

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA FACULTE DES
SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par : Bendjeriou Naziha

Nougti Ilham

Thème

**Etude phytochimique et activités biologiques des
feuilles de *Moringa oleifera***

Devant le jury :

M^{me} SAYAH Zineb

Président

MCAUKM Ouargla

M^{me} ANNOU Ghania

Encadreur

MCB UKM Ouargla

M^{elle} TALLI Alia

Examineur

MCBUKM Ouargla

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

*Avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite*

*Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde Gratitude à **M^{me} Annou Ghania** notre promotrice pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses remarques, ses conseils et ses Orientations,*

*Nous tenons à remercier **M^{me} Sayah Zineb** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance*

*Nous tenons à remercier **M^{elle} Telli aliad** d'avoir gentillment accepté d'examiner et de juger notre mémoire, qu'ils trouvent ici notre sincère gratitude.*

*Nos remerciements sont adressés également à **Mr SAGGAI A.** d'avoir identifié la plante de *Moringa oleifera*, **M^{elle} Hadjadj S.**, **M^{elle} Hammoudi R.** pour leur soutien technique.*

Comme nous remercions également le staff de laboratoire interne de l'Hôpital Mohammed Boudiaf, laboratoire de l'Hôpital Slimane Amirate, Laboratoire de Bioressources d'avoir fournir les produits nécessaires pour les analyses.

Enfin, nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail pour lequel nous avons tant consacré en y mettant aussi tout notre cœur.

Ilham & Naziha

Dédicaces

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail :

A la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie, Ma Mère « *Nadjia* »
et Mon cher Papa « *Rachid* » pour le courage et la sécurité

Remercie *M^{me} Annou Ghania* d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Ainsi qu'à mes chères sœurs « *kouloud, Hana, Nassira, Khadija* »

A mon Cher frère « *Ahmed Farhat* »

À ma chère binôme « *Ilham* » qui a partagée avec moi les
moments difficiles de ce travail.

Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

A vous tous merci.

Naziha

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde **mon père et ma mère** à qui je dois le mérite d'être arrivée là, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et mon affection.*

*À mes chers frères : **Hicham et Houssam***

*À mon adorable sœur : **Ikram***

*A mon cher binôme : **Naziha***

*À notre promoteur **M^{me} Annou Gania** pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*À tous mes amis proches : **Sendous, Djihad, Hanane, Imane, Manar, Israa***

A tous ceux que j'aime et que je respecte et tous qui me connaissent de près ou de loin.

&ILHAM

Liste d'abréviations

DMSO: Dimethyl Sulfoxide

DO: Densité Optique.

DPPH:2,2-diphényl-1-picrylhydrazine

EC50: Concentrations Efficaces à piégé 50%.

FeCl₃: Chlorure ferrique.

Fe²⁺: Fer ferreux.

Fe³⁺: Fer ferrique.

FRAP: Pouvoir Antioxydant Réducteur Ferrique.

g: gramme.

h:heure.

HDL: High Density Lipoprotein.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

IC₅₀: Concentration Inhibitrice 50%.

LDL: Low Density Lipoprotein.

m: mètre.

mg/ml: milligramme par millilitre.

min :minute.

s : seconds.

ml : millilitre.

M. oleifera* :Moringa oleifera.*

PI : Pourcentage d'inhibition.

PPM : phosphomolybdate.

TCK : Temps de céphaline kaolin.

TP :Taux de prothrombine.

TQ :Temps de Quick.

V/V : Rapport volume par volume.

VLDL: Very Low-Density Lipoprotein.

μl :microlitre.

Liste des Figures

Numéro	Titre	Page
01	Répartition géographique de <i>Moringa oleifera</i>	05
02	Aspect général de l'espèce <i>Moringa oleifera</i> et ses différentes parties	07
03	Structures de différents sous classes des flavonoïdes	13
04	Structure de base des acides phénoliques	14
05	Structure des tanins ; (a) tanins hydrolysables. (b) tanins condensés	14
06	Principales réactions conduisant à la production des ROS	21
07	Antioxydants naturels séparés en classes.	23
08	Voies de la coagulation	25
09	Feuilles de <i>Moringa oleifera</i> sèches et leur poudre obtenue	31
10	Etapes de la macération de feuille <i>M. oleifera</i>	32
11	Mécanisme réactionnel lors de test de DPPH	35
12	Préparation de plasma, a. sang totale citraté, b. centrifugation du sang totale, c. aspect du plasma obtenu (surnageant).	37
13	Matériel utilisé pour l'évaluation de TQ	38
14	Niveau de reconnaissance (a) et d'utilisation (b) de moringa par la population Questionnée	41
15	Rendement de différents extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	42
16	Teneurs de différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en polyphénols	43
17	Teneurs de différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en flavonoides	44
18	Teneurs de différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en tanins condensé et hydrolysable	45
19	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH •	47

20	Capacité antioxydante totale par test de phosphomolybdate de différents extraits	48
21	Activité antioxydante par test de piégeage de H ₂ O ₂	49
22	Activité antioxydante de différents extraits selon le test de FRAP	52
23	Activité anticoagulante de différents extraits de voie exogène	54
24	Activité anticoagulante de différents extraits de voie endogène	55

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Composition moyenne des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en nutriment	08
II	Teneur des feuilles de <i>M. oleifera</i> en minéraux, acides aminés et en vitamines	09
III	Quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles de <i>M. oleifera</i>	15
IV	Quelques alcaloïdes identifiés dans les feuilles de <i>M. oleifera</i>	17
V	Quelques Terpénoides identifiés dans les feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	18
VI	But et mode d'utilisation de moringa chez la population questionnée	40

Table de matière

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Partie I. Synthèse bibliographique	Page
Chapitre I : Présentation de l'espèce <i>Moringa oleifera</i>	
I. 1. Présentation de genre <i>Moringa</i>	05
I.2. Présentation de l'espèce <i>Moringa oleifera</i>	05
I.2. 1. Origine et répartition géographique	05
I.2.2. Classification systématique de <i>Moringa oleifera</i>	06
I.2.3. Description botanique de <i>Moringa oleifera</i>	06
I.3. Valeur nutritionnelle des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	08
I.4. Domaines d'utilisation de <i>Moringa oleifera</i>	09
I.4.1. Usage nutritionnel	09
I.4.2. Usage en médecine traditionnelle	09
I.4.3. Usage dans la purification de l'eau	10
Chapitre II. Métabolites secondaires contenus dans les feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	
II.1. Définition des métabolites secondaires	12
II.2. Définition des Composés phénoliques	12
II.2.1. Flavonoïdes	13
II.2.2. Acides phénoliques	14
II.2.3. Tanins	14
II.2.4. Contenus des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en polyphénols	15
I.3. Alcaloïdes	16

II.3.1. Définition des alcaloïdes	16
II.3.2. Alcaloïdes identifiés dans les feuilles de <i>M. oleifera</i>	17
II.4. Terpénoïdes	18
II.4.1. Définition des terpénoïdes	18
II.4.2. Contenus de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en terpénoïdes	18
Chapitre III. Activités biologiques de <i>Moringa oleifera</i>	
1. Présentation des activités biologiques à étudier	21
1.1. Activité antioxydante	21
1.1.1. Radicaux libres et stress oxydatif	21
1.1.2. Antioxydants	22
1.1.3. Activité antioxydante de <i>Moringa oleifera</i>	23
1.2. Activité anticoagulation	24
1.2.1. Concept de l'hémostase	24
1.2.2. Définition de la coagulation	24
1.2.3. Voie endogène ou intrinsèque	24
1.2.4. Voie exogène de la coagulation	25
1.2.5. Voie commune	25
1.2.6. Activité anticoagulante de <i>Moringa oleifera</i>	26
2. Présentation de certaines d'autres activités	26
2.1. Activité antidiabétique	27
2.2. Activité antimicrobienne	27
2.3. Activité anticancéreuse	28
2.4. Activité Anti-inflammatoire	28
2.5. Activité hypo-tensif	28
2.6. Autres Activités	28
Partie II. ETUDE EXPERIMENTALE	
Chapitre I. Matériels et méthodes	
I.1. Enquête ethnobotanique sur terrain	31
I.2. Récolte de matériel végétale et leur préparation	31
I.3. Préparation des extraits	32
I.4. Dosages colorimétriques des composés phénoliques	33
I. 4.1. Dosage des polyphénols totaux	33
I.4.2. Dosage des flavonoides	33

I.4.3. Dosage tanins condensés	34
I.4.4. Dosage tanins hydrolysables	34
I.5. Evaluation des activités biologique des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	34
I.5.1. Evaluation de l'activité antioxydant	34
I.5.1.1. Activité antioxydante par piésage de radical libre DPPH'	34
I.5.1.2. Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate	35
I.5.1.3. Evaluation de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène	36
I.5.1.4. Test de réduction du fer (FRAP : Ferric reducing antioxidant power)	36
I.6. Evaluation de l'activité anticoagulante	37
I.6.1. Préparation du pool plasmatique	37
I.6.2. Evaluation de l'activité anticoagulante suivant la voie exogène (test de TQ/TP)	38
I.6.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène	38
Chapitre II. Résultats et discussions	
1. Enquête ethnobotanique	40
1.1. Résultats	40
1.2. Discussion	41
2. Rendement de l'extraction de <i>Moringa oleifera</i>	41
2.1. Résultats	41
2.2. Discussion	42
3. Dosage des métabolites secondaires	43
3.1. Teneurs de différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en polyphénols	43
3.1.1. Résultats	43
3.1.2 Discussion	44
3.2. Teneurs de différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en flavonoïdes	45
3.2.1. Résultats	45
3.2.2 Discussion	45
3.3. Teneurs de différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> en tanins hydrolysables et en Tanins condensés	46
3.3.1. Résultats	46
3. 3.2 Discussion	48

4. Activités biologiques de <i>Moringa oleifera</i>	49
4.1. Activité antioxydante	49
4.1.1. Résultats	49
4.1.1.1. Activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH ·	49
4.1.1.2. Capacité antioxydante totale par Test de phosphomolybdate	50
4.1.1.3. Test piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)	51
4.1.1.4. Activité antioxydante par réduction de Fer (FRAP)	51
4.1.2. Discussion	52
4.2. Activité anticoagulante	54
4.2.1. Résultats	54
4.2.1.1. Activité anticoagulante par la voie exogène	54
4.2.1.2. Activité anticoagulante par la voie endogène	55
4.2.2. Discussion	56
Conclusion	60
Références bibliographiques	63
Annexes.	

Introduction

Introduction

La médecine alternative, douce ou nommée également complémentaire est basée sur l'usage des plantes médicinales. Ces dernières, entières ou en partie ; racine, feuille, fleur, fruit ou graine, possèdent des propriétés biologiques préventives ou curatives très intéressantes envers des maladies humaines, animales et végétales. Ce qui lui confère diverses applications en médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture (Dillemann, 1991 ; Chabrier, 2010).

Les évaluations pharmacologiques et toxicologiques sur ces plantes médicinales, sont essentielles pour leur inscription dans la pharmacologie et la recherche et le développement de médicaments (Abd Rani *et al.*, 2018).

Le genre *Moringa* est décrit dans la littérature comme une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal. Ce genre appartient de la famille des Moringacé, comprend 13 espèces réparties dans le sud-ouest de l'Asie, le sud-ouest et le nord-est de l'Afrique et Madagascar. L'espèce *Moringa oleifera* Lam., originaire de l'Inde, est largement étudiée. En conséquence, cette espèce a été cultivée dans le monde entier (Abd Rani *et al.*,2018) y compris l'Algérie (Foidl *et al.*,2001). En plus de leur vertus médicinales, *Moringa oleifera* est utilisée dans la purification des eaux usées, la restauration des sols (Agroforesterie), la reconstitution des minéraux et autres substances diminués dans les sols (Pamoet *et al.*,2005 ; Zongo *et al.*,2013 ; Sagai, 2018).

Atakpama *et al.* (2014) ; Shousha (2019) Ont signalé que chaque partie de *Moringa oleifera* (feuilles, graines, tiges et racines) est considérée comme un réservoir des phytonutriments qui lui attribuent des multiples avantages, méritent d'être valoriser et profités. En plus de la présence de minéraux comme le calcium, le potassium, le zinc, le magnésium, le fer, le cuivre, le sélénium, le phosphore...etc., les feuilles et les graines de moringa sont très riche en composés phytochimiques, essentiellement les polyphénols, les enzymes (acide ascorbique oxydase, polyphénol oxydase et catalase) et les vitamines, principalement, les vitamines C, D, E, A, B (B6, B9, B3).

La diversité des composés bioactifs explique les propriétés pharmacologiques extraordinaires, surtout, des feuilles de *Moringa oleifera*, ces propriétés sont confirmées par de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*. On compte particulièrement les activités : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, hypotensif, antispasmodique, antidépressante, antileucémique, immunostimulante, hypoglycémiant, antiviral, hypocholestérolémique, antileishmanial, anticancéreuse...etc. (Atakpama *et al.*,2014 ; Vergara-Jimenez, 2017 ; Abd Rani *et al.*,2018 ; Wembonyama, 2021). Parmi ces différentes activités, on suggère que l'activité antioxydante, qui maintien l'homéostasie oxydatifs, est la plus essentielle, en agissant

contre les stressés physiques, psychologiques et les facteurs environnementaux. Diverses recherches ont montré qu'une alimentation riche en antioxydants naturels est associée à une meilleure qualité de vie et de santé (Seyidogluet Aydin, 2020). En effet, des ressources végétales riches en composés polyphénoliques, caroténoïdes, oligoéléments et vitamines comme les feuilles de *Moringa oleifera* Lam. Peuvent être utilisées pour la prévention de stress oxydatifs et par conséquent de nombreuses pathologies comme les ulcères, les cancrs et les inflammations (Ndiaye *et al.*, 2018).

Une autre déficience qui pose réellement un problème de santé publique est la thrombose. Cette dernière représente l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans les maladies cardiovasculaire (Memariani *et al.*, 2018). La thrombose artérielle cause 10 millions de décès chaque année dans le monde. La prévalence de la thrombose veineuse et l'infarctus du myocarde et de 1 ou 2 cas sur 1000 par an. La warfarine et l'héparine sont les agents anticoagulant antithrombolique les plus utilisés, mais de nombreux effet notoire notamment leur pouvoir thérapeutique limité, la nécessité d'ajuster la dose et leur potentiel élevé d'interactions avec d'autre médicaments ou même des plantes médicinale (Leite *et al.*, 2021). Pour ces raisons de nombreuses études et investigations se focalisent sur l'activité anticoagulante des plantes médicinales à l'espérance d'avoir des nouveaux remèdes naturels plus efficaces et sans effets secondaire néfaste (Neu, 2011 ;Duricet *al.*, 2015).

C'est à ce niveau d'appréhension que s'inscrit notre travail dont l'objectif réside dans la mise en valeur de *Moringa oleifera* par une enquête ethnobotanique afin de rechercher la fréquence, l'intérêt et leur mode d'utilisation dans la région de Ouargla. Et l'étude phytochimique de différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera*, obtenus par solvants à polarité croissantes, et l'évaluation de leur pouvoir antioxydant et anticoagulant.

Le présent document est structuré en deux parties, la première porte sur une étude bibliographique scindé en trois chapitres. Le premier présente l'espèce étudiée, le deuxième montre leur contenu en métabolites secondaire et le troisième illustre leurs activités biologiques. La seconde partie porte sur le travail pratique réalisée, présenté en deux chapitres montrant le matériel utilisé et la méthodologie adoptée suivie par les résultats obtenus et leur discussion. Enfin une conclusion achèvera notre manuscrit.

Première partie
Synthèse
bibliographique

Chapitre I

Présentation de l'espèce *Moringa oleifera*

Chapitre I. Présentation de l'espèce *Moringa oleifera*

1. Présentation de genre *Moringa*

Le genre *Moringa* appartient à la famille des Moringaceae, la seule famille des arbres et des arbustes qui possède 13 espèces, qui sont : *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. longituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*, *M. rivae*, *M. ruspoliana*, *M. stenopetala* et *M. oleifera* (Zongo *et al.*, 2013 ; Atakpama *et al.*, 2014). *Moringa* est cultivé essentiellement en Afrique et en Asie sur tout dans les zones tropicale et subtropicale. Cet arbre est caractérisé par sa forte adaptation aux différents environnements y compris la sécheresse et les conditions arides en raison de leurs racines tubéreuses. L'ensemble de l'arbre de *Moringa* (feuilles, grains, fleurs, gousses vertes et racines) est exploité dans divers domaines : alimentaires, médicinales et nutraceutiques. Comme elle est utilisée dans la purification des eaux usée, la production de biodiesel ...etc. (Maizuwo *et al.*, 2017).

2. Présentation de l'espèce *Moringa oleifera*

2. 1. Origine et répartition géographique

La région originaire de *M. oleifera* est le sud-est de l'Indes précisément les deux régions, Agra et Oudh et le sud de la chaîne de montagne de Himalaya. Leur culture est établie depuis des milliers d'années (Foidl *et al.*, 2001). Elle a été introduite dans les régions tropicales et subtropicales en Afrique de l'Est, au début du 20ème siècle. Il pourrait être trouvé jusqu'à 1350 mètres d'altitude. *Moringa oleifera* est, actuellement, répartie dans de nombreux pays tropicaux et subtropicaux d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine (Ramaroson Rakotosamimanana, 2014) (figure01)

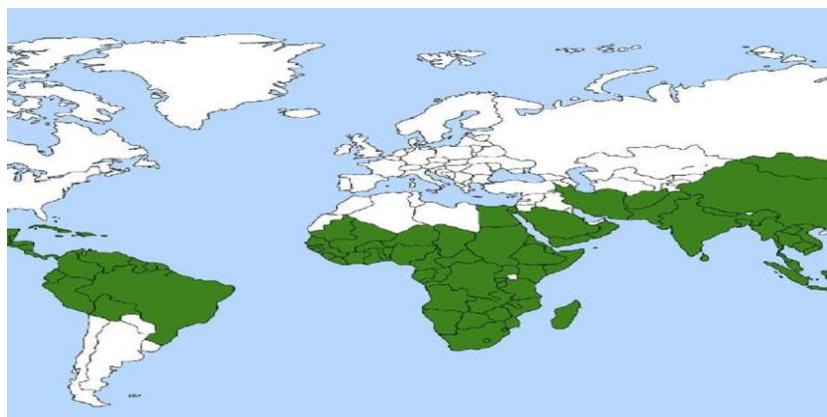


Figure. 01 : Répartition géographique de *Moringa oleifera* (Ramaroson Rakotosamimanana, 2014).

2.2. Classification systématique de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est classée systématiquement comme suit :(Chukwuebuka, 2015).

Règne	Planta
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Brassicales
Famille	Moringaceae
Genre	Moringa
Espèce	<i>Moringa Oleifra</i>

2.3. Description botanique de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera porte plusieurs synonyme, *Moringa pterygosperma* Gaernt, *Hyperanthera moringa* (L.) Vahl, *Moringa zeylanica* Burmann (Agroconsult,2016). C'est un arbre pérenne, relativement petit qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur. Il a une croissance rapide, car sa longueur varie de 1,5 à 3 mètres avant ramification (Yang *et al.*,2006). Le diamètre de son tronc varie de 20 à 40 cm. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol (Foidl *et al.*,2001). *Moringa oleifera* est caractérisée par des feuilles alternées, bi ou tripennées, d'une longueur allant de 20 à 70 cm. Ses feuilles matures, de couleur vert foncé, sont généralement plus riches en nutriments (Sauveur et Broin, 2010). Les fruits sous forme de gousses à trois lobes, de 20 à 60 cm de longueur et portent chacune entre 12 et 35 graines, sont situées sous les branches. Les graines sont rondes, ailées, avec une coque marron semi-perméable, un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an. Une graine pèse en moyenne 0,3 g et la coque représente 25% du poids de la graine. Les fleurs de *Moringa oleifera* sont abondantes, blanches ou crémeuses, d'odeur agréable, mesurent environ 2,5 cm de largeur, sous forme de grappes axillaires tombantes de 10 à 25 cm (Hédji *et al.*, 2014).

L'aspect général de *Moringa oleifera* et ses différentes parties sont illustrés dans la figure 2.



a. Aspect générale de l'arbre de *Moringa oleifera*



b. Feuilles de *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin.,2010).



c. Fleurs de *Moringa oleifera* (Foidlet *al.*, 2001).



d. Graines de *Moringa oleifera*(Agroconsul., 2016).



e. Jeunes feuilles *Moringa oleifera* (Yang *et al.*,2006).

Figure 02 : Aspect général de l'espèce *Moringa oleifera* et ses différentes parties.

3. Valeur nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*

Chaque partie de *M. oleifera* représente un réservoir important de nutriments et de micronutriments. Les oligoéléments, essentiellement le calcium, le potassium, le zinc, le magnésium, le fer et le cuivre le sélénium et d'autres sont fortement présents dans les feuilles. Comme elles renferment des vitamines, avec des proportions importantes, sur tous, les vitamines A, C, D, E et la famille B (B1, B2, B3, B9). Etant donné que, les feuilles de Moringa renferment quatre fois plus de vitamine A que les carottes, sept fois plus de vitamines C que les oranges, cinq fois plus de vitamine E que les amandes, quatre fois de calcium que du lait, trois fois plus de fer que les épinards, trois fois plus de potassium que les bananes et deux fois plus de protéines que le yaourt. Grace à la valeur calorique faible des feuilles de Moringa, celle-ci représente un super complément pour les obèses et les diététiques (Gopalakrishnan *et al.*, 2016).

Les gousses et les feuilles de *Moringa oleifera* sont très riches en fibres alimentaires, une consommation régulière de ces produits prévient efficacement les problèmes digestifs et le cancer du côlon (Oduro *et al.*, 2008). Une huile de bonne qualité nutritive pourrait être extraite à partir des graines de *M. oleifera*, riche en acides gras insaturés tels que l'acide linoléique, l'acide linoléique et l'acide oléique, ce dernier représente 71.60%. Les feuilles de Moringa sont pourvues de tous les acides aminés essentielles, une des caractéristiques rares des produits naturels. Cependant, une des contraintes qui pose le problème de mal biodisponibilité, est l'existence des anti-nutriments comme les cyanures, les phytates et les oxalates dans les différentes parties de *M. oleifera*. Par conséquent, il est de préférence de les consommer cuites.

Les teneurs des feuilles de *M. oleifera* en nutriments sont enregistrées dans le tableau I. **Tableau I : Composition moyenne des feuilles de *Moringa oleifera* en nutriment**

(Sodjinouet *et al.*, 2018).

Composé	Teneurs (g/100g MS)
Protéines	25
Glucides	40
Lipides	08
Teneur en eau	75%

Tableau II : Teneur des feuilles de *M. oleifera* en minéraux, acides aminés et en vitamines (Sodjinou *et al.*, 2018).

Minéraux (mg)	Teneur/100gMS	Acides aminés (mg)	Teneur	Vitamines (mg)	Teneur
Calcium	2100	Arginines	1600	Vit. A	8.9
Cuivre	1	Histidines	530	Vit. B1	2.6
Fer	27	Leucines	2050	Vit. B2	20.5
Potassium	1300	Lysines	1200	Vit. B3	8.2
Magnésium	405	Méthionines	370	Vit. B9	9
Phosphore	310	Phénylalanines	1400	Vit. C	17.3
Manganèse	8	Thréonine	1080	Vit. E	80
Sélénium	2,6	Tryptophane	580		
Zinc	2,6	Valines	1400		
Molybdène	0,5	Isoleucine	1140		
Sodium	100				

4. Domaines d'utilisation de *Moringa oleifera*

L'arbre *Moringa oleifera* confère diverses applications dans plusieurs domaines : nutritionnel, médicinal, environnemental et d'autres.

4.1. Usage nutritionnel

La richesse de l'arbre miraculeux, *Moringa oleifera*, en nutriments, lui permet d'être introduit dans certains programmes de lutte contre la malnutrition, en particulier au Sénégal, en Inde, au Bénin et au Zimbabwe (Sauveur et Broin, 2006).

De plus, plusieurs auteurs ont signalé que la consommation régulière des feuilles de *M. oleifera* participe au bon déroulement de la croissance cellulaire, la prévention et le traitement de l'anémie et de l'ostéoporose, renforcement de système immunitaire et d'autres maladies liées à la mal nutrition (Yang *et al.*, 2006).

4.2. Usage en médecine traditionnelle

Moringa oleifera est utilisé dans la médecine traditionnelle transmise depuis des siècles dans de nombreuses cultures à travers le monde, pour le traitement d'un large spectre des maladies et des perturbations. Selon les traditions indiennes anciennes de l'ayurveda, les feuilles de l'arbre *Moringa* préviennent 300 maladies. On peut compter parmi celle-ci, les infections cutanées, l'anémie, l'anxiété, l'asthme, les problèmes cutanés, les impuretés du sang, la

bronchite, le catarrhe, la congestion pulmonaire, le choléra, la conjonctivite, les toux, la diarrhée, les infections des yeux et des oreilles, la fièvre, la glandulaire, les œdèmes, les maux de tête, la tension artérielle anormale, l'hystérie, les douleurs articulaires, les boutons, la psoriasis, les troubles respiratoires, le scorbut, l'insuffisance de sperme, inflammation de larynx, la tuberculose, les parasites intestinales, la stimulation de la lactation, le diabète gestatif, l'anémie falciforme, les inflammations ...etc. (Thierry, 2011 ; Adikpeto et Behanzin, 2015 ; Wembonyama, 2021 ; Khan *et al.*, 2021). Fuglie (2001) et Mahmood (2010) ont également testé l'efficacité de l'huile de Moringa dans le soin du corps et des cheveux comme hydratant et revitalisant.

4.3. Usage dans la purification de l'eau

La contamination des sols et des ressources de l'eau par des produits chimiques nocifs, suite à la progression de l'industrialisation et de l'urbanisation est un problème alarmant. Ce problème menace la vie de tous les êtres vivants y compris l'Homme. Les graines de Moringa en poudre contiennent des polyélectrolytes cationiques qui agissent comme un flocculant naturel pour clarifier même les eaux les plus troubles. La poudre de graines peut également éliminer 90 à 99 % des bactéries contenues dans l'eau (Price, 2007, Mahmood *et al.*, 2010). La purification de l'eau commence par flocculation, sédimentation, antibiose et peut même réduire la concentration de *Schistosomes cercaires* (trématode parasite responsable de la maladie de bilharziose). A cet effet, Moringa peut remplacer l'usage des épuratifs chimiques comme le sulfate d'aluminium, dangereux pour les être vivant et l'environnement (Koul, 2015).

Chapitre II

Métabolites secondaires contenus dans les feuilles de *Moringa oleifera*

II. Métabolites secondaires contenus dans les feuilles de *Moringa oleifera*

1. Définition des métabolites secondaires

Le métabolisme des plantes est scindé en deux branches, les métabolites primaires qui remplissent des rôles métaboliques essentiels en participant à la nutrition et à la reproduction. Cependant, le métabolisme secondaire est souvent impliqué par les plantes mais il n'est pas nécessaire à leur vie. Ce métabolisme joue un rôle essentiel dans l'interaction de la plante avec son environnement. Les métabolites secondaires sont synthétisés par les plantes afin de se protéger contre les stress biotiques ou abiotiques. Ce type des molécules est hautement exploitées par l'Homme dans la synthèse des produits chimiques, comme les médicaments, les arômes, les parfums, les insecticides et les colorants, en occupant de ce fait une grande valeur économique (Saurabh *et al.*, 2015). Les métabolites secondaires sont répartis différemment dans le règne végétal avec des niveaux d'accumulation qualitative et quantitative variables (Haas et Drago, 2015). Le nombre total de métabolites secondaires produites par les plantes est estimé entre 500 000 et 600 000, représentent, principalement par les polyphénols, les alcaloïdes, les terpénoïdes (Saidi, 2019 ; Macheix *et al.*, 2005).

2. Définition des composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent une grande classe de métabolites secondaires végétaux, montrant une diversité structurale, Ils sont caractérisés par au moins un cycle aromatique substitué par un ou plusieurs groupes hydroxyles (Koné, 2018). Ces composés présentent dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs et graines). Plus de 8000 structures phénoliques sont identifiées, les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (Vandiet *et al.*, 2016). Les vertus thérapeutiques de ces composés sont prouvées. En effet, la protection par exemple contre plusieurs maladies (cancers, maladie d'Alzheimer, troubles cardiovasculaires, ...etc.) est due à leurs propriétés antioxydantes (Kabran *et al.*, 2014). Les composés phénoliques sont classés en six sous classes ; les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les coumarines, les stilbènes et les lignines (Sonia et Jean, 2011).

2.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, dont plus de 6000 composés ont été identifiés, sont structurés d'un squelette à 15 atomes de carbone composée de deux phényle (A et B), liés par un hétérocycle pyranne ou pyrone (C) (Sonia et Jean, 2011). En fonction de leurs substituant, les flavonoïdes sont principalement constitués de flavanols, d'anthocyanidines, de flavanones, de flavones et de chalcones (Tableau III). Un large spectre d'activités biologiques est attribué par les flavonoïdes, principalement, les activités antivirales, anti tumorales, anti-inflammatoire, anti hypertensives, antiallergiques et anticancéreuses et autres (Dongock *et al.*, 2018).

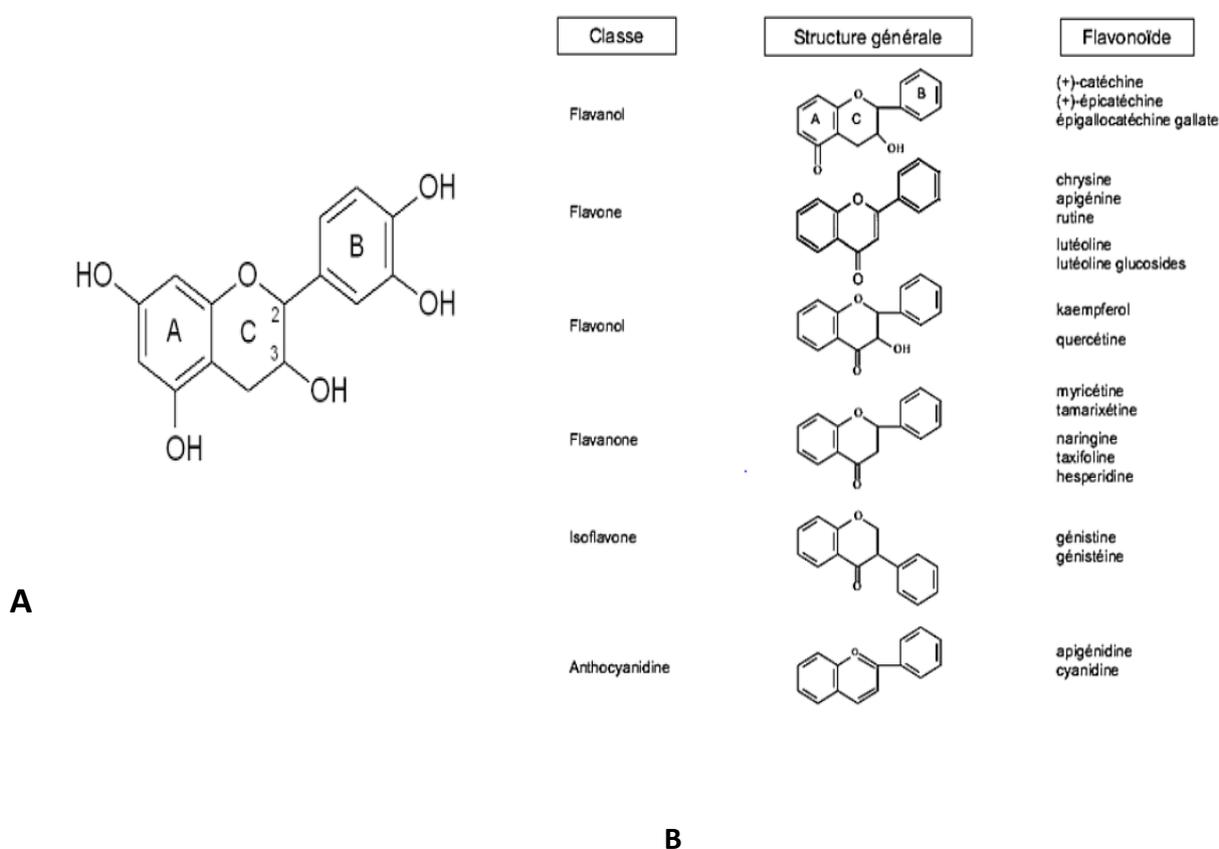


Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes (A), Structures de différents sous classes des flavonoïdes(B) (Heim *et al.*, 2002).

2.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont constitués d'un noyau phénol qui porte une fonction carboxylique en structure hydroxycinnamiques ou structure hydroxybenzoïques (figure 04).

Certains phénols, bien qu'il porte une fonction aldéhyde, mais sont classé avec les acides phénoliques ; exemple de la vanilline. Certains acides comme l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide vanillique, l'acide férulique et l'acide protocatéchuique sont presque des composés ubiquitaires des plantes (Robbins, 2003).

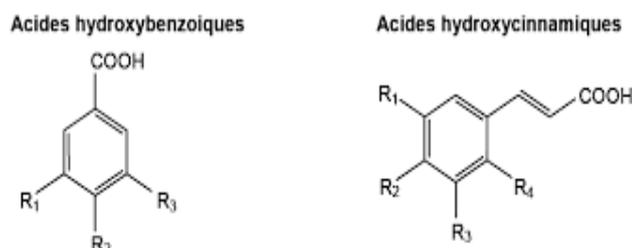


Figure 04 : Structure de base des acides phénoliques (Macheix et al., 2005).

2.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles qui précipitent les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Leur concentration dans les feuilles séchées varie entre 13,2 et 20,6 g de tanin/kg. Les tanins ont été rapportés comme ayant des propriétés antioxydants, anticancéreuses, anti-athérosclérotiques, anti-inflammatoires et anti-hépatotoxiques...etc (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017). Selon leur réactivité chimique et leur composition, les tanins sont classés en tannins hydrolysables et en tannins condensés (proanthocyanidines ou procyanidines) (Macheix *et al.*, 2005 ; Koné, 2009).

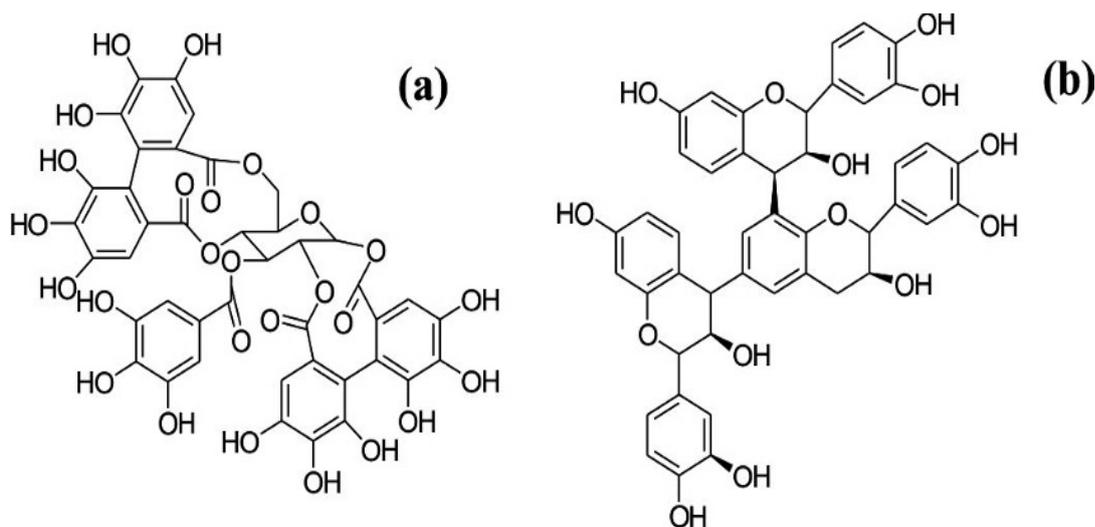
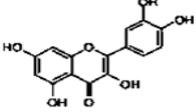
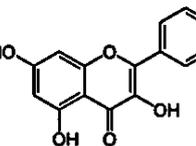
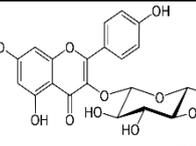
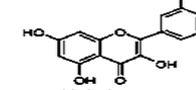
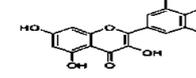
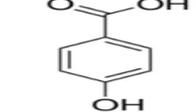
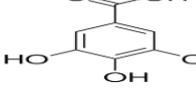
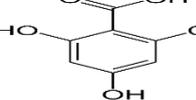


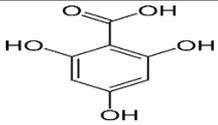
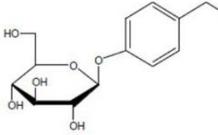
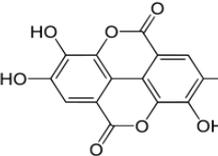
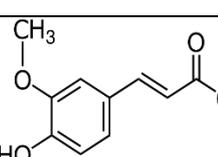
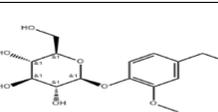
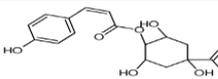
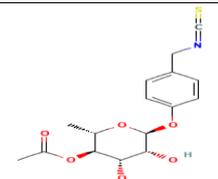
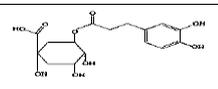
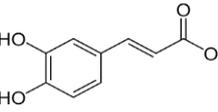
Figure 05 : Structure des tanins ; (a) tanins hydrolysables. (b) tanins condensés (Bule et al., 2020).

2.4. Contenus des feuilles de *Moringa oleifera* en polyphénols

Les feuilles séchées de *M. oleifera* sont une excellente source de composés polyphénoliques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques. La plupart des flavonoïdes présents dans les feuilles de *M. oleifera* sont des flavanols et en forme glycosylés. Les plus identifiées de ces molécules sont la rutine, la quercétine, la rhamnétine, le kaempférol, l'apigénine (tableau III) (Wang *et al.*, 2017). Les acides phénoliques dans les feuilles de moringa sont également diversifiés. L'acide gallique est le principale composant, l'acide ellagique, l'acide férulique et l'acide caféique sont également présents en bon proportions (tableau III). Alors que, l'acide o-coumarique, l'acide chlorogénique, l'acide gentsique, l'acide syringique, l'acide r-coumarique et l'acide sinapique ne sont détectés qu'en très petites quantités (Abd Rani *et al.*, 2018).

Tableau III : Quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles de *M. oleifera*

	Nom de composé	Structure	Activités biologiques	Référence
Flavonoïdes	Quercetin et dérivés		Antioxydant, hypolipidémiant, hypotensives, antidiabétiques, anti-ulcérogène, anti-allergique, anticoagulant.	Ghedira (2005).
	Kampferol et dérivés (3,5,7-trihydroxy-2-[4-hydroxyphenyl]-4H-1-benzopyran-4-one)		Anti-tumoral, antifongique, anti-inflammatoire, anti-ischémique et vasodilatatrice	Chenglin <i>et al.</i> (2015) ; Yordanov (2008).
	Astragaline		Antioxydant, antiinflammatoire, hépatoprotecteur, neuro-protecteur, anti ostéoporose, antiulcéreux, anticancéreux, cardio-protecteur, usage cosmétologique	Riaz <i>et al.</i> (2018)
	Apigénin (4',5,7-trihydroxyflavone)		Anti-inflammatoires	Yordanov (2008).
	Myrécytine		Activité hypoglycémiant et hypotriglycéridémiant chez les animaux diabétiques	Ong (1997)
Acides phénolique et phénol glycosylés	P- Salicylic acid		Anti-fongique	Prithviraj <i>et al.</i> (1997).
	Acide gallique		Anti-fongique Anti-bactérienne	Saettone <i>et al.</i> (1986).
	3,4-Dihydroxybenzoic acid		Antioxydant, anti-inflammatoire, antihyperglycemic and antiapoptotic activities	Yoswaris <i>et al.</i> (2015)

2,4,6-Trihydroxybenzoic acid		Antioxydant, antiinflammatoire et anticancéreux	Ranjini <i>et al.</i> , (2019)
Gastrodine		Sedative, hypnotic, anti-vertigo, anti-epileptic, antidépresseur, anxiolytique, amélioration de la mémoire, anti-âge, baisse de la pression artérielle, prévention de l'ostéonécrose	Liu <i>et al.</i> , (2018)
Acide ellagique		Anti-âge, antioxydant, anti-inflammatoire, traitement de l'acné, antimutagène, antiprolifératif, antiallergique, antiathérosclérotique, cardioprotecteur, hépatoprotecteur, néphroprotecteur et neuroprotecteur	Sharifi-Rad (2022)
Acide ferulique		Antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, antiallergique, antimicrobien, antithrombotique, anticarcinogène et hépatoprotecteur	Kim (2019)
Vanilloside		Antimicrobien et anti-inflammatoire	Chen (2018) ; Meng, (2000).
4- <i>p</i> -Coumaroylquinic acid		Hypoglycémique, antiviral, hépatoprotecteur et immunostimulant.	Perrone (2008)
4-(4'-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl oxy) Benzylisothiocyanate		Antibactérien, Antitumoral, Anticancéreux, Hypotenseur, Anti-progestatif, Hypoglycémique, Anti-ulcéreux, Anti-hyperthyroïdisme; Hypocholésterolémiq, Purgatif et Antispasmodique.	Abd Rani <i>et al.</i> (2018)
Chlorogenic acid		Antibactérien, hypotenseur, antioxydant, anti-inflammation, antidiabétique et anti-obésité	Naveed <i>et al.</i> (2018).
Acide caféique (3,4-dihydroxycinnamic acid)		Anti-lipide-péroxydation, hypotenseur, antioxydant, anti-thrombose	Gülçin <i>et al.</i> (2006) ; Jianget <i>al.</i> (2005).

3. Alcaloïdes

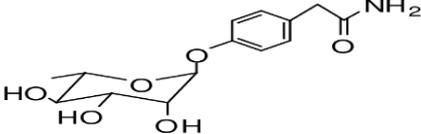
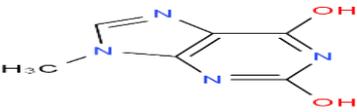
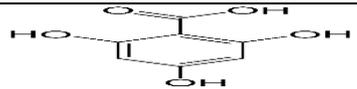
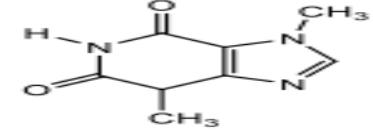
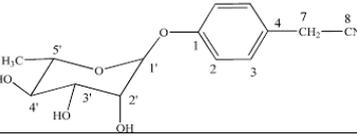
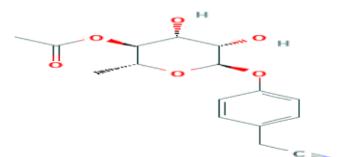
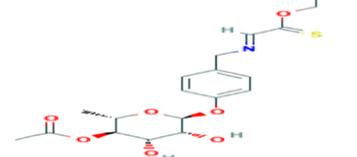
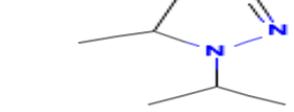
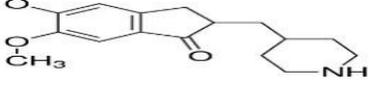
3.1. Définition des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale à caractère alcalin. La structure des alcaloïdes est hétérocyclique complexe avec un hétéroatome d'azote. Les alcaloïdes sont doués des propriétés physiologiques prononcées même à faible dose, ils contiennent plus de 12000 structures différentes (Muanda, 2010). Ils sont des phytoconstitués qui présentent diverses activités pharmacologiques entre autres le renforcement de l'activité cardiaque, l'excitation du système nerveux central et des nerfs sympathiques, la stimulation de la circulation sanguine (Dongock *et al.*, 2018).

3.2. Alcaloïdes identifiés dans les feuilles de *M. oleifera*

Deux nouveaux alcaloïdes glycosylés à noyau pyrrolique ont été isolés exclusivement des feuilles de *M. oleifera*, il s'agit de marumoside A et marumoside B. La structure de ce composé et d'autres alcaloïdes identifiés dans les feuilles de *M. oleifera* sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Quelques alcaloïdes identifiés dans les feuilles de *M. oleifera*

Nom de composé	Structure	Activité biologique	Référence
Marumoside A		Anti-inflammatoire (inhibition de TNF- α et IL-1 β)	Vudhgiri (2016)
9-Methylxanthine		Agissant sur les récepteurs de l'adénosine dans le système nerveux central, améliore l'éveil, l'humeur et les niveaux de concentration	Rafael <i>et al.</i> (2013)
Ethosuximide M3		Antipépléptique	Baulac (2005)
Theobromine		Antalgique, Antipyrétique, Antispasmodique, Diurétique	Lemordant (1979). Sánchez-Viesca, et Gómez (2019)
Niazirin		Activité Hypotensive	Faizi <i>et al.</i> (1994).
Niazirin		Activité Hypotensive	Faizi <i>et al.</i> (1994).
Niaziminin A and B		Inhibitors of tumor promoter teleocidin B-4-induced Epstein-Barr virus (EBV)	Murakami <i>et al.</i> , (1998)
2-Pyrazoline, 1-isopropyl-5-methyl-		Activité antibactérienne	Khandelwal <i>et al.</i> (2019).
5,6-Dimethoxy-piperidin-2-one		Anti-cancer, Antibactérienne Antihistaminique.	Kadhimet <i>et al.</i> (2014) et Kaur <i>et al.</i> (2015).

4. Terpénoïdes

4.1. Définition des terpénoïdes

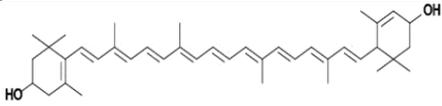
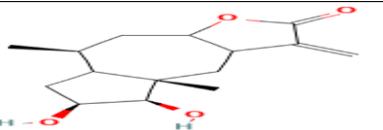
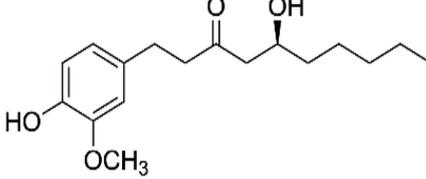
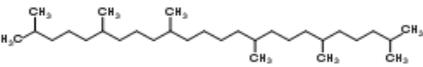
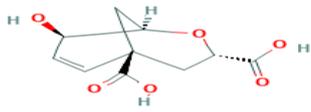
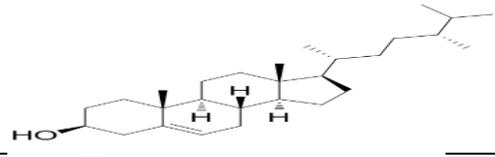
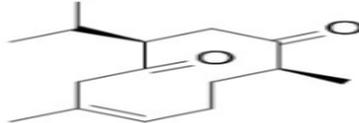
Les terpènes sont des métabolites secondaires à structure globale $(C_5H_8)_n$, l'unité de base est l'isoprène. Les terpènes sont décrits comme des terpénoïdes lorsque des groupes fonctionnels tels que des alcools, des aldéhydes ou des cétones sont présents dans leur structure chimique. L'une des classifications les plus appliquées pour les terpénoïdes est basée sur le nombre d'unités d'isoprène. Les monoterpénoïdes ont une structure chimique basée sur deux unités d'isoprène ($C_{10}H_{16}$) et expriment différents arrangements, acyclique, monocyclique et bicyclique. Les sesquiterpénoïdes présentent trois unités d'isoprène ($C_{15}H_{24}$), souvent structurées en cycles mono- et polycycliques simples à complexes. Les triterpénoïdes ($C_{30}H_{48}$) ont une large distribution dont plus de 40 squelettes carbonés différents sont connus. Les tétraterpénoïdes ($C_{40}H_{64}$) sont des polymères lourds et prennent également le nom de carotènes (Del Prado-Audelo *et al.*, 2021).

4.2. Contenus de feuilles de *Moringa oleifera* en terpénoïdes

Les terpénoïdes dans les feuilles de *M. oleifera* sont diversifiés. Certains de ces métabolites sont présentés dans le tableau V. Il est important de signaler que les feuilles de *M. oleifera* représentent une bonne source de saponines, composés naturels constitués d'un aglycone dérivé d'isoprénoïde, lié de manière covalente à un ou plusieurs fragments de sucre. Les concentrations de saponines dans les feuilles lyophilisées de *M. oleifera* varient entre 64 et 81 g/kg de feuilles sèches. Ces composés ont des propriétés anticancéreuses (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017).

Tableau V: Quelques terpénoïdes identifiés dans les feuilles de *Moringa oleifera*.

Le majeur terpène, de type caroténoïde, trouvé dans les feuilles de *M. oleifera* est la lutéine (Abd Rani, 2018). Ces feuilles renferment également d'autres alcaloïdes dont les principaux sont présentés dans le tableau V

Nom du composé	Structure	Activités biologiques	Références
Lutéine		Antioxydant, protection oculaire, protection dermatologique	Palombo (2007).
Cumanin		Activité anti inflammatoire	Lastra <i>et al.</i> (2004).
Gingerol		Anticancer, anti-inflammation, anti-oxidatant. Regulateur de cycle cellulaire, activité cytotoxique et inhibiteur de l'angiogenèse	Wang <i>et al.</i> (2014).
Squalane		Anticancer, antioxydant, anti-infectant, antibactérien antifongique	Kim <i>et al.</i> , (2012).
2-Exo-hydroxy-5-ketobornane (Bicyclic terpénoïde)		Activité antioxydant	Cartusiana, (2020).
Copaene		Activité antioxydant antigénotoxique	TÜRKEZ <i>et al.</i> (2014)
Campestérol (stéroïde)		Antiangiogénique	Choi <i>et al.</i> (2007).
Neocurdione (Sesquiterpénoïde)		Activité anti tumorale Antivirale, antibactérienne	Al-Gara K <i>et al.</i> (2019).

Chapitre III

Activités biologiques

De Moringa oleifera

Weiss et les flèches rouges représentent les réactions de Fenton. Les lettres en gras représentent des radicaux ou des molécules ayant le même comportement (H_2O_2). SOD fait référence à l'enzyme superoxyde dismutase et CAT fait référence à l'enzyme catalase (Carocho et Ferreira, 2013).

1.1.2. Antioxydants

Les antioxydants, également appelés « pièges à radicaux libre », sont des espèces chimiques plus ou moins complexes qui diminuent le stress oxydant au sein de l'organisme en prévenant la synthèse de radicaux libres ou en les neutralisant par leur réduction (Desmier, 2016).

Les enzymes antioxydantes qui protègent les cellules contre les radicaux libres par leur désactivation, existent à l'état endogène (cytoplasme, cytosol ou mitochondrie). Ces enzymes sont produites de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal (Leverve, 2009). Les principaux antioxydants enzymatiques sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GSHpx) et la glutathion réductase (Gupta., 2015).

Les antioxydants non enzymatiques, comme la vitamine E, vitamine C, les polyphénols et le glutathion, agissent en interrompant les réactions en chaîne des radicaux libres (GSH) (Gupta., 2015).

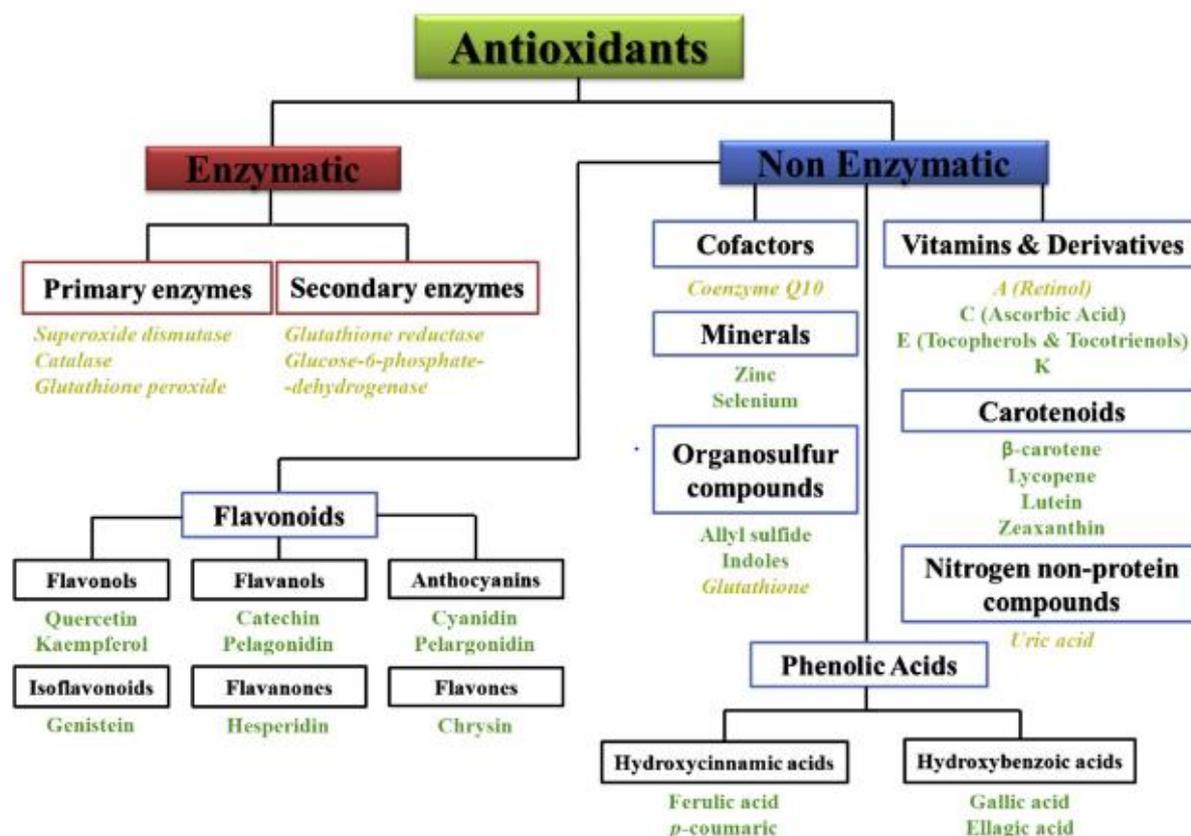


Figure 07 : Antioxydants naturels séparés en classes. Les mots verts représentent les antioxydants exogènes, tandis que les jaunes représentent les antioxydants endogènes (Carocho et Ferreira., 2013).

1.1.3. Activité antioxydante de *Moringa oleifera*

L'activité antioxydante de l'espèce *Moringa oleifera* a été prouvée *in vitro* et *in vivo*. Cette activité est le résultat de la richesse de cette espèce en polyphénols qui stabilisent les radicaux en donnant ou en acceptant des électrons (Abd Rani, 2018). Ndhlala *et al.* (2014) ont signalé que l'extrait des feuilles de *M. oleifera* est cinq fois plus puissant dans la réduction de radical DPPH que l'acide ascorbique. Verma *et al.* (2009) ont rapporté que l'activité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle d'un extrait hydroethanolique est proche à celle de la quercétine. Dans cette même étude, le traitement des rats intoxiqués au CCl₄ (tétrachlorure de carbone) par l'extrait mentionné, a provoqué l'augmentation des niveaux de superoxyde dismutase (SOD), de catalase (CAT) et réduction le glutathion (GSH). Cet extrait a également pu neutraliser l'hépatotoxicité induite par le paracétamol chez les rats Sprague-Dawley en réduisant les niveaux de peroxydation lipidique et en normalisant les niveaux d'enzymes antioxydantes (Umaet *al.*, 2010). Sreelatha et Padma (2011) ont observé que l'extrait de feuille

de *M. oleifera* réduit la rupture de l'ADN dans les cellules KB (ligne des cellules cancéreuses), augmente leurs enzymes antioxydantes et inhibe la peroxydation des lipides. Une autre étude a rapporté, également, que l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera* présentent des activités hépato et nephro-protectrice contre le rayonnement gamma, le HgCl₂, l'acétaminophène et l'arsenic (Abarikwu *et al.*, 2017).

1.2. Activité anticoagulation

1.2.1. Concept de l'hémostase

L'homéostasie est l'équilibre physiologique subtil entre un processus coagulant, susceptible d'entraîner un accident thrombotique, et un processus de fibrinolyse, à risque hémorragique (hémophilie). Ces processus sont régulés eux-mêmes par des inhibiteurs et des activateurs. Le déficit d'un de ces facteurs entraînera un risque hémorragique ou de thrombose (Crépin et Laurent., 2013).

1.2.2. Définition de la coagulation

La coagulation est un phénomène physiologique responsable de la formation d'un caillot nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Basé sur l'activation enzymatique protéasique des facteurs plasmatiques, d'un facteur tissulaire ou endothélial et plaquettaire. Les facteurs plasmatiques sont classés en : - précurseurs (zymogènes) de sérine-protéases, représentés par la prothrombine (FII), le proconvertine (FVII), l'anti-hémoph B (FIX), le Stuart (FX), le Rosenthal (FXI) et le Hageman (FXII) ; les Cofacteurs, représentés par la proaccéléline (FV), l'anti-hémoph A (FVIII) et le fibrinogène (FI). La vitamine K est indispensable à la synthèse de FII, FVII, FIX et FX, ces ont la capacité de se complexer avec le calcium et les phospholipides (Boisseau, 1996).

1.2.3. Voie endogène ou intrinsèque

Dans voie endogènes, tous les éléments nécessaires à la coagulation sont présents dans le plasma. Cette voie est déclenchée par l'activation du facteur XII par son contact avec la matrice sous-endothéliale (collagène) (Vogler Siedlecki, 2009). Conduisant à l'activation de pré-kallikréine en kallikréine qui active le facteur XII (XIIa). Ce dernier active le facteur XI en XIa, le facteur IX est à son tour activé en IXa qui se lie à la surface de phospholipides anioniques des plaquettes (PS) par l'intermédiaire des ions calcium et forme, en présence de son cofacteur VIII, le complexe ténase. Ce dernier active le facteur X qui à son tour active le cofacteur V, Ce

complexe fait intervenir le IXa, le Ca^{2+} , le facteur III plaquettaire et le cofacteur VIII activé (Ajjan et Grant, 2006 ; Misener, 2018).

1.2.4. Voie exogène de la coagulation

Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sous-endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire se met en contact avec le plasma permettant l'interaction avec le facteur VII formant le complexe Facteur tissulaire-FVII responsable de l'activation de facteur X et le facteur IX qui active la prothrombine en thrombine (Palta *et al.*, 2014).

1.2.5. Voie commune

Les deux voies se terminent par une voie commune dont le facteur Xa en présence du facteur Va, constitue la prothrombinase qui est un complexe enzymatique faisant intervenir le Xa, Va, le Ca^{2+} et des phospholipides. La prothrombinase permet la formation de thrombine (IIa) à partir de prothrombine (II) qui transforme le fibrinogène en caillot de fibrine (Vogler et Siedlecki, 2009).

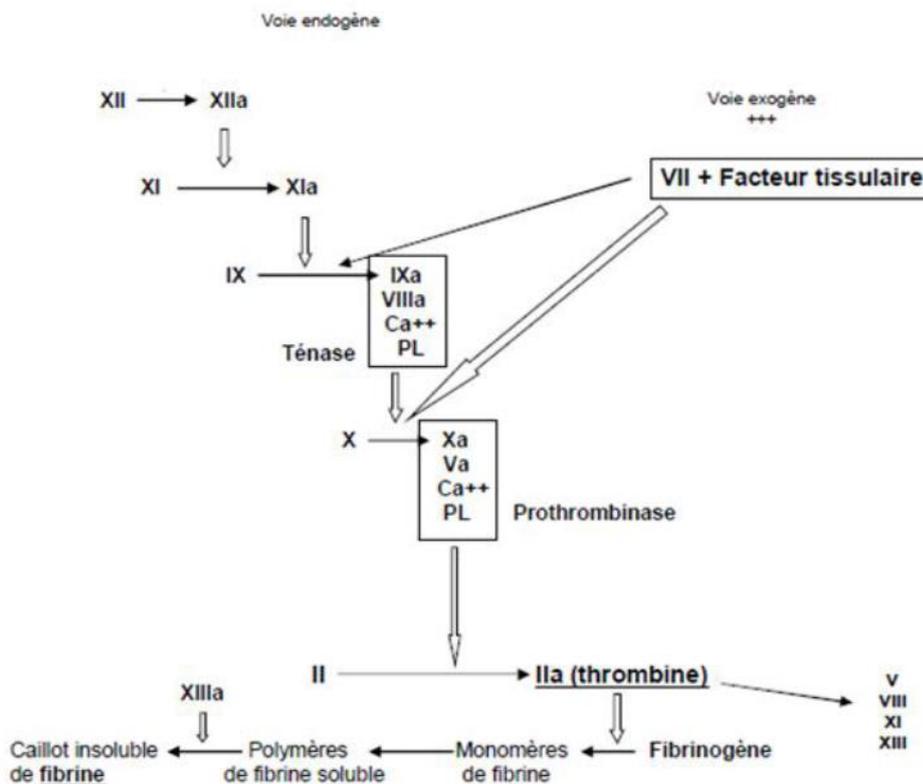


Figure 08 : Voies de la coagulation (Elalamy, 2012).

1.2.6. Activité anticoagulante de *Moringa oleifera*

Les extraits aqueux de *M. oleifera* ont montré une activité anticoagulante dans l'étude de Satish *et al.*, (2012). Ces auteurs ont trouvé une activité protéasique des extraits aqueux des feuilles et des racines de *M. oleifera* en inhibant la cascade de la coagulation sanguine. Par la technique caséine-zymographique qui utilise la caséine dénaturée comme substrat, ils ont confirmé l'activité protéolytique des extraits. Dans cette même étude, l'incubation prolongée d'un caillot de fibrine avec l'extrait de *M. oleifera*, a montré l'activité fibrinogénolytique de ces extraits. L'électrophorèse SDS-PAGE a révélé que les extraits, selon la dose, ont pu hydrolyser seulement quelques sous-unités de polymère α , les chaînes α et les chaînes β de caillot de fibrine (Satish *et al.*, 2012).

Des lectines (carbohydrates qui fixent des protéines) sont extraites à partir des graines de *M. oleifera* ont pu prolonger le temps de la coagulation de sang (Luz *et al.*, 2013).

2. Présentation de certaines d'autres activités biologiques

2.1. Activité antidiabétique

L'activité hypoglycémiant de *Moringa oleifera* été démontrée par plusieurs études. Kashyap *et al.* (2022) ont signalé que les composés phénoliques des feuilles de *M. oleifera* sont responsables de l'inhibition des deux enzymes α -amylase et de α -glucosidase engendrant ainsi un grand potentiel de gérer le diabète sucré de type II. Tuorkey (2016) a révélé que le traitement des rats diabétiques par l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* augmente la sécrétion de l'insuline et diminue la résistance à cette hormone. L'examen structurel des protéines des extraits des feuilles de *M. oleifera* a découvert qu'elles renferment des épitopes similaires à ceux de l'insuline, ce qui interprète l'effet hypoglycémiant de cette plante (Paula *et al.*, 2017). Plusieurs études ont montré que l'ingestion des feuilles de *M. oleifera* réduit la FPG (fasting plasma glucose : glycémie à jeun), la glycémie post-prandiale, l'hémoglobine glyquée, le cholestérol total, le (HDL, le VLD et LDL chez les patients diabétiques de type 2 (Kumari, 2010 ; Nambiar *et al.*, 2010 ; Ghiridhari *et al.*, 2011). De plus, Anthanont *et al.* (2016) ont trouvé que, la consommation des gélules de poudre de feuilles de *M. oleifera* augmente significativement la sécrétion d'insuline chez les sujets sains.

2.2. Activité antimicrobienne

Les feuilles de *Moringa oleifera* sont riches en composés phytochimiques doués d'activité antimicrobienne. Les extraits de feuilles de Moringa ont été testés contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus Kristina*. Les résultats ont montré l'efficacité de ces extraits envers toutes les souches testées à l'exception de *P. aeruginosa*. Ce pouvoir est exécuté, en partie, par l'enzyme peptide 4 (α -L-rhamnosyloxy)benzyl-isothiocyanate, apte à inhiber la croissance des micro-organismes en perturbant la synthèse de la membrane cellulaire. Les feuilles de *M. oleifera* sont pourvues d'autres enzymes antimicrobiennes, il s'agit de (N-4-(α -L-rhamnopyranosyloxy) benzyle carbamate de méthyle, 4-(α -D-glucopyranosyl-1-4 α -L-rhamnopyranosyloxy) - benzylthiocarboxamide, 4-(α -L-rhamnopyranosyloxy) benzylelesglucosinolates. Kashyap *et al.*, (2022) ont trouvé que l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique des feuilles de *M. oleifera* inhibe les deux bactéries *P. Aeruginosa* et *E. carotovara*.

2.3. Activité anticancéreuse

Le cancer est une maladie très dangereuse et il se développe très rapidement chez l'être humain. Des études ont montré que le traitement par l'extrait de feuilles de *M. oleifera* peut retarder la croissance tumorale chez la souris (Purwal *et al.* 2010 ; Kumar, 2017). La voie principale de l'activité anticancéreuse du Moringa consiste à inhiber la prolifération par apoptose (Abd Rani *et al.*, 2018). Gismondi *et al.* (2013) ont signalé que l'extrait de feuilles de *M. oleifera* a diminué la prolifération des cellules de mélanome B16F10 qui cause environ 22 % des décès par les maladies cancéreuses. Cet extrait agit en provoquant l'apoptose dans la phase G1 et induit l'arrêt de cycle cellulaire en phase G₂/M. Rajan *et al.*, (2016) ont montré que moringin (alcaloïde glycosylé) existe dans les feuilles de Moringa peut inhiber les cellules d'astrocytome malin par l'apoptose. La présence de D-allose dans les feuilles de *M. oleifera* provoque l'inhibition de cycle cellulaire cancéreuses dans la phase G1 des cellules MDA-MB-231 et HCT-8 (ligne de cellules cancéreuse de sein et carcinome de colonne) (Al-Asmari *et al.*, 2015). L'étude de Charoensin (2014) sur l'activité antiprolifératif des extraits de feuille de Moringa envers trois lignées cellulaires cancéreuses : l'hépatocarcinome (HepG2), l'adénocarcinome colorectal (Caco-2) et l'adénocarcinome du sein (MCF-7), a prouvé que les feuilles de *M. oleifera* possèdent des propriétés cytotoxiques envers les cellules tumorales. Par

conséquent, elle pourrait être bénéfique en tant que source pour de nouveaux médicaments alternatifs anticancéreux.

2.4. Activité Anti-inflammatoire

L'inflammation est l'une des réponses biologiques complexes des tissus vasculaires de l'organisme à de nombreux stimuli. Le principal mécanisme anti-inflammatoire rapporté pour *M. oleifera* était l'inhibition de la voie NF-kB (Abd Rani, 2018). Arulselvan *et al.* (2016) ont préparé quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*, il s'agit de l'extrait hexanique, chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique. Ces fractions ont réduit les marqueurs inflammatoires représentés par : les interleukines IL-1b et IL-6, PGE2 (prostaglandine), TNF-a (Tumor Necrosis Factor) et l'oxyde nitrique.

2.5. Activité hypo-tensif

L'hypertension artérielle (HTA) se positionne aujourd'hui comme l'une des maladies cardiovasculaires les plus dangereuses (N'guessan *et al.*, 2011). La consommation de feuille fraîche ou en poudre permettrait de prévenir et de réguler l'hypertension artérielle à environ (52,21%) en prévenant les maladies cardiovasculaires (Cames, 2014).

2.6. Autres activités

Lorsque on parle de *Moringa oleifera*, il semble que la liste de leurs activités biologiques de se clôturait plus. En plus des activités décrites, *M. oleifera* exerce les activités hypolipidémique, hypocholestérolémiante, antileishmanienne, antivirale, antitrypanosomienne, anticonvulsivante, cardio-protective, régulatrice de l'hyperthyroïdisme, antinéoplasique, antiulcéreuse, traitement de l'épilepsie, hépatoprotectrice...etc.

Deuxième partie

Etude expérimentale

Chapitre I
Matériel et Méthodes

Chapitre I : Matériel et Méthodes**1. Enquête ethnobotanique sur terrain**

La plante médicinale *Moringa oleifera*, comme c'était mentionné dans la bibliographie, mérite d'avoir le nom de l'arbre miraculeux. Afin de percevoir le niveau de la reconnaissance de cette plante chez les habitants des deux régions de Ouargla et de Touggourt, leur fréquence et leur mode d'utilisation, les maladies pour lesquelles cette plante est utilisée ainsi que leur toxicité, une enquête ethnobotanique a été réalisée dans laquelle des fiches qui portent toutes ces renseignements ont été préparées et distribuées à 150 personnes dont la majorité sont des femmes au foyer. L'autre tranche de la population questionnée, est représentée par des étudiantes universitaires (annexe II).

2. Récolte de matériel végétal et leur préparation

Les feuilles de l'arbre *Moringa oleifera* représentent le matériel ciblé pour notre étude. Ce matériel a été récolté à partir de trois arbres poussés dans des territoires différents dans la région de Ouargla, il s'agit de la région de Bouamer, Ifri et Tazgart. La récolte a été effectuée à la fin du mois de février par M^r. Seggai A. (Enseignant chercheur, spécialité Agronomie, Département des Sciences Agronomiques, Université de Ouargla).

Les tiges portant des feuilles jeunes et âgées sont bien nettoyées par l'eau distillée. Les feuilles sont ensuite enlevées, bien essuyées puis séchées à l'air libre et à l'abri des rayons solaires. Les feuilles sèches ont été broyées avec un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine, qui a été conservée dans des boîtes hermétiques (figure 09).



Figure 09: Feuilles de *Moringa oleifera* sèches et leur poudre.

3. Préparation des extraits

L'extraction des principes actifs contenus dans les feuilles de *Moringa oleifera* a été effectuée par macération. Cinq solvants à polarité croissante sont utilisés, il s'agit du mélange méthanol(CH₃-OH)/eau (H-O-H) : 80/20, butanol (CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-OH), acétate d'éthyle (CH₃-CO-O-CH₂-CH₃), chloroforme (CH-Cl₃) et hexane (CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃). Le méthanol/eau est utilisé pour obtenir l'extrait brut. Pour se réaliser, des aliquots de 5g de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* sont déposés dans des erlenmeyers de 250mL, puis des volumes de chaque solvants sont rajoutés, de manière que le solvant submerge toute la poudre. Les mélanges sont ensuite bien agités, recouverts et laissés reposer à la température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, l'extraction est refaite deux fois encore avec renouvellement du solvant, afin d'extraire le maximum des principes actifs. Les trois filtrats sont réunis et filtrés sur papier filtre, puis séchés. Après le calcul des rendements, les extraits secs sont dissouts dans le méthanol pour le dosage des métabolites secondaires et l'évaluation de l'activité antioxydante et dans le diméthyle sulfoxide (DMSO) pour l'évaluation de l'activité anticoagulante.



Figure 10 : Etapes de la macération de feuille *M. oleifera*.

Le rendement qui représente le rapport entre la quantité de l'extrait obtenu et la quantité de la matière végétale extraite, est calculé *via* l'équation :

$$\mathbf{R (\%)} = \mathbf{[m_{ES}/m_{MS}] \times 100}$$

R % : Rendement des extraits exprimé en %

m_{ES} : Masse de l'extrait sec

m_{MS} : Masse de la poudre végétale utilisée pour l'extraction

4. Dosage colorimétriques des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Le principe est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Pour se faire, un volume de 200 μ l de chaque extrait (dissous dans le méthanol), dans la dilution appropriée, est ajouté à 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée. Les milieux réactionnels sont incubés pendant 4 minutes. Puis, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 7,5 %) est ajouté. Les tubes sont agités et conservés à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est lue au spectrophotomètre UV-visible à 765 nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, l'étalonnage est réalisé en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations, les teneurs des extraits en polyphénols totaux (mg EAG/gES) sont ainsi déterminées à partir de l'équation donnée par la courbe d'étalonnage (Rachdi *et al.*, 2018).

4.2. Dosage des flavonoides

Les flavonoides contenus dans les extraits sont dosés par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Ce dernier forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm.

Pour réaliser le test, 1 mL de chaque extrait (dissout dans le méthanol) est ajoutée à 1 mL de nitrate de sodium (2% dans le méthanol). Après 5 minutes, 150 μ l de la solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$ 10%) est ajouté à chaque tube. Les mélanges réactionnels sont incubés 10 minutes puis les densités optiques sont lues à 430 nm.

Les concentrations des extraits en flavonoïdes sont déterminées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons étudiés. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES) (Rachdi *et al.*, 2018).

4.3. Dosage tanins condensés

Les teneurs des extraits en tanins condensés ont été déterminées par la méthode de Swain et Hillis (1956) avec certaines modifications. Cette méthode est basée sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide. Dans des tubes à essai on mélange 1 ml de chaque extraits (à la dilution appropriée dans le méthanol) avec 2 ml d'une solution préparée par la vanilline à 1% dans l'acide sulfurique (70%). Les mélanges sont agités vigoureusement et incubée au bain marie à 20C° pendant 15 minutes puis l'absorbance est mesurée à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établi avec le standard catéchine.

4.4. Dosage des tanins hydrolysables

Le dosage des tanins hydrolysables est réalisé par la méthode de Mole et Watrman (1987) avec certaines modifications. Dans ce teste, les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique formant un complexe rouge-violet, d'où la libération des ions (Fe^{3+}). Le dosage est procédé par l'addition de 3,5 ml d'une solution de $FeCl_3$ 0.1 M dans l'HCl 0,01M (V/V) à 1ml de chaque extraite (dissout à la concentration convenable dans le méthanol). Les mélanges sont bien agités et la densité optique est lue à 660 nm. La détermination des concentrations des extraits en tanins est réalisée par une courbe d'étalonnage établit par l'acide gallique et les concentrations sont exprimées en mgEAG/gES.

5. Evaluation des activités biologique des feuilles de *Moringa oleifera*

5.1. Evaluation de l'activité antioxydant

5.1.1. Activité antioxydante par piésage de radical libre DPPH•

Le radical stable DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), initialement violé, se décolore lorsque son électron célibataire est apparié. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. le DPPH•, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) coloré en jaune ce virement de couleur est accompagné d'une diminution de l'absorbance caractéristique de DPPH• à 515 nm (figure 11).

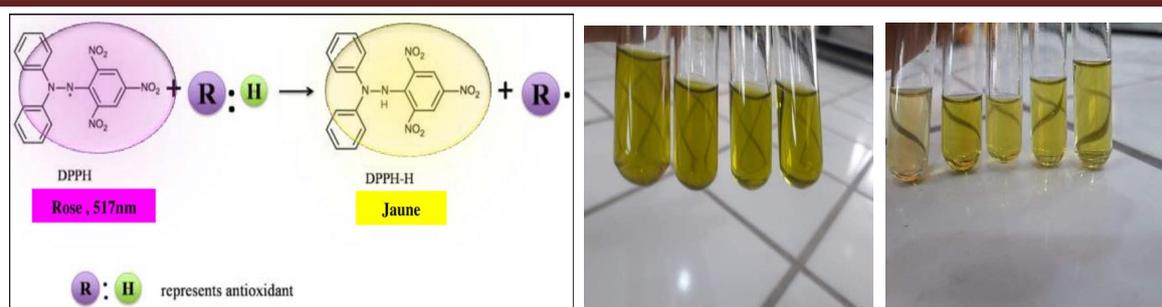


Figure 11 : Mécanisme réactionnel lors de test de DPPH (Liang et Kitts, 2014 ; Goudjil, 2016)

On a adopté la méthode de Sanchez-Moreno (1998) dans la réalisation de ce test. Dans lequel 50 µl de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,024 g/L) fraîchement préparée. Ce test nécessite un contrôle négatif constitué de 50 µl du méthanol et 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH. Le même protocole réalisé avec les extraits, est fait également avec l'acide ascorbique qui sert d'un témoin positif. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, la lecture des absorbances au spectrophotomètre est effectuée à 517 nm.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés *via* l'équation :

$$I \% = (Ac - Ae) / Ac \times 100$$

I% : Pourcentage d'inhibition

Ac : Absorbance de contrôle négatif

Ae : Absorbance de l'extrait ou de l'acide ascorbique (témoin)

Pour exprimer les résultats, les concentrations efficaces (EC ou IC) correspondant à l'inhibition de 50% de radicaux libre de DPPH sont calculées à partir des courbes graphiques des absorbances en fonction des concentrations des extraits ou de témoin positif.

5.1.2. Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

Dans le test de phosphomolybdate (PPM), l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (antioxydant contenu dans l'extrait) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant. Donc le test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo (V) à un pH acide (Prieto *et al.*, 1999).

La réalisation de test consiste à mettre 0.3 ml de chaque extrait (dans des dilution appropriées) en contact de 3 ml d'un réactif constitué de 0,6 M de l'acide sulfurique, 28 mM du phosphate de sodium et 4 mM du molybdate d'ammonium. Les tubes à essai sont bouchés et incubés au bain-marie à 95°C pendant 90 min. Après le refroidissement des échantillons, l'absorbance est mesurée 695 nm. Dans les mêmes conditions opératoires, l'acide ascorbique est utilisé comme standard pour réaliser la courbe d'étalonnage. La capacité antioxydante totale a été exprimée en milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait sec. (Cheurfa et Allem, 2015).

5.1.3. Evaluation de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est généré *in vivo*, sous conditions physiologiques par les peroxysomes, par plusieurs enzymes, y compris la glucose oxydase et d-aminoacide oxydase par dismutation du radical superoxyde, catalysée par superoxyde dismutase.

L'évaluation de la capacité de piégeage de peroxyde d'hydrogène est basée sur son absorption intrinsèque dans le domaine ultraviolet UV, lorsque la concentration de H₂O₂ diminue par des composés piègeurs, l'absorbance à 230 nm sera également diminuer (Magalhães *et al.*, 2008).

La réalisation de ce teste consiste à la mise en réaction de 0,6 ml de la solution de H₂O₂ (40 mM préparée dans du tampon phosphate salin PBS, 50 mM, pH 7,4) avec 0.1 ml de chaque extraits à différentes concentrations. Après 10 minutes, les densités optiques sont mesurées à 230 nm. Le témoin utilisé est l'acide ascorbique.

5.1.4. Test de réduction du fer (FRAP : *Ferric reducing antioxidant power*)

Le principe de la technique de FRAP est basé sur le pouvoir d'un extrait à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) (Sachant que le Fe³⁺ est un ion de transition qui forme le radical hydroxyle par la réaction de Fenton).

Pour réaliser ce test, un volume de 0.5 ml de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 0.5 ml du tampon phosphate PBS (constitué de chlorure de sodium, chlorure de potassium, phosphate disodique et phosphate monopotassique) (0.2 M ; pH 7.4). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. Après, 0.5 ml d'acide trichloracétique (10%), 0.5 ml d'eau distillée et 0,1 ml FeCl₃ (0,1%) sont additionnés au milieu réactionnel.

L'absorbance est ensuite mesurée à 700 nm, l'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif, dans les mêmes conditions opératoires.

Pour montrer le pouvoir antioxydant des extraits, les courbes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations sont tracées. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

6. Evaluation de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des extraits des feuilles de *Moringa oleifera* a été réalisée au sein du laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Soliman Amirat de Touggourt. Cette activité est évaluée *in vitro* suivant les deux voies de la coagulation (la voie exogène et la voie endogène) sur un pool des plasmas normaux et déplaquetés. Deux tests sont alors réalisés : le temps de Quick (TQ) ou dit taux de prothrombine (TP) qui évalue l'activité anticoagulant par la voie exogène et le taux de céphaline kaolin (TCK) qui évalue cette activité par la voie endogène.

6.1. Préparation du pool plasmatique

Le pool plasmatique déplaqueté est un mélange de plasma des volontaires sains adultes non traités, dont les TCQ et TP sont normaux.

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse sur l'anticoagulant citrate de sodium 9/1 : v/v. Les échantillons du sang obtenus sont centrifugés pendant 10 minutes à 3000 rpm, les surnageant de couleur jaune représentent les plasmas pauvres en plaquettes.

Le mélange de ces plasmas est conservé à basse température (-10°C) jusqu'à son utilisation (Boukeria *et al.*, 2020).



Figure 12 : Préparation de plasma, a. sang totale citraté, b. centrifugation du sang totale, c. aspect du plasma obtenu (surnageant).

6.2. Evaluation de l'activité anticoagulante suivant la voie exogène (test de TQ/TP)

Le test de temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP), explore la voie extrinsèque de coagulation utilisant les facteurs VII, X, V, la prothrombine FII et le fibrinogène. Dans cette voie, le facteur tissulaire (thromboplastine) est le déclencheur de la coagulation (Kadi *et al.*, 2020).

L'effet des extraits sur la voie exogène est évalué selon le protocole décrit par Athukorala *et al.* (2007). Dans lequel 10 µl de chaque extraits dissout dans le DMSO avec de différentes dilutions est additionné à 90 µl du plasma standard, le mélange est incubé à 37C° durant 15 min. Après l'incubation, la coagulation est déclenchée par l'addition de 200 µl de thromboplastine pré incubé à 37C° pendant 15 min. le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux est alors mesuré automatiquement à l'aide du Coagulomètre de type Thrombotimer, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s). Un témoin négatif est préparé sans extrait et l'autre positif en remplaçant l'extrait par un anticoagulant de référence (héparine). Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant envers la voie exogène (Wang *et al.*, 2010).



Figure 13 : Matériel utilisé pour l'évaluation de TQ.

6.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène

L'évaluation de l'activité anticoagulante suivant la voie endogène est réalisée en mesurant le temps de céphaline kaolin (TCK). Cette voie de coagulation est activée par le contact entre le facteur XII et l'activateur qui est le kaolin (substitut du collagène et de tissu conjonctif *in vitro*). Cette interaction induit l'activation du facteur XII et par conséquence l'activation séquentielle des facteurs XI, IX, X, la prothrombine et fibrinogène (Kadi *et al.*, 2020). Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes en

présence de céphaline (substitut phospholipidique du facteur 3 plaquettaire), de kaolin (activateur du système contact et de calcium comme agent de recalcification : facteur déclenchant)(Wang *et al.*, 2010).

Le mode opératoire consiste à mélanger 10 µl de chaque extrait à différentes concentrations dans DMSO avec 90 µl du plasma déplaqueté. Après 15 min d'incubation à 37C°, 100 µl de réactif céphaline-kaolin est additionné. Le mélange est incubé durant 3 min sous agitation à 37C°. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un Coagulomètre par ajout de 100 µl de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé. Le témoin positif utilisé est l'héparine.

Un allongement du TCK en présence des extraits par rapport au contrôle indique un effet anticoagulant (Wang *et al.*, 2010).

Chapitre II

Résultats et discussion

Chapitre II. Résultats et discussion

1. Enquête ethnobotanique

1.1. Résultats

L'enquête ethnobotanique menée auprès de la population des deux régions de Ouargla et de Touggourt sur la plante *Moringa oleifera* nous a permis de retirer quelques informations concernant la reconnaissance de cette espèce et leur utilisation (figure 14 a et b).

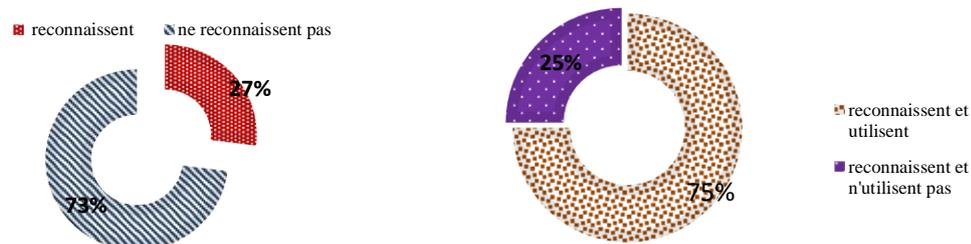


Figure 14 : Niveau de reconnaissance (a) et d'utilisation (b) de *Moringa* par la population questionnée

Les informations collectées concernant le but et le mode d'utilisation de moringa chez la petite population qui la consomme sont rapportées dans le tableau VI.

Tableau VI : But et mode d'utilisation de *Moringa* chez la population questionnée

But d'utilisation	Nombre de fois mentionné	Forme	Effet	Partie utilisé
Hypoglycémie	6	Décoction	Positif	Feuilles
Hypotensif	3	Décoction	Positif	Feuilles
Soin de la peau et des cheveux	15	Masque de poudre	Positif	Feuilles
Régulation des hormones	4	Décoction	Positif	Feuilles
Douleurs gastriques	2	Poudre à avaler	Positif	Feuilles

L'examen de la figure 14 laisse constater que la plante *Moringa oleifera* est mal connue chez les deux populations questionnées, la population qui reconnaissent cette plante ne dépasse pas 27% (figure 14 a). Parmi celle-ci, 75% avère utiliser la plante (figure 14 b).

Il apparaît à partir du tableau VI que la partie privilégiée dans la plante moringa, sont les feuilles, utilisées souvent à des fins cosmétiques. Cette plante est utilisée également pour traiter le diabète, l'hypertension, les douleurs gastriques et pour la régulation des hormones. Cette plante est consommée en forme de décoction ou en poudre chez les personnes questionnées.

1.2. Discussion

L'enquête ethnobotanique nous a permis de collecter très peu d'information concernant les buts et les modes d'usage de moringa vu sa faible reconnaissance et sa faible fréquence d'utilisation. Ce ci indique que moringa n'est pas une plante locale et que son introduction à la région de Ouargla n'est pas très ancienne. Des vertus thérapeutiques ont été citées par les personnes questionnées qui concordent étroitement la littérature. Il est rapporté que *M. Oleifera* contient de nombreux phytoconstituants tels que des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponines, des saccharides, des glucosinolates, des tanins, des acides phénoliques et des nitriles glycosides... etc. Ces composés phytochimiques naturels et complexes contribuent à ses nombreuses activités pharmacologiques, principalement les activités hypoglycémiantes et anti hypertensives déjà cités par quelques personnes questionnées. Et d'autres effets anti-inflammatoires, anticancéreuse, antibactérienne, hépatoprotectrice, cardioprotectrice, hypolipidémiques...etc. Yong-Bing (2019).

Nous étions très curieux d'avoir des témoignages à travers notre enquête sur d'autres effets thérapeutiques de moringa, comme c'était mentionné dans la littérature. Mais malheureusement les informations collectées sont très limitées.

Cet arbre miraculeux mérite d'être connu et célébré, afin que, les gens en profitent de ces effets pharmacologiques.

2. Rendement de l'extraction de *Moringa oleifera*

2.1. Résultats

L'extraction des composés bioactifs de *Moringa oleifera* par différents solvants est réalisée et les rendements d'extraction sont calculés et illustrés dans la figure 15.

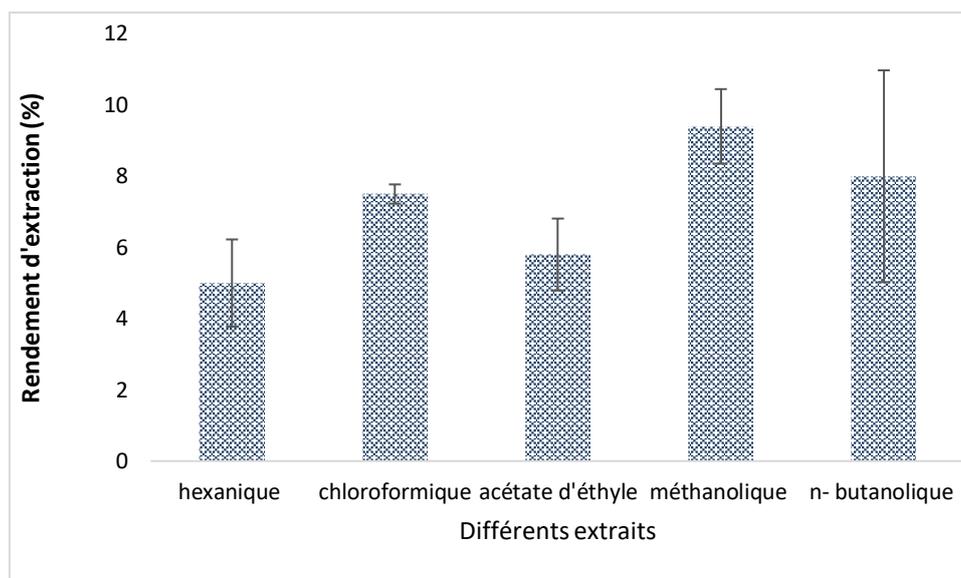


Figure 15 : Rendement de différents extraits de feuilles de *Moringa oleifera*

Les rendements d'extraction varient selon les solvants utilisés. Il apparaît clairement que le pourcentage le plus élevé est obtenu avec l'extrait méthanolique (représente l'extrait brut), estimé à $9.4 \pm 2.09\%$, suivie de l'extrait n-butanolique ($8 \pm 5.94\%$) et chloroformique ($7.5 \pm 0.54\%$). Cependant, les valeurs des rendements les plus faibles sont celles des extraits d'acétate d'éthyle et d'hexane (figure 15).

2.2. Discussion

L'extraction des principes actifs représente l'étape préliminaire de toute étude phytochimique pour la recherche, l'identification et la préparation de produits pharmaceutiques, vu la diversité structurale des métabolites secondaires, des solvants à polarité différentes sont utilisés pour l'extraction sélective de différentes classes de ces métabolites.

Des écarts importants sont constatés en comparant nos résultats avec la littérature. En effet, Djemoui (2019) ont obtenu des rendements de 32,77 % pour l'extrait brut et 1.81%, 0.13% et 6.40% pour les fractions chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanolique respectivement. Plusieurs études ont certifié que la polarité des solvants organiques ont des effets très importants sur les rendements d'extraction des composés phénoliques (Wuet *al.*, 2020). Lee *et al.* (2003) ont déclaré que le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques des plantes, leurs origines géographiques, les conditions et la période de la récolte et de stockage et technique d'extraction.

Selon Sulaiman *et al.*(2011) , la différence de polarités des solvants d'extraction pourrait influencer la solubilité des constituants chimiques dans un échantillon et son rendement d'extraction. Par conséquent, la sélection d'un système de solvant approprié est l'une des étapes les plus pertinentes pour optimiser la récupération des composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux, tanins totaux et autres composés bioactifs à partir d'extraits (Boussoussa, 2014 ; Sulaiman *et al.*, 2011).

3. Dosage des métabolites secondaires

3.1. Teneurs de différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* en polyphénols

3.1.1. Résultats

La détermination du contenu des feuilles de *Moringa oleifera* en polyphénols totaux a été effectué suivant la méthode de folin-cieucalteu, les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 16.

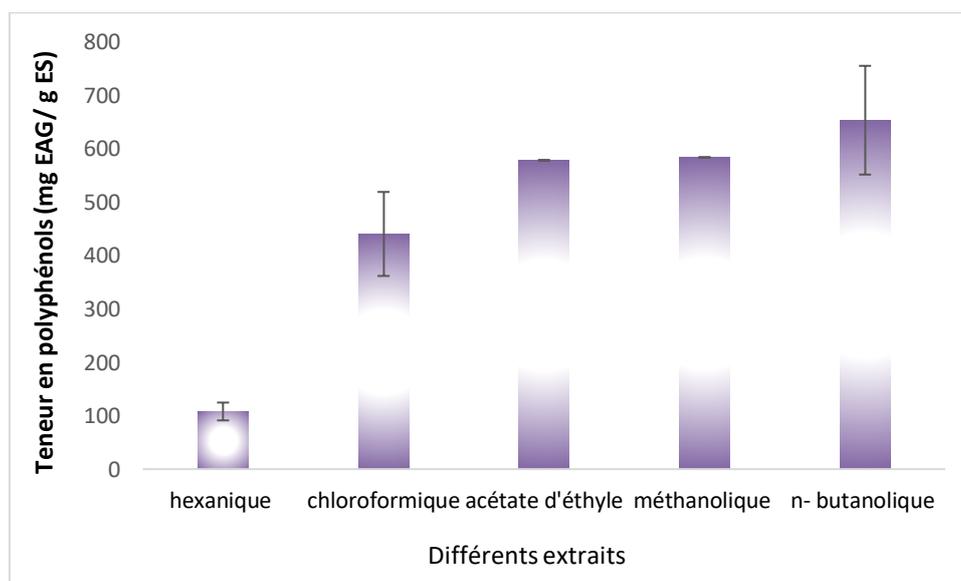


Figure 16: Teneurs de différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* en polyphénols

Il apparait à partir de la figure16que l'extrait n-butanolique est le plus riche en polyphénols avec une concentration de 653.33 ± 203.59 mg EAG/gES suivie de l'extrait méthanolique puis acétate d'éthyle (figure 16). L'extrait chloroformique semble relativement moins pourvue en ces métabolites mais reste nettement plus riche que l'extrait hexanique, avec lesquelles on a enregistré les concentrations 440.4 ± 00 et 108 ± 33.63 mg EAG/g ES.

3.1.2. Discussion

Plusieurs études ont rapporté la richesse de différentes parties de *Moringa oleifera* en composés phénoliques. Les concentrations de nos extraits en polyphénols totaux semblent très élevées en comparant avec de nombreuses études. Belhi *et al.* (2018) ont trouvé des teneurs de 236,5 et 130.65mg EAG/g ES respectivement pour les extraits méthanolique et aqueux. Le contenu phénolique de *Moringa oleifera* avère encore plus faible dans les résultats de Abdulkadir *et al.* (2015) ayant enregistré 32.83 ± 1.19 et 30.69 ± 1.50 mg EAG/g ES respectivement pour les fractions méthanolique et hexanique. Baldisserotto *et al.* (2018) ont également trouvé des teneurs plus faibles évaluées à 33.6 ± 1.81 mg EAG /g dans l'extrait méthanolique.

La richesse des extraitsobtenus par des solvants polaires (n- butanol, et Méthanol/eau) et moyennement polaire (acétate d'éthyle) confirme que les composés phénoliques sont principalement extraits par les solvants plus polaires (Abdulkadir *et al.*, 2015).

Le méthanol est le solvant approprié, il permet une haute récupération de polyphénols, surtout les flavonoïdes aglycones comme les flavones luteoline et l'apigenine, les lignanes (Fallehet *al.*, 2008 ; Mohammed *et al.*, 2015). L'eau extrait particulièrement les flavonoïdes glycosylés, les tannins, les phénols libres et des acides phénoliques (Marston et Hostettmann, 2006).

Les teneurs très élevés de nos extraits en polyphénols totaux pourraient être expliqués par l'interférence de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes hydroxyles, non seulement ceux des composés phénoliques, mais également ceux de certains sucres et protéines...etc. (Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravacaet *al.*, 2006).

Les feuilles de *Moringa oleifera* étant la partie de la plante contenant la plus grande quantité des composé bioactifs qui contribuent à réduire le risque de nombreuses maladies grâce à leur pouvoir antioxydant (Saucedo-pompa *et al.*, 2018). Les Composés phénoliques représentent une partie essentielle de l'alimentation préventive humaine et fournis de nombreuses activités biologiques et préventives envers diverses maladies telles que l'hypertension, le choléra, l'asthme, le diabète, les cancers, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Djemoui *et al.*, 2019 ; Djouhou *et al.*, 2019).

3.2. Teneurs de différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* en flavonoïdes

3.2.1. Résultats

La méthode de trichlorure d'aluminium est adoptée pour doser les flavonoïdes, les résultats obtenus sont enregistrés dans la figure 17.

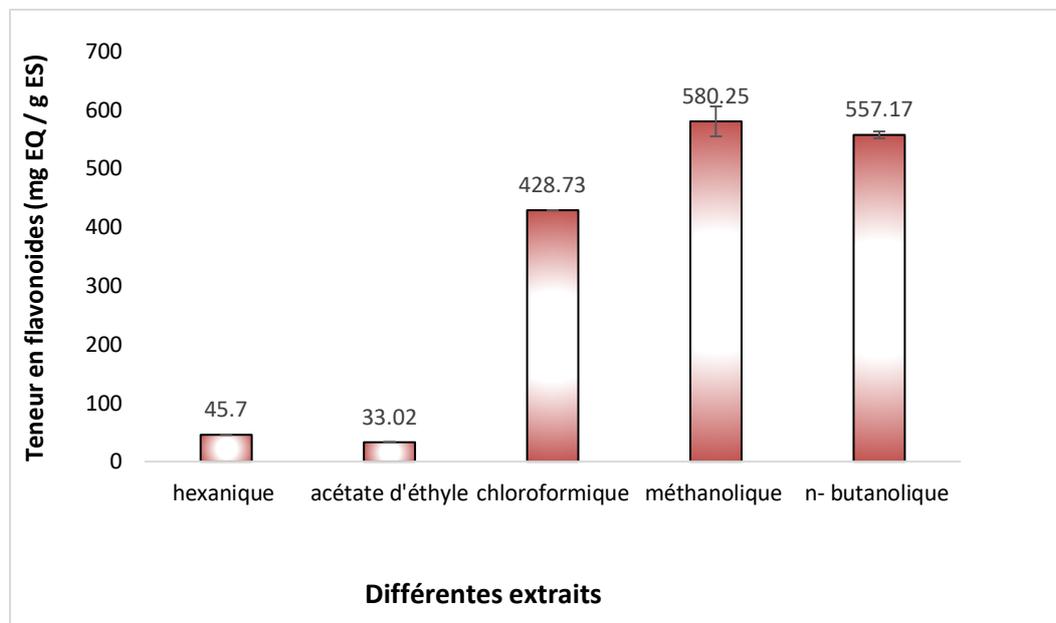


Figure 17 : Teneurs de différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* en flavonoïdes

L'examen de la figure 17 laisse constater que les extraits méthanolique et n-butanolique sont remarquablement les plus riches en flavonoïdes, avec lesquelles on a obtenu les valeurs 580.25 ± 51.03 et 557.17 ± 11.86 mg EQ/g ES (figure 17). L'extrait chloroformique révèle également des hautes teneurs en ces composés. Cependant l'extrait hexanique suivie de l'extrait d'acétate d'éthyle ont marqué relativement des faibles concentrations en flavonoïdes (figure 17).

3.2.2. Discussion

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques omniprésents dans la nature. Ils ont doté d'activités pharmacologiques très intéressantes que les autres classes de polyphénols (Middleton, 2000 ; Mohammed *et al.*, 2015 ; Martono *et al.*, 2019). Comme pour les polyphénols, les flavonoïdes avèrent également très important en comparant avec les données littéraires. Abdulkadir *et al.* (2015) par une étude phytochimique sur les feuilles de *M. oleifera*, ont trouvé des teneurs de 98.67 ± 2.10 et 32.98 ± 2.12 mg EQ/g ES respectivement pour l'extrait

methanolique et l'extrait héxanique. (Drame *et al.*,2022 ; Konmy *et al.*,2020) ont trouvé que le contenu des feuilles de *M. oleifera* est, respectivement, de 120 ± 40.5 mg EQ/g ES dans l'extrait méthanolique et 19 ± 0.01 ER/g dans l'extrait aqueux. Également, Belhi *et al.*(2018) ayant trouvé 77.33 ± 86.44 EQ/g MS de flavonoïdes dans leur extrait méthanolique. Plusieurs facteurs extrinsèque et intrinsèque affectent les teneurs des plantes en métabolites secondaires y compris les flavonoïdes, à savoir la méthode de séchage et extraction, les standards utilisés pour l'étalonnage, le niveau de stress, la période de la récolte, la maturité des feuilles...etc. (Djemoui *et al.*, 2019 ; Konmy *et al.*, 2020). Les principaux flavonoïdes contenus dans les feuilles de *M. oleifera* et leurs effets biologiques ont été déjà mentionnés dans le tableau III (chapitre 2, partie bibliographique), Mais le plus essentielle est de savoir leur biodisponibilité et quels sont leurs interactions avec d'autres molécules. La cinétique d'absorption varie en raison notamment de l'hétérogénéité de sucres et d'autres groupes sur le noyau flavane chez les flavonoïdes glycosylés. Mais également selon la posologie et de microbium intestinale (Erlund *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes dans les feuilles de *M. oleifera* existent en deux formes. Les flavonoïdes aglycones comme la quecétine, la luteoline, le rhamnetine, l'isorhamnetine, le kaempferol, l'apigénine, la genisteine, le daidzeine, le myricétine et l'épicatéchine (Abd Rani, 2018) sont moins absorbés dans l'intestin que les flavonoïdes glycosylés, exemple de quercétin-3-O-glucoside, quercétin-3-O-L-rhamnopyranosyl(1-6)-D-glucopyranoside, kaempferol-3-O-glucoside et kaempferol-3-rutinoside (Abd Rani, 2018). Les aglycones sont absorbés en forme de produits de métabolisation et de décomposition chimique alors que les flavonoïdes glycosylés sont déglycosylé par deux β -endoglucosidases permettant la conjugaison des flavonoïdes avec des résidus endogènes essentiellement le glutathion et l'acide glucuronique en métabolites fonctionnalisées (Day,2000 ; Hadi Salem, 2018).

3.3. Teneurs de différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* en tanins hydrolysables et en Tanins condensés

3.3.1. Résultats

Les deux sous classes des polyphénols à savoir les tanins hydrolysables et les tanins condensés sont dosés respectivement par la méthode folincieucaulteu et la méthode de vanilline. Nos résultats sont présentés dans la figure 18.

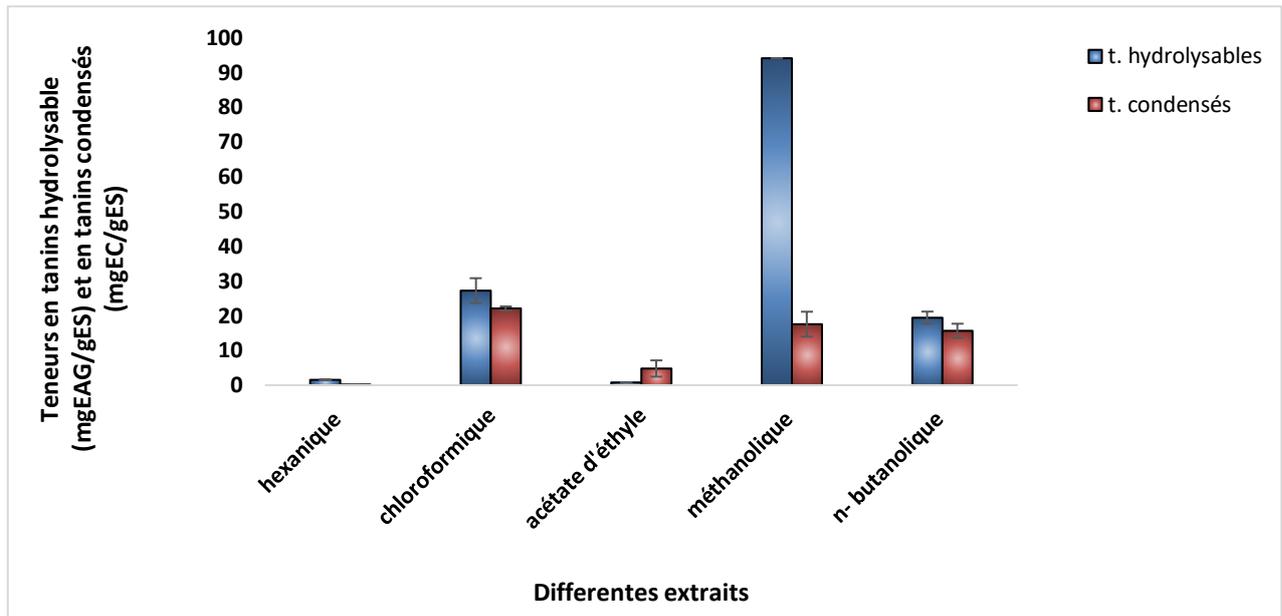


Figure 18 : Teneurs des extraits des feuilles de *Moringa oleifera* en tanins condensés et en tanins hydrolysables

L'observation de la figure 18 laisse constater que les tannins hydrolysables et les tannins condensés sont inégalement répartis dans les différents extraits. Chez tous les extraits à l'exception de celui de l'acétate d'éthyle, on remarque les teneurs en tanins hydrolysables sont plus importantes à celles des tanins condensés. Cette différence est très grande dans l'extrait méthanolique qui marque les teneurs 94.1 ± 0.0 mg EC/gES et 17.55 ± 4.68 mg EAG/g ES respectivement en tanins condensés et tanins hydrolysable (figure 18). En comparant la richesse de différents extraits en tanins, il est clair que l'extrait méthanolique est le plus riche en tanins hydrolysables suivie de l'extrait chloroformique (27.21 ± 7.16 mg EAG/gES) puis n-butanolique (19.14 ± 3.54 mg EAG/g ES). Concernant les tanins condensés, c'est l'extrait chloroformique qui en est le plus pourvu suivie de l'extrait méthanolique et n-butanolique dont on enregistre les concentrations 22.09 ± 1.11 , 17.55 ± 7.17 et 15.65 ± 4.07 mgEC/gES. Relativement parlant, les extraits hexanique et d'acétate d'éthyle sont les moins pourvus en tanins hydrolysables et en tanins condensés (figure 18).

3.3.2. Discussion

Plusieurs études ont montré par des screening phytochimique qualitatif la richesse des feuilles de *Moringa* en tanins (Shanmugavelet *et al.*, 2018 ;Ajanthaet *al.*, 2020). Dans la littérature, le dosage quantitatif des tanins ciblait souvent les tanins totaux, l'étude de Teixeira *et al.* (2014) et de Karim *et al.* (2015) ont mentionné respectivement des teneurs variant de $13.2\pm$ à $20.6\pm$ et de 1.19 ± 0.14 mg/g des feuilles sèches de moringa. En comparant nos résultats de dosage des tanins hydrolysables et des tanins condensés avec les données bibliographiques on trouve des écarts parfois très important, prenant en considération l'unité de dosage. Hossainet *al.* (2020) Karimet *al.* (2020) ont enregistré 10.22 ± 1.11 et 0.7 ± 0.02 mg GAE/100 gMS en tanins hydrolysables. Cependant, Wahyuni et al. (2020) et Ajantha et al. (2020) ont révélé des valeurs de $0.33\pm$ et 0.57 ± 0.06 mgEC/gMS respectivement.

En concentrations relativement faibles, les tanins stimulent l'activité des enzymes digestives et inhibent la mutagénicité de plusieurs agents cancérigènes (Perchellet, 1996).

Plusieurs tanins hydrolysables oligomériques, révèlent une forte activité antitumorale qui peut être due à l'amélioration des réponses immunitaires. Les proanthocyanidines (tanins condensés), sous leurs deux formes libre et liée aux protéines, possèdent des groupements phénoliques qui diminuent la sensibilité des cellules saines aux agents toxiques (Makkar, 2003). En effet, Tong *et al.* (2022) ont expliqué bien les mécanismes des effets antioxydant, antiinflammatoire, antibactérien, antiviral, antiparasitaire et antidiarrhéique des tanins.

Les tanins sont connus comme des antinutriments en raison de leur capacité à former des liens complexes *via* leur groupement fonctionnels et ainsi de précipiter les protéines, les alcaloïdes et les micronutriments (Wahyuni et al.,2020 ; Kashyap, 2022). Pour résoudre ce problème antinutritif, des études ont été menée par Ogbè et Affiku (2021) et Wahyuniet *al.* (2020) suggèrent que le traitement thermique des feuilles de *Moringa oleifera* diminue leur aptitude à précipiter les protéines et autres nutriments.

4. Activités biologiques de *Moringa oleifera*

4.1. Activité antioxydante

4.1.1. Résultats

4.1.1.1. Activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH •

Les pourcentages d'inhibition de différents extraits sont calculés et leurs courbes logarithmiques en fonction de différentes concentrations sont tracés et consignés dans la figure 19.

La gamme des concentrations préparée nous n'a pas permis de calculer les EC₅₀, car les pourcentages calculés sont tous au-dessus de 50%, donc l'essai a besoin encore de extraits plus dilués.

L'activité antioxydante de l'extrait est inversement proportionnelle à la valeur de EC₅₀.

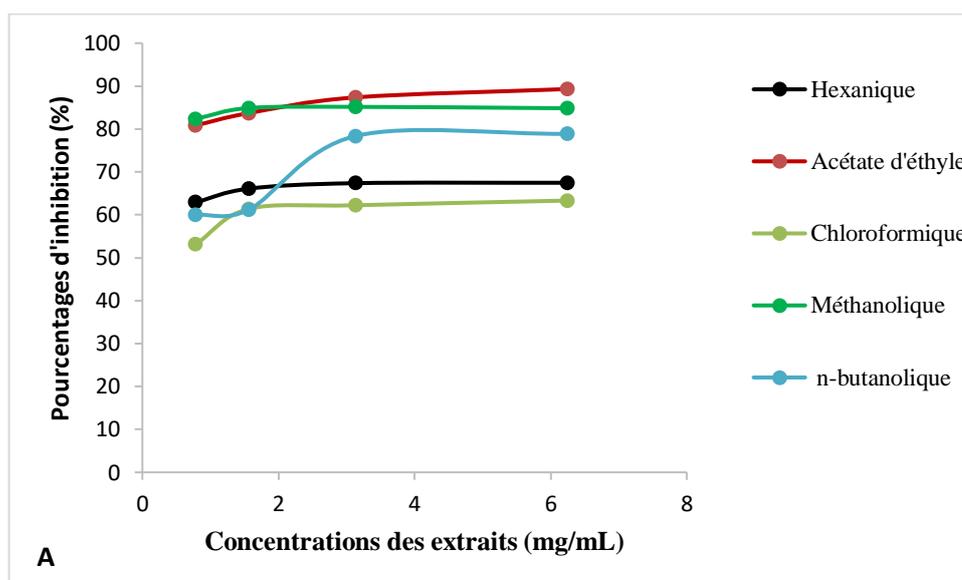


Figure 19 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH •

L'examen de la figure 19 a permis de constater que les extraits d'acétate d'éthyle et méthanolique sont les plus puissants dans le piégeage du radical DPPH •. Les pourcentages d'inhibition atteignent 89,31 et 84,83% à la concentration de 6,25 mg/ml. Ensuite, c'est l'extrait n-butanolique qui a enregistré l'activité la plus importante, suivie de l'extrait hexanique et chloroformique enregistrant, respectivement, les pourcentages 78,87, 67,47 et 63,32 % à la concentration de 6,25 mg/ml (figure 19).

4.1.1.2. Capacité antioxydante totale par Test de phosphomolybdate

Les résultats de la capacité antioxydante totale des extraits des feuilles de *M. oleifera* évalués par la mesure de la quantité des antioxydants capables de réduire le molybdate en molybdène en se référant à l'acide ascorbique sont illustrés dans la figure 20.

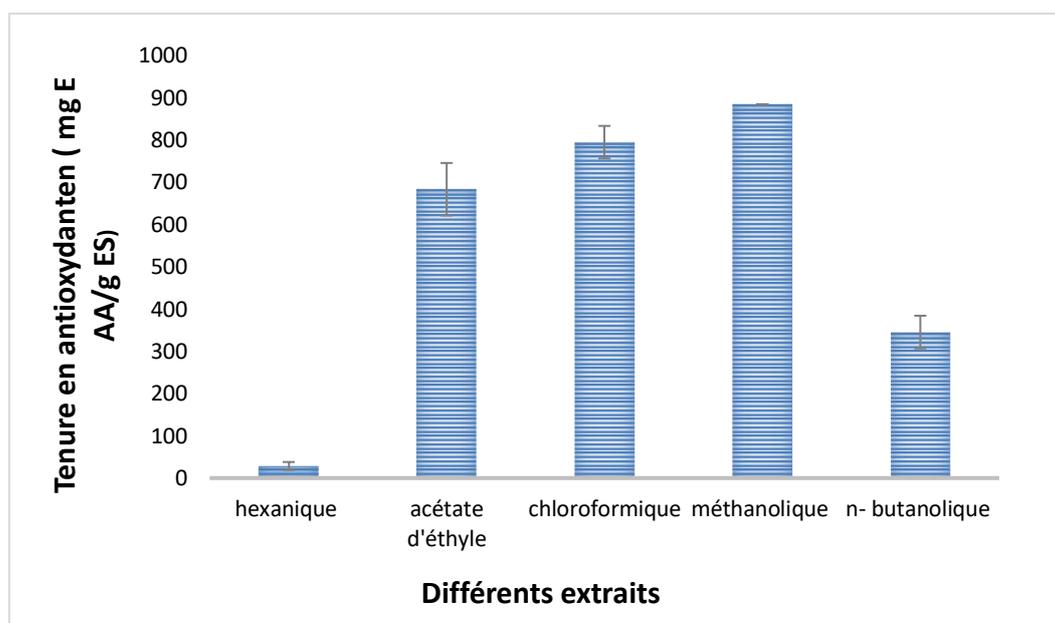


Figure 20: Capacité antioxydante totale par test de phosphomolybdate de différents extraits

La quantité des antioxydants contenue dans l'extrait méthanolique, comme montre la figure 20, est la plus importante, elle est évaluée à 884.4 ± 00 mg EAA/g ES. Suivi par les extraits chloroformique 794.64 ± 124.25 et acétate d'éthyle 683.6 ± 75.9 . La teneur de l'extrait n-butanolique semble également riche en antioxydant mais avec une concentration relativement faible par rapport ces deux derniers extraits. Cependant, la capacité antioxydante de la fraction hexanique, estimée de 28.56 ± 18.93 mg EAA/g ES, est très faible.

4.1.1.3. Test piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

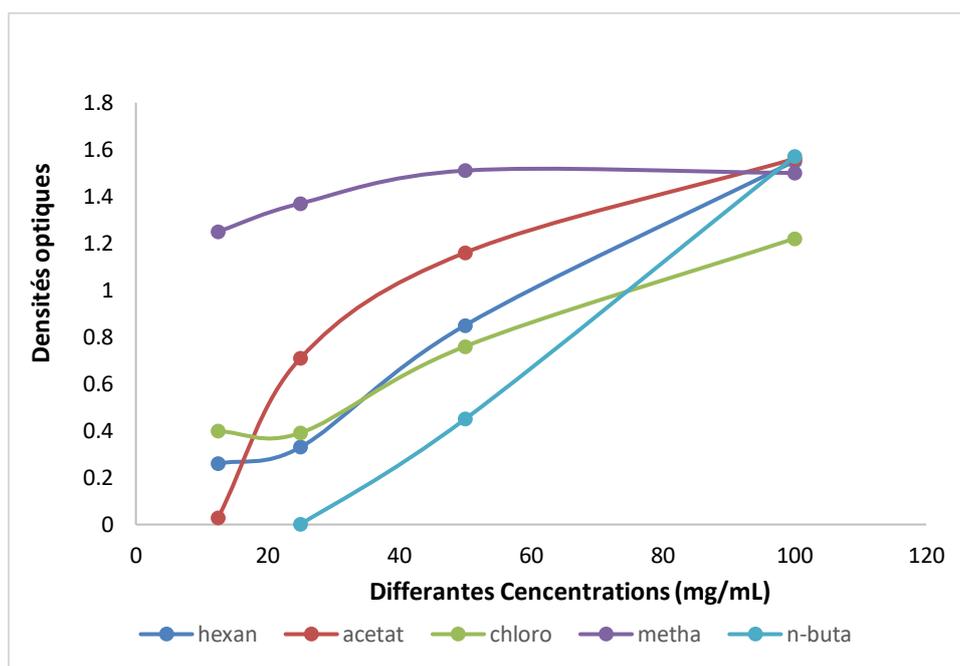


Figure 21 : Activité antioxydante par test de piégeage de H₂O₂

La variation de l'absorbance des extraits mises en contact de l'oxydant H₂O₂ suit la même allure, c'est-à-dire l'augmentation proportionnelle de l'absorbance avec la concentration. Les concentrations utilisées sont 100, 50, 25, 12.5 mg/ml. Il apparait pour les gammes des concentrations 12.5, 25 et 50 mg/ml que l'extrait méthanolique est le plus puissant dans la neutralisation de peroxyde d'Hydrogène, à la concentration 12.5 mg/ml il a marqué une DO de 1.25 (figure 21). Suivie de l'extrait chloroformique puis hénanique puis celui de l'acétate d'éthyle et de n-butanolique. A partir de la concentration 25 mg/ml, il semble que l'activité de l'extrait de l'acétate d'éthyle surmonte celles des autres extraits. Ces différents extraits se convergent vers des densités optiques très proches à la concentration 100 mg/ml (figure 21).

4.1.1.4. Activité antioxydante par réduction de Fer (FRAP)

Pour tous les extraits ainsi que le témoin, les valeurs de l'absorbance mesurées en fonction de différentes concentrations (12.5, 25, 50 et 100 mg/ml) ont permis de tracer des courbes de tendance logarithmique qui mettent ainsi en évidence une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration de l'extrait et la réduction du fer dans les extraits étudiés (figure 22).

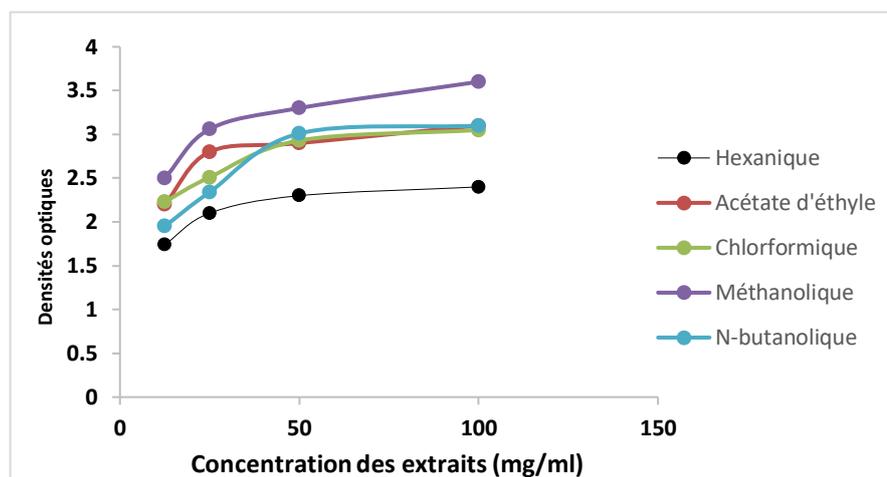


Figure 22 : Activité antioxydante de différents extraits selon le test de FRAP

D'après la figure 23, il apparaît que l'extrait méthanolique est nettement le plus puissant dans la réduction de fer (DO de 3.6 à la concentration 100mg/ml). Alors que l'extrait hexanique étant le plus faible. Dans les concentrations 12.5, 25 et 50 mg/ml se localise, par ordre décroissant de leur pouvoir antioxydant, l'extrait d'acétate d'éthyle, l'extrait chloroformique puis l'extrait hexanique (figure 23). Au-delà de 50 mg/ml, ces trois extraits présentent les mêmes absorbances (courbes superposées) (figure 23).

4.1.2. Discussion

Notre étude a visé le pouvoir antioxydant de cinq extraits obtenus par des solvants à polarité différentes, par quatre tests à principe différents. A travers nos résultats, on a constaté que l'extrait méthanolique est le meilleur acteur de cette activité avec les différents tests suivie de celui de l'acétate d'éthyle. Par contre, les extraits dotés d'activité faible, relativement, sont les extraits hexanique le n-butanolique. Plusieurs études ont été focalisées sur l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Moringa oleifera*, obtenus par des solvants différents. Djemoui *et al.* (2019) ont révélé l'efficacité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle par test de DPPH (EC50 à 0.076 ± 0.005 mg/ml) et test de piégeage de l' H_2O_2 (pourcentage d'inhibition PI à $86.24 \pm 0.1\%$), la fraction n-butanolique par test de phosphomolybdate (PI atteint $91.83 \pm 0.96\%$). Également l'étude de Fitriana *et al.*, (2016) ayant enregistré les pourcentages d'inhibition 95, $35 \pm$ et 20% respectivement avec les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et hexanique. Dans une étude menée par Saleem *et al.* (2020) sur l'activité de piégeage des radicaux libres de différents extraits de *Moringa oleifera*, a montré que l'extrait méthanolique

est le plus puissant avec le test de DPPH et test de peroxyde d'hydrogène (PI de $70.56 \pm 0.43\%$). Ces auteurs ont trouvé une grande corrélation entre le contenu de l'extrait méthanolique en polyphénols et leur activité antioxydante. En revanche, c'est l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Moringa oleifera* qui a exercé l'activité de piégeage du radical anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) la plus puissante dans les résultats de Verma, (2009). Les différences constatées dans la réponse des extraits aux divers tests antioxydants peut être expliquée par la différence de potentiel redox d'électrons/hydrogène des molécules antioxydantes, vu que ces molécules sont très diversifiées (Nithiyantham *et al.*, 2012). Selon la littérature l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* est attribuée en premier lieu à leur composés phénoliques exemple de la rutine, la quercétine, la rhamnétine, le kaempférol, l'apigénine, l'acide gallique, l'acide ellagique, l'acide férulique et l'acide caféique l'acide o-coumarique, l'acide chlorogénique, l'acide gentisique, l'acide syringique, l'acide r-coumarique, les tanins, les saponines et d'autres (Abd Rani *et al.*, 2018 ; Kashyap *et al.*, 2022). En plus de composés phénoliques, les feuilles de *Moringa oleifera* exercent également leur activité antioxydante grâce à leur richesse en acide ascorbique, β -carotène, chlorophylle et isothiocyanates (Abd Rani *et al.*, 2018).

Divers mécanismes pourraient être exercés par les polyphénols pour combattre les radicaux libres. Ces métabolites possèdent des groupes hydroxyles phénoliques (-OH) qui peuvent donc fournir des hydrogènes pour neutraliser et stabiliser les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot-}$), les peroxydes (ROO^{\cdot}), les alkoxydes (RO^{\cdot}) et l'hydroxyle (OH^{\cdot}). Le composé phénolique « radicalaire » résultant, est stabilisé par la délocalisation des électrons sur le cycle benzénique (Gothai *et al.*, 2017 ; Lü *et al.*, 2010).

De nombreux composés phénoliques sont également chélateurs d'ions métalliques de transition tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+) responsables de la production du radical OH^{\cdot} par la réduction de H_2O_2 lors de la réaction de Fenton (Chikhi, 2013). En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de $O_2^{\cdot-}$ et de H_2O_2 . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante (Yordi *et al.*, 2012).

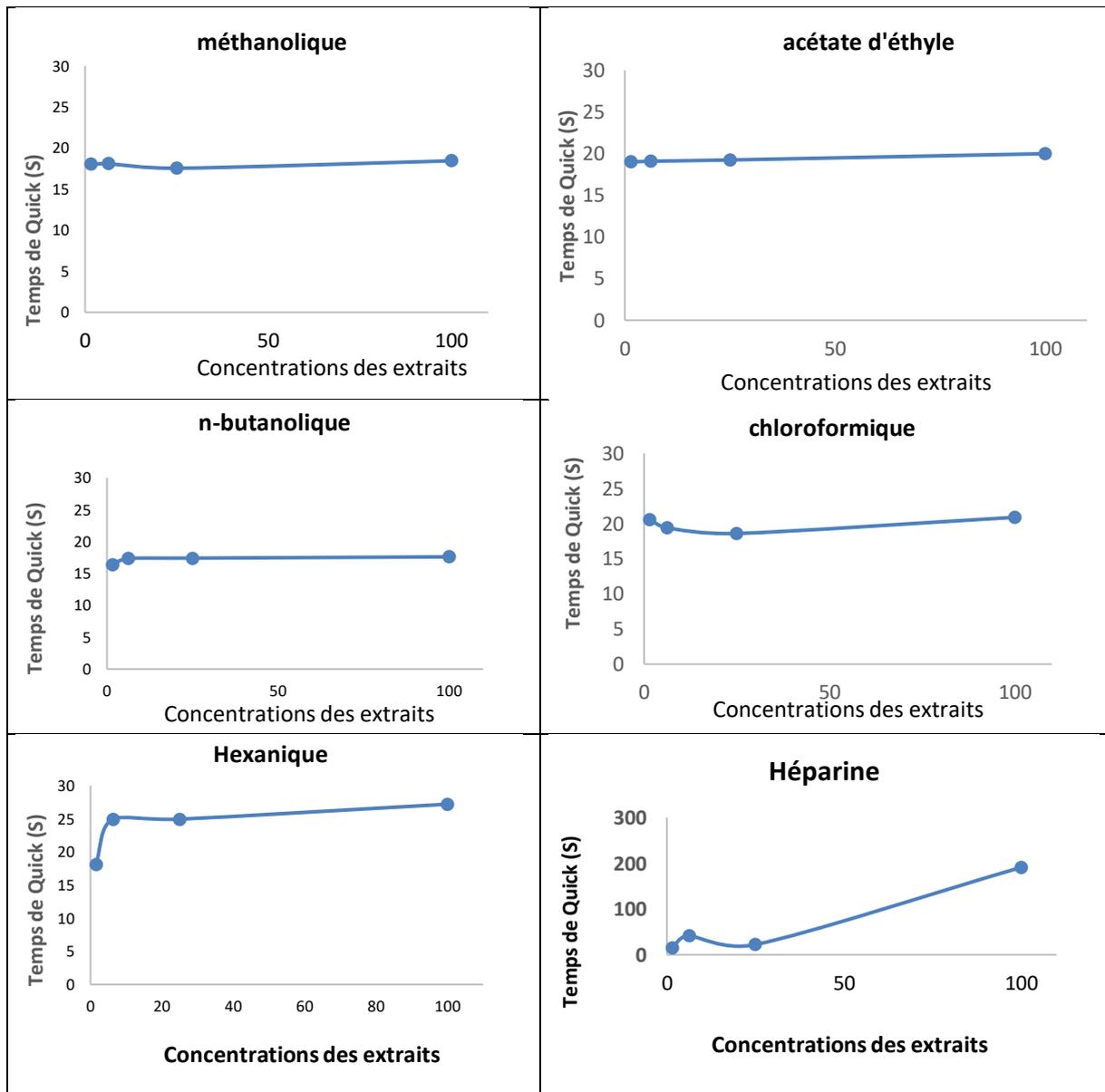
Les antioxydants sont considérés donc comme des réducteurs et des inactivateurs des molécules oxydantes. Il est montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut représenter comme un indicateur significatif de son activité antioxydante (Bougandoura *et al.*, 2013).

4.2. Activité anticoagulante

4.2.1. Résultats

4.2.1.1. Activité anticoagulante par la voie exogène

La voie exogène de la coagulation consiste à déterminer le taux de prothrombine TP ou également indiqué par le temps de Quick TK, ces paramètres sont mesurés en présences de différentes concentrations de différents extraits. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 23.

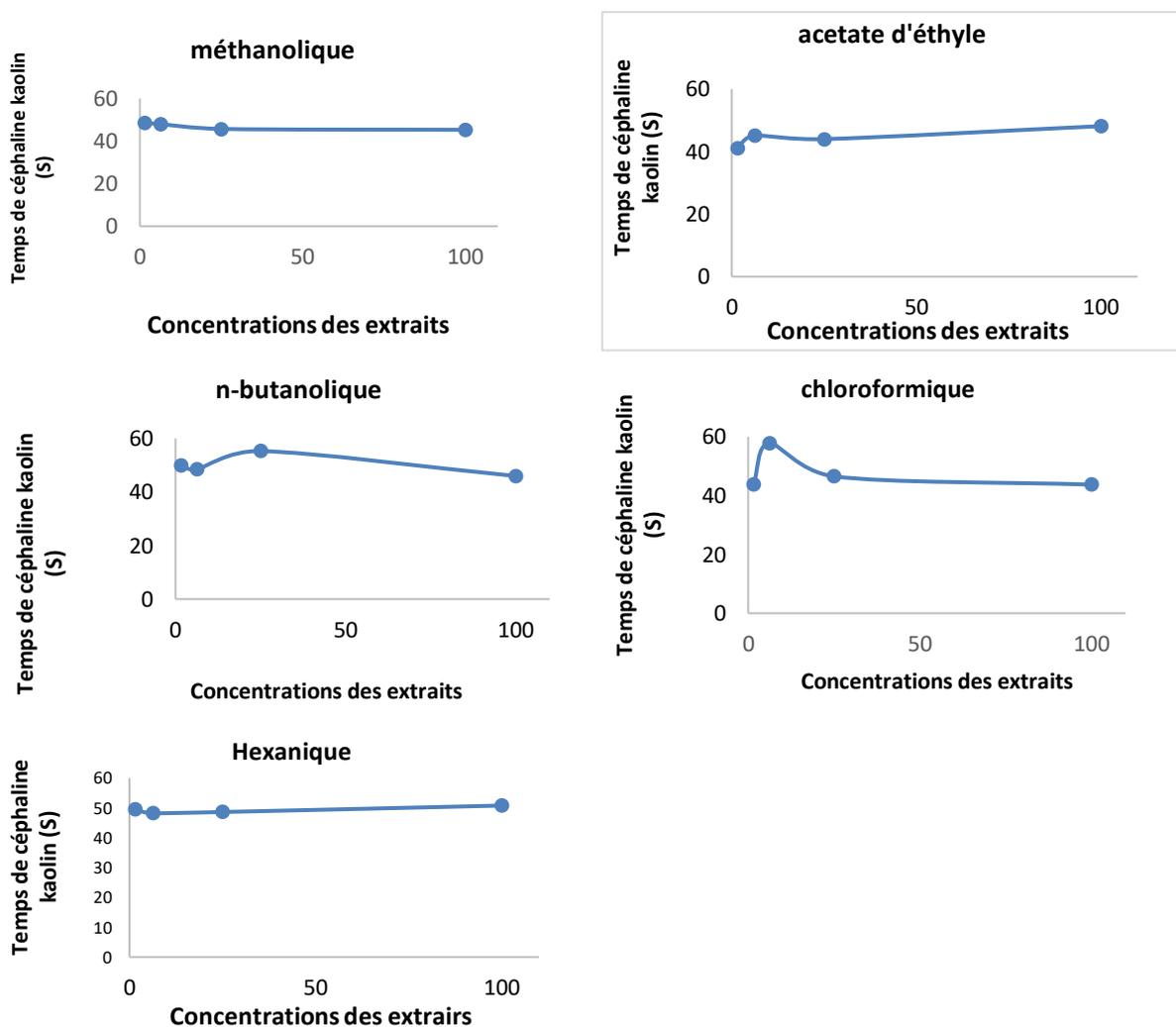


Il apparait à partir des courbes illustrés dans la figure 23 que à la concentration la plus faible (1.5 mg/ml) que l'extrait chloroformique est relativement le plus puissant dans l'inhibition de

la coagulation, le TP marqué est de 20.6 S, suivie de l'extrait d'acétate d'éthyle 19, l'extrait hexanique (18.15s), l'extrait méthanolique (18s). Alors que, l'extrait n-butanolique a marqué le TP le plus faible à cette concentration (figure23). Avec l'augmentation de la concentration, tous les extraits ont montré une légère amélioration de leurs taux de prothrombine, parmi lesquels, c'est l'extrait hexanique qui a enregistré l'activité anticoagulante la plus forte. L'activité anticoagulante de l'héparine est extrêmement plus puissante à celle des extraits (figures 23).

4.2.1.2. Activité anticoagulante par la voie endogène

L'évaluation de l'activité anticoagulante par la voie endogène consistant à la mesure de temps de céphaline kaolin TCK est réalisée. Les résultats obtenus sont enregistré dans la figure24.



L'examen des courbes représentatives des temps de céphaline kaolin en fonction des concentrations des extraits montre que l'extrait le plus anticoagulant est celui de n-butanol, marquant un TCK de 48.83s à la concentration 1.5± mg/ml. Dans cette même concentration des TCK par ordre décroissant de 48.4, 48.55, 42.7 41.23s sont enregistré respectivement avec les extraits hexanique, méthanolique, chloroformique et d'acétate d'éthyle (figure24). Au cours

de test, l'activité anticoagulante de différents extraits montre des fluctuations. A la concentration 6.25, l'extrait chloroformique a marqué le TCK, absolument, le plus important évalué à 57.85 s, suivie de ceux enregistrés par les extraits n-butanolique à la concentration 25mg/ml et l'extrait hexanique à la concentration 100mg/ml ayant marqué respectivement 55.26 et 5.76s (figure 24).

4.2.2. Discussion

La coagulation est un élément fondamental de l'hémostase. La cascade de coagulation représente un équilibre entre la voie procoagulante responsable de la formation de thrombus et la voie anticoagulante qui empêche la formation excessive de thrombus. En raison de divers facteurs de risque, en particulier chez les patients hospitalisés, les patients atteints des maladies cardiovasculaires, les malades atteignent de corona virus...etc. Un déséquilibre dans l'une ou l'autre des voies peut entraîner une thrombose ou des saignements excessifs (Ebhoon et Miller, 2022).

Notre étude a montré une activité anticoagulante, par les deux voies endogène et exogène, des feuilles de Moringa mais elle reste très faible à celle de témoin héparine. Ce ci suggère la possibilité de consommer ce produit par les gens seins et ceux présentant le risque d'avoir des thromboses.

Inversement a l'activité antioxydante, nous avons constaté d'après nos résultats que les extraits obtenus par des solvants moyennement polaire et apolaire sont aussi des bons acteurs de l'activité anticoagulante.

Des études *in vivo* est *in vitro* ont menées sur l'activité anticoagulante des feuilles *Moringa oleifera*, mais on n'a pas encore envisagé cette activité vu les contradictions appréciées dans les résultats de ces études. En effet, une étude a été réalisée par Ifearyi *et al.*, (2019) confirme nos résultats sur l'effet anticoagulant des feuilles de *M. oleifera*. Ces auteurs ont traité oralement des rats albinos par des feuilles fraîches et des feuilles sèches de *M. oleifera* avec une posologie de 100mg/kg. Les résultats obtenus montrent une augmentation de taux de plaquettes à $318,75 \pm 21,65$ et 269.25 ± 24.83 respectivement pour les rats traités par des feuilles fraîches et des feuilles sèches, rappelant que le témoin non traité ayant un taux de 210 ± 46.19 en plaquette. Dans cette même étude, le taux de prothrombine (TP) a révélé une prolongation de 13 chez les témoins à 16.25 ± 1.15 et $16,75 \pm 4.62s$ chez les rats traités par des feuilles fraîches et par des feuilles respectivement.

En revanche, Ahmed *et al.*, (2012) ont étudiés l'activité protéasique de l'extrait de feuille de *M. oleifera* sur la cascade de coagulation, ils ont constaté que *M. oleifera* hydrolyse

sélectivement les chaînes A α et B β des sous-unités de fibrinogène au niveau des ponts disulfure N-terminal, entraînant la formation des caillots et une diminution du temps de coagulation de 180 \pm 10s à 119 \pm 8s. De plus, Sander *et al.* (2021), ont révélé un raccourcissement dose-dépendante du temps de coagulation chez des sujets tests qui ont pris de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* par rapport aux témoins avec des facteurs de 1,64, 1,27 et 1,08 fois plus court respectivement pour l'extrait concentré, l'extrait dilué à 50 % et dilué à 25 %. Ces auteurs ont interprété cet effet coagulant par la propriété cicatrisante des feuilles de *Moringa oleifera*.

On suggère que l'activité anticoagulante des feuilles de *Moringa oleifera* est douée grâce à leur richesse en métabolites dotés d'activité anticoagulante et anti thrombotique comme la quercétine et leur dérivés et l'acide caféique (Gülçin *et al.*, 2006).

Conclusion

Conclusion

Notre objectif vise à réaliser une étude phytochimique sur les feuilles de *Moringa oleifera* et d'évaluer leur activité antioxydante et anticoagulante.

L'enquête ethnobotanique réalisée auprès de la population de Ouargla et de Touggourt sur l'arbre *Moringa oleifera* nous a permis de constater que cet arbre est mal connu chez les deux populations questionnées. La petite fraction des gens qui la consomment en l'utilisent en forme de décoction ou en poudre, souvent à des fins cosmétiques mais également pour traiter le diabète, l'hypertension, les douleurs gastriques et pour la régulation des hormones.

L'extraction des principes actifs est effectuée par macération dans cinq solvants à polarité croissante qui sont l'hexane, le chloroforme, le n-butanol, l'acétate d'éthyle et le méthanol. Le rendement d'extraction le plus élevé est obtenu avec la fraction méthanolique. Cependant, les valeurs des rendements les plus faibles sont ceux des extraits d'acétate d'éthyle et d'hexane.

Le dosage des composés phénoliques a révélé la richesse des extraits n-butanolique, acétate d'éthyle et méthanolique en polyphénols. Cependant les flavonoïdes sont très présents dans les extraits méthanolique, n-butanolique et chloroformique. L'extrait méthanolique est de loin le plus riche en tanins hydrosolubles, ces derniers dominent les tanins condensés au niveau de tous les extraits.

L'activité antioxydante des extraits est évaluée par quatre tests. On a constaté que les extraits d'acétate d'éthyle et méthanolique sont les plus puissants dans le piégeage de radicaux DPPH \cdot , réduction de fer ferrique en fer ferreux (FRAP) et piégeage de peroxyde d'hydrogène. Le test de phosphomolybdate révèle que la capacité antioxydante totale la plus importante est obtenue avec les extraits méthanolique, chloroformique et d'acétate d'éthyle.

Par contre, les extraits dotés d'activité faible, relativement, sont les extraits hexanique et le n-butanolique.

L'évaluation de l'activité anticoagulante par les deux voies, exogène et endogène, montre que tous les extraits exercent cette activité avec une puissance proche mais reste négligeable devant l'effet de l'héparine.

On a constaté à travers notre étude que *Moringa oleifera* est un arbre miraculeux méritant d'être connu et célébré, afin que les gens s'en profitent de ces effets pharmacologiques. Mais surtout de savoir les modes les plus adéquats, pour leur consommation selon les besoins.

Perspectives

Il serait judicieux pour avoir des témoignages sur l'efficacité thérapeutique des feuilles de *Moringa oleifera* de refaire l'enquête ethnobotanique avec une population très large.

Pour améliorer la compréhension des mécanismes mis en jeu pour exercer les différentes activités biologiques des feuilles de *Moringa oleifera*, il est important d'identifier les différents composants de chaque extrait par LC-MS et autres techniques d'identification.

Pour avoir le maximum des bienfaits des feuilles de *Moringa oleifera* et d'éviter leur effet anti-nutritif, il est très nécessaire d'étudier leur bioaccessibilité et leur biodisponibilité en fonction de la dose, traitement thermique et d'autres facteurs.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ajjan R., Grant P.J., (2006).** Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186(2), 240-259.
- Athukorala Y., Lee K., Kim S., Jeon Y J., (2007).** Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource technology*, 98(9), 1711-1716.
- Ahmad A.L., Ramli W.K.W., Fernando W.J.N., Daud W.R.W., (2012).** Effect of ethanol concentration in water coagulation bath on pore geometry of PVDF membrane for Membrane Gas Absorption application in CO₂ removal. *Separation and purification technology*, 88, 11-18.
- Ahmed F, Satish A, Sairam S, Urooj A., (2012).** *Moringa oleifera* Lam.: protease activity against blood coagulation cascade. *Phcog Res.*4(1), 44.
- Atakpama W., kponor E.G.E., kanda M., dourma M., m'tékounm N., batawila K., akpagana K., (2014).** *Moringa oleifera* Lamarck (Moringaceae) : une ressource phytogénétique à usage multiple. *Sciences de la vie, de la terre et agronomie*, 2(1).
- Abdulkadir A.R., Zawawi D.D., Jahan M.S., (2015).** DPPH antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of different part of Drumstic tree (*Moringa oleifera* Lam.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(4), 1423-1428.
- Adikpeto R., Behanzin G.S.I.G., (2015).** Evaluation de l'effet de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* sur les paramètres hématologiques des poules pondeuses de la souche Isa Brown. EPAC/UAC.
- Arulselvan P., Fard M.T., Tan W.S., Gothai S., Fakurazi S., Norhaizan M.E., Kumar S. S., (2016).** Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Anthanont P., Lumlerdkij N., Akarasereenont P., Vannasaeng S., Sriwijitkamol A., (2016).** *Moringa oleifera* leaf increases insulin secretion after single dose administration: a preliminary study in healthy subjects. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 99(3), 308-313.
- Agroconsult S. H., (2016).** Analyse des Potentialités de l'Exploitation du Moringa en Haïti. Ministère de L'Agriculture, des Ressources Naturelles et du Developpement Rural.
- Abarikwu S.O., Benjamin S., Ebah S.G., Obilor G., Agbam G., (2017).** Protective effect of *Moringa oleifera* oil against HgCl₂-induced hepato-and nephro-toxicity in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28(4), 337-345.

- Aqsood M., Qureshi R., Arshad M., Ahmed M.S., M. Ikram., 2017.** Preliminary phytochemical screening, antifungal and cytotoxic activities of leaves extract of *Moringa oleifera* lam. from salt range, Pakistan, *pak. j. bot.* 49 (1), 353-359.
- Abd Rani N., Husain K., Kumolosas E., 2018.** Moringa Genus: A Review of Phytochemistry and Pharmacology. *Frontiers in Pharmacology.* 9, 108 -26.
- Al-Gara N.I., Abu-Serag N.A., Shaheed K. A. A., Al Bahadly Z.K., (2019, July).** Analysis of bioactive phytochemical compound of (*Cyperus alternifolius* L.) by using gas chromatography–mass spectrometry. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 571(1), 012-047.
- Ajantha A., Kathirvelan C., Purushothaman M. R., Visha P., (2020).** Effect of *Moringa oleifera* leaf meal supplementation in broiler chicken on serum and muscle lipid profile. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 9, 464-466.
- Bahorun T., (1998, March).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists*, 83.
- Baulac M., 2005.**Épilepsies et canaux ioniques. *La Lettre du Pharmacologue*, 19, 122-128.
- Boussoussa H., Hamia C., Djeridane A., Boudjeniba M., Yousfi M., (2014).** Effect of different solvent polarity on extraction of phenolic compounds from Algerian *Rhanterium adpressum* flowers and their antimicrobial and antioxidant activities. *Current Chemical Biology*, 8(1), 43-50.
- Bichi M., (2013).** A review of the applications of *Moringa oleifera* seeds extract in water treatment. *Civil and Environmental Research*, 3(8), 1-10.
- Bougandoura N., Bendimerad N., (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature Technology*, (9), 14.
- Belhi M., Selmi H., Tibaoui G., Aloui F., Jedidi S., Rouissi H., (2018).** Chemical properties and anti nutritional factors of *Moringa oleifera*. Propriétés chimiques et facteurs anti-nutritionnelles de la *Moringa oleifera*, 2286-5314.
- Baldisserotto A., Buso P., Radice M., Dissette V., Lampronti I., Gambari R., Vertuani S. (2018).** *Moringa oleifera* leaf extracts as multifunctional ingredients for “natural and organic” sunscreens and photoprotective preparations. *Molecules*, 23(3), 664.
- Bouasla A., Lemmadi S., Meraghni R., (2020).** Propriétés nutritionnelles de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* et son effet sur la qualité des pâtes alimentaires. *Revue agrobiologia*, 10(2), 2229-235.
- Bule M., Khan F., Nisar M. F., Niaz K., Nabavi, S., Saeedi M., Sanches Silva A., (2020).** Tannins (hydrolysable tannins, condensed tannins, phlorotannins, flavono-ellagitannins). *Recent Advances in Natural Products Analysis. Elsevier*, 132-146.

Boukeria S., Mnasri S.R., Ka K., (2020). evaluation of the antibacter *Linum usitatissimum* l. extracts. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 672-673, 1112-9867.

Choi J., Lee E., Lee H., Kim K., Ahn K., Shim B.S., Kim S.H., (2007). Identification of campesterol from *Chrysanthemum coronarium* L. and its antiangiogenic activities. *Phytotherapy Research*, 21(10), 954-959.

Chabrier J. Y., (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

Chanforan C., (2010). Stabilité de micro constituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études

En systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate.

Carocho M., Ferreira I.C., (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.

Chikhi I., 2013. Composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie. Thèse de doctorat en chimie bio-organique et thérapeutique. Univ. Abou Baher Belkaid. Tlemcen, 120.

Charoensin S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(7), 318-325.

Cames C., Cournil A., de Vincenzi I., Gaillard P., Meda N., Luchters S., Kesho Bora Study Group., (2014). Postpartum weight change among HIV-infected mothers by antiretroviral prophylaxis and infant feeding modality in a research setting. 28(1), 85-94.

Cheurfa M., Allem R., (2015). Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts in vivo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, 142-144.

Chukwuebuka E., (2015). *Moringa oleifera* "The Mother's Best Friend". *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. Vol. 4, N°. 6, pp. 624-630.

Chen X. Y., Han J. X., Liu Y. S., Hajiakber A., Yuan T., (2018). Chemical constituents from traditional Uighur herbal medicine *Elaeagnus angustifolia* flowers. *Zhongguo Zhong yao za zhi Zhongguo Zhongyao Zazhi China Journal of Chinese Materia Medica*, 43(9), 1749-1753.

Dillemann G., (1991). Des plantes médicinales parmi les arbres d'alignement des rues de Paris. In : *Revue d'histoire de la pharmacie*. 79(288), 36-38.

Day A.J., Canada F.J., Diaz J.C., Kroon P.A., McLauchlan R., Faulds C.B., Morgan R., Williamson G., 2000. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolyzed by lactase site of lactase phlorizin hydrolase, *FEBS Lett.*, 468, 166-170.

De Saint Sauveur A., Broin M., (2006). L'utilisation des feuilles de *Moringa oleifera* contre les carences alimentaires : un potentiel encore peu valorisé. Atelier international « Moringa et autres végétaux à fort potentiel nutritionnel : Stratégies, normes et marchés pour un meilleur impact sur la nutrition en Afrique. Accra, Ghana.

De Andrade Luz L., Silva M. C. C., Da Silva Ferreira R., Santana L. A., Silva-Lucca R. A., Mentele R., Coelho L.C.B.B., (2013). Structural characterization of coagulant *Moringa oleifera* Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International journal of biological macromolecules*, 58, 31-36.

Duric K., Kovac-Besovic E. E., Niksic H., Muratovic S., Sofic E., (2015). Anticoagulant activity of some *Artemisia dracunculus* leaf extracts. *Journal of the Association of Basic of Medicinal Sciences*, 15(2), 9-14.

Dongock D. N., Bonyo A. L., Mapongmestem P. M., Bayegone E., (2018). Etude ethnobotanique et phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des Maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1), 203-216.

Djemoui D., Saidi M., Rahmani Z., Djemoui A., (2019). Influence of phenolic compounds on antioxidant capacity of leaves extracts of *Moringa oleifera* from Tamanrasset region. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 11(1), 280-293.

Djouhou F. M. C., Nwaga D., Fokou E., (2019). Comparative effect of arbuscular mycorrhizal fungi and biostimulants on the antioxidant and nutritional potential of *Moringa oleifera*. *Nutr. Food Sci. Int. J*, 9, 555757.

Drame I., Gibson C. M., Nonyel N. P., Addo-Atuah, J., Butler L., Riley A., Borja-Hart N., (2022). Strategies for incorporating health disparities and cultural competency training into the pharmacy curriculum and co-curriculum. *American journal of pharmaceutical education*, 86(3).

Erlund I., Alfthan G., Mäenpää, J., Aro A., (2001). Tea and coronary heart disease: the flavonoid quercetin is more bioavailable from rutin in women than in men. *Archives of internal medicine*, 161(15), 1919-1920.

Errajraji A., Ouhdouch F., El-Anssari N., (2010). Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète de type 2 au Maroc : Use of medicinal plants for type 2 diabetes treatment, in Morocco. *Médecine des maladies métaboliques*, 4(3), 301-304.

Ebhohon E., Miller D., (2022). *Moringa Oleifera* leaf extract induced pulmonary embolism- a case report. *International Journal of Emergency Medicine*, 15(1), 1-4.

Faizi S., Siddiqui B. S., Saleem R., Siddiqui S., Aftab K., Gilani A. U. H., (1994). Isolation and structure elucidation of new nitrile and mustard oil glycosides from *Moringa oleifera* and their effect on blood pressure. *Journal of Natural Products*, 57(9), 1256-1261.

- Foidl N., Makkar H. P. S., Becker K., (2001).** Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits de Moringa. Dar es-Salaam, Tanzanie du, 29, 175-232.
- Fuglie L.J., (2001).** Combating malnutrition with Moringa. Development potential for Moringa products, 1(1), 1-4.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331(5), 372-379.
- Franco R., Oñatibia-Astibia A., Martínez-Pinilla E., (2013).** Health benefits of methylxanthines in cacao and chocolate. Nutrients, 5(10), 4159-4173.
- Fitriana W.D., T. Ersam K., Shimizu., Fatmawati S., 2016.** Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Extracts, Indones. J. Chem, 16 (3), 297 - 301
- Ghedira K., (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3(4), 162-169.
- Gülçin İ., (2006).** Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). Toxicology, 217(2-3), 213-220.
- Gülçin İ., Elias R., Gepdiremen A., Boyer L., (2006).** Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). European Food Research and Technology, 223(6), 759-767.
- Gómez-Caravaca A. M., Gómez-Romero M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41(4), 1220-1234.
- Giridhari V. V. A., Malathid D., Geetha K., (2011).** International Journal of Health Nutrition. Int J Health Nutr, 2(1), 1-5.
- Ghourri M., Zidane L., Douira A., (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). Journal of Animal Plant Sciences, 17(1), 2388-2411.
- Gismondi A., Canuti L., Impei S., Di Marco G., Kenzo M., Colizzi V., Canini A., (2013).** Antioxidant extracts of African medicinal plants induce cell cycle arrest and differentiation in B16F10 melanoma cells. International Journal of Oncology, 43(3), 956-964.
- Gupta D., (2015).** Methods for determination of antioxidant capacity: A review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 6(2), 546.
- Gopalakrishnan L., Doriya K., Kumar D.S., (2016).** *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food science and human wellness, 5(2), 49-56.
- Gothai S., Muniandy K., Zarin M. A., Sean T. W., Kumar S. S., Munusamy M. A., Arulselvan P., (2017).** Chemical composition of *Moringa oleifera* ethyl acetate fraction and its biological activity in diabetic human dermal fibroblasts. Pharmacognosy Magazine, 13(13), 462.

Heim K.E., Tagliaferro A. R., Bobilya D.J., (2002). Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.

Hêdji C. C., Gangbazo D. K., Houinato M. R., Fiogbé E. D., (2014). Valorisation de *Azolla* spp, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences*, 81, 7277-7289.

Holaly G. E., Simplicite K. D., Charlemagne G., Kodjovi A., Kokou A., Tchadjobo T., Jacques S., (2015). Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète

Dans la médecine traditionnelle de la région Maritime du Togo. *The Pan African Medical Journal*, 20.

HAAS D., (2015). Métabolisme secondaire de *Streptomyces ambofaciens*: exploration génomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane (Doctoral dissertation, Paris 11) Laboratoire : Institut de Biologie Intégrative de la Cellule.

Hossain M.A., Disha N.K., Shourove J.H., Dey P., (2020). Determination of Antioxidant Activity and Total Tannin from Drumstick (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves Using Different Solvent Extraction Methods. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(12), 2749-2755.

Ifeanyi O. E et al. (2019). The Effect of *Moringa Oleifera* Leaf and Seed Extract on Some Coagulation Parameters in Albino Rats. *CPQ Medicine*, 6(2), 01-08.

Jiang R. W., Lau K. M., Hon P. M., Mak T. C., Woo K. S., Fung K. P., (2005).

Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza*. *Current medicinal chemistry*, 12(2), 237-246.

Jones D. P., (2006). Redefining oxidative stress. *Antioxidants redox signaling*, 8(9-10), 1865-1879.

Koné D., (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

Kumari D. J., (2010). Hypoglycaemic effect of *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* in type 2 diabetes mellitus. *Bioscan*, 5(20), 211-214.

Kabran G. R., Mamyrbekova-Bekro J. A., Pirat J. L., Bekro Y. A., Sommerer N., Verbaere A., Meudec E., (2014). Identification de composés phénoliques extraits de deux

Plantes de la pharmacopée ivoirienne. Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie, (038), 57-63.

Kadhim E. J., AL-Shammaa D. A., (2014). Phytochemical characterization using GC-MS analysis of methanolic extract of *Moringa oleifera* (Family Moringaceae) plant cultivated in Iraq. *Chem Mater Res*, 6(5), 9-26.

Kim S. K., Karadeniz F., (2012). Biological importance and applications of squalene and squalane. *Advances in food and nutrition research*, 65, 223-233.

Koul B., Chase N., 2015. *Moringa oleifera* Lam.: Panacea to several maladies. *J. Chem. Pharm. Res.*, 7(6), 687-707.

Kaur R., Arora S., (2015). Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *J Crit Rev*, 2(3), 1-8.

Karim R. A., Amin M. R., Moniruzzaman M., Sarker M. B., Kabir A. K. M. A., (2015). Effect of *Moringa oleifera* leaf on the efficiency to increase protein supply to ruminants. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 44(1), 46-51.

Kumar S., (2017). Medicinal importance of *Moringa oleifera*: drumstick plant. *Indian Journal of Scientific Research*, 129-133.

Koné K. P. F. O., (2018). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique Felix Houphoët Boigny-Yamoussoukro).

Khandelwal S., Khurana S. P., (2019). Molecular docking studies and GC-MS analysis of the antimicrobial compounds isolated from leaves of *Moringa oleifera*. *Medicinal Plants- International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, 11(1), 95-103.

Kim J. K., Park S. U., (2019). A recent overview on the biological and pharmacological activities of ferulic acid. *Excli Journal*, 18, 132-138.

Kouakou D. K. R., Piba S. C., Yao K., Koné M. W., Bakayoko A., Bi F.H.T., (2020). Evaluation des connaissances des populations de la région de n'zi sur l'utilisation des plantes alimentaires dans le traitement du diabète de type 2, de l'hypertension artérielle et de l'obésité (Centre-Est De La Côte d'Ivoire). *Eur Sci J*, 15, 1857-7881.

Kadi K., Mrah R., Hamli S., Lekmine S., Dib D., Addad D., Hafsaoui I., (2020). Evaluation of the anticoagulant activity of margins from olives extraction in the Khenchela region. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 12(2), 634-649.

Karim N., Afroj S., Lloyd K., Oaten L. C., Andreeva D. V., Carr C., Novoselov K. S., (2020). Sustainable personal protective clothing for healthcare applications: a review. *ACS nano*, 14(10), 12313-12340.

Konmy B.B.S., Olounladé P. A., Doko-Allou S. Y., Azando E. V. B., (2020). Evaluation Of the Activity of Powder of Leaves of *Moringa Oleifera* On Gastro Intestinal Parasites of The Domestic Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*) In Southern Benin. *European Scientific*

Journal, 16(30), 51-71.

Khan J., Tousif M. I., Saleem M., Nazir M., Touseef S., Saleem K., Qaisrani M. M., (2021). Insight into the phytochemical composition, biological activities and docking studies of *Moringa oleifera* Lam. to authenticate its use in biopharmaceutical industries. *Industrial Crops and Products*, 172, 114042.

Kashyap P., Kumar S., Riar C. S., Jindal N., Baniwal P., Guiné R. P., Kumar H., (2022). Recent Advances in Drumstick (*Moringa oleifera*) Leaves Bioactive Compounds: Composition, Health Benefits, Bioaccessibility, and Dietary Applications. *Antioxidants*, 11(2), 402, 575-585, 1450-216.

Lemordant D., (1979). Utilisations pharmaceutiques du cacao. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 26(3), 233-246.

Lee S. R., Im K. J., Suh S. I., Jung J. G., (2003). Protective effect of green tea polyphenol epigallocatechin gallate and other antioxidants on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. *Phytotherapy Research*, 17(3), 206-209.

Lastra A.L., Ramirez T.O., Salazar L., Martinez M., Trujillo-Ferrar J., (2004). The ambrosanolide cumanin inhibits macrophage nitric oxide synthesis: some structural considerations. *Journal of ethnopharmacology*, 95(2-3), 221-227.

Lopez Giraldo L. J., (2008). Lipophilisation enzymatique de composés phénoliques et évaluation de leurs propriétés antioxydantes (Doctoral dissertation, Montpellier SupAgro).

Leverve X., (2009). Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224.

Liu J., Luo J., Ye H., Sun Y., Lu Z., Zeng X., (2010). In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharides from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. *Carbohydrate polymers*, 82(4), 1278-1283.

Lü J.M., Lin P.H., Yao Q., Chen C., (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell. Mol. Med.* 14(4), 840-860.

Liang N., Kitts D. D., (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.

Laleye OAF., Ahissou H., Olounlade Ap., Azando EVB., 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). *International journal of Biological and chemical sciences*, 9(5), 2682-2700.

Li C., Zhao Y., Yang D., Yu Y., Guo H., Zhao Z., Yin X., (2015). Inhibitory effects of kaempferol on the invasion of human breast carcinoma cells by downregulating the expression and activity of matrix metalloproteinase-9. *Biochemistry and Cell Biology*, 93(1), 16-27.

- Lin M., Zhang J., Chen X., (2018).** Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties. *Journal of functional foods*, 47, 469-479.
- Liu B., Gao J. M., Li F., Gong Q. H., Shi J. S., (2018).** Gastrodin attenuates bilateral common carotid artery occlusion-induced cognitive deficits via regulating A β -related proteins and reducing autophagy and apoptosis in rats. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 405.
- Leite P. M., Freitas A., Amorim J., Figueiredo R. C. D., Bertolucci S., Faraco A., Castilho R., (2021).** In vitro anticoagulant activity of selected medicinal plants: potential interactions with warfarin and development of new anticoagulants. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*.
- Murakami Y., Hill J. P., Gibbs D., Blume M., Koyama I., Tanaka, M., Endoh Y., (1998).** Resonant x-ray scattering from orbital ordering in LaMnO₃. *Physical review letters*, 81(3), 582.
- Makkar H. A., Becker K., (1996).** Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal feed science and technology*, 63(1-4), 211-228.
- Meng J. C., Zhu Q. X., Tan R. X., (2000).** New antimicrobial mono- and sesquiterpenes from *Soroiseris hookeriana* subsp. *erysimoides*. *Planta Medica*, 66(06), 541-544.
- Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. C., (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- Makkar H. P. S., (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small ruminant research*, 49(3), 241-256.
- Macheix J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- Marston A., Hostettmann K., (2006).** Developments in the application of counter-current chromatography to plant analysis. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 181-194.
- Magalhães L. M., Segundo M. A., Reis S., Lima J. L., (2008).** Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613(1), 1-19.
- Mahmood K. T., Mugal T., Haq I. U., (2010).** *Moringa oleifera*: a natural gift-A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(11), 775.
- Muanda F. N., (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, 238.
- MELKI H., OUISSI N., (2010).** Les voies de métabolisme secondaire chez les actinomycètes *saccharotrixalgeriensis* 233 comme modèle (doctoral dissertation, université mohamedboudiaf de m'sila).

- Madi O. P., Bourou S., Woin N., (2012).** Utilisations et importances socioéconomiques du *Moringa oleifera* Lam. En zone de savanes d’Afrique Centrale. Cas de la ville de Maroua au Nord-Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 60, 4421-4432.
- Millogo-Koné H., Kini B. F., Yougbaré Z., Yaro M. B., Sawadogo M., (2012).** Etudes de la phytochimie et de l’activité antimicrobienne in vitro des feuilles de *Moringa oleifera* (Moringaceae). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 16.
- Mohammed L., Ansari M. N., Pua G., Jawaid M., Islam M. S., (2015).** A review on natural fiber reinforced polymer composite and its applications. *International Journal of Polymer Science*, 2015.
- Manzo M. L., Halidou D. M., Hallarou M., Illo A., Rabani A., Donnen P., Dramaix M., (2016).** Composition de la poudre des feuilles sèches de *Moringa oleifera* dans trois régions du Niger. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16(4), 11432-11442.
- Maizuwo A. I., Hassan A. S., Momoh H., Muhammad J. A., (2017).** Phytochemical constituents, biological activities, therapeutic potentials and nutritional values of *Moringa oleifera* (Zogale): a review. *Journal of drug design and medicinal chemistry*, 3(4), 60.
- Memariani Z., Moeini R., Hamed S. S., Gorji N., Mozaffarpur S. A., (2018).** Medicinal plants with antithrombotic property in Persian medicine: a mechanistic review. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 45(1), 158-179.
- Martono Y., Yanuarsih F. F., Aminu N. R., Muninggar J., (2019, August).** Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from *Moringa oleifera* leaves. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1307, (1), 012014.
- Neu C., (2011).** Les interactions entre les antithrombotiques et les plantes médicinales (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- N’guessan H. A., Dago D. C. E., Mamyrbékova-Békro J. A., Békro Y. A., (2011).** CCM d’extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l’hypertension artérielle en Côte d’Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 66(4).
- Nithiyantham S., Selvakumar S., Siddhuraju P., (2012).** Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L. *Journal of food Composition and Analysis*, 27(1), 52-60.
- Ndhlala A. R., Mulaudzi R., Ncube B., Abdelgadir H. A., Du Plooy C. P., Van Staden J., (2014).** Antioxidant, antimicrobial and phytochemical variations in thirteen *Moringa oleifera* Lam. cultivars. *Molecules*, 19(7), 10480-10494.
- Naveed M., Hejazi V., Abbas M., Kamboh A. A., Khan G. J., Shumzaid, M., XiaoHui Z., (2018).** Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 97, 67-74.
- Ndiaye O., Goudiaby A. O. K., Sambou A., (2018).** Effects of substrate on germination and growth of *Moringa oleifera* Lam., *Acacia mellifera* (Vahl) Benth. and *Zizyphus mauritiana* Lam. seedlings. *REFORESTA*, (6), 86-99.

Nadkarani K., (2000). Indian materia medica. PopularPrakashan, 1-811.

Gopalakrishnan L., Doriya K., Kumar S. D. Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food Science and Human Wellness, 5, 49–56.

Ndhkala A. R., Mulaudzi R., Ncube B., Abdelgadir H. A., Du Plooy C. P., Van Staden J., (2014). Antioxidant, antimicrobial and phytochemical variations in thirteen *Moringa oleifera* Lam. cultivars. Molecules, 19(7), 10480-10494.

Nambiar R. B., Sellamuthu P. S., Perumal A. B., (2017). Microencapsulation of tender coconut water by spray drying: effect of *Moringa oleifera* gum, maltodextrin concentrations, and inlet temperature on powder qualities. Food and Bioprocess Technology, 10(9), 1668-1684.

Ong K. C., Khoo H. E., (1997). Biological effects of myricetin. *General Pharmacology: The Vascular System*, 29(2), 121-126.

Oduro I., Ellis W. O., Owusu D., (2008). Nutritional potential of two leafy vegetables: Moringa oleifera and Ipomoea batatas leaves. Scientific Research and Essays, 3(2), 057-060.

Orch H., Douira A., Zidane L., (2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izarène (Nord du Maroc). Journal of Applied Biosciences, 86, 7940-7956.

Odjinou K., Ahoussi-dahouenon E., Degnon R., Adjou E.S., Hounkpatin E., (2018). Production et évaluation de la qualité microbiologique du sirop à base de moringa et de gingembre. EPAC/UAC. 25, 26.

Ogbe A. O., Affiku J.P., (2021). Proximate study, mineral and anti-nutrient composition of Moringa oleifera leaves harvested from Lafia, Nigeria: potential benefits in poultry nutrition and health. Journal of Microbiology, Biotechnology and food sciences, 2021, 296-308.

Perchellet J. P., (1996). Benjamin Constant ou la parole brisée. Cahiers de l'AIEF, 48(1), 355-370.

prithiviraj B., Singh U. P., Manickam M., Ray A. B., (1997). Antifungal activity of anacardic acid, a naturally occurring derivative of salicylic acid. Canadian Journal of Botany, 75(1), 207-211.

Prieto P., Pineda M., Aguilar M., (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical biochemistry, 269(2), 337-341.

Pamo E. T., Niba A. T., Fonteh F. A., Tedonkeng F., Kana J. R., Boukila B., Tsachoung J., (2005). Effet de la supplémentation au *Moringa oleifera* ou aux blocs multinutritionnels sur l'évolution du poids post partum et la croissance pré-sevrage des cobayes (*Caviaporcellus* L.). Livestock Research for Rural Development, 17(4), 9.

Price M. L., (2007). Le moringa. *Note technique-ECHO (revue en 2000, en 2002 et en 2007).*

Palombo P., Fabrizi G., Ruocco V., Ruocco E., Fluhr J., Roberts R., Morganti P., (2007). Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with the carotenoid's lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin pharmacology and physiology*, 20(4), 199-210.

Perrone D., Farah A., Donangelo C. M., de Paulis T., Martin P. R., (2008). Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. *Food Chemistry*, 106(2), 859-867.

Purwal L., Pathak A. K., Jain U. K., (2010). In vivo anticancer activity of the leaves and fruits of *Moringa oleifera* on mouse melanoma. *Pharmacologyonline*, 1, 655-665.

Pakade V., Cukrowska E., Chimuka L., (2013). Comparison of antioxidant activity of *Moringa oleifera* and selected vegetables in South Africa. *South African journal of science*, 109(3), 1-5.

Palta S., Saroa R., Palta A., (2014). Overview of the coagulation system. *Indian journal of anaesthesia*, 58(5), 515.

Paula P. C., Sousa D. O., Oliveira J. T., Carvalho A. F., Alves B. G., Pereira M. L., Vasconcelos I. M., (2017). A protein isolate from *Moringa oleifera* leaves has hypoglycemic and antioxidant effects in alloxan-induced diabetic mice. *Molecules*, 22(2), 271.

Prado-Audelo D., Luisa M., Cortés H., Caballero-Florán I. H., González-Torres M., Escutia-Guadarrama L., Leyva-Gómez G., (2021). Therapeutic Applications of Terpenes on Inflammatory Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 2114.

Robbins R.J., 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51 (10), 2866-2887.

Ramaroson Rakotosamimanana V., 2014. Etude des pratiques et croyances alimentaires Pour comprendre la malnutrition à Madagascar : intérêt de l'introduction de feuilles de *Moringa oliefara*. Thèse de Doctorat Alimentation et Nutrition. Université de Bourgogne, France.

Rajan K., Harvey C. D., Tank D. W., (2016). Recurrent network models of sequence generation and memory. *Neuron*, 90(1), 128-142.

RAhmad S., Maqbool A., (2017). Free radical injury and oxidative stress: a review. *GJRA*, réactions particulièrement dangereuses pour la population sensible, 6(9), 50-51

Rachdi H., Hakimi A., Hamdi H., (2018). Liberalization, crisis and growth in MENA region: Do institutions matter. *Journal of Policy Modeling*, 40(4), 810-826.

Riaz A., Rasul A., Hussain G., Zahoor M. K., Jabeen F., Subhani Z., Selamoglu Z., (2018). Astragaloside: a bioactive phytochemical with potential therapeutic activities. *Advances in pharmacological sciences*.

Ranjini P., Manikantan M. R., Subhashree N., Mathew A. C., Balasubramanian D., Shameena Beegum P. P., Hebbar K. B., (2019). Correlation and principal component

analysis of physical properties of tender coconut (*Cocos nucifera* L.) in relation to the development of trimming machine. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6), e13217.

Saettone M. F., Giannaccini B., Morganti C., Persi A., Cipriani C. (1986). Substantivity of sunscreens: an appraisal of some quaternary ammonium sunscreens. *International journal of cosmetic science*, 8(1), 9-25.

Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F., (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76 (2), 270-276.

Saint Sauveur A. D., Broin M., (2010). Produire et transformer les feuilles de moringa.

Sulaiman S.F., Sajak A.A.B., Ooi K.L., Seow E.M., (2011). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and analysis*, 24(4-5), 506-515.

Sonia C., Jean C., (2011). Polyphénols et procédés. Lavoisier, transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire, 0993-3948 (AUF).

Satish A., Sairam S., Ahmed F., Urooj A., (2012). *Moringa oleifera* Lam.: Protease activity against blood coagulation cascade. *Pharmacognosy Research*, 4(1), 44.

Semaming Y., Pannengpetch P., Chattipakorn S. C., Chattipakorn N., (2015). Pharmacological properties of protocatechuic acid and its potential roles as complementary medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Saurabh P., Manila B., Niraj T., Sonal P., Bansal Y.K., 2015. Secondary Metabolites of Plants and their Role. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293-304.

SA A.H., (2016). Analyse des Potentialités de l'Exploitation du Moringa en Haïti. Ministère de l'agriculture, des ressources naturelles et du développement rural (marndr) banque de la republique d'Haïti.

Sodjinou K., A houssi-dahouenon E., Degnon R., adjou E. S., Hounkpatin E., (2018). Production et évaluation de la qualité microbiologique du sirop à base de moringa et de gingembre. EPAC/UAC.

Sy A. N., Diorfalla., Ndiaye M., Ndiaye K., Gueye R.S., Bassene E., SyG. Y., (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1816-1823.

Saucedo-Pompa S., Torres-Castillo J. A., Castro-López C., Rojas R., Sánchez-Alejo E. J., Ngangyo-Heya M., Martínez-Ávila G. C. G., (2018). Moringa plants: Bioactive compounds and promising applications in food products. *Food Research International*, 111, 438-450.

Shanmugavel G., Prabakaran K., George B., (2018). Evaluation of phytochemical constituents of *Moringa oleifera* (Lam.) leaves collected from Puducherry region, South India. *Int J Zool Appl Biosci*, 3(1), 1-8.

Références bibliographiques

Saidi I., (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des *fabaceae*: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).

Sankaranarayanan R., Valiveti C. K., Kumar D. R., Van Slambrouck S., Kesharwani S. S., Seefeldt T., Bhat G. J., (2019). The flavonoid metabolite 2, 4, 6-trihydroxybenzoic acid is a CDK inhibitor and an anti-proliferative agent: A potential role in cancer prevention. *Cancers*, *11*(3), 427.

Shousha W. G., Aboulthana W. M., Salama A. H., Saleh M. H., Essawy E. A., (2019). Evaluation of the biological activity of *Moringa oleifera* leaves extract after incorporating silver nanoparticles, in vitro study. *Bulletin of the National Research Centre*, *43*(1), 1-13.

Sánchez-Viesca F., Gómez R., (2019). On the mechanism of the Treumann test for theobromine. *Int. J. Chem. Sci.*, *3*(6), 46-49.

Seyidoglu N., Aydin C., (2020). Stress, natural antioxidants and future perspectives. *The Health Benefits of Foods-Current Knowledge and Further Development*. London: Intechopen, 149-165.

Saleem A., Saleem M., Akhtar. F., (2020). Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. *South African Journal of Botany*, *128*, 246-256.

Sander Y., Ariesanti Y., Roeslan M. O., (2021, July). Effect of *Moringa oleifera* Leaves on Human Blood Coagulation Process. In *2021 IEEE International Conference on Health, Instrumentation & Measurement, and Natural Sciences (InHeNce)*, 1-5.

Sharifi-Rad J., Quispe C., Castillo C. M. S., Caroca R., Lazo-Vélez M. A., Antonyak H., Cho W. C., (2022). Ellagic Acid: A Review on Its Natural Sources, Chemical Stability, and Therapeutic Potential. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022.

Tété-Bénissan A., Quashie M. L. A., Lawson-Evi K., Kokou K., Gbeassor M., (2012). Récupération nutritionnelle chez les sujets malnutris VIH positifs et VIH négatifs après utilisation de feuilles de *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Animal & Plant Sciences*, *15*(2), 2184-2199.

Türkez H., Çelik K., Toğar B., (2014). Effects of copaene, a tricyclic sesquiterpene, on human lymphocytes cells in vitro. *Cytotechnology*, *66*(4), 597-603.

Teixeira E.M.B., Carvalho, M.R.B., Neves V.A., Silva M.A., Arantes-Pereira L., 2014. Chemical Characteristics and Fractionation of Proteins from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *Food Chem*, *147*, 51–54.

Teixeira A., Baenas N., Dominguez-Perles R., Barros A., Rosa E., Moreno D. A., Garcia-Viguera C., (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. *International journal of molecular sciences*, *15*(9), 15638-15678.

Tshabalala T., Ncube B., Madala N. E., Nyakudya T. T., Moyo H. P., Sibanda M., Ndhlala A. R., (2019). Scribbling the cat: a case of the “miracle” plant, *Moringa oleifera*. *Plants*, 8(11), 510.

Taïlé J., (2021). Étude des altérations fonctionnelles des cellules endothéliales cérébrales en condition hyperglycémique associée au diabète: rôle protecteur des polyphénols de plantes médicinales (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Tong Z., He W., Fan X., Guo A., 2022. Biological Function of Plant Tannin and Its Application in Animal Health. *Front Vet Sci*, 8:803-657.

Uma N., Fakurazi S., Hairuszah, I., (2010). *Moringa oleifera* enhances liver antioxidant status via elevation of antioxidant enzymes activity and counteracts paracetamol-induced hepatotoxicity. *Malaysian Journal of Nutrition*, 16(2).

Vuorela S., Salminen H., Mäkelä M., Kivikari R., Karonen, M., Heinonen M., (2005). Effect of plant phenolics on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8492-8497.

Vogler E. A., Siedlecki C.A., (2009). Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*, 30(10), 1857-1869.

vandi D., Nga E. N., Betti J. L., Loe G. E., Ottou P. M., Priso R. J., Foze T. N., Bounsong C. N., Dibong S. D., Mpondo E. M., (2016). Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 30(3), 4797-4814.

Vudhgirl S., Prasad R. B. N., Kota A., (2016). Synthesis and biological evaluation of marumosiide A isolated from *Moringa Oleifera* and its lipid derivatives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(2), 607-617.

Vergara-Jimenez M., Almatrafi M. M., Fernandez M. L., (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4), 91.

Verma A. R., Vijayakumar M., Mathela C. S., Rao C. V., (2009). In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2196-2201.

Wang J., Zhang Q., Zhang Z., Song H., Li P., (2010). Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International journal of biological macromolecules*, 46(1), 6-12.

Wang T., Lin J., Chen Z., Megharaj M., Naidu R., (2014). Green synthesized iron nanoparticles by green tea and eucalyptus leaves extracts used for removal of nitrate in aqueous solution. *Journal of cleaner production*, 83, 413-419.

Wang Y., Gao Y., Ding H., Liu S., Han X., Gui J., Liu D., (2017). Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. *Food chemistry*, 218, 152-158.

Wu X., Li M., Xiao Z., Daglia M., Dragan S., Delmas D., Xiao J., (2020). Dietary polyphenols for managing cancers: What have we ignored *Trends in Food Science Technology*, 101, 150-164.

Wahyuni R., Wignyanto W., Wijana S., Sucipto S., (2020). Optimization of protein and tannin extraction in *Moringa oleifera* leaf as antioxidant source. *Food Res*, 4, 2224-2232.

Wembonyama S. O., (2021). *Moringa oleifera*, une aubaine dans la prise en charge du syndrome drépanocytaire majeur. *Journal of Medicine, Public Health and Policy Research*, vol. 1, no 1.

Yang R. Y., Chang L. C., Hsu J. C., Weng B. B., Palada M. C., Chadha M. L., Levasseur V., (2006). Propriétés Nutritionnelles et Fonctionnelles des Feuilles de Moringa ; Du Germoplasme, à la Plante, à l'aliment et à la santé. *Moringa et autres végétaux à fort potentiel nutritionnel : Stratégies, normes et marchés pour un meilleur impact sur la nutrition en Afrique*, 16-18.

Yordanov M., Dimitrova P., Patkar S., Saso L., Ivanovska N., (2008). Inhibition of *Candida albicans* extracellular enzyme activity by selected natural substances and their application in *Candida* infection. *Canadian journal of microbiology*, 54(6), 435-440.

Yordi E. G., Pérez E.M., Matos M. J., Villares E.U., (2012). Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. *Nutrition, well-being and health*, 2, 23-48.

Youl E. N. H., Ouedraogo M., Ouedraogo M., Gnoula C., Guissou I. P., Magous R., Oiry C., (2013). Effet protecteur de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) et de *Sclerocaryabirrea* [(A. Rich.) Hochst.] (Asclepiadaceae) sur les cellules β pancréatiques INS-1. Protective effect of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) and *Sclerocaryabirrea* [(A. Rich.) Hochst.] (Asclepiadaceae) on INS-1 pancreatic β -cells. *Sciences de la Santé*, 36(1 et 2).

Zongo U., Savadogo A., Zoungrana S. L., Sékoné P. L., Traoré, A. S., (2013). Intérêt nutritionnel de *Moringa oleifera* Lam. (Syn. *Moringa pterygosperma* CF Gaertn.).

Annexes

Annexes

Annex 01 : Appareillage et quelque produit de laboratoire



Balance



Etuve



Agitateur



Centrifugeur



Bain-marie



Spectrophotomètre



DMSO



Héparine



TP

I			
• La partie utilisé :			
-Tige <input type="checkbox"/>	-Feuille <input type="checkbox"/>	-Graine <input type="checkbox"/>	
• Quel est le prix de vent de cette dernière ?			
<input type="checkbox"/>			
• Mode de préparation :			
-Infusion <input type="checkbox"/>	-Décoction <input type="checkbox"/>	-Cataplasme <input type="checkbox"/>	-Autres <input type="checkbox"/>
• La dose utilisé :			
-Pincée <input type="checkbox"/>	-Poignée <input type="checkbox"/>	-Cuillerée <input type="checkbox"/>	
• Mode d'administration :			
-Oral <input type="checkbox"/>	-Massage <input type="checkbox"/>	-Rinçage <input type="checkbox"/>	
-Badigeonnage <input type="checkbox"/>	-Autre <input type="checkbox"/>		
• Avez-vous le gout de Moringa :			
-Amer <input type="checkbox"/>	-Doux <input type="checkbox"/>	-Acide <input type="checkbox"/>	
• Posologie (Nombre de prise par jour) :			
-1fois /jour <input type="checkbox"/>	-2fois/jour <input type="checkbox"/>	-3fois/jour <input type="checkbox"/>	
• Est-ce que elle est convenable pour ils :			
-Enfants <input type="checkbox"/>	-Femme enceint <input type="checkbox"/>	-Diabétique <input type="checkbox"/>	
-Hypertendus <input type="checkbox"/>			
• Durée d'utilisation (durée de traitement) :			
-Journalièrement <input type="checkbox"/>	-Selon les besoin <input type="checkbox"/>		

• Utilisation :

• Diagnostique par :

-Lui-même -Herboriste -Médecine -Autre

• Résultats :

-Guérison -Améliorant -Inefficace

• Effets secondaire :

• Toxicité :

• Précaution d'emploi :

« Merci beaucoup pour votre coopération avec nous »

جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية علوم الطبيعة والحياة قسم البيوكيمياء

عزيزي المشارك أو عزيزتي المشاركة:

فيما يلي مجموعة من الأسئلة تتعلق ببحث علمي أرجو منك الإجابة على كل العبارات
بصدق وبدقة بعد قراءتها جيدا. مع العلم أن كل ما ستذكره من معلومات سيكون لأغراض
علمية.

• الجنس : ذكر أنثى

• السن :

• المستوى الدراسي :

لم يدرس ابتدائي

متوسط ثانوي جامعي

• هل تعرف نبات المورينجا ؟ نعم لا

• إذا نعم هل استعملتها من قبل ؟ نعم لا

• الغرض من الاستخدام ؟

علاجي مستحضرات تجميل استخدام آخرى

• ما هو الجزء المستعمل ؟

الساق الأوراق البذور

- ما هو سعر بيع هذه التبتة ؟ مقبولة باهظة الثمن
- طريقة التحضير ؟

النقع الغليان في الماء كمادات طرق أخرى

- الكمية المستخدمة ؟ قرصه حفنة ملعقة

- طريقة الاستهلاك ؟ عن طريق القم التليك الشطف
- طرق أخرى

- هل طعم الموريتجا ؟

مر حلو حامض مائل غير مائل

- الجرعة : عند الجرعات في اليوم ؟

مرة في اليوم مرتين في اليوم ثلاث مرات في اليوم

- هل هي مناسبة لـ ؟

الأطفال الحوامل لمرضى السكري

مرضى ضغط الدم

- مدة الاستخدام (مدة العلاج) ؟

يوميا حسب الحاجة

استعمالاتها: 

• كيف تعرفت على هذه النبتة ؟ بنفسك خطر طبيب أخرى

• النتائج ؟

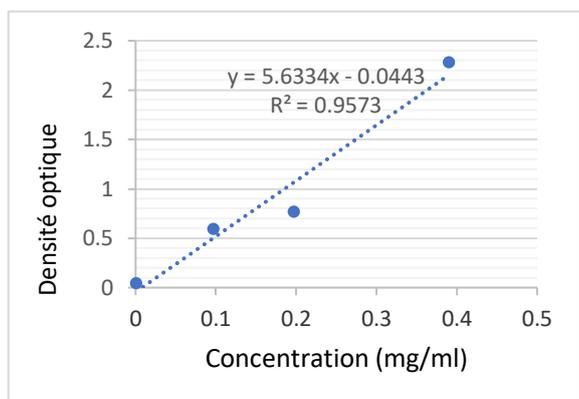
الشفاء التحسن غير فعال

• التأثيرات الثانوية ؟

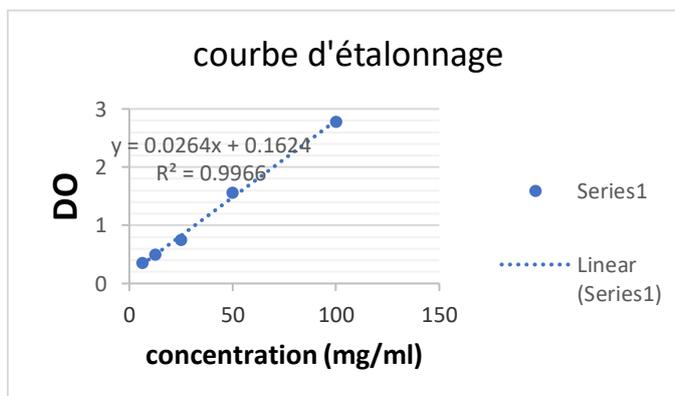
• الأعراض الجانبية ؟

|

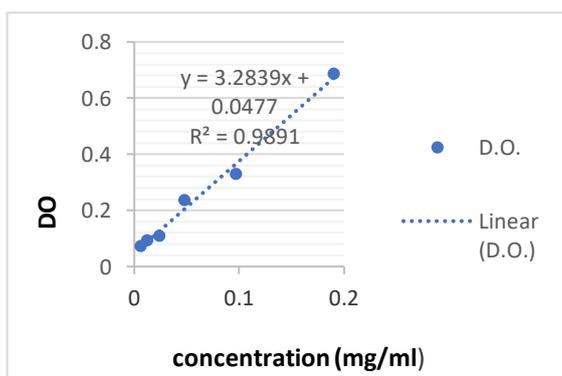
مع الشكر الجزيل لكم على تعاونكم معنا



Courbe d'étalonnage de polyphénol (Acide gallique)



Courbe d'étalonnage de flavonoïde (Quercétine)



Courbe d'étalonnage de Phosphomolybdate (Acide ascorbique)

Résumé

Résumé

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et anticoagulante des feuilles de *Moringa oleifera*. La proportion des gens questionnés qui reconnaissent *M. oleifera*, à travers l'enquête ethnobotanique réalisé auprès des populations de Ouargla et de Touggourt, est estimé de 27%. Parmi celle-ci 25% avère utilise la plante. Les rendements d'extraction réalisée par macération, séparément, dans le méthanol/eau (80/20), le butanol, l'acétate d'éthyle, le chloroforme et le n-butanol, 9.4 ± 2.09 et $5 \pm 2.4\%$ obtenus respectivement avec l'extrait méthanolique et l'extrait hexanique. La quantification des composés phénoliques a montré des teneurs en polyphénols allant de 108.01 ± 33.36 à 653.33 ± 203.56 mgEAG/gES pour les extraits hexanique et n-butanlique. Les concentrations en flavonoïdes sont comprises entre 33.02 et 580.25 ± 51.03 mg EQ/gES obtenus avec l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique respectivement. L'extrait méthanolique est le plus pourvu en tanins hydrolysables et en tanins condensés dont les teneurs sont de 94.1 ± 0 mg EAG/ES et 17.55 ± 7.17 mg EC/ES. Les tanins hydrolysables dominent les tanins condensés avec les différents extraits. L'évaluation de l'activité antioxydante révèle que l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle sont les plus puissants dans réduction de fer ferrique en fer ferreux (FRAP) et piégeage de peroxyde d'hydrogène le piégeage de radicale DPPH \cdot marquant, avec ce dernier des pourcentages d'inhibition de 89.31 et 84.83%. La capacité antioxydante totale évaluée par le test de phosphomolybdate révèle la richesse des extraits méthanolique, chloroformique et d'acétate d'éthyle en antioxydants. L'évaluation de l'activité anticoagulante par les deux voies, exogène et endogène, montre que tous les extraits exercent cette activité, les TP et les TCK sont compris entre 16.35-27.2s et 41.23-57.86s respectivement.

Mots clés : *Moringa oleifera*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anticoagulante.

Abstract

This work focuses on the phytochemical study and the evaluation of the antioxidant and anticoagulant activity of *Moringa oleifera* leaves. The proportion of people questioned who recognize *M. oleifera*, through the ethnobotanical survey carried out among the populations of Ouargla and Touggourt, is estimated at 27%. Of these, 25% use the plant. The extraction yields carried out by maceration, separately, in methanol/water (80/20), butanol, ethyl acetate, chloroform and n-butanol, are between 9.4 ± 2.09 and $5 \pm 2.4\%$ and obtained respectively with the methanolic extract and the hexanic extract. The quantification of phenolic compounds showed polyphenol contents ranging from 108.01 ± 33.36 to 653.33 ± 203.56 mgEAG/gES for the hexane and n-butane extracts. The flavonoid concentrations are between 33.02 and 580.25 ± 51.03 mg EQ/gES obtained with the ethyl acetate extract and the methanolic extract respectively. The methanolic extract contains the most hydrolysable tannins and condensed tannins, the contents of which are 94.1 ± 0 mg EAG/ES and 17.55 ± 7.17 mgEC/ES. The hydrolysable tannins dominate the condensed tannins with the different extracts. Antioxidant activity evaluation reveals that methanolic and ethyl acetate extract are the most potent in reducing ferric iron to ferrous iron (FRAP) and scavenging hydrogen peroxide scavenging radical DPPH • labeling, with the latter having inhibition percentages of 89.31 and 84.83%. The total antioxidant capacity evaluated by the phosphomolybdate test reveals the richness of the methanolic, chloroform and ethyl acetate extracts in antioxidants. The evaluation of the anticoagulant activity by the two ways, exogenous and endogenous, shows that all the extracts exert this activity, the TP and the TCK are between 16.35-27.2s and 41.23-57.86s respectively.

Keywords: *Moringa oleifera*, phenolic compounds, antioxidant activity.

ملخص

يركز هذا العمل على دراسة الكيمياء النباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة ومضاد التآكل لأوراق المورينجا أوليفيرا. من خلال الاستبيان الذي خص به سكان ورقلة وتوقرت حيث تقدر نسبة الأشخاص الذين تم استجوابهم والذين يتعرفون على المورينجا أوليفيرا بنحو 27%. ومن بين هؤلاء، 25% يستخدمون نبات المورينجا أوليفيرا. ناتج الاستخلاص الذي تم إجراؤه عن طريق النقع، بشكل منفصل، في ميثانول / ماء (20/80)، بيوتانول، أسيتات إيثيل، كلوروفورم و الهيكسان، يقدر ما بين 9.4 ± 2.09 و 5 ± 2.4 تم الحصول عليها على التوالي مع مستخلص الميثانول و الهيكسان. أظهر القياس الكمي للمركبات الفينولية أن محتويات البوليفينول تتراوح من 33.36 ± 108.01 إلى 203.56 ± 653.33 ملغرام EAG / gES لمستخلصات الهكسان والبيتانول. تتراوح تراكيز الفلافونويد بين 33.02 و 51.03 ± 580.25 تم الحصول عليها من مستخلص أسيتات الإيثيل والمستخلص الميثانولي على التوالي. المستخلص الميثانولي هو الأكثر تواجدا في التانينات قابلة للتحلل بالماء والعفص المكثف، والذي يتراوح ما بين 0 ± 94.1 مجم / EAG ES و 7.17 ± 17.55 مجم / ES. العفص المتحلل بالماء الأكثر تواجدا مقارنة بالعفص المكثف مع المستخلصات الأخرى. تظهر دراسة نشاطات مضادات الأكسدة أن مستخلص أسيتات الميثانول والإيثيل هما الأكثر فعالية في ارجاع الحديد ثلاثي إلى ثنائي الحديد (FRAP) و نسبة تثبيط DPPH تبلغ 89.31 و 84.83 %. تم تقييم القدرة الإجمالية لمضادات الأكسدة التي تم تقييمها عن طريق اختبار الفسفمولىيدات تظهران مستخلصات الميثانول والكلوروفورم و الأسيتات الإيثيل غنية بمضادات الأكسدة. يُظهر تقييم نشاط مضادات التآكل بطريقتين خارجي وداخلي، أن جميع المستخلصات تمارس هذا النشاط، TP و TCK بين $27.2-16.35$ ثانية و $57.86-41.23$ ثانية على التوالي.

الكلمات المفتاحية: المورينجا أوليفيرا ، مركبات فينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للتآكل.