deux premiers alcaloïdes, ceux-ci ne sont pas directement dérivés des acides aminés (Dey *et al.*, 2020).



**Figure 12 :** Caféine (Croteau *et al.*, 2000).

Certains alcaloïdes sont des puissants agents anticancéreux comme le taxol, isolé pour la première fois de *Taxus baccatas*, le **tableau 3** résume quelques propriétés biologiques de certains alcaloïdes.

**Tableau 3 :** Les propriétés biologiques de quelques alcaloïdes (Croteau *et al.*, 2000).

Alcaloïdes	Activités
<b>Ajmaline</b>	Antiarythmique qui fonctionne en inhibant l'absorption du glucose par les mitochondries du tissu cardiaque
<b>Atropine</b>	Anticholinergique, antidote à l'intoxication par les gaz nerveux
<b>Caféine</b>	Stimulant du système nerveux central (SNC)
<b>Camptothécine</b>	Agent anticancéreux puissant
<b>Cocaïne</b>	Anesthésique topique, puissant stimulant du système nerveux central (SNC)
<b>Codéine</b>	Analgésique et antitussif relativement non addictif
<b>Conine</b>	Extrêmement toxique, provoque la paralysie des terminaisons nerveuses motrices, utilisé en homéopathie à petites doses
<b>Morphine</b>	Puissant analgésique narcotique
<b>Nicotine</b>	Très toxique, insecticide horticole
<b>Quinine</b>	Antipaludique traditionnel
<b>Sanguinarine</b>	Antibactérien montrant une activité antiplaque, utilisé dans les dentifrices et les rinçages oraux
<b>Scopolamine</b>	Narcotique puissant, utilisé comme sédatif pour le mal des transports
<b>Strychnine</b>	Poison tétanique violent, utilisé en homéopathie
<b>Vinblastine</b>	Antinéoplasique utilisé pour traiter la maladie de Hodgkin et d'autres lymphomes



***CHAPITRE III***  
***GENERALITES SUR LE MORINGA***  
***OLEIFERA***

## 1. Origine et répartition géographique

*Moringa oleifera* est une plante originaire des régions sud de l'Himalaya au nord de l'Inde ; communément appelé « **arbre miracle** », il appartient à une famille monogénérique d'arbres et d'arbustes, les moringacées (Singh et Navneet, 2018). Cependant, elle est maintenant présente dans toutes les régions tropicales et subtropicales (Boullard, 2001), on en trouve en Asie, en Amérique latine, aux Antilles, en Afrique occidentale, australe, et orientale (figure 13) (Singh et Navneet, 2018). Il a été introduit en Afrique de l'Est au début du 20<sup>ème</sup> siècle et est passé, en une décennie, du statut de plante marginale, voire inconnue, à celui de nouvelle ressource alimentaire et économique pour les pays du Sud (Foidl et al., 2001 ; Atakpama et al., 2014).

*M. oleifera* pousse mieux dans les régions tropicales chaudes et semi-arides. Il est résistant à la sécheresse et pousse avec des précipitations de 250 à 1500 mm par an. Il pousse jusqu'à 1200 m, voire 2000 m d'altitudes dans certaines régions (Price, 2007).



Figure 13 : Carte de répartition de *M. oleifera* (Rakotosamimanana, 2014).

## 2. Systématique et nomenclature

*M. oleifera*, appelé simplement *Moringa*, appartient à la famille de moringaceae (tableau 4) qui comprend 13 espèces. Les douze autres espèces sont bien connues : *Moringa stenopetala*, *Moringa concanensis*, *Moringa arborea*, *Moringa borziana*, *Moringa longituba*, *Moringa rivae*, *Moringa drouhardi*, *Moringa pygmae*, *Moringa ruspoliana*, *Moringa ovalifolia*, *Moringa huldebrandtii* (Zongo et al., 2013). Cet arbre porte d'autres noms vernaculaires différents selon les régions : Horseradish tree, Drumstick tree, Never die tree, West Indian ben tree, Radish tree (Pays anglophones), Marango (Nicaragua), mother's best friend et malunggay

(Philippines), Nébéday (Sénégal), Verdaye (Mali), Ben, Benzolivier, Maloko, Morenga, Perla (Carraibes), Ruwag, Alim, Halim, Shagara al ruwag (En arabe), Saijan (Hindi en Inde) (**Singh et al., 2009 ; Foidl et al., 2001 ; Price, 2007 ; Atakpama, 2014**).

**Tableau 4 :** La systématique de *M. Oleifera* (**Laleye et al., 2015**).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Capparales
<b>Famille</b>	Moringaceae
<b>Division</b>	Magnoliopyte
<b>Genre</b>	Moringa
<b>Espèce</b>	Oleifera

### 3. Description botanique de *Moringa oleifera*

*Moringa oleifera* est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur et dont le tronc mesure 20 à 40 cm de diamètre. Ce dernier est généralement droit, mais il est parfois très peu développé. En général, il atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, quoiqu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres.

Les branches poussent de manière désorganisée et la conopée est en forme de parasol (**Foidl et al., 2001**).

Les feuilles sont alternes, composées tripennées, imparipennées ; elles se développent principalement dans la partie terminale des branches et mesurent de 20 à 70 cm de long. Elles ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposées, plus une terminale ; les folioles de 1 à 2 cm sont ovales (**Foidl et al., 2001 ; Atakpama et al., 2014**).

Les fleurs sont blanches, à corolle irrégulière, bisexuée, odoriférantes au coucher du soleil ; elles sont blanches ou de couleur crème, mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombants de 10 à 25 cm (**figure 14**). Elles ont cinq pétales minces et spatulés, et symétriques entourant cinq étamines (**Boullard, 2001 ; Foidl et al., 2001**).

Les fruits sont de longues gousses linéaires (30 cm et plus) à trois lobes, pendantes, étranglées entre les graines successives, capsule déhiscente ; Chaque gousse contient 12 à 35 graines (Boullard, 2001).



**Figure 14** : Différentes parties de *M. oleifera* : (i) : l'arbre de moringa ; (ii) : les feuilles ; (iii) : les fleurs ; (iv) : le fruit (Saini *et al.* 2016).

Les graines sont rondes, avec une coque marron semi-perméable (figure 15). Cette dernière présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet à 120 degrés d'intervalles (Foidl *et al.*, 2001).

La racine est de structure tubulaire, elle est formée d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 m de profondeur ; ce qui lui permet sa grande résistance à la sécheresse. Des racines secondaires se ramifient à partir du pivot central (Zongo *et al.*, 2013).



**Figure 15** : Quelques parties de *M. oleifera* : a) : les graines ; b) : la racine (Price, 2007).

#### 4. Valeurs nutritives et usage

*M. oleifera* est considéré comme l'un des arbres les plus utiles au monde, parce que presque toutes ses parties peuvent être utilisées à des fins alimentaires, médicamenteuses et industrielles. Ses feuilles, ses fleurs et ses gousses fraîches sont utilisées par les gens comme légumes, alors que d'autres les utilisent pour nourrir le bétail. Il a le potentiel d'améliorer la nutrition, de renforcer la sécurité alimentaire et de favoriser le développement rural (**Moyo et al., 2011**).

Les feuilles de *M. oleifera* peuvent être utilisées dans la préparation des sauces et peuvent également être bouillies (**Price, 2007**). Elles peuvent également être consommées sous forme de poudre, qui fait preuve d'une réelle efficacité pour réduire les carences alimentaires (**De Saint Sauveur et Broin, 2006**). Les feuilles, consommées traditionnellement dans certains pays comme le Niger, le Nigéria, le Sénégal ou l'Éthiopie, sont maintenant utilisées dans certains programmes de lutte contre la malnutrition (**Zongo et al., 2013**).

#### 5. Composition chimique

Les feuilles de *M. oleifera* sont très nutritives. Elles sont une source exceptionnelle des vitamines A et C, une bonne source de vitamine B et une meilleure source végétale de minéraux. Elles ont une quantité de calcium très élevée pour une plante et leur teneur en phosphate est faible. Elles ont une très bonne teneur en fer, produisent une excellente quantité de protéines et contiennent très peu de gras et de glucides. Elles sont également une source incomparable de méthionine et de cystéine, des acides aminés sulfureux souvent déficients dans les régimes alimentaires (**Price, 2007**). Ces feuilles seraient tout aussi une riche productrice de  $\beta$ -carotène et de potassium et constituent une bonne source d'antioxydants naturels, et peuvent améliorer la durée de conservation des aliments contenant des matières grasses en raison de la présence des multiples types de composés antioxydants notamment l'acide ascorbique, les flavonoïdes et les composés phénoliques (**Anwar et al., 2007**).

Les composés phytochimiques représentent une grande partie des substances actives de la plante de *M. oleifera*, le **tableau 5** résume la composition chimique des différentes parties de cette espèce (**Godinez-Oviedo et al., 2016**).

**Tableau 5 :** Composés phytochimiques des différentes parties de *M. oleifera* (Godinez-Oviedo *et al.*, 2016 ; Anwar *et al.*, 2007).

Parties de <i>M. Oleifera</i>	Composants phytochimiques
Feuilles	Tanins, Saponosides, Polyphénols, Flavonoïdes, Glycosides
Fleurs	Tanins, Stéroïdes, Flavonoïdes, Alcaloïdes, Glycosides, Quercetine, Terpénoïdes
Graines	Acide gallique, Catéchine, Epicatéchine, Acide ferulique, Vanilline, Acide caféique, Acide protocatéchique, Acide cinnamique, Quercetine, Polystérols et Polyphénols
Racines	Protocyanidine, Acétate d'aurantiamide, Glycoside de quercetine, Rhamnoglycoside de quercetine, 3-dibenzylurée, Acide chlorogénique
Ecorce de tige	Protocyanidine, Stérols, Triterpénoïdes, Glycosides, Tanins, Alcaloïdes (moringine et morinine), Sitostérol, Acide octacosanoïque
Gomme	L-arabinose, Galactose, Acide glucuronique, L-rhamose, Mannose, Xylose

## 6. Vertus thérapeutiques

*M. oleifera* est une plante possédant beaucoup de vertus thérapeutiques. Ses propriétés antimicrobiennes, antiinflammatoires, antioxydantes, antiulcéreuses, antidiabétiques et anticancéreuses ont été rapportées par plusieurs études scientifiques (Sy *et al.*, 2018). Elle est couramment utilisée en médecine populaire en raison de ses nombreuses vertus médicinales : antidiarrhéique, hypotensive, bactéricide, laxative (Oniang'o *et al.*, 2005). Les feuilles, les racines, les graines, l'écorce, les fruits, les fleurs et les gousses immatures de cette plante agissent comme stimulants cardiaques et circulatoires. Cet arbre possède également des propriétés antitumorale, antipyrétique, antiépileptique, antispasmodique, diurétique, antihypertensive, hypocholestérolémiante, antibactérienne et antifongique, il entre dans le traitement de diverses affections dans le système de médecine indigène (Sayeed *et al.*, 2012).

## 7. Utilisation industrielle

Les graines de *M. oleifera* sont utilisées, depuis longtemps, pour son huile appelée « huile de ben ». Elle est de couleur jaune claire, inodore et de saveur douce et fluide après raffinage ;

elle représente 15 à 35 % du poids sec. Elle est constituée, à 70 %, d'acide oléique (**Zongo et al., 2013**). L'huile de ben est utilisée dans l'alimentation comme huile de cuisine et en cosmétique ; elle est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine, comme l'horlogerie, pour sa faible tendance à se détériorer et devenir collante. Grâce à sa capacité à absorber et à retenir les substances volatiles, elle est intéressante dans la parfumerie pour stabiliser les senteurs (**Foidl et al., 2001**). Elle a également la caractéristique de produire du biocarburant par estérification avec un alcool (**Zongo et al., 2013**).

# ***MATERIEL ET METHODES***



La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au laboratoire de biochimie, au département de biologie à la Faculté SNV-STU, Université de TLEMCEM. Elle comporte deux grandes parties :

- La partie phytochimique qui concerne la préparation des extraits aqueux et organiques à partir des feuilles et des graines de *M. oleifera*, ainsi que le dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux
- La partie biologique qui consiste à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de quelques extraits préparés sur le DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

## **I. Préparation des extraits à partir des feuilles et des graines de *Moringa oleifera***

### **1. Matériel végétal**

Les feuilles et les graines de *M. oleifera* constituent le matériel végétal utilisé dans cette étude. Les feuilles et les gousses ont été récoltées dans la région de Bamako au mois d'Octobre 2019 et ont été séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant quelques jours. Les feuilles sèches sont ensuite broyées pour donner une poudre (**figure 16 a**) et les graines sont également broyées en petits morceaux (**figure 16 b**).



**Figure 16:** La poudre des feuilles (*a*) et des graines broyées (*b*) de *Moringa Oleifera*.

### **2. Préparation des extraits**

Différents extraits ont été préparés à partir de la matière végétale : l'extrait aqueux, l'extrait eau-méthanol et les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. La **figure 17** résume la méthode de préparation des extraits.

#### **2.1. Extrait aqueux de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera***

Dans un ballon de 500 ml sont mélangés 400 ml d'eau distillée et 30 g de la poudre des feuilles. Le mélange est porté à ébullition sous reflux pendant 1 heure. Après filtration et

centrifugation de la solution préparée, elle est évaporée à sec à l'étuve afin de récupérer l'extrait aqueux sous forme solide.

## **2.2. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait aqueux de la poudre des feuilles de *M. oleifera***

Après avoir centrifugé l'extrait aqueux obtenu par décoction sous reflux, il est soumis à une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant l'acétate d'éthyle (V/V). La phase organique obtenue est évaporée à sec au rotavapor pour obtenir l'extrait acétate d'éthyle sous forme solide.

La phase aqueuse récupérée après fractionnement par acétate d'éthyle, est réutilisée pour une deuxième extraction liquide-liquide en utilisant le n-butanol (V/V). Après décantation la phase organique obtenue est évaporée à sec au rotavapor.

## **2.3. Extrait eau-méthanol des feuilles de *Moringa oleifera***

Dans un bécher de 500 ml, 50 g de la poudre des feuilles sont mélangés avec 250 ml de solution eau-méthanol (20/80). Le mélange est mis à une macération, à température ambiante, durant trois (3) jours. Nous prenons le soin de remuer le mélange plusieurs fois pendant toute la période de macération, ceci pour favoriser une meilleure extraction. Le mélange est centrifugé et la solution obtenue est évaporée à sec au rotavapor pour éliminer le solvant.

## **2.4. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles de *Moringa oleifera***

L'extrait brut eau-méthanol récupéré sous forme sec est d'abord solubilisé dans 50 ml de l'eau distillée. Cette solution est transférée dans une ampoule à décanter, dans laquelle on ajoute deux fois le volume de solution aqueuse acétate d'éthyle (V/2V). Après décantation la phase organique récupérée est soumise à une évaporation à sec au rotavapor.

La phase aqueuse récupérée à partir du fractionnement par acétate d'éthyle, est réutilisée dans une nouvelle extraction liquide-liquide dont le solvant d'extraction utilisé est le n-butanol (V/2V). La phase organique récupérée est évaporée à sec pour récupérer le produit sous forme de solide.

## 2.5. Dégraissage des graines de *Moringa oleifera*

Les graines de *M. oleifera* sont riches en lipides, le dégraissage de ces graines est indispensable pour éliminer les lipides avant de procéder à la préparation des extraits organiques. Cette extraction a été réalisée à l'aide d'un Soxhlet. Un ballon d'extraction contenant 600 ml d'hexane est surmonté d'un Soxhlet qui contient une cartouche en cellulose dans laquelle sont mis 120 g de graines broyées. Ce montage est porté à extraction pendant 3 heures. La solution d'hexane récupérée est évaporée à sec au rotavapor pour récupérer les huiles fixes.

## 2.6. Extrait eau-méthanol des graines dégraissées de *Moringa oleifera*

Dans un bécher de 1000 ml sont mélangés 100 g de graines dégraissées et 600 ml du solvant eau-méthanol (20/80), le mélange est mis à macération pendant 4 jours à température ambiante. Après filtration, la solution obtenue est évaporée à sec.

## 2.7. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol des graines dégraissées de *Moringa oleifera*

L'extrait eau-méthanol récupéré est solubilisé dans 50 ml de l'eau distillée pour une extraction liquide-liquide, à l'aide d'une ampoule à décanter, en utilisant l'acétate d'éthyle (V/2V) comme solvant d'extraction. La phase organique est évaporée à sec pour récupérer la fraction acétate d'éthyle sous forme solide. Après le fractionnement avec l'acétate d'éthyle, la phase aqueuse récupérée est lavée deux (2) fois avec le n-butanol (V/2V). La phase organique issue de cette extraction est évaporée à sec au rotavapor.

## 3. Calcul du rendement

Le rendement de chaque extrait préparé exprimé en pourcentage (%) est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M}{M_0} * 100$$

**R(%)** : Rendement exprimé en %

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant  
**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal utilisé

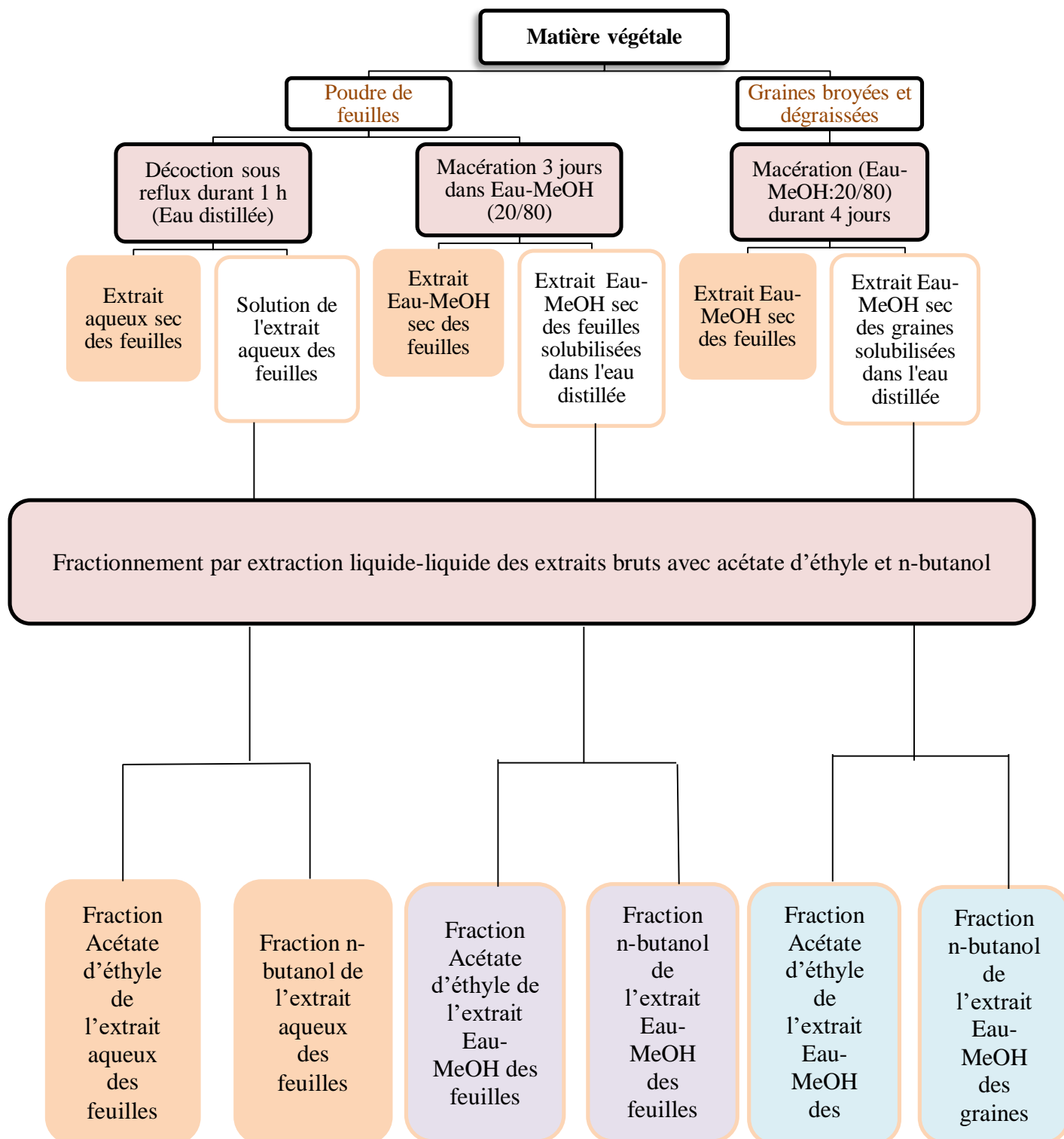


Figure 17 : Organigramme explicatif de la préparation des extraits de *Moringa olifera*.

## **II. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux**

Ce dosage est réalisé dans le but de déterminer la quantité totale de polyphénols et de flavonoïdes contenue dans chaque extrait préparé.

### **1. Dosage des polyphénols totaux**

#### **Principe**

Ce dosage est effectué par une méthode colorimétrique, qui est caractérisée par la réaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif, un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), est réduit par l'oxydation des phénols pour donner un mélange d'oxydes bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $MO_8O_{23}$ ). L'intensité de la coloration bleue produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel, dont l'absorbance est lue à 700 nm (Lapornik *et al.*, 2005).

#### **Mode opératoire**

Le dosage a été réalisé selon le protocole de Benariba *et al.*, 2013 (tableau 6).

- ✓ 100 µl d'échantillon de chaque extrait d'une concentration de 1mg/ml sont mélangés avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 2% ;
- ✓ Les tubes sont agités, puis incubés pendant cinq (5) minutes à température ambiante ;
- ✓ 100 µl du réactif de Folin Ciocalteu à 0,2 N sont ajoutés au mélange ;
- ✓ Une deuxième incubation des tubes est effectuée pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- ✓ La lecture de l'absorbance (DO) est réalisée par un spectrophotomètre contre le tube blanc à 700 nm.

En parallèle, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 µg/ml).

**Tableau 6 :** Dosage de polyphénols totaux dans les extraits de *Moringa oleifera*.

<b>A. gallique (µg/ml)</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>500</b>	<b>600</b>	<b>700</b>	<b>800</b>	<b>900</b>	<b>1000</b>		
<b>A. gallique (ml)</b>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
<b>Extraits (ml)</b>												0,1	
<b>Blanc : Eau distillée (ml)</b>													0,1
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (ml)</b>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b>1<sup>ère</sup> incubation pendant 5 min à température ambiante</b>													
<b>Folin ciocalteu (ml)</b>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>2<sup>ème</sup> Incubation pendant 30 min à température et à l'obscurité</b>													
<b>Mesure de l'absorbance à 700 nm</b>													

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (µgEAG/mgE) et sont calculés selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = \frac{a \cdot f}{c}$$

**a :** Concentration des polyphénols (µg/ml) déterminée à partir de la courbe étalon.

**f :** Facteur de dilution (22)

**c :** Concentration de l'extrait (1mg/ml)

## 2. Dosage des flavonoïdes totaux

### Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectué par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et à la soude (NaOH). Les flavonoïdes forment un complexe jaunâtre avec le trichlorure d'aluminium qui développe une couleur rose en milieu basique (NaOH). L'intensité de cette coloration rose est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes dans le milieu réactionnel (Ardestani *et* Yazdanparast, 2007).

### **Mode opératoire**

Le dosage de flavonoïdes a été réalisé selon le protocole de **Benariba *et al.*, 2013** (tableau 7).

- ✓ 250 µl de chaque extrait d'une concentration de 1mg/ml sont mélangés avec 1ml d'eau distillée ;
- ✓ 75 µl d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 15% sont ajoutés au mélange ;
- ✓ Les tubes sont incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- ✓ 75 µl d'une solution de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ) à 10 % sont ajoutés ;
- ✓ Les tubes sont incubés, pour une deuxième fois, pendant 6 min à température ambiante ;
- ✓ 1 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4% est ajouté;
- ✓ Le volume total de chaque tube est complété à 2,5 ml en ajoutant 100 µl d'eau distillée ;
- ✓ Les tubes sont agités, ensuite incubés pendant 15 min.

L'absorbance (DO) est mesurée au spectrophotomètre contre un tube blanc à 510 nm.

En parallèle, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500µg/ml).

**Tableau 7 :** Dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits de *Moringa oleifera*.

[Catéchine] (µg/ml)	2	5	10	20	50	100	200	300	400	500		
Catéchine (ml)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		
Extraits (ml)											0,25	
Blanc : Eau distillée (ml)												0,25
NaNO <sub>2</sub> (ml)	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075
<b>1<sup>ère</sup> incubation pendant 6 min à température ambiante</b>												
AlCl <sub>3</sub> (ml)	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075
<b>2<sup>ème</sup> incubation pendant 6 min à température ambiante</b>												
NaOH (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>3<sup>ème</sup> Incubation pendant 15 min à température et à</b>												
<b>Mesure de l'absorbance à 510 nm</b>												

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µgEC/mgE) et sont calculés selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = a.f/c$$

**a** : concentration des flavonoïdes (µg/ml) déterminée à partir de la courbe étalon.

**f** : facteur de dilution (10)

**c** : concentration de l'extrait (1mg/ml)

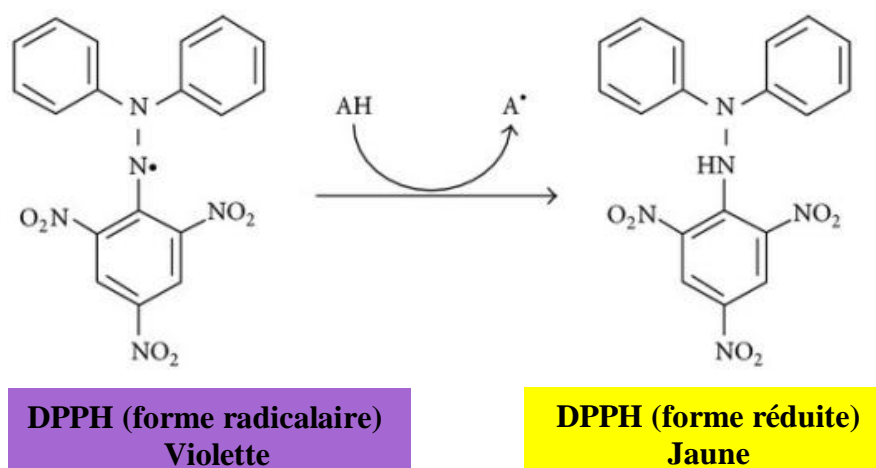
### III. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Moringa oleifera*

#### 1. Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Moringa oleifera* : Test du DPPH

##### Principe

La molécule du DPPH est caractérisée comme un radical stable, de couleur violette foncée. Quand une solution de DPPH est mélangée avec une solution d'antioxydants capables de céder un atome d'hydrogène, on observe une décoloration de la solution caractérisée par la formation de la forme réduite du DPPH (**figure 18**). L'absorbance de cette décoloration, inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants, est mesurée à 517 nm afin de déterminer le pourcentage d'inhibition du DPPH (Alam *et al.*, 2012).





**Figure 18** : Forme radicalaire et réduite du DPPH (Teixeira et al. 2013).

### Mode opératoire

Ce dosage a été effectué selon le protocole de **Benariba et al., 2013 (tableau 8)**.

Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de chaque extrait préparé à différentes concentrations (500, 1000, 2000, 4000, 8000  $\mu\text{g/ml}$ ) est ajouté à 1950  $\mu\text{l}$  de la solution méthanolique du DPPH à 0,0025 %. Pour chaque concentration de l'extrait, un tube blanc est préparé en ajoutant 50  $\mu\text{l}$  de l'extrait à 1950  $\mu\text{l}$  de méthanol. Les tubes sont incubés pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La mesure de l'absorbance (DO) est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 517 nm.

En parallèle, le contrôle négatif est préparé en mélangeant 50  $\mu\text{l}$  de méthanol avec 1950  $\mu\text{l}$  de la solution méthanolique du DPPH à la même concentration. Le tube blanc de contrôle renferme 2 ml de méthanol.

Dans les mêmes conditions opératoires, l'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif, est préparé à différentes concentrations (10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200  $\mu\text{g/ml}$ ).

**Tableau 8** : Mode opératoire du test du DPPH des extraits de *Moringa oleifera*.

<b>A. ascorbique (µg/ml)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>	<b>140</b>	<b>160</b>	<b>180</b>	<b>200</b>		
<b>A. ascorbique (ml)</b>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		
<b>Extraits (ml)</b>												0,05	
<b>Contrôle négatif : MeOH (ml)</b>													0,05
<b>Volume du DPPH (ml)</b>	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95
<b>Incubation pendant 30 min à température et à l'abri de la lumière</b>													
<b>Mesure de l'absorbance à 517 nm</b>													

Les pourcentages d'inhibition ou de réduction du DPPH sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{DPPH}\% = \frac{\text{A control} - \text{A extrait}}{\text{A control}} \times 100$$

**DPPH%** : Pourcentage de réduction de DPPH

**A contrôle** : Absorbance du contrôle négatif

**A extrait** : Absorbance de l'extrait

La concentration inhibitrice de 50 % de DPPH (**IC<sub>50</sub>**) a été obtenue graphiquement à partir des pourcentages de réduction de DPPH et les différentes concentrations.

## 2. Test FRAP Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

### Principe

Le test du pouvoir réducteur du fer est une méthode colorimétrique basée sur la réduction du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe ferricyanure de potassium (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) en fer ferreux Fe<sup>2+</sup>. Cette réaction est révélée par l'addition du FeCl<sub>3</sub> qui forme avec le fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) un complexe appelé le bleu de Prusse (Prussian blue) de couleur bleu-verte caractérisée par un maximum d'absorbance à 700 nm. L'intensité de la coloration de la forme réduite est proportionnelle au potentiel réducteur des extraits (**Kholkhal et al., 2013**).

**Mode opératoire**

Le protocole expérimental suivi est celui de **Karagozler *et al.*, 2008 (tableau 9)**.

Dans une série de tubes contenant 100 µl d'extraits testés à différentes concentrations, sont ajoutés 250 µl de solution tampon phosphate (PBS) à 0,2 M et de pH=6,6, puis 250 µl de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1%. Le mélange obtenu est incubé à 50°C pendant 20 minutes. La réaction est stoppée en ajoutant 250 µl de l'acide trichloracétique (TCA) au mélange. Après centrifugation (ou décantation), dans de nouveaux tubes, 500 µl du surnageant sont prélevés et mélangés avec 500 µl d'eau distillée et 100 µl de chlorure de fer ( $FeCl_3$ ) à 0,1%. Ensuite l'absorbance est mesurée à 700 nm, contre un blanc dans lequel l'extrait est remplacé par l'eau distillée.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations : 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 µg/ml.

**Tableau 9** : Mode opératoire du test du FRAP des extraits de *Moringa oleifera*.

<b>A. ascorbique (µg/ml)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>	<b>140</b>	<b>160</b>	<b>180</b>	<b>200</b>		
<b>A. ascorbique (µl)</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
<b>Extrait (µl)</b>												100	
<b>Tube blanc : eau distillée (µl)</b>													100
<b>PBS (µl)</b>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<b><math>K_3Fe(CN)_6</math> (µl)</b>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<b>Incubation pendant 20 minutes à 50°C</b>													
<b>TCA</b>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<b>Centrifugation pendant 10 minutes à 2000 tours/minutes</b>													
<b>Surnageant (µl)</b>	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
<b>Eau distillée (µl)</b>	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
<b><math>FeCl_3</math> (µl)</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Mesure de l'absorbance à 700 nm</b>													

Le pouvoir réducteur est exprimé en densité optique (**DO**) à chaque concentration. La concentration efficace médiane (**EC<sub>50</sub>**) a été calculée par la fonction prévision de l'Excel à partir des densités optiques (**DO**) obtenues et les différentes concentrations.

## ***RESULTATS ET INTERPRETATION***

### 1. Caractéristiques et rendements des extraits de *Moringa oleifera*

Les différentes méthodes d'extraction solide-liquide et liquide-liquide nous ont permis d'obtenir des extraits d'aspect, de couleur et de rendement distincts. Le **tableau 10** résume les différents caractéristiques et rendements de ces extraits.

Le dégraissage des graines de *M. oleifera* nous a permis d'obtenir une huile de couleur jaune au rendement de 25,55%.

**Tableau 10** : Caractéristiques et rendements des extraits des feuilles et des graines de *M. oleifera*.

		Aspect	Couleur	Rendement %	Solubilité
<b>Feuilles</b>	<b>EAR</b>	Poudre	Marron	14,57	Eau distillée
	<b>EAcq</b>	Poudre	Marron	0,33	Eau distillée
	<b>En-Baq</b>	Poudre	Marron foncé	1,80	Eau distillée
	<b>EM</b>	Pâte hygroscopique	Marron foncé	11,68	Eau distillée
	<b>EAcM</b>	Poudre	Marron	0,48	Eau distillée
	<b>En-BM</b>	Poudre	Marron	2,7	Eau distillée
<b>Graines</b>	<b>EMG</b>	Poudre	Jaune clair	6,54	Eau distillée
	<b>AcMG</b>	Pâte hygroscopique	Marron	0,24	Eau distillée
	<b>n-BMG</b>	Pâte hygroscopique	Marron	1,63	Eau distillée

**EAR** : Extrait aqueux sous reflux des feuilles ; **EAcq** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; **En-Baq** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux ; **EM** : Extrait eau-méthanolique des feuilles ; **EAcM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles ; **En-BM** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles ; **EMG** : Extrait eau-méthanolique des graines ; **AcMG** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des graines ; **n-BMG** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des graines.

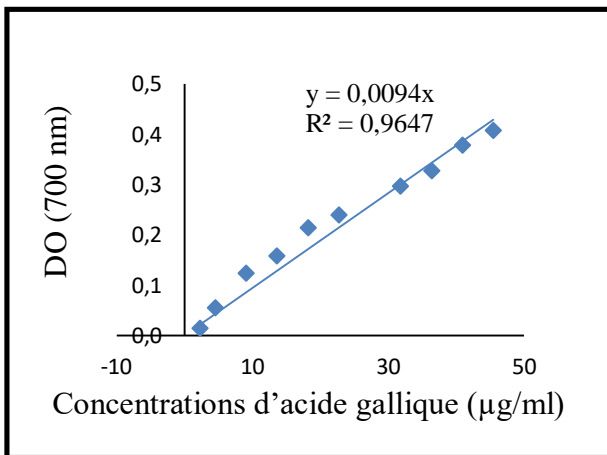
Selon les caractéristiques mentionnées dans le **tableau 1**, on remarque que la plupart des extraits (**EAR, EAcq, En-Baq, EAcM, En-BM, EMG**) ont été récupérés sous forme de poudre. Seuls trois extraits **EM, AcMG et n-BMG** ont été récupérés sous forme de pâte hygroscopique. Tous les extraits sont de couleur marron à l'exception de l'extrait eau-

méthanolique des graines (**EMG**) qui est de couleur jaune clair. L'ensemble des extraits a présenté une solubilité dans de l'eau distillée. L'extrait aqueux sous reflux des feuilles (**EAR**) présente le plus grand rendement (14,57%), suivi par les extraits eau-méthanolique des feuilles (**EM**) et des graines (**EMG**) qui présentent respectivement des rendements de 11,68% et 6,54%. Par ailleurs, parmi les extraits organiques, les extraits **En-BM**, **En-Baq** et **n-BMG** présentent les plus grands rendements 2,7%, 1,80%, et 1,63%, respectivement.

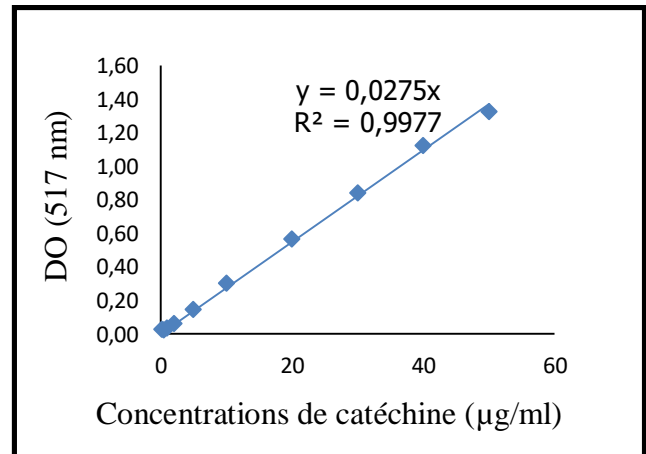
Les rendements les plus faibles sont représentés par les extraits **EAcM** (0,48%), **EAcq** (0,33%) et **AcMG** (0,24%).

## 2. Taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans les extraits de *Moringa oleifera*

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les extraits de *M. oleifera*, exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g}$  GAE/mg) pour les polyphénols, et en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g}$  CEQ/mg) pour les flavonoïdes, sont représentés dans le **tableau 11**. Ils sont obtenus à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage d'acide gallique et de catéchine (**figure 20 et figure 19**).



**Figure 19** : Courbe étalonnage de l'acide gallique



**Figure 20** : Courbe étalonnage de la catéchine

**Tableau 11** : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits de *M. oleifera*.

	<b>Polyphenols (<math>\mu\text{g GAE/mg}</math>)</b>	<b>Flavonoïdes (<math>\mu\text{g CEQ/mg}</math>)</b>
<b>EAR</b>	101,42 $\pm$ 0,006	20,61 $\pm$ 0,014
<b>EAcq</b>	798,87 $\pm$ 0,009	124,97 $\pm$ 0,008
<b>En-Baq</b>	543,76 $\pm$ 0,012	90,79 $\pm$ 0,012
<b>EM</b>	309,72 $\pm$ 0,015	41,33 $\pm$ 0,018
<b>EAcM</b>	757,52 $\pm$ 0,016	120,24 $\pm$ 0,009
<b>En-BM</b>	494,61 $\pm$ 0,013	76,97 $\pm$ 0,003
<b>EMG</b>	25,74 $\pm$ 0	10,42 $\pm$ 0,015
<b>AcMG</b>	612,41 $\pm$ 0,011	17,45 $\pm$ 0,001
<b>n-BMG</b>	509,43 $\pm$ 0,099	9,94 $\pm$ 0,009

**EAR** : Extrait aqueux sous reflux des feuilles ; **EAcq** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; **En-Baq** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux ; **EM** : Extrait eau-méthanolique des feuilles ; **EAcM** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles ; **En-BM** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles ; **EMG** : Extrait eau-méthanolique des graines ; **AcMG** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des graines ; **n-BMG** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des graines.

Les résultats mentionnés dans le **tableau 11** montrent que la plante étudiée est riche en polyphénols et en flavonoïdes dont les teneurs varient de 25,74 à 798,87  $\mu\text{g GAE/mg}$  et de 9,94 à 124,94  $\mu\text{g CEQ/mg}$ , respectivement. On remarque que les teneurs en polyphénols sont plus importantes que celles en flavonoïdes dans les différents extraits. La fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux sous reflux des feuilles (**EAcq**) renferme les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes qui sont respectivement de 798,87  $\mu\text{g GAE/mg}$  et de 124,97  $\mu\text{g CEQ/mg}$ . La faible teneur en polyphénols (25,74  $\mu\text{g GAE/mg}$ ) est déterminée dans l'extrait eau-méthanolique des graines (**EMG**), tandis que celle en flavonoïdes (9,94  $\mu\text{g CEQ/mg}$ ) est déterminée dans la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des graines (**n-BMG**).

En fonction de ces résultats, on constate que les feuilles de *M. oleifera* sont plus riches en polyphénols et en flavonoïdes que les graines ; de même, les extraits organiques des feuilles et



des graines se révèlent les plus riches en polyphénols et en flavonoïdes que les extraits bruts, à l'exception de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des graines (**n-BMG**) ayant la plus faible teneur en flavonoïdes.

### 3. Effet antiradicalaire de quelques extraits de *Moringa oleifera* sur le DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante de deux extraits **EAcM** et **En-BM** des feuilles de *M. oleifera* a été effectuée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus, exprimés en pourcentage (%) de réduction du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits, sont représentés dans le **tableau 13**. Le contrôle positif utilisé pour cette activité, est l'acide ascorbique testé à différentes concentrations, dont les résultats sont mentionnés dans le **tableau 12**. Les résultats obtenus nous ont permis de déterminer graphiquement pour chaque extrait la concentration qui réduit 50% du DPPH. Cette concentration représente **IC<sub>50</sub>**.

**Tableau 12 :** Effet de l'acide ascorbique sur la réduction du radical libre DPPH exprimé en pourcentage

	Concentration d'acide ascorbique (µg/ml)							IC <sub>50</sub> (µg/ml)
	0,5	1,5	2,5	3	3,5	4	4,5	
<b>Réduction du DPPH (%)</b>	8,80 ± 0,01	17,03 ± 0,02	19,15 ± 0,01	28,07 ± 0,01	36,78 ± 0,02	64,99 ± 0,04	69,47 ± 0,01	<b>3,60 ± 0,01</b>

**Tableau 13 :** Effet antioxydant des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles sur piégeage du DPPH exprimé en pourcentage

	Concentrations d'extraits (µg/ml)					IC <sub>50</sub> (µg/ml)
	12,5	25	50	100	200	
<b>EAcM (% de réduction du DPPH)</b>	36,13 ± 0,012	68,62 ± 0,017	86,57 ± 0,004	84,97 ± 0,022	95,08 ± 0,005	19,43 ± 0,02
<b>En-BM (% de réduction du DPPH)</b>	27,40 ± 0,005	50,66 ± 0,013	86,02 ± 0,008	90,77 ± 0,003	96,85 ± 0,007	26,10 ± 0,01

**EAcM :** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles ; **En-BM :** Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles.

Les résultats représentés dans les **tableaux 12 et 13**, montrent que le pourcentage de réduction du radical DPPH augmente proportionnellement avec la concentration des extraits

testés, de même pour l'acide ascorbique. L'acide ascorbique agit à très faibles doses, de 0,5 à 4,5 µg/ml. Il présente un **IC<sub>50</sub>** égal à 3,60 µg/ml. La fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**EAcM**) présente une activité antiradicalaire plus importante que la fraction n-butanol (**En-BM**) récupérée à partir du même extrait, avec des valeurs d'**IC<sub>50</sub>** de 19,43 µg/ml et 26,10 µg/ml, respectivement.

Les facteurs de corrélation entre le taux de polyphénols et les flavonoïdes avec la méthode de piégeage du radical DPPH montrent une très forte corrélation négative avec une valeur de  $R=-1$ , c'est à dire plus la concentration en composés phénoliques augmente, plus la valeur de **IC<sub>50</sub>** est faible, et donc l'effet antioxydant des extraits est dû à la présence des composés phénoliques.

En fonction de ces résultats, nous constatons que l'activité antiradicalaire des extraits est proportionnelle à leur teneur en polyphénols et en flavonoïdes. Par déduction nous pouvons dire que les extraits (**EAcM**, **En-BM**, **AcMG**, **n-BMG**) présentant les plus grands taux en polyphénols et en flavonoïdes totaux, peuvent avoir de grandes activités antiradicalaires.

#### 4. Effet de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles de *M. oléifera* sur la réduction du fer (FRAP)

Le résultat obtenu, représentant les absorbances mesurées à chaque concentration après l'effet de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles sur la réduction du fer, est présenté dans le **tableau 14**.

**Tableau 14** : Effet de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles de *M. oléifera* sur la réduction du fer.

	Concentrations de l'extrait (mg/ml)				EC <sub>50</sub> (mg/ml)
	0,08	0,17	0,33	0,67	
<b>En-BM</b> <b>(DO 700 nm)</b>	0,029 ± 0,004	0,042 ± 0,006	0,068 ± 0,006	0,071 ± 0,01	5,27 ± 0,006

**En-BM** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles.

Le résultat de l'évaluation du pouvoir réducteur de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles sur le fer montre un potentiel réducteur évident de cet extrait. On

remarque que la capacité réductrice de l'extrait sur le fer est proportionnelle à l'augmentation de sa concentration.

## *Discussion*

Les plantes médicinales constituent une source riche de molécules bioactives, les unes plus importantes que les autres. Nombreux médicaments dits « modernes » doivent leurs vertus à des extraits purifiés de végétaux (**Boullard, 2001**).

*Moringa oleifera*, une plante médicinale largement utilisée en alimentation et en médecine populaire, a constitué l'objet de notre étude. Nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des différents extraits des feuilles et des graines, ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits des feuilles par la méthode de piégeage du radical libre DPPH• et la méthode du FRAP.

Les différentes méthodes et solvants utilisés pour l'extraction des feuilles et des graines, ont donné des extraits distincts avec des rendements variables. L'extrait aqueux sous reflux des feuilles (**EAR**) domine avec son rendement de 14,57%. Il est suivi par les extraits eau-méthanoliques des feuilles (**EM**) et des graines (**EMG**) avec des rendements respectifs de 11,68% et de 6,54%. Ensuite les extraits organiques **AcMG**, **En-Baq** et **n-BMG** apparaissent avec des rendements respectifs de 2,7%, 1,80% et 1,63%. Les rendements les moins importants qui sont de 0,48%, 0,33% et 0,24%, sont représentés respectivement par les extraits **En-BM**, **En-Baq** et **n-BMG**. Ceci explique que les méthodes d'extraction et solvants utilisés ont une influence significative sur les rendements des extraits.

En outre, nous constatons que les extraits des feuilles présentent les meilleurs rendements. Ceci peut être expliqué par le fait qu'elles constituent une source importante et riche en de nombreuses molécules bioactives et donc une libération importante de molécules bioactives dans le solvant d'extraction (**Anwar et al., 2007 ; Price, 2007**).

Les métabolites secondaires sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques (**Laleye et al., 2015**), pour cette raison nous avons effectué, dans nos différents extraits, une estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux. Les résultats obtenus ont montré que le *M. oleifera* est une plante riche en polyphénols et en flavonoïdes. La teneur la plus importante en polyphénols et en flavonoïdes totaux a été révélée dans la fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux sous reflux des feuilles (**EAcq**) avec des valeurs respectives de 798,87 µg GAE/mg et de 124,97 µg CEQ/mg. Ceci est suivi par les fractions acétate d'éthyle des extraits eau-méthanolique des feuilles (**EAcM**) et des graines (**AcMG**), qui ont des teneurs en polyphénols de 757,52 µg GAE/mg et de 612,41 µg GAE/mg et des teneurs en flavonoïdes

de 120,24 µg CEQ/mg et 17,45 µg CEQ/mg respectivement. Viennent ensuite les extraits **En-Baq**, **n-BMG** et **En-BM** avec des teneurs en polyphénols respectives de 543, 76 µg GAE/mg, de 509,43 µg GAE/mg et de 494, 61 µg GAE/mg. Ils présentent des taux en flavonoïdes, qui varient de 9,94 à 90,79 µg CEQ/mg. Les faibles teneurs en polyphénols ont été déterminées dans les extraits bruts **EM**, **EAR** et **EMG** présentant des valeurs de 309,72 µg GAE/mg, 101,42 µg GAE/mg et 25,74 µg GAE/mg, respectivement, et dont les teneurs en flavonoïdes varient de 10,42 à 41,33 µg CEQ/mg. Ceci montre que les solvants organiques acétate d'éthyle et n-butanol assurent une meilleure solubilisation des composés phénoliques, et par conséquent une meilleure extraction. Il ressort également de ces résultats que les taux les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes totaux ont été révélés avec les extraits des feuilles par rapport aux extraits de graines. Cela est en accord avec le travail effectué par **Saini et al., (2016)** qui ont rapporté que les feuilles de *M. olifeira* constituent la partie la plus riche en composés phénoliques.

L'étude effectuée par **Charoensin, (2014)** a montré dans les extraits des feuilles la teneur la plus élevée en polyphénols 216,45 µg GAE/mg et en flavonoïdes 65,38 µg CEQ/mg. Ces valeurs sont nettement en dessous de nos résultats qui sont de 798,87 µg GAE/mg et de 124,97 µg CEQ/mg, respectivement pour les polyphénols et les flavonoïdes. La même constatation est effectuée sur l'étude de **Rodriguez-Pérez et al., (2015)** qui a révélé une teneur faiblement élevée en polyphénols dans l'extrait eau-éthanol de feuilles, 47 µg CEQ/mg.

Les antioxydants d'origine naturelle peuvent renforcer le système de défense antioxydante dans l'organisme afin d'éliminer les radicaux libres ou d'inhiber leurs actions. L'intérêt pour ces antioxydants augmente en flèche, ce qui pousse les chercheurs à mener plusieurs études scientifiques dans le but de développer de nouveaux antioxydants naturels plus efficaces et moins voir non toxiques.

L'évaluation de l'activité antiradicalaire du DPPH révèle que nos deux extraits testés **EAcM** et **En-BM** ont un potentiel antioxydant remarquable. La capacité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**EAcM**) est plus importante par rapport à la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles (**En-BM**) avec des valeurs d'**IC<sub>50</sub>** de 19,43 µg/ml et 26,10 µg/ml, respectivement. Cette variabilité de l'activité antiradicalaire est due à la nature de l'extrait testé, qui est reliée au mode d'extraction utilisé ainsi que le solvant d'extraction utilisé. Ces deux valeurs d'**IC<sub>50</sub>** sont, par ailleurs,

significativement élevées par rapport à celle de l'acide ascorbique (3,60 µg/ml), utilisé comme molécule de référence.

L'**IC<sub>50</sub>** correspond à la concentration qui permet la réduction de 50% de radicaux libres. Elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante du composé antioxydant (**Bourgou et al., 2016**).

Nos résultats obtenus sur l'activité antiradicalaire des feuilles de *M. oleifera* montrent qu'elles présentent une capacité antioxydante nettement supérieure à ceux de **Fitriana et al., (2016)**, dont les valeurs d'**IC<sub>50</sub>** déterminées varient entre 40,30 µg/ml et 1035,57 µg/ml. De même, nous avons constaté une activité antiradicalaire de nos extraits plus importante que celle des extraits testés par **Sy et al., (2018)** et qui ont révélé des valeurs d'**IC<sub>50</sub>** entre 87,86 µg/ml et 222 µg/ml. Nos résultats sont en accord avec la littérature qui stipule que les feuilles de *M. oleifera* constituent une source importante d'antioxydants naturels.

Concernant l'activité réductrice de la fraction **En-BM**, le résultat obtenu nous a révélé un pouvoir réducteur assez important de cet extrait. Notre résultat montre une activité réductrice de l'extrait sur le fer inférieure par rapport à ceux de **Verma et al., (2009)** qui ont des valeurs d'**EC<sub>50</sub>** variables entre 0,28 mg/ml et 2,17 mg/ml.

Cette importante activité antioxydante que font preuve les feuilles de *M. oleifera*, est en relation avec leurs teneurs en composés phénoliques. Nous avons constaté une forte corrélation négative entre les valeurs d'**IC<sub>50</sub>** du test du DPPH (R= -1), la valeur d'**EC<sub>50</sub>** du test du FRAP (R= -1) et les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes.

La quantité de polyphénols et de flavonoïdes est en corrélation avec l'activité antioxydante. En effet, les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour capturer les radicaux libres et d'après certaines études, ils semblent être responsables de l'activité du piégeage des extraits (**Karou et al., 2011**). L'activité antiradicalaire des composés phénoliques est attribuée à leurs groupements hydroxyles qui leur permettent de transférer un atome d'hydrogène sur le radical DPPH pour donner une molécule stable DPPH,H (**Popovici et al., 2009**). De même leur pouvoir réducteur est du à leurs propriétés redox, ce qui leur permet d'agir comme agents réducteurs, des donneurs d'hydrogènes et des désactivateurs d'oxygène singlet (**Farhat et al., 2013**).

Il a été rapporté par **Bouaziz *et al.*, (2014)** que les différences de capacité antioxydante des extraits peuvent être attribuées à la variabilité qualitative des composés phénoliques entre eux. Par exemple, les activités antioxydantes des acides phénoliques et leurs dérivés, tels que les esters, dépendent du nombre de groupes hydroxyles (OH) dans les molécules. Selon les mêmes auteurs, la puissance antioxydante des flavonoïdes est à peu près proportionnelle au nombre total de groupes  $\text{-OH}$ . Il est généralement admis que la capacité d’agir en tant que donneur d’hydrogène et l’inhibition de l’oxydation sont dues à la synergie entre les antioxydants dans les échantillons, ce qui rend la capacité antioxydante dépendante non seulement de la concentration des polyphénols, mais aussi de leur structure et l’interaction entre eux.



## *Conclusion*

La présente étude consiste à la caractérisation phytochimique des extraits des feuilles et des graines dégraissées de *M. oleifera* et l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de ses feuilles.

Ce travail a révélé la présence des lipides dans les graines de *M. oleifera*. Le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux a permis de déterminer la présence de ces composés dans tous les extraits des feuilles et des graines, dont les taux les plus élevés sont identifiés dans les extraits organiques, surtout dans les fractions acétate d'éthyle. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits révèle un pouvoir antiradicalaire sur le DPPH significatif des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol des feuilles et aussi un potentiel de réduction du fer de la fraction n-butanol de l'extrait eau-méthanolique des feuilles assez important. Cet effet antioxydant de ces extraits est en relation avec leurs teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux.

A la lumière de ces résultats, il serait intéressant de mener d'autres études, dans l'avenir, afin de compléter ou d'approfondir ce présent travail, qui peuvent se baser sur :

- L'utilisation d'autres solvants d'extraction et d'autres parties comme les racines.
- Les tests phytochimiques des différents extraits de *M. oleifera*.
- L'évaluation de l'activité antioxydante par d'autres méthodes (blanchiment du  $\beta$ -carotène, ORAC...).
- L'isolement des molécules responsables de l'activité antioxydante de *M. oleifera*.
- La recherche des propriétés des huiles des graines.
- La recherche d'autres activités biologiques, notamment les activités antidiabétique et antimicrobienne.

## ***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

**Références**

- Achakzai, A. K., Achakzai, P., Masood, A., Kayani, S. A., & Tareen, R. B. (2009). Response of plant parts and age on the distribution of secondary metabolites on plants found in quetta. *Pak. J. Bo.*, *41*(5), 2129-2135.
- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela-Torres, E., & Aguilar, C. N. (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Appl Microbiol Biotechnol*, *78*, 189–199.
- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, *6*(11), 1720-1731.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *21*, 143-152.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2007). Moringa oleifera: A Food plant with multiple medicinal uses. *Phytother. Res.*, *21*, 17-25.
- Aqil, M., Ahad, A., Sultana, Y., & Ali, A. (2007). Status of terpenes as skin penetration enhancers. *Drug Discovery Today*, *12*(23/24), 1061-1067.
- Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts. *Food Chemistry*, *104*, 21-29.
- Atakpama, W., Kponor, E. G., Kanda, M., Dourma, M., Nare, M., Batawila, K., & Akpagana, K. (2014). Moringa oleifera lamarck (moringaceae) : une ressource phytogénétique à usage multiple. *Rev. comes*, *2*(1), 15.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, *99*, 191-203.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *medecine/sciences*, *22*, 266-272.
- Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M., Malaisse, W. J., & Sener, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of Citrullus colocynthis seeds extracts. *Asian Pac J Trop Biomed*, *3*(1), 35-40.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.*, *5*(1), 9-19.  
doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613
- Bouaziz, F., KOUBAA, M., Chaabene, M., Barba, F. j., Ghorbel, R. E., & Chaabouni, S. E. (2016). High throughput screening for bioactive volatile compounds and polyphenols from almond (prunus amygdalus) gum: assessment of their antioxidant and antibacterial activities. *Journal of food processing and preservation*, 00-00.
- Charoensin, S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of Moringa oleifera leaves. *Journal of Medicinal Plant Research*, *8*(7), 318-325.
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, *6*, 75-82.

- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). Dans B. Buchanan, W. Gruissem, & R. Jones, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (pp. 1250-1318). American Society of Plant Physiologists.
- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006). *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human Diet*. Blackwell Publishing.
- De Carvalho, C. C., & Da Fonseca, M. M. (2006). Biotransformation of terpenes. *Biotechnology Advances*, 24, 134-142.
- De Saint Sauveur, A., & Broin, M. (2006). L'utilisation des feuilles de *Moringa oleifera* contre les carences alimentaires : un potentiel encore peu valorisé. *Réseau Moringanews*, 8.
- Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*, 63, 10-19.
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., . . . Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 505-567.
- Farhat, M. B., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A., & Jordán, M. J. (2013). Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49, 904-914.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*, 108-115.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr*, 390-396.
- Foidl, N., Makkar, H. P., & Becker, K. (2001). Potentiel de *moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. *Potentiel de développement des produits du Moringa*, 20.
- Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F. J., & Mantecón, A. R. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191-202.
- Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., & Kakai, R. L. (2018). Status and utilisation of *moringa oleifera* Lam : a review. *African Crop Science Journal*, 26(1), 137-156.
- Godinez-Oviedo, A., Guemes-Vera, N., & Acevedo-Sandoval, O. A. (2016). Nutritional and phytochemical composition of *moringa oleifera* Lam and its potential use as nutraceutical plant: a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 15(4), 397-405.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62(10), 628-638.
- Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68, 2831-2846.
- Hussain, G., Rasul, A., Anwar, H., Aziz, N., Razzaq, A., Wei, W., . . . Li, X. (2018). Role of Plant Derived Alkaloids and Their Mechanism in Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Biological Sciences*, 14(3), 341-357.
- Iserin, P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Hong Kong: Larousse.
- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *J Herbmed Pharmacol.*, 7(1), 1-7.

- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392.
- Karagözler, A. A., Erdag, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111, 400-407.
- Karou, D., Dicko, M. H., Simpore, J., & Traore, A. S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4(8), 823-828.
- Karou, S. D., Tchacondo, T., Ouattara, L., Anani, K., Savadogo, A., Agbonon, A., . . . Simpore, J. (2011). Antimicrobial, antiplasmodial, haemolytic and antioxidant activities of crude extracts from three selected Togolese medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 808-813.
- kholkhal, F., Lazouni, H. A., Bendahou, M., Boublenza, I., Chabane, S. D., & Chaouch, T. (2013). Coloratus phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *Afrique SCIENCE*, 9(1), 151-158.
- Koechlin-Ramonatxo, C. . . (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 165-177.
- Lafay, S., & Gil-Izquierdo, A. (2008). Bioavailability of phenolic acids. *Phytochem Rev*, 7, 301–311.
- Laleye, O. A., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V., & Laleye, A. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9(5), 2682-2700.
- Lapornik, B., Prosek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71, 214-222.
- Lugasi, A., & Hovari, J. (2003). Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages. *Nahrung/Food*, 47(2), 79–86.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*, 35-40.
- Maimone, T. J., & Baran, P. S. (2007). Modern synthetic efforts toward biologically active terpenes. *Nature Chemical Biology*, 3(7), 396-407.
- Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecine sciences*, 20(4), 458-463.
- Martin, K. R., & Appel, C. L. (2009). Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutrition and Dietary Supplements*, 1-12.
- Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., & Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(60), 12925-12933.
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants—Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. *Molecules*, 16, 2191-2217.

- Oniang'o, R., Grum, M., & Obel-Lawson, E. (2005). Developing African leafy vegetables for improved nutrition. *Regional Workshop*, 160.
- Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M., & Fiedurek, J. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 55, 315-327.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 223-239.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- Price, M. L. (2007). Le moringa. *Note technique d'ECHO*, 22.
- Rakotosamimanana, V. R. (2014). *Etude des pratiques et croyances alimentaires pour comprendre la malnutrition à Madagascar: intérêt de l'introduction de feuilles de Moringa oleifera*. Dijon: Alimentation et Nutrition. Université de Bourgogne.
- Ramonatxo, C. K. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 165-177.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.*, 53(10), 2866-288.
- Rodríguez-Pérez, C., R, Q.-P., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, 66, 246-254.
- Saini, R. K., Sivanesan, I., & Keum, Y.-S. (2016). Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*, 6(203), 14.
- Sayeed, M. A., Hossain, M. S., Chowdhury, M. E., & Haque, M. (2012). In vitro Antimicrobial Activity of Methanolic Extract of *Moringa oleifera* Lam. *Fruits. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(4), 94-98.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr*, 81, 215-217.
- Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 21-40.
- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., & Nacro, M. (2008). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*, 15, 41-49.
- Sewell, R. D., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). The history and ups and downs of herbal medicines usage. *J HerbMed Pharmacol.*, 3(1), 1-3.
- Singh, A., & Navneet. (2018). Ethnomedicinal, Pharmacological and Antimicrobial Aspects of *Moringa oleifera* Lam.: A review. *The Journal of Phytopharmacology*, 7(1), 45-50.
- Singh, B. N., Singh, B. R., Singh, R. L., Prakash, D., Dhakarey, R., Upadhyay, G., & Singh, H. B. (2009). Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1109-1116.

- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J.Sep.Sci.*, 30, 3268–3295.
- Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., & Stöckigt, D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of Chromatography A*, 967, 85-113.
- Sy, A. N., Fall, A. D., NDiaye, M., NDiaye, K., Gueye, R. S., Bassene, E., . . . Sy, G. Y. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) du Sénégal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 12(4), 1816-1823.
- Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., & Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *Biomed Res Int.*, 2013, 11. doi:10.1155/2013/251754
- Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2, 1231-1246.
- 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, 2196-2201.
- Vinoth, B., Manivasagaperumal, R., & Balamurugan, S. (2012). Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Moringa oleifera* Lam. *International Journal of Research in Biological Sciences*, 2(3), 98-102.
- Wilbon, P. A., Chu, F., & Tang, C. (2013). Progress in renewable polymers from natural terpenes, terpenoids, and rosin. *Macromol. Rapid Commun.*, 34, 8-37.
- Zongo, U., Savadogo, A., Zoungrana, S. L., Sékoné, P. L., & Traoré, A. S. (2013). Intérêt nutritionnel de *Moringa oleifera* Lam. (syn. *Moringa pterygosperma* C.F.Gaertn.). *Ethnopharmacologie*(50), 31-38.



