

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :

N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : M^{elle} **OULADLAID Fella**
M^{elle} **HADJKOUIDER Hafida**

Thème

**Criblage phytochimique et activité antioxydante et
antibactérienne de différents extraits de feuilles de
Moringa oleifera L.**

Soutenu publiquement le : 26/06/2018

Devant le jury

Mr. MEHAMEDI A.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
M^{elle}. BELABBASSI O.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Encadreur
Mr. BELHACHEMI M. H.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2017/2018

Remerciement

*Avant tout, Nous remercions Allah, le tout puissant de nous a donné la force,
le courage, la santé et la patience pour pouvoir accomplir ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur M^{elle} BELABBASSI
Ouarda qui nous a offert par ses compétences scientifiques et pédagogiques et ses qualités
humaines, les moyens de mener à bien de travail. Nous tenons également à la remercier pour
la confiance et le soutien permanent. Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci
d'avoir été très patiente avec nous.*

*Nous adressons notre sincère remerciement aux membres de jury, Mr BELHACHEMI M. H.,
Mr MEHAMEDI A qui ont accepté de juger notre travail.*

*Nous tenons aussi à remercier chaleureusement tous les enseignants du département de la
biologie et spécialement Mr BENSAMAOUNE Y., Mr. KRIMAT et Mme BENSANIA W., M^{elle}
TELLI A., Mme HAMID OUDJANA A., M^{elle} BENHAMMADI., sans oublier Mr. AOUF un
enseignant du département de sciences technologiques, pour leurs soutiens et leurs aides.*

*Un grand merci est adressé aux techniciens de laboratoire : Mr MESSITFA N., Mr
BENHAMMOUDA H., Mr MOULAY OMAR A., Mr REZZEG., M^{elle} DJEBRIT I., M^{elle}
ZEHOUANI A, Mme BENHDID N.*

Nos remerciements sont adressés également aux herboristes ELADJABI, ELDDEIB M.

*Un grand merci pour toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce
modeste travail, particulièrement nos collègues de promotion de Master Biochimie appliquée
(2018), essentiellement SABROU I., BENHAMDOUNE F. Z., HADJ AMAR F. Z.,
KHEITHER F., BENSAMOUNE H., BENKHLIFA N., ACHOUR F. Z.*



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents, tous les deux êtres les plus chers dans le monde pour leur soutien, encouragements, tendresse et les sacrifices depuis nous naissance et leur patience pendant nous années d'études, qui n'ont d'égal que le témoignage de profonde reconnaissance, que Dieu leurs accorde une longue vie.

A Mes sœurs : ASSIA, SOUAD, NOUR EL HOUDA, FATIMA, OM HANI, et ma belle SŒUR SARA.

A mes frères : BOUAMAMA, MOKHTAR, ABD EL OUAHEB, ABD EL HADI.

A mes amis : KALTHOM, FATIHA, MARIEMME, HAFSA, HADJER,

A tout ce qui a contribues à la réalisation de ce travail.

A toute la famille : OULED LAID, BITEUR,

Et pour tout qui me connais de près ou de loin.

Fella





Dédicace

*Tout d'abord, je remercie le bon dieu clément
et miséricordieux de nous guider sur le bon chemin.*

*A mes parents pour leur soutien et leur
encouragement*

A ma sœur Karima et ma cousine Amina

A toute ma famille et toutes mes amies

Hafida



Résumé:

Moringa oleifera est une plante de la famille des *Moringaceae* qui pousse dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Cette plante à usage médicinale et alimentaire connaît une pénétration et utilisation massale dans le monde et en Algérie. Des études préalables ont confirmées beaucoup de propriétés intéressantes dues à leur richesse en composés bioactifs. L'objectif de ce travail est d'effectuer une analyse qualitative par criblage phytochimique et quantitative par dosage des composés phénoliques et de tester l'activité antioxydante et antibactérienne par la méthode de l'antibiogramme de quatre types d'extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Les résultats obtenus du screening phytochimique révèlent la présence d'un nombre important de métabolites dans les quatre extraits avec une fréquence qui varie entre eux. Par ailleurs, des teneurs importantes en composés phénoliques ont été enregistrés qui varient en fonction du type d'extrait où les extraits décocté et méthanolique possèdent les teneurs les plus élevées en polyphénols alors que l'extrait chloroformique contient les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et en tanins condensés. L'extrait décocté a montré la meilleure activité piégeante des deux radicaux avec des IC_{50} de 5,2 et 0,66mg/ml respectivement dans les tests du DPPH et de l'ABTS et la meilleure activité antibactérienne contre *E. coli* avec une zone d'inhibition arrivant à 15mm. Les extraits chloroformique et méthanolique ont présentés les meilleures activités contre *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibitions supérieurs que les extraits aqueux.

Mots clés: *Moringa oleifera*, criblage phytochimique, extrait décocté, extraits organiques, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract:

Moringa oleifera is a plant from the family *Moringaceae* that grows in the tropical and subtropical areas of the world. This plant for medicinal and food use knows penetration and massive use in the world and Algeria. Previous studies have confirmed many interesting properties due to their richness in bioactive compounds. The objective of this work is to perform a qualitative analysis by phytochemical screening and also quantitative by measuring of phenolic compounds and to test the antioxidant and antibacterial activity by the antibiogram method of four types of leaves extracts of *Moringa oleifera*.

The results obtained from the phytochemical screening reveal the presence of a large number of metabolites in the four extracts with a frequency which varies between them. In addition, a high levels of phenolic compounds have been recorded which vary according to the type of extract where the decocted and methanolic extracts have the highest levels of polyphenols while the chloroformic extract contains the highest levels of flavonoids and in condensed tannins. The decocted extract showed the best scavenging activity of both radicals with IC₅₀ of 5,2 and 0,66mg / ml respectively in the DPPH and ABTS tests and the best antibacterial activity against *E. coli* with inhibition zone that reaching 15mm. Chloroformic and methanolic extracts showed the best activities against *P. aeruginosa* with zones of inhibition higher than aqueous extracts.

Key words: *Moringa oleifera*, phytochemical screening, decocted extract, organics extracts, antioxidant activity, antibacterial activity.

الملخص:

Moringa oleifera هو نبات من عائلة *Moringaceae*, ينمو في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم. هذه النبتة ذات الاستخدام الطبي والغذائي تعرف نفوذاً واستخداماً كبيرين في العالم وكذا في الجزائر. أكدت الدراسات السابقة العديد من الخصائص المثيرة للاهتمام بسبب ثرائها بالمركبات النشطة بيولوجياً. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء تحليل نوعي بفضل الفحص الفيتوكيميائي والتحليل الكمي بتقدير كمية المركبات الفينولية و اختبار النشاط المضاد للأوكسدة والمضاد للجراثيم من خلال طريقة اختبار حساسية الجراثيم لأربعة أنواع من مستخلصات أوراق شجرة البان *Moringa oleifera*.

النتائج التي تم الحصول عليها من الفحص الفيتوكيميائي تكشف عن وجود عدد كبير من المستقلبات في المستخلصات الأربعة التي تختلف فيما بينها. بالإضافة إلى ذلك، تم تسجيل كميات عالية من المركبات الفينولية التي تختلف وفقاً لنوع المستخلصات حيث يحتوي المستخلصان المغلى و الميثانولي على أعلى كميات من البوليفينول بينما يحتوي المستخلص الكلوروفورمي على أعلى الكميات من الفلافونويد و التانينات المكثفة. أظهر مستخلص المغلى أفضل نشاط محاصرة لكلا الجذرين مع IC_{50} من 5,2 و 0,66مغ/مل على التوالي في اختبارات DPPH و ABTS وأفضل نشاط مضاد للبكتيريا ضد *E. Coli* مع مساحة تثبيط تصل إلى 15 مم. أظهر المستخلصان الميثانولي والكلوروفورمي أفضل الأنشطة ضد *P. aeruginosa* مع مساحة تثبيط أعلى من المستخلصات المائية.

الكلمات الدلالية: *Moringa oleifera*، فحص فيتوكيميائي، المستخلص المغلى، المستخلصات العضوية، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Liste des figures

Figure 01. <i>Moringa oleifera</i> (A: Feuilles; B: fleurs ; C: gousses ; D: graines).....	08
Figure 02. Répartition de <i>Moringa oleifera</i> dans le monde	09
Figure 03. Structure du noyau phénol	13
Figure 04. Exemples des phénols simples	15
Figure 05. Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques	15
Figure 06. Structure de base des flavonoïdes	16
Figure 07. Les différentes classes des flavonoïdes	17
Figure 08. Structure de deux tanins hydrolysables	18
Figure 09. Structure d'un tanin condensé	19
Figure 10. Structure de Coniine	21
Figure 11. Structure de l'unité isoprénique	22
Figure 12. Les échantillons utilisées de la plante (original).....	23
Figure 13. Protocole de préparation des différents extraits	24
Figure 14. Différentes étapes du dosage des polyphénols totaux	29
Figure 15. Différentes étapes du dosage des flavonoïdes	30
Figure 16. Différentes étapes du dosage des tanins condensés	31
Figure 17. Réduction du radical DPPH	32
Figure 18. Production et réduction du radical ABTS ^{•+}	33
Figure 19. Mise en évidence chimique des polyphénols (original).....	37
Figure 20. Mise en évidence chimique des flavonoïdes (original).....	38
Figure 21. Mise en évidence chimique des tanins condensés (original).....	39
Figure 22. Mise en évidence chimique des terpénoïdes (original).....	39
Figure 23. Mise en évidence chimique des saponosides (Méthode 1) (original).....	40
Figure 24. L'aspect la mousse dans la série des tubes après 20 min (Méthode 2) (original)	40
Figure 25. Mise en évidence chimique des sucres réducteurs (original).....	41

Figure 26. Aspect et couleur des quatre extraits après séchage (original).....	43
Figure 27. Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	44
Figure 28. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'acide ascorbique	46
Figure 29. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Chloro	46
Figure 30. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Méth	47
Figure 31. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Déc	47
Figure 32. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Inf	48
Figure 33. Variation du pourcentage d'inhibition de l'ABTS ⁺ en fonction de la concentration des quatre extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	49
Figure 34. Variation du pourcentage d'inhibition de l'ABTS ⁺ en fonction de la concentration de l'acide ascorbique	50
Figure 35. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Chloro (A) et Méth (B) sur <i>E. coli</i> (original).....	52
Figure 36. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Inf sur <i>E. coli</i> (original)..	52
Figure 37. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Déc sur <i>E. coli</i> (original)..	53
Figure 38. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des quatre extraits sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (original).....	54

Liste des tableaux

Tableau 1. Comparatif du contenu nutritionnel des feuilles de <i>Moringa</i> avec d'autres plantes (Pour 100g parties comestibles)	10
Tableau 2. Principales classes des composés phénoliques	14
Tableau 3. Résultats des tests préliminaires de mise en évidence de quelques métabolites secondaires des quatre extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	42
Tableau 4. Aspect, couleur, poids sec et rendement des quatre extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	43
Tableau 5. Teneurs en composés phénoliques dans les quatre extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	45
Tableau 6. Valeurs de l'IC ₅₀ (mg/ml) pour le test DPPH de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	48
Tableau 7. Valeurs de l'IC ₅₀ (mg/ml) pour le test ABTS de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	50
Tableau 8. Diamètre des zones d'inhibition (mm) obtenus par les différentes concentrations des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> contre les bactéries <i>E. coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54

Liste des annexes:

Annexe 1. Composition en éléments nutritifs de la fleur de <i>Moringa</i>	I
Annexe 2. Teneur en éléments de la feuille fraîche et de la poudre de <i>Moringa</i> (100g).....	II
Annexe 3. Les réactifs utilisés et leurs préparations.....	III
Annexe 4. Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	IV
Annexe 5. Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	V
Annexe 6. Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.....	V
Annexe 7. Gamme d'étalonnage de la rutine.....	VI
Annexe 8. Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins.....	VI
Annexe 9. Gamme d'étalonnage de catéchine.....	VI
Annexe 10. Activité antioxydante (préparation des réactifs et les concentrations des extraits).....	IX
Annexe 11. Activité antibactérienne (préparation des milieux de culture et les concentrations des extraits).....	X

Liste des abréviations:

Abréviation	Désignation
Abs	Absorbance
ABTS	Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
C	Carbone
Chloro	Chloroformique
Déc	Décocté
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
EAG	Equivalent d'acide gallique
EC	Equivalent de Catéchine
ED	Eau Distillée
ER	Equivalent de Rutine
FCR	Réactif de Folin-Ciocalteu
HCl	Hydrochlorure
IC₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
Inf	Infusé
Méth	Méthanolique
MS	Matière sèche
Na₂CO₃	Carbonate de Sodium
UFC/ml	Unité Faisant Colonie
UV- VIS	Ultra-violet-Visible

Liste des symboles:

Symbole	Désignation
°C	Dégré Celsius
cm	Centimètre
g	Gramme
h	Heure
g	Milligramme
L	Litre
min	Minute
mM	Milli molaire
mm	Millimètre
nm	Nanomètre

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Liste des symboles	
Introduction	1

Partie I: Synthèse Bibliographique

Chapitre I: La Phytothérapie et les Plantes médicinales

I.1. Définition de la Phytothérapie	3
I.2. Différents types de phytothérapie	3
I.3. Les avantages de la phytothérapie	4
I.4. Les inconvénients de la phytothérapie	4
I.5. Les Plantes Médicinales	5
I.5.1. Définition des plantes médicinales	5
I.5.2. Modes de préparation des plantes	5

Chapitre II: Données générales sur *Moringa oleifera*

II.1. Taxonomie et étymologie	7
II.2. Description botanique	7
II.3. Origine et aire de répartition	8
II.4. Composition chimique de <i>Moringa oleifera</i>	9
II.5. Valeur nutritionnelle de <i>M. oleifera</i>	10
II.6. Les activités biologiques	11

Chapitre III: Les Métabolites Secondaires

III.1. Composés phénoliques	13
III.1.1. Polyphénols	13
III.1.1.1. Définition	13
III.1.1.2. Classification	14
Les phénols simples	15
Les acides phénols	15
III.1.2. Les flavonoïdes	16
III.1.2.1. Définition	16
III.1.2.2. Structure	16
III.1.2.3. Classification	17
III.1.3. Tanins	18
III.1.3.1. Définition	18
III.1.3.2. Classification	18
Tanins hydrolysables	18
Tanins condensées (tanins vrais ou tannoïdes)	19
III.1.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques	19
III.1.4.1. Propriété antioxydante	19
III.1.4.2. Activité antibactérienne	20
III.2. Alcaloïdes	21
III.2.1. Définition	21
III.2.2. Classification	21
Les pseudo-alcaloïdes	21
Les proto-alcaloïdes	21
Les alcaloïdes vrais	21
III.3. Terpénoïdes	22

Partie II: Matériel et Méthodes

I. Matériel	23
I.1. Matériel végétal	23
I.2. Préparation des échantillons.....	23
II. Méthodes d'analyse	24
II.1. Préparation des extraits	25
II.2. Détermination du rendement	26
II.3. Analyses des extraits de <i>Moringe oleifera</i>	26
II.3.1. Analyse qualitatif : Screening phytochimique.....	26
II.3.1.1. Caractérisation des composés phénoliques	26
II.3.1.2. Caractérisation des flavonoïdes	26
II.3.1.3. Caractérisation des tanins	26
II.3.1.4. Caractérisation des alcaloïdes	27
II.3.1.5. Caractérisation des terpénoïdes	27
II.3.1.6. Caractérisation des composés réducteurs	27
II.3.1.7. Caractérisation des saponines	27
II.3.2. Analyse quantitative : Dosage des composées phénoliques	28
II.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux	28
II.3.2.2. Dosage des flavonoïdes	29
II.3.2.3. Dosage des tanins condensés	31
II.4.1. Activité antioxydante	32
II.4.1.1. Test de 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	32
II.4.1.2. Test de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline 6-sulfonique) (ABTS)	
.....	33
II.4.2. Activité antibactérienne	35

Partie III: Résultats et Interprétations

I. Analyse des quatre extraits des feuilles de <i>M. oleifera</i>	37
I.1. Analyse qualitatif: Screening phytochimique	37
I.1.1. Les polyphénols	37
I.1.2. Les flavonoïdes	37
I.1.3. Les tanins condensés	38
I.1.4. Les terpénoïdes	39
I.1.5. Les saponosides	39
I.1.6. Les composés réducteurs	40
I.1.7. Les alcaloïdes	41
I.2. Détermination du rendement d'extraction	42
I.3. Analyse quantitative: Dosage des composées phénoliques	43
II. Activité antioxydante des extraits	45
II.1. Test du DPPH	45
II.2. Test de l'ABTS	49
III. Activité antibactérienne des extraits	51
Discussion	55
Conclusion	61
Références bibliographiques	63
Annexes	

	<h1>Introduction</h1>

Introduction

Les plantes médicinales ont été connues depuis l'antiquité et utilisées par l'homme comme médicament pour prévenir, soigner ou soulager des diverses maladies. Ces plantes prennent leur capacité thérapeutique comme le pouvoir antimicrobien et antioxydant, à partir de ses métabolites primaires et secondaires ou par la synergie entre les deux ou entre les différents composés de chaque type de métabolite. Parmi les métabolites secondaires on distingue les composés phénoliques qui sont considérés comme des fortes antioxydants et aussi des antimicrobiens (Zeghad, 2009 ; Lehout et Laib, 2015 ; Bourgou *et al.*, 2016 ; Bendif, 2017).

Pour évaluer le pouvoir thérapeutique et même nutritionnelles et économiques de ces plantes, des tests biologiques et des tests de criblage phytochimique sont réalisés (Lehout et Laib, 2015). Dans ce cadre plusieurs études ont été effectuées et encours de réalisation pour valoriser des plantes médicinales, déjà connues, non connues ou qui nouvellement apparaissent, faisant un grand succès au niveau mondiale, continentale ou nationale, c'est le cas de la plante *Moringa oleifera* qui est cultivée surtout en Afrique et en Asie.

Cette plante est un arbre tropical à usages multiples, est passé en une décennie du statut de plante marginale, voire inconnue, à celui de nouvelle ressource alimentaire et économique pour les pays du Sud. Pendant des années récentes (les années 90), des chercheurs des entreprises et des organisations non gouvernementales ont contribué à faire avancer les connaissances sur l'agronomie du *M. oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010).

Cette plante (*M. oleifera*), qui est d'usage courant en médecine populaire et en alimentation envahissante dans les sociétés africaines et asiatiques (Giridhari *et al.*, 2011) a conduit plusieurs travaux à mettre en évidence les qualités nutritionnelles exceptionnelles de ses feuilles qui sont très utilisées dans l'alimentation en Asie et en Afrique en raison de leur richesse en protéines, vitamines et sels minéraux (Houndji *et al.*, 2013). Des études préalables confirment également ses propriétés anti-inflammatoires, antidiabétiques...

L'introduction de cette plante en Algérie et leurs utilisations envahissantes et aléatoire par les différentes catégories de la population algérienne nous a incités de travailler là-dessus. Aussi il convient de noter qu'il n'existe que de très peu de travaux qui sont menus sur le *Moringa* cultivé en Algérie.

C'est ainsi que l'objectif de notre travail s'articule, il vise à tester l'activité antioxydante et antibactérienne des différents types d'extraits de feuilles de *M. oleifera*. A cet effet, nous nous sommes intéressés à:

- Réaliser une extraction au niveau des feuilles de *M. oleifera* tout en utilisant trois types de solvants différents à savoir le chloroforme, le méthanol et l'eau et tester deux méthodes d'extraction différentes pour ce dernier solvant (l'infusion et la décoction) ;

- Faire un test préliminaire pour savoir les différents métabolites dont l'un primaire et les autres secondaires existants dans les quatre types d'extraits de la plante et ceci par le biais d'un screening phytochimique;

- Effectuer une analyse quantitative par dosage des trois types de composés phénoliques majoritaires à savoir les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés;

- Evaluer l'activité antioxydante des quatre types d'extrait de la plante par le test du DPPH et le test de l'ABTS tout en calculant leurs IC_{50} ;

- Evaluer l'activité antibactérienne de nos extraits vis-à-vis de deux bactérie (*E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) tout en mesurant le diamètre des zones d'inhibition.

Notre travail est divisé en trois parties: La première représente la synthèse bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres, dont le premier sur les plantes médicinales et la phytothérapie, le deuxième comporte des données générales sur *Moringa oleifera*. Le dernier sur les métabolites secondaires.

La 2^e partie est pour le matériel et les méthodes de travail, la 3^e partie englobe les résultats obtenus et leurs interprétations et leur discussion. Enfin, la conclusion.

	<p>Partie I: Synthèse Bibliographique</p>

Chapitre I: La Phytothérapie et les Plantes médicinales

Depuis l'existence, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Qu'est-ce qui les a guidés à employer une plante plutôt qu'une autre ? Le hasard ? La religion ? La superstition ? L'expérience, certainement (Iserin *et al.*, 2001 In Zeghad, 2009).

Aujourd'hui, les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (Hans, 2007). En effet sur les 300 000 espèces végétales dénombrées sur la planète, plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des propriétés médicinales (Millogo *et al.*, 2005).

I.1. Définition de la Phytothérapie

La phytothérapie vient du grec *Phyton* (végétal) et *Therapein* (soigner), qui désigne donc l'art de soigner par les plantes (Soussi, 2015).

D'un point de vue étymologique, le terme "phyto" de phytothérapie provient du grec ancien avec le terme plus précis de "phyton" et signifie "végétal". La phytothérapie est donc la "thérapie par le végétal ou par le monde végétal". Aujourd'hui nous considérons davantage la phytothérapie comme la "thérapie par les plantes" ou plus exactement la méthode thérapeutique utilisant des plantes médicinales dans le traitement de maladies (1).

I.2. Différents types de phytothérapie

Il existe plusieurs types de phytothérapie:

➤ **L'aromathérapie:** Elle utilise les essences des plantes aussi appelées huiles essentielles. Ces substances aromatiques sont extraites par distillation. Il faut cependant utiliser l'aromathérapie avec précaution et respecter les doses prescrites. L'utilisation la plus fréquente est l'application par voie cutanée (2)

➤ **La gemmothérapie:** Elle consiste à utiliser les extraits alcooliques de jeunes pousses de végétaux ou de bourgeons (2).

➤ **L'herboristerie:** Ce type de phytothérapie est le plus classique et le plus ancien. Elle se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit en partie. Une préparation d'herboristerie repose sur des méthodes simples, le plus souvent avec de l'eau comme les infusions, les décoctions ou les macérations. On peut aussi trouver des gélules (2).

➤ **L'homéopathie:** Elle a recours aux plantes mais pas uniquement. On peut aussi trouver, en plus petites quantités, des souches d'origines animale ou minérale (2).

➤ **La phytothérapie pharmaceutique:** Elle utilise des produits d'origine végétale, obtenus après extraction et par dilution. Cette phytothérapie consiste à se servir de doses suffisamment importantes de végétaux pour avoir une action soutenue et rapide (2).

I.3. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (Iserin *et al.*, 2001 In Zeghad, 2009).

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (Iserin *et al.*, 2001 In Zeghad, 2009).

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques (Iserin *et al.*, 2001 In Zeghad, 2009).

Les plantes possèdent des principes actifs très puissants qui se trouvent soit dans les racines, l'écorce, les feuilles, les sommités fleuries, les fruits.... les parties utilisées de la plante varient d'une espèce à l'autre, ou pour une même plante selon l'effet désiré. Les plantes médicinales sont surtout beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse (3).

Par son action en douceur et en profondeur, la phytothérapie apparaît d'autre part comme la réponse idéale aux "maladies" qui caractérisent nos sociétés, comme le stress, la perte du sommeil ou la prise de poids (3).

I.4. Les inconvénients de la phytothérapie

Les plantes comportent des dizaines de molécules qui interagissent entre elles, il est donc plus difficile de les mélanger. Deux organes d'une même plante peuvent même avoir des indications totalement différentes (4).

Certaines plantes sont plus riches en principes actifs l'été que l'hiver. Certains laboratoires mélangent alors les différentes récoltes. Les préparations peuvent alors dans les meilleurs des cas,

ne pas contenir suffisamment de principes actifs et dans les pires des cas, en contenir trop, ce qui peut être toxique pour l'Homme (4).

Les plantes peuvent aussi être dangereuses lorsque les particuliers les cueillent eux-mêmes. Ils les consomment les « yeux fermés », pensant qu'elles sont naturelles ; Ils pratiquent alors l'automédication. Ils réalisent alors des mélanges souvent dangereux, sans tenir compte des contre-indications de chaque plante: il faut alors demander conseils à son pharmacien (4).

La phytothérapie est aussi peu pratique, beaucoup de plantes sont nécessaires pour au final, obtenir très peu de molécules utilisables dans les médicaments. Par exemple, l'écorce de l'if, un conifère, contient du taxol, une molécule utilisée dans les traitements des cancers. On obtient alors seulement 150 milligrammes de taxol en récoltant un kilogramme d'écorce (4).

Il est aussi très important de respecter la posologie recommandée: certaines plantes médicinales peuvent être ingérées plusieurs fois par jour sans effets secondaires tandis que pour d'autres l'effet combiné de plusieurs prises en peu de temps peut présenter des dangers (4).

I.5. Les Plantes Médicinales

I.5.1. Définition des plantes médicinales

La Pharmacopée européenne définit les plantes médicinales comme étant des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie de plante et qui possèdent des propriétés médicamenteuses (Soussi, 2015).

Les plantes ayant des propriétés médicamenteuses peuvent également être employées pour des usages alimentaires, condimentaires, ou encore servir à la préparation de boissons énergétiques (Soussi, 2015).

I.5.2. Modes de préparation des plantes

Il y a plusieurs modes de préparation des plantes médicinales, et cela selon l'usage que l'on veut en faire. Les modes de préparation les plus courants sont:

➤ **L'infusion:** Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur la plante ou partie de plante qu'on veut infuser. Les plantes fraîches doivent être infusées rapidement (30 secondes à 1 minute). Les plantes sèches s'infusent plus longtemps (1 à 2 minutes) (Djerroumi et Nacef, 2012). La tisane obtenue doit être claire: jaune claire ou vert clair.

Remarque: préparez vos infusions dans un ustensile non métallique.

➤ **La décoction:** Elle consiste à faire bouillir pendant quelques minutes la plante ou partie de plante qu'on veut préparer. Le temps d'ébullition varie selon la plante ou partie de plante : Ex : une décoction de racines peut demander 10 minutes d'ébullition (Djerroumi et Nacef, 2012).

Certaines plantes ne doivent pas être préparées à chaud sous peine de perdre leurs vertus curatives ; elles doivent, de ce fait, être préparées à froid c'est-à-dire macérées (Djerroumi et Nacef, 2012).

➤ **La macération:** Elle consiste à laisser reposer pendant un certain temps les parties actives de la plante dans un liquide. La macération à l'eau ne devant pas excéder une demi-journée (Djerroumi et Nacef, 2012).

➤ **Le sirop:** Il consiste à faire dissoudre une quantité de sucre additionnée à une quantité de substance médicinale (plante ou partie de plante) dans une certaine quantité d'eau (Djerroumi et Nacef, 2012).

➤ **Le cataplasme de plante:** Il consiste à appliquer une plante ou partie de plante directement sur la peau ou enveloppée dans un linge pour soigner une inflammation (Djerroumi et Nacef, 2012). La préparation est fait par chauffage de la plante fraîche ou sèche dans un couscoussier jusqu'à ce qu'elle ramollisse. La plante chaude (45°) est alors enveloppée dans un linge fin et appliquée sur la partie malade. Laisser agir quelques minutes (5 à 10min) (Djerroumi et Nacef, 2012).

Chapitre II: Données générales sur *Moringa oleifera*

II. Données générales sur *Moringa oleifera*

II.1. Taxonomie et étymologie

Dans la langue Dravidienne, diverses appellations locales se trouvent pour désigner l'arbre *Moringa*, mais la plupart dérivent du nom générique « *Morunga* ». En anglais, on le connaît sous les noms de « *Horseradish tree* », « *Drumstick tree* », « *Never die tree* », « *West Indian Ben tree* », ou encore « *Radish tree* » (Foidl *et al.*, 2001).

L'arbre est appelé "Nebeday" au Sénégal, probablement dérivé du mot anglais "Never die" en conséquent de sa capacité à résister à la sécheresse, à se développer rapidement à partir de graines ou de boutures et à se régénérer même après des coupes très sévères (Fuglie, 2001).

Systematique de *Moringa oleifera*

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Capparales

Famille: *Moringaceae*

Division: Magnoliopyte

Genre: *Moringa*

Espèce: *Moringa Oleifera* (Laleye *et al.*, 2015).

II.2. Description botanique

Moringa oleifera Lam. (Synonyme: *Moringa pterygosperma* Gaertner) appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres des *Moringaceae* comprenant environ 13 espèces. Le *Moringa* (Figure 1) est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur et dont le tronc (20 à 40 cm de diamètre) atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, bien qu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres (Laleye *et al.*, 2015). Le tronc est couvert d'une écorce lisse, grise à brunâtre, grossièrement lenticelle, à tranche verte en surface et jaunâtre en dessous. De ce tronc une gomme blanche est exsudé, opaque devenant rouge foncée en surface (Atakpama *et al.*, 2014) (Figure 1).

Les branches: poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol (Laleye *et al.*, 2015).

Les feuilles: sont alternes et bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches. Elles mesurent 20 à 70 cm de long et sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes. Elles ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposés plus un à l'apex d'une forme ovales ou en ellipse, et mesurant 1 à 2 cm de long (Laleye *et al.*, 2015).

Les fleurs: mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable et de couleur blanches ou crème avec des points jaunes à la base. La floraison se fait presque toute l'année, suivant les endroits et la période d'émondage (Atakpama *et al.*, 2014).

Les fruits: forment des gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long et lorsqu'ils sont secs, ils s'ouvrent en trois parties. Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines. Les graines sont rondes, avec une coque marron semi-perméable présentant trois ailes blanches. 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 (Laleye *et al.*, 2015).

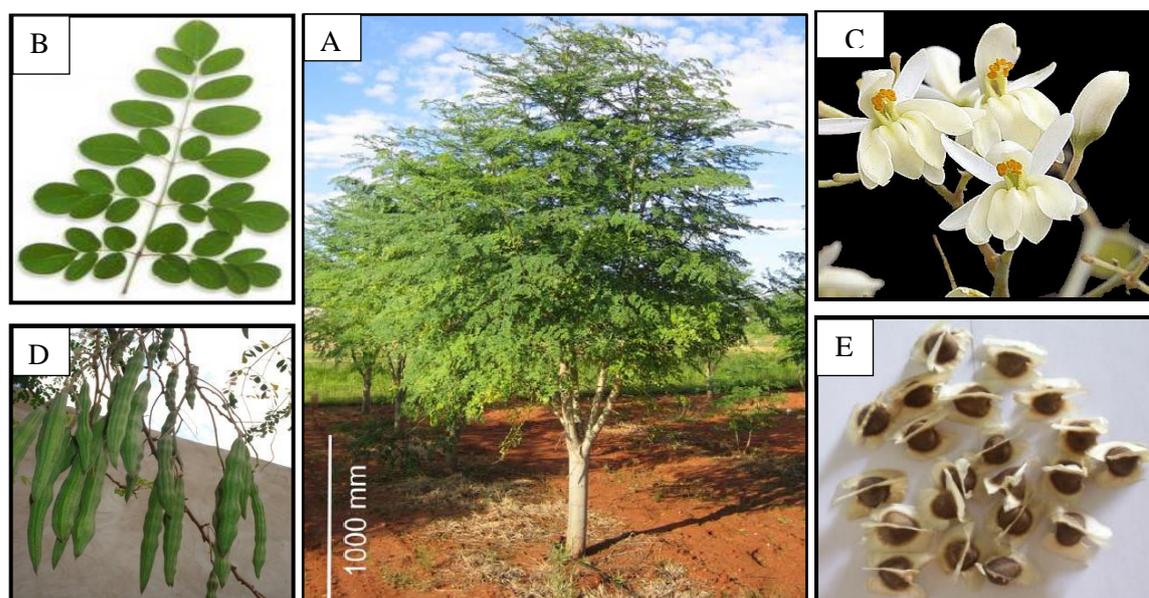


Figure 1. *Moringa oleifera* (A: l'arbre entière; B: Feuilles ; C: fleurs ; D: gousses ; E: graines) (Muhl, 2009 ; Koul et Chase, 2015).

II.3. Origine et aire de répartition

Moringa oleifera, l'espèce a une grande valeur économique, est originaire d'Asie du Sud où elle pousse sur les contreforts de l'Himalaya, mais elle est largement cultivée sous les tropiques. Elle est d'origine plus précise du Nord de l'Inde et du Pakistan (AGROCONSULT HAITI S A, 2016).

C'est de l'Inde et du Pakistan que la culture de *Moringa* s'est étendue vers l'Égypte puis l'Afrique et a atteint la Méditerranée et finalement les Indes Occidentales (les Antilles et l'Amérique) (AGROCONSULT HAITI S A, 2016). Le *Moringa* suscite un intérêt grandissant d'où des essais d'introduction à titre expérimental à partir de semences en provenance de Dar el Salem (Tanzanie) ont été réalisés dans de nombreuses stations à travers l'Algérie (Bainem, Zeralda, Mostaganem, Jijel, Biskra, Adrar et Tamanrasset). Cependant ces essais d'introduction ne concernent que certaines études du comportement sous différentes conditions écologiques ainsi que d'autres études phénologiques et pomologiques (Louni, 2009).

Aujourd'hui, le *Moringa* a une extension géographique très développée et il est retrouvé dans la plupart des pays subtropicaux ou tropicaux à saison sèche, voire en zone aride (AGROCONSULT HAITI S A, 2016) (Figure 2).

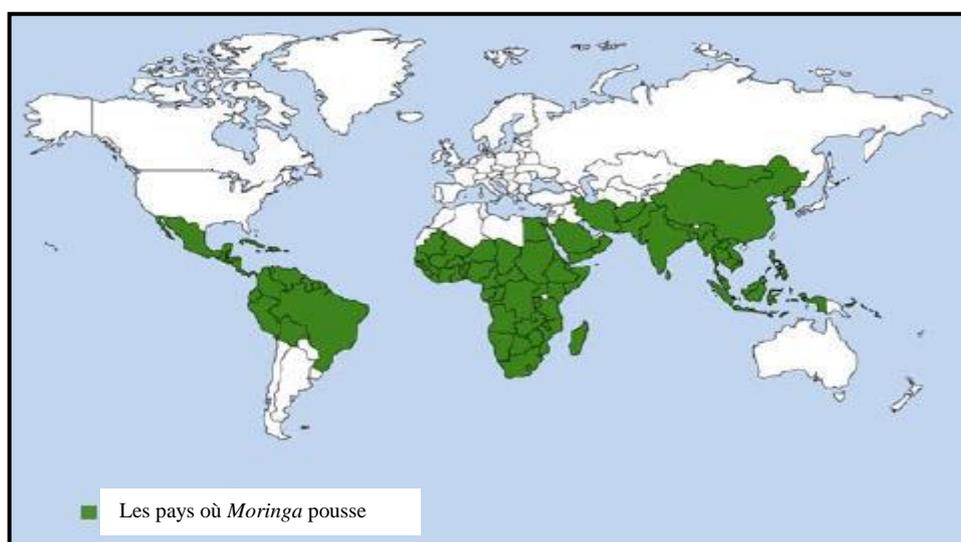


Figure 2. Répartition de *Moringa oleifera* dans le monde (Koul et Chase, 2015).

II.4. Composition biochimique de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est riche en composés contenant un sucre simple : le rhamnose et un groupe particulier de composés appelés glucosinolates et les isothiocyanates. L'écorce de la tige contient deux alcaloïdes, à savoir la moringine et la moringinine. Des composés comme la Vanilline, β -sitostérol, le β -sitostenone, l'acide octacosanoïque, 4-hydroxymellin ont été aussi isolés de la tige (Laleye *et al.*, 2015).

Les fleurs contiennent neuf acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire, de quercétine, de kaempferat et la cendre est riche en potassium et en calcium (Laleye *et al.*, 2015) (Annexe 1).

Les feuilles contiennent des flavonoïdes tels que le kaempferol, le rhamnetin, l'isoquercitrine et le kaempferitrin. Elles contiennent aussi une concentration élevée en acide ascorbique, des flavonoïdes, des composés phénoliques, des caroténoïdes, du phosphore, du cuivre, des vitamines (A, B et C), de riboflavine, de l'acide nicotinique, des acides aminés comme la méthionine, la cystéine et la lysine (Laleye *et al.*, 2015).

Une nouvelle molécule le *O*-éthyl - 4-(β -L-rhamnosyloxy) carbamate de benzyle avec sept autres composés bioactifs connus tels que : 4 (α -L- rhamnosyloxy)- isothiocyanate de benzyle, niazimicin, 3-*O*-(6'-*O*-oleoyl- β -D-glucopyranosyl)- β -sitostérol, β -sitostérol-3-*O*- β D glucopyranoside, niazirin, β -sitostérol et glycerol-1-(9-octadecanoate) ont été isolés de l'extrait éthanolique de la graine de *Moringa* (Laleye *et al.*, 2015) (Annexe 2).

II.5. Valeur nutritionnelle de *M. oleifera*

Les feuilles de *M. oleifera* sont considérées comme aliment riches en éléments nutritifs. Des travaux ont rapporté leurs richesses en vitamines, en minéraux, en protéines, en glucides et en lipides (Lockett *et al.*, 2000 ; Seshadri et Nambiar, 2004 ; Ndong *et al.*, 2007; Thurber et Fahey, 2009 ; Saint Sauveur et Broin, 2010). Des études ont révélé la présence de 40% d'huile dans les graines de *M. oleifera*. La qualité de cette huile se rapprocherait de celle de l'huile d'olive et elle peut être utilisée comme huile végétale comestible (Atakpama *et al.*, 2014).

La comparaison entre le contenu nutritionnel du *Moringa* et celui d'autres aliments montre comment le *Moringa* est de haute valeur sur le plan nutritionnel. Ce sont généralement les différences énormes observées (Tableau 1) qui sont au centre de la promotion faite au *Moringa* à travers le monde (AGROCONSULT HAITI S A, 2016).

Tableau 1. Comparatif du contenu nutritionnel des feuilles de *Moringa* avec d'autres plantes (Pour 100g parties comestibles) (AGROCONSULT HAITI S A, 2016).

Éléments nutritifs (unité)	<i>Moringa</i>	Autres aliment
Vitamine A (mg)	1130	Carotte : 315
Vitamine C (mg)	220	Oranges : 30
Calcium (mg)	440	Le lait de vache : 120
Potassium (mg)	250	Banane : 88
Protéines (mg)	6700	Le lait de vache : 3,200

II.6. Les activités biologiques

II.6.1. Activité anti-hypertensive

La consommation des feuilles fraîches sous forme de tisane (un grand verre 2 fois par jour), ou de poudre ou de sauce permettrait de prévenir et de réguler l'hypertension artérielle. Elles préviendraient aussi les maladies cardiovasculaires (Atakpama *et al.*, 2014). Le jus des feuilles de *Moringa oleifera* est connu pour avoir un effet stabilisateur de la pression artérielle (Laleye *et al.*, 2015). De plus, la consommation de 2 graines par jour régulerait également l'hypertension artérielle (Atakpama *et al.*, 2014).

Les racines et les fleurs préparées sous forme de tisane seraient utilisées comme diurétique. Laleye *et al.* (2015) ont démontré le potentiel anti-hypertensif de l'huile de *M. oleifera* chez des rats. Chumark *et al.* (2007) ont montré que la plante possède une activité hypolipidémique et un potentiel thérapeutique pour la prévention des maladies cardiovasculaires. Dans la même optique, Nambiar *et al.* (2010) ont prouvé son activité hypolipidémique chez les humains hyperlipidémiques.

II.6.2. Activité anti-hyper-glycémique

La décoction des feuilles fraîches (un grand verre, 2 fois par jour), ou le délayage de la poudre ou encore préparées sous forme de sauce, diminuerait le taux de glycémie. Une ingestion de l'extrait des feuilles abaisserait, après 3 heures de temps, la glycémie. La consommation de graines chaque jour contribuerait à la réduction de la glycémie (Atakpama *et al.*, 2014).

Les études ont montré que l'extrait aqueux de feuilles de *Moringa oleifera* possède une activité hypoglycémiante significative chez les rats diabétiques (Nambiar *et al.*, 2013). D'autres études ont confirmées les propriétés hypoglycémiantes chez des patients atteints de diabète de type II (Kumari, 2010 ; Giridhari *et al.*, 2011).

II.6.3. Activité antibactérienne et antifongique

Des extraits de racines de *Moringa oleifera* ont montré une activité antibactérienne contre *Pseudomonas sp* et une activité antifongique contre *Penicillium sp* (Raj *et al.*, 2011).

L'aglycone de désoxy niazimicine (Nbenzyl, thioformate S-éthyl) isolé de la fraction chloroformique de l'extrait de l'écorce de la racine s'est avéré responsable des activités

antibactériennes et antifongiques (Nikkon *et al.*, 2003). Caceres *et al.* (1991) et Suarez *et al.* (2005) ont démontré que le jus de feuilles fraîches et les extraits de graines de *M. oleifera* inhibent la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus*.

Une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* a été détectée dans des extraits aqueux et éthanoliques de *Moringa* (Viera *et al.*, 2010).

Par ailleurs, Peixoto *et al.* (2011) ont détecté de plus la sensibilité de *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas caviae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis* aux extraits de feuilles.

II.6.4. Activité anticancéreuse

Quelques études effectuées ont montré l'action préventive des feuilles contre le cancer (Fahey, 2005). Budda *et al.* (2011) ont montré que les extraits de la plante ont une action préventive contre le cancer du côlon, alors que Singhal *et al.* (2012) ont rapporté l'action anticancéreuse de la gomme sur le cancer du côlon. Dans une autre étude, Bharali *et al.* (2003) ont prouvé l'activité préventive contre les tumeurs de la peau suite à l'ingestion des extraits de ses graines.

II.6.5. Activité antioxydante

L'étude de Torres-Castillo *et al.* (2013) a montré que les feuilles de *Moringa oleifera* ont une activité antioxydant forte. Cette activité a été évaluée par Siddiq *et al.* (2005) sur différents extraits de feuilles à l'aide du vieillissement accéléré de l'huile de tournesol. Les résultats de cette étude ont révélé que les feuilles de *M. oleifera* pourraient être explorées comme source viable d'antioxydants naturels. La recherche de Putri *et al.* (2017) sur l'analyse des antioxydants a montré que la graine du *Moringa* présente une activité considérable.

II.6.6. Autres effets pharmacologiques de *M. oleifera*

Des travaux effectués sur les feuilles de *M. oleifera* ont montré qu'elles peuvent traiter l'herpès de type 1 (Lipipun *et al.*, 2003). Les fleurs et les feuilles ont aussi une activité antihelminthique (Trapti *et al.*, 2009). Elles servent aussi à traiter des inflammations, des maladies musculaires, de l'hystérie et l'agrandissement de la rate (Laleye *et al.*, 2015). La gomme de *M. oleifera*, mélangée à l'huile de sésame permet de soulager les maux de tête et d'oreilles. L'huile des graines agit comme fortifiant et purgatif et est appliquée pour soigner la prostate et les troubles de la vessie (Fuglie, 1999). De même, Les racines du *Moringa* possèdent une activité antispasmodique (Caceres *et al.*, 1992).

Chapitre III: Les Métabolites Secondaires

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé (Merghem, 2009).

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense ou de résistance (Merghem, 2009).

Ces métabolismes sont classés en trois grandes classes :

-Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, tanins) et les quinones.

-Les terpénoïdes et leurs dérivés.

-Les alcaloïdes (Merghem, 2009).

III.1. Composés phénoliques

III.1.1. Polyphénols

III.1.1.1. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides des phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemples, les tanins et la lignine. La structure de base est le phénol un cycle aromatique hydroxylé (Hopkins, 2003) (Figure 3).

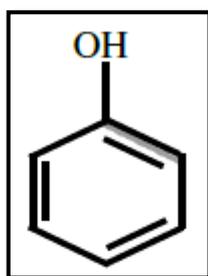


Figure 3. Structure du noyau phénol (Achat, 2014).

III.1.1.2. Classification

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique en:

- *les dérivés en C₆-C₁,
- *les dérivés en C₆-C₃ ou phenylpropanoïdes,
- *les composés en C₆-C₃-C₆ sont les plus importants.

Les tanins, composés provenant de la polymérisation de ces dérivés aromatiques feront l'objet de partie séparée (Merghem, 2009).

Tableau 2. Principales classes des composés phénoliques (Merghem, 2009).

Structure de base	Classe	Exemples/origine
C ₆	Phénols simples	Hydroquinone, catéchol
C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide salicylique
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique	Acide caféïque (café)
	Coumarines	Esculetine, scopolétine (citron), Eugénol (giroflie)
	Phénylpropènes	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignane	Pinorésinol (pin)
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Bois, noyau des fruits
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Apigénine, lutéoline, quercétine (fruits)
	Isoflavonoïdes	Génistéine (soja)
	Anthocyanes	Pélagonidine, cyanidine (fleurs, fruits rouges)
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	amentoflavone
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Proanthocyanes (tanins)	Procyanidines, prodéphinidines (raisin rouge)

Les phénols simples

Les phénols simples sont décrits comme des composés ayant au moins un groupe hydroxyle attaché à un cycle aromatique en tant que squelette de base. Dans la classe des phénols simples on distingue le catéchol, le résorcinol et le phloroglucinol (Daniel, 2006).

Les phénols simples (Catéchol, phloroglucinol) (Figure 4) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae), le plus souvent à l'état de glucoside du diphenol (arbutoside) ou de son monométhyléther (Bruneton, 2009).

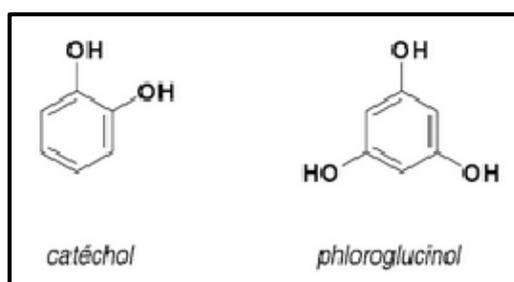


Figure 4. Exemples des phénols simples (Bruneton, 2009).

Les acides phénols

Les acides phénoliques appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques (formule de base de type C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (de structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006) (Figure 5).

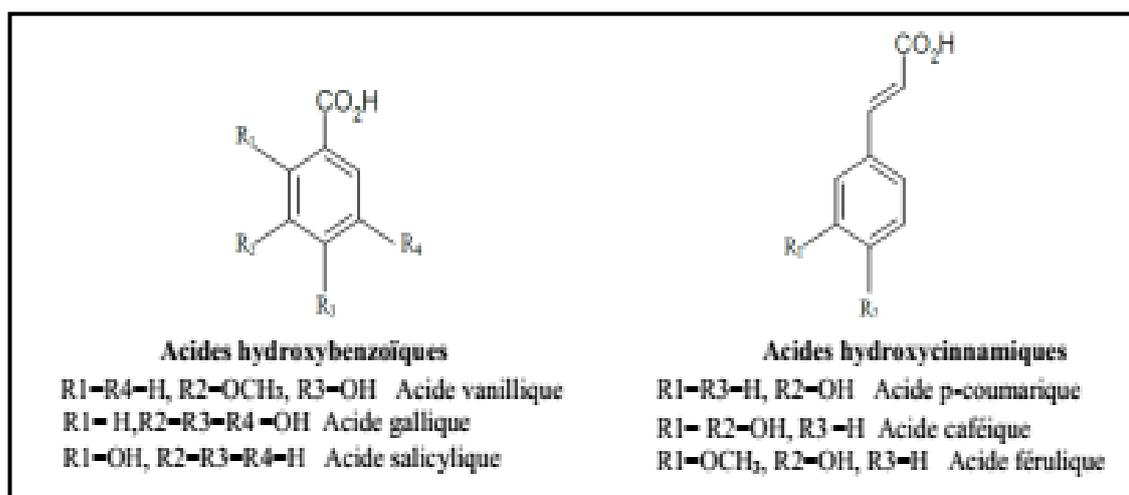


Figure 5. Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques (Macheix *et al.*, 2005).

III.1.2. Les flavonoïdes

III.1.2.1. Définition

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Yezza et Bouchama, 2014).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Yezza et Bouchama, 2014).

Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales (Yezza et Bouchama, 2014).

III.1.2.2. Structure

La structure d'un flavonoïde s'organise toujours autour d'un squelette 1,3-diphénylpropane C6-C3-C6. Les deux cycles benzéniques sont nommés cycle A et cycle B. Le chaînon propyle C3 peut être complété par une fonction éther formant ainsi un cycle central, appelé cycle C (Harborne et Williams, 2001 ; Li *et al.*, 2001 ; Williams et Grayer, 2004 *In* Isorez, 2007) (Figure 6).

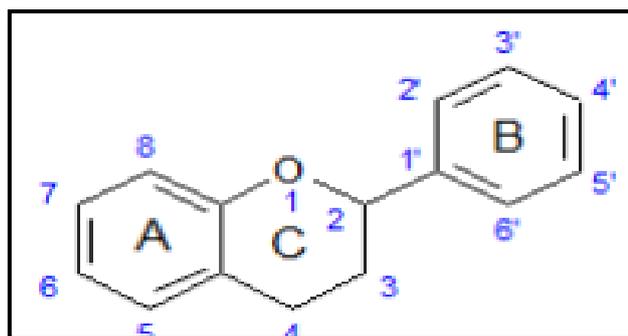


Figure 6. Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

III.1.2.3. Classification

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes (Figure 7), qui sont déterminées par l'état d'oxydation de l'unité de liaison (C), et la position du noyau benzénique (B) (Bruneton, 1993 ; Narayana *et al.*, 2001), tandis que les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution du noyau A ou B (OH, OCH₃ et/ou glycosyl) (Verpoorte et Alfermann, 2000 ; Havsteen, 2002).

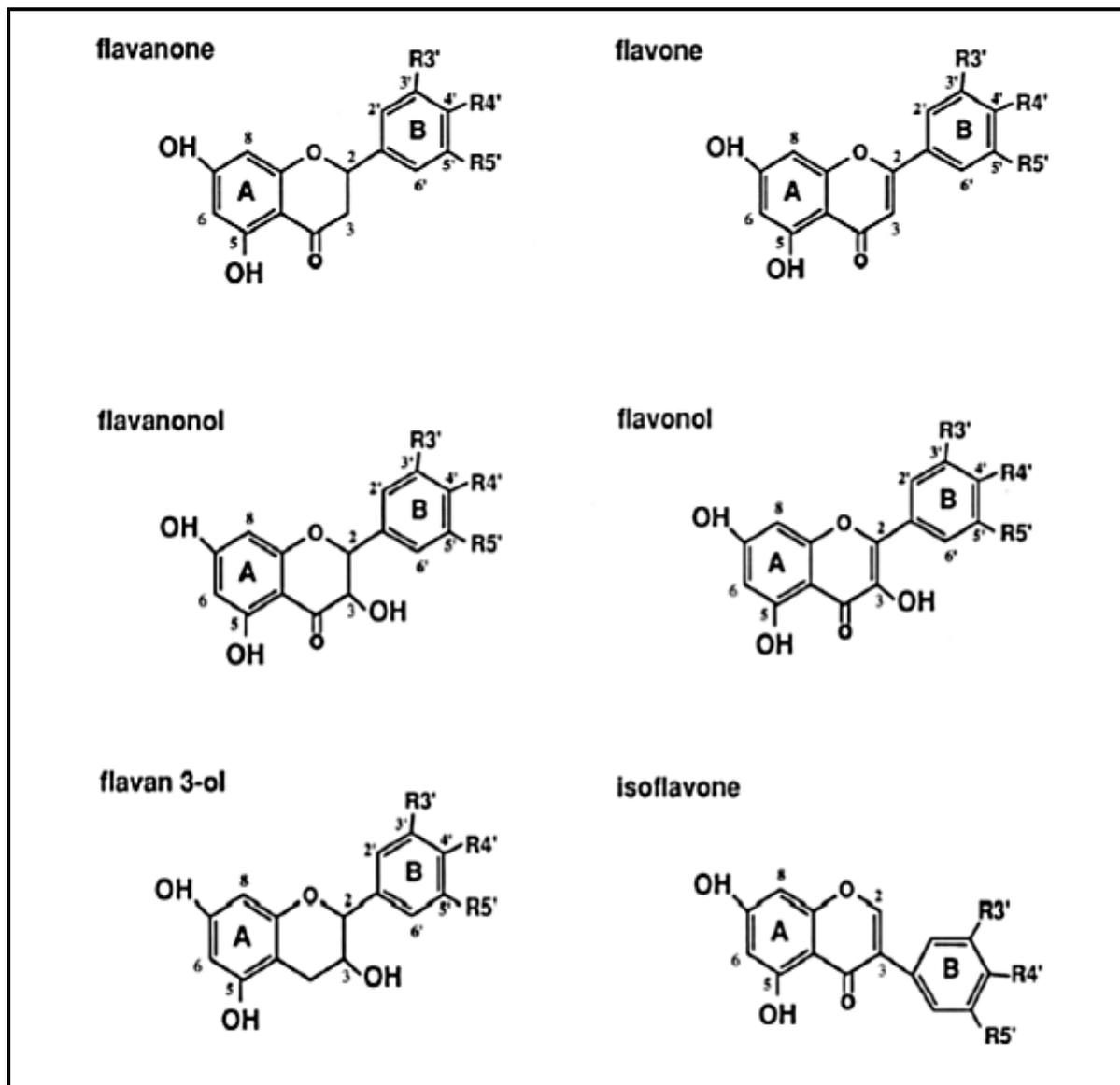


Figure 7. Les différentes classes des flavonoïdes (Gamet-Payraastre, 1999).

III.1.3. Tanins

III.1.3.1. Définition

Le mot Tanin est un terme provenant d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (Hopkins, 2003). Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 300 et, qui outre les réactions habituelles des phénols, provoquent la précipitation des protéines (ou autres polymères) (Merghem, 2009).

III.1.3.2. Classification

On distingue 2 classes structurales distinctes qui pouvant être présentes simultanément chez les végétaux:

➤ **Tanins hydrolysables:** sont abondants chez les dicotylédones et certains arbres en sont des sources industrielles : tanins de chêne, de châtaignier, tanin de Chine ou de Turquie extraits respectivement d'un arbuste de genre *Rhus* ou de *Quercus tinctoria* (Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont des hétéro-polymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère outre la molécule de glucose, de l'acide gallique (cas de gallotanins) ou ses formes dimériques : acide m-digallique, acide ellagique (cas des ellagitanins) (Merghem, 2009).

Une forme simple de tanins hydrolysables est le penta-galloylglucose qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, et la castalagine chez le châtaignier ou le chêne (Figure 8).

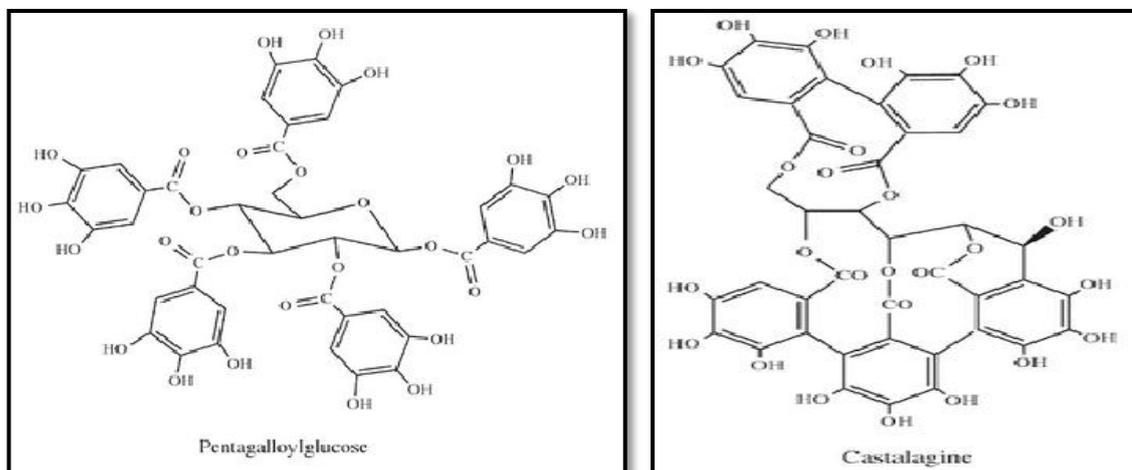


Figure 08. Structure de deux tanins hydrolysables (Macheix *et al.*, 2005).

➤ **Tanins condensés (tanins vrais ou tannoïdes):** Résultent de la condensation de molécules élémentaires de types flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leucoanthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tanins condensés sont également appelés proanthocyanidines ; en effet leur oxydation en milieu alcool –acide à chaud entraîne la formation de pigments anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine (Merghem, 2009) (Figure 9).

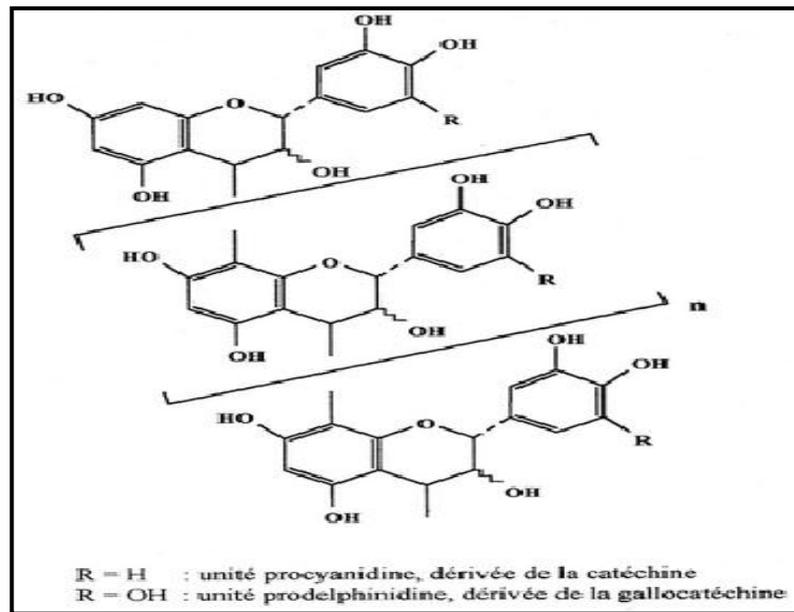


Figure 9. Structure d'un tanin condensé (Macheix *et al.*, 2005).

III.1.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques

III.1.4.1. Propriété antioxydante

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences. A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important (Achat, 2014).

La capacité antiradicalaire de ces métabolites secondaires, plus particulièrement les flavonoïdes fait sujet de nombreuses études récentes dans le domaine des thérapeutiques antioxydantes, pour compenser l'insuffisance des moyens naturels de protection dans certains désordres comme le vieillissement cellulaire, le cancer... (Madi, 2010).

Les flavonoïdes peuvent empêcher les dommages oxydatifs soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (Zeghouane, 2014) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Van Acker *et al.*, 1996).

Les acides phénols possédant les activités antioxydante et antiradicalaire sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (Bossokpi, 2002).

Concernant le pouvoir antioxydant des tanins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. Les tanins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres, ils inhibent les ions Cu^{+2} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (Zeghouane, 2014).

Les composés phénoliques exercent une activité antioxydante via plusieurs mécanismes:

- Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ;
- L'inhibition des enzymes génératrices d'ERO ;
- La chélation des ions de métaux de transitions, responsables de la production des ERO ;
- L'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (Achat, 2014).

III.1.4.1. Activité antibactérienne

En présence de bactéries, les composés phénoliques sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis de ces organismes. Le mécanisme de toxicité est peut être lié à l'inhibition des enzymes, l'inactivation des adhésines ou le blocage des protéines de transport et de la paroi cellulaire (Cowan, 1999). Selon Harikrishna *et al.* (2004) les flavonoïdes sont actifs sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

L'activité anti-bactérienne intense (*Salmonelles*, *Bacillus cereus*) de gallotanins a été mise en évidence par Tian *et al.* (2009). Rauha *et al.* (2000) rapportent également une activité antibactérienne envers *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* pour la quercétine et la naringénine.

Parmi les acides phénoliques, l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide protocatéchique ne présentent qu'une légère activité antibactérienne envers *Pseudomonas aeruginosa* (Rauha *et al.*, 2000).

III.2. Alcaloïdes

III.2.1. Définition

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte. L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Merghem, 2009).

III.2.2. Classification

On distingue :

➤ **Les pseudo-alcaloïdes** : Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale : exemple la coniine (Figure 10) (Merghem, 2009).

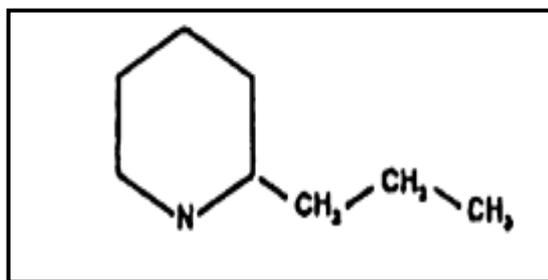


Figure 10. Structure de Coniine (Vetter, 2004)

➤ **Les proto-alcaloïdes** : L'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés, exemples : mescaline, hordénine, éphédrine, colchicine (Merghem, 2009).

➤ **Les alcaloïdes vrais** : que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle ; Biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés (Merghem, 2009).

III.3. Terpénoïdes

Avec les polyphénols, les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène (Figure 11) d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel ils sont parfois désignés. Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue :

- Les monoterpènes (C10).
- Les sesquiterpènes (C15).
- Les diterpènes (C20).
- Les triterpènes (C30).
- Les tetraterpènes (C40).
- Les polyterpènes (C4000) (Merghem, 2009).

Les composés terpénoïdes constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structurel que fonctionnel. Avec près de 15000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus vaste et plus diversifiée de composés organiques végétaux (Hopkins, 2003).

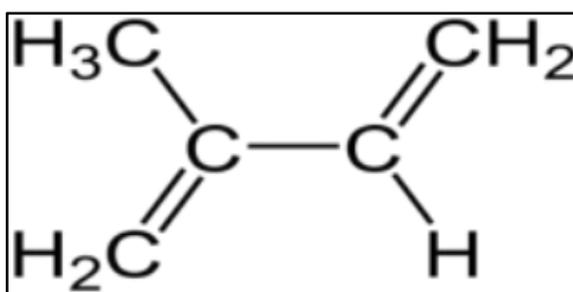


Figure 11. Structure de l'unité isoprénique (Side Larbi, 2016).

	<p>Partie II: Matériel et Méthodes</p>

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est la partie feuilles de *Moringa oleifera*. Ces feuilles ont été récoltées durant la période d'Octobre- Novembre en 2017, de la région de Hassi El F'hel, wilaya de Ghardaïa.

Après récupération des échantillons, les feuilles ont été séchées de façon naturelle à l'abri de la lumière et de l'humidité et à température ambiante, sur un morceau de toile durant 15 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.

I.2. Préparation des échantillons

Le matériel végétal obtenu (les feuilles séchées) a été trié puis une partie a été broyée par un broyeur (model M20) et tamisée à fin d'obtenir une poudre très fine, pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Par la suite la poudre obtenue et l'autre partie de feuilles séchées ont été conservées dans un flacon opaque à l'abri de la lumière et de l'humidité (Figure 12).

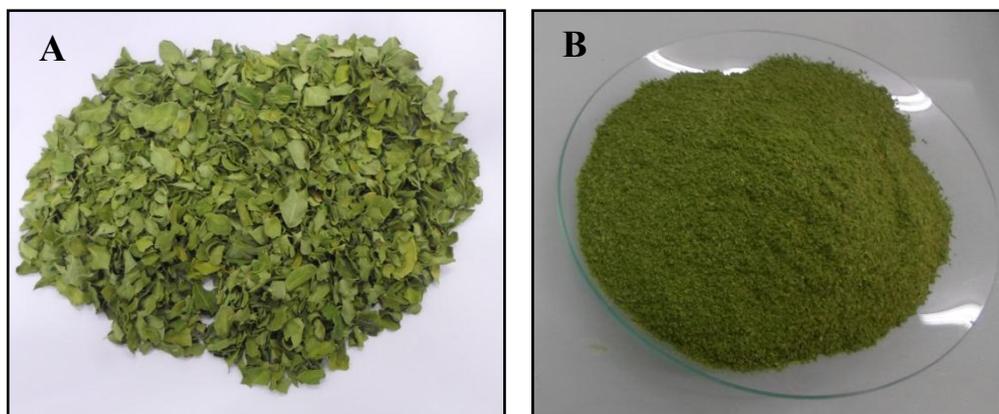


Figure 12. Les échantillons utilisées de la plante. **A** : les feuilles, **B** : la poudre (original).

Méthodes d'analyse

II.1. Préparation des extraits

La préparation des extraits a été faite selon le protocole de Konkon *et al.* (2006).

II.1.1. Méthode des solvants successifs

Extraction par solvant est une technique consistant à transférer une espèce chimique d'une première phase, liquide ou solide, vers une deuxième phase, généralement liquide : solvant (Simon et Bagard, 2008) (Figure 13).

La poudre végétale obtenue a été épuisée successivement par des solvants de polarité croissante.

Vingt gramme (20g) de poudre de feuilles séchées a été introduite dans une fiole conique de 500 ml et une quantité de 60 ml de chloroforme a été ajouté. Le mélange a été mis sous agitation pendant 15 minutes, puis filtré à l'aide d'un papier filtre n°3. Cette opération a été répétée deux autres fois de suite sur le marc qui résidu, puis les trois filtrats sont réunis et concentrés à 25 ml sur un bain de sable. La solution finale obtenue est appelée extrait chloroformique (Chloro).

Le marc préalablement séché a été introduit dans une fiole conique de 500 ml et une quantité de 60 ml de méthanol (100%) a été ajouté. Le mélange a été mis sous agitation pendant 15 minutes, puis filtré à l'aide d'un papier filtre n°3. Sur le marc qui reste, cette dernière opération a été répétée, puis les deux filtrats sont réunis et concentrés à 25 ml sur un bain de sable. La solution finale obtenue est appelée extrait Méthanolique (Méth).

II.1.2. Méthodes d'extraction par infusion

Pour cette méthode d'extraction on a utilisé les feuilles sèches où 5g de poudre de feuilles séchées a été introduite dans une fiole conique puis une quantité de 50 ml d'eau distillée bouillante a été ajoutée. Le mélange a été laissé infuser pendant 15 min et la solution a été filtré par papier filtre wattman n°3. La solution récupérée est la solution infusée (extrait infusé (Inf)).

II.1.3. Méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction)

Dans un ballon de 2 L, 70g de feuilles entières séchées a été introduite puis 1000 ml d'eau distillée a été ajouté. Le tout a été porté à l'ébullition dans un chauffe ballon (ES305) pendant une

heure et 30 min. A la fin de l'opération environ 500 ml de décocté a été obtenue et filtré et la solution récupérée est appelée extrait décocté.

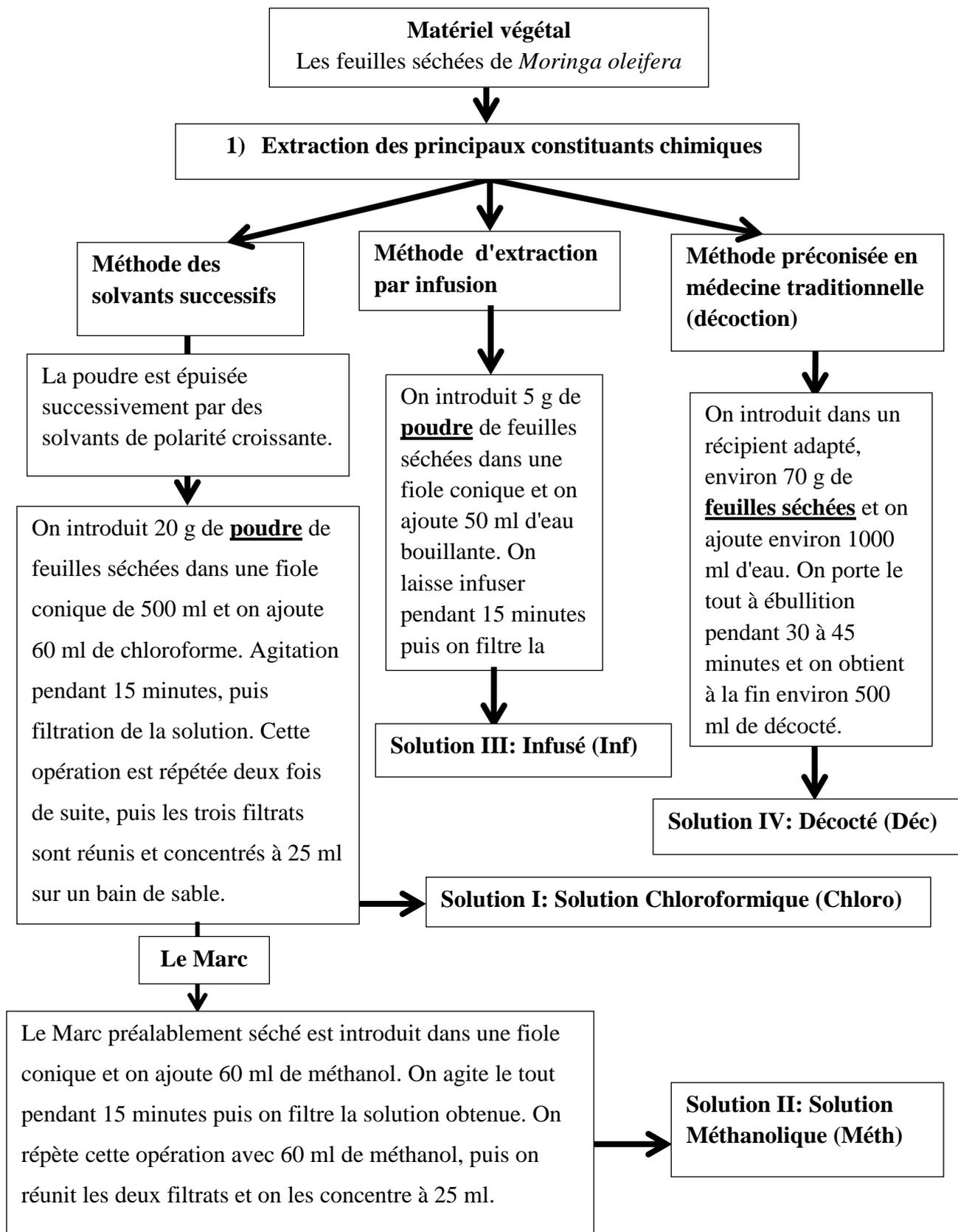


Figure 13. Protocole de préparation des différents extraits.

II.2. Détermination du rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R (\%): 100 \text{ Mext/Méch}$$

Où:

R: est le rendement en % ;

Mext: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

Méch: est la masse sèche de l'échantillon de la plante en g.

II.3. Analyses des extraits de *Moringa oleifera*

II.3.1. Analyse qualitatif: Screening phytochimique

II.3.1.1. Caractérisation des composés phénoliques

Selon Konkon *et al.* (2006), à 1 ml de chaque extrait, quelques gouttes de solution alcoolique de chlorure ferrique (FeCl_3) à 2% (Annexe 3) sont ajoutées. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols.

II.3.1.2. Caractérisation des flavonoïdes

Dans des tubes à essai 1 ml de chacun des quatre extraits est mis, 2,5 ml d'alcool chlorhydrique (Annexe 3) est ajouté puis quelques copeaux de magnésium sont ajoutés dans chaque tube à essai. Un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée apparaît implique la présence des flavonoïdes. A l'aide d'une gouttière quelques gouttes d'alcool isoamylique sont ajoutées pour intensifier cette coloration (Mibindzou et Mouellet, 2004 ; Konkon *et al.*, 2006).

II.3.1.3. Caractérisation des tanins

a- Les tanins catéchiqes

Dans des tubes à essai 1ml de chacun des 4 extraits est versé puis 3 ml du réactif de Stiasny (Annexe 3) est ajouté puis mélangé. Le mélange est maintenu au bain marie à 80 °C pendant 40 min ensuite les tanins catéchiqes sont caractérisés par l'observation d'un précipité en gros flocons (Konkon *et al.*, 2006).

b- Les tanins galliques

un volume de 1 ml de chaque extrait a été saturé par 1 ml d'acétate de sodium (1%) puis 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% (Annexe 3) sont ajoutées. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre intense indique la présence de tanins galliques (Konkon *et al.*, 2006).

II.3.1.4. Caractérisation des alcaloïdes

Dans des tubes à essai 1 ml de chacun des 4 extraits est déposé puis 1ml de méthanol à 60% (Annexe 3) est ajouté dans chaque tube. Quelques gouttes du réactif de Mayer sont ajoutées sur la solution. L'apparition d'un précipité blanc indique une réaction positive.

Les mêmes étapes sont répétées avec l'ajout de quelques gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité de coloration brun-rougeâtre indique une réaction positive (Benzahi, 2001 ; Konkon *et al.*, 2006).

II.3.1.5. Caractérisation des terpénoïdes

Un volume de 400 μl de chloroforme est ajouté à 1ml de chacun des 4 extraits puis 600 μl d'acide sulfurique concentré est ajouté. La formation de deux phases et un anneau de couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes (Khan *et al.*, 2011).

II.3.1.6. Caractérisation des composés réducteurs

Un volume de 0,5 ml de chacun des 4 extraits est traité avec 1 ml d'eau distillée et 1 ml de la liqueur de Fehling puis les tubes sont chauffés au bain marie de 40 à 60°C. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Bentabet-Lasgaa, 2015).

Pour l'extrait décocté, 1 ml de liqueur de Fehling est préchauffé puis 0,5 ml de l'extrait décocté y'est ajouté. Le mélange est ensuite chauffé au bain marie pendant quelques minutes.

II.3.1.7. Caractérisation des saponines

Les saponines ont été détectées par deux méthodes en utilisant les extraits aqueux:

1^{ère} méthode:

Dans des tubes à essai 10 ml de chaque extrait aqueux (Inf et Déc) ont été introduits. Les tubes ont été agités de manière violente et horizontale pendant 15 secondes puis laissé au repos durant 15

min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence de saponosides (Daoudi *et al.*, 2015).

2^e méthode:

Dans un bécher, 100 ml d'eau distillée a été ajouté à une quantité de 2g de matériel végétal sec (feuilles séchées), le mélange a été porté à l'ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, la solution a été filtré par un papier filtre et le filtrat a été ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée.

Une série (10 tubes) de dilutions (1-10%) de bouilli a été préparée puis les 10 tubes ont été agités de manière violente et horizontale pendant 15 secondes. Après 20 min de repos, le tube dans lequel la hauteur de la mousse est plus proche de 1 cm a été marqué selon Alilou *et al.* (2014).

La présence des saponosides est indiquée par un indice de mousse supérieur à 100. Ce dernier est calculé selon la formule suivante:

$$I = \text{hauteur de la mousse (en cm) dans le } x \text{ tube} * 5 / 0,0x$$

Où:

I: indice de mousse.

Hauteur de la mousse dans le tube x: hauteur de mousse dans le tube plus proche de 1cm.

X: numéro de tube dans lequel la mousse plus proche de 1 cm.

II.3.2. Analyse quantitative: Dosage des composées phénoliques

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires: les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés ont été effectuées sur les quatre extraits de *Moringa oleifera*. Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés biologiques de la plante lui sont attribués (Boizot et Charpontier., 2006 ; Wong *et al.*, 2006).

II.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ **A/ Principe:**

La méthode utilisée est celle rapportée par Skerget *et al.* (2005). Il s'agit d'une méthode pour déterminer la teneur en acides phénoliques attachés aux parois cellulaires, phénols solubles totaux, phénols non attachés à la cellulose et les phénols simples non attachés à la protéine.

Le réactif de Folin Ciocalteu est 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 (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_3). La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale est à 765nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans le milieu réactionnel (Boizot et Charpentier, 2006).

➤ **Mode opératoire:**

Le dosage des polyphénols totaux (Figure 14) a été déterminé par le protocole suivant : 200 µl de chaque solution d'extrait ont été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis par l'addition de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (à 0,1N) (Annexe 3). Après 5 min, 0,8 ml de carbonates de sodium (75g/l) (Annexe 3) ont été ajouté et le mélange ainsi obtenue est incubé à 50 °C pendant 5 min et à l'obscurité. L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. Le blanc de la réaction est réalisé avec les mêmes réactions et conditions précédentes. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

Les concentrations en polyphénols sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique à différentes concentrations (0,005 à 0,6 mg/ml) (Annexe 3, 4, 5) à partir d'une solution mère (1mg/ml) et dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec (mg EAG/g de poids sec).

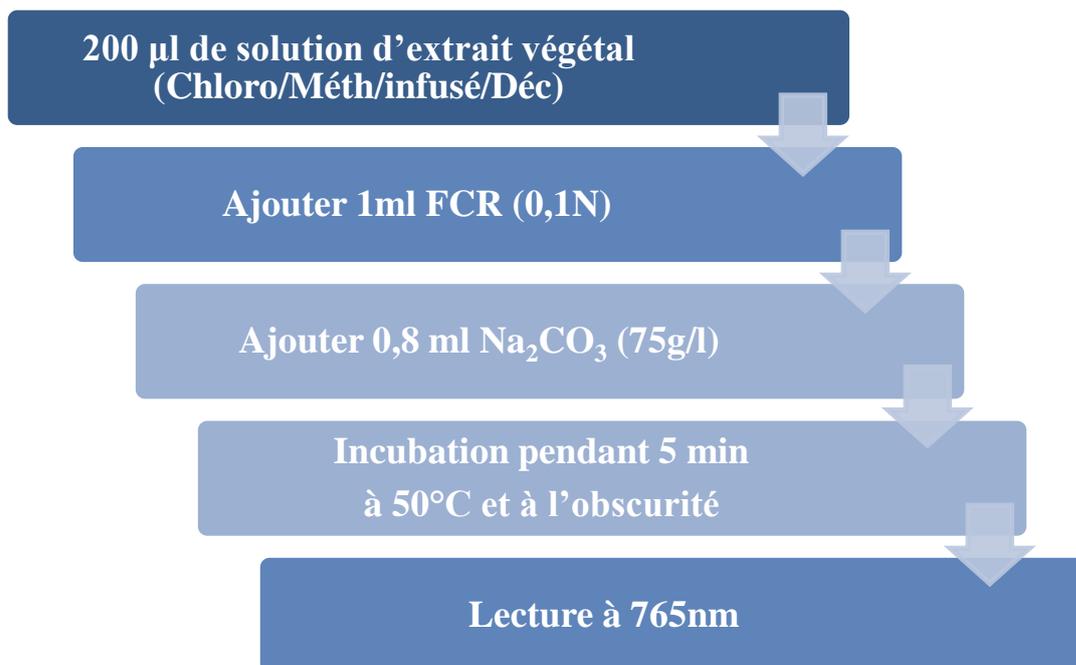


Figure 14. Différentes étapes du dosage des polyphénols totaux.

II.3.2.2. Dosage des flavonoïdes

➤ **Principe:**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de Zhishen *et al.* (1999) avec le trichlorure d'aluminium (AlCl_3). En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre absorbant dans le visible à 510 nm, grâce à la présence des groupements ortho-dihydroxyyles sur les noyaux A ou B et les groupements hydroxyyles libres en position C-3 et C-5 ou le groupement cétonique en position C-4 des flavonoïdes.

➤ **Mode opératoire:**

Pour 1,5 ml de chaque concentration de solution des extraits, 1,5 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2% (Annexe 3) sont ajoutés. Les mélanges sont incubés pendant 10 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 430 nm par un spectrophotomètre UV-VIS. Toutes les mesures sont répétées 3 fois (Figure 15).

Les concentrations en flavonoïdes sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la rutine et exprimées en milligramme d'équivalent de rutine par un gramme de matière sèche (mg ER/g de matière sèche). A cet effet, la gamme d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations de la rutine (0,01 à 0,08 mg/ml) à partir d'une concentration mère (1mg/ml) et avec les mêmes étapes et conditions que le dosage (Annexe 3, 6, 7).

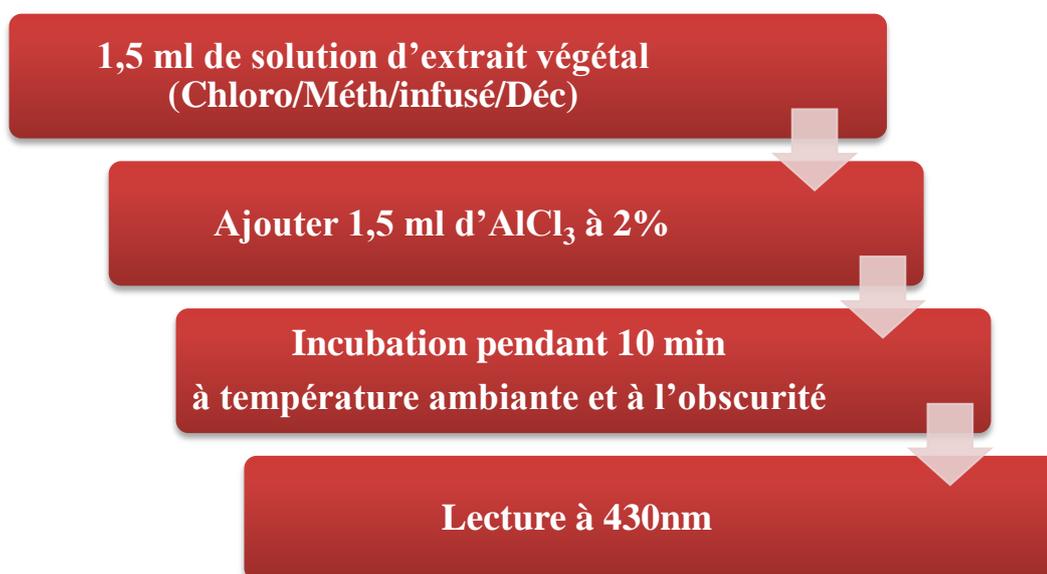


Figure 15. Différentes étapes du dosage des flavonoïdes.

II.3.2.3. Dosage des tanins condensés

➤ **Principe:**

Le dosage des tanins condensés est effectué par la méthode de la vanilline décrite par Deshpande *et al.* (1986) qui utilise la propriété des tanins à se transformer en anthocyanes par chauffage en milieu acide (Lacampagne, 2010). La vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde (Ghedadba *et al.*, 2014).

➤ **Mode opératoire:**

Pour 0,5 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard 2 ml de Vanilline-HCl (Annexe 3) sont ajoutées. Après homogénéisation, le mélange a été incubé pendant 20 min à 30 °C puis l'absorbance a été mesurée à 500 nm (Figure 16). Toutes les mesures ont fait l'objet de 3 répétitions.

Les concentrations en tanins sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine comme standard et exprimées en milligramme d'équivalent de catéchine par un gramme de matière sèche (mg EC/g de matière sèche).

La gamme d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations de catéchine (0,1 à 0,6 mg/ml) à partir d'une concentration mère (1mg/ml) (Annexe 3, 8, 9).

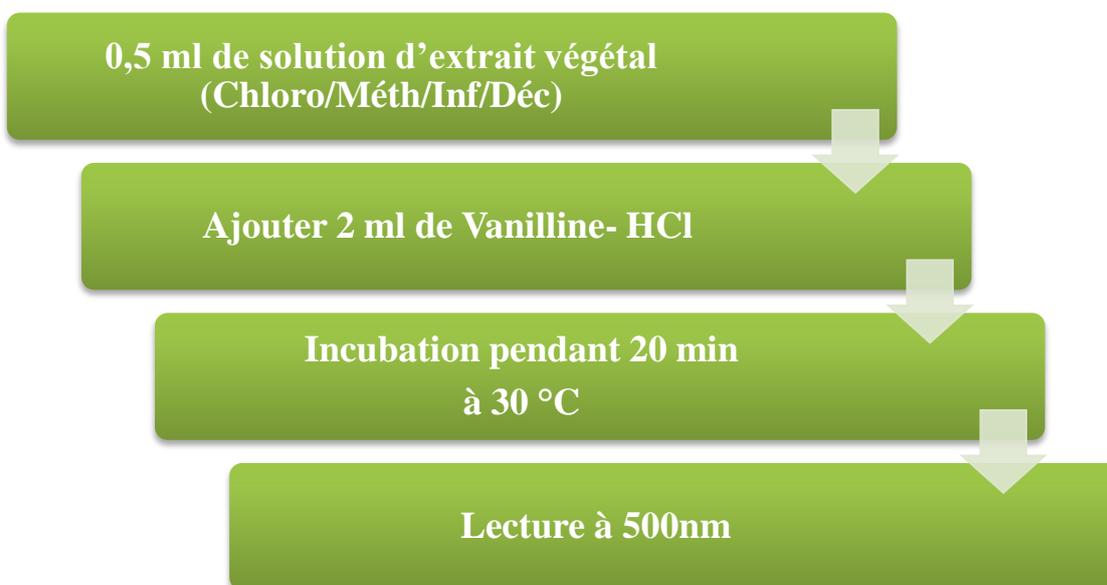


Figure 16. Différentes étapes du dosage des tanins condensés.

II.4.1. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydant doit être effectuée par plusieurs tests (au minimum trois tests) pour cela deux tests ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydant des extraits et qui sont le test de DPPH et le test de l'ABTS.

II.4.1.1. Test de 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

➤ **Principe:**

Le 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre, stable et centré par l'azote qui porte un électron impair. Il est de couleur violette foncée. En présence d'antioxydants, il réagit avec eux par l'intermédiaire de deux mécanismes différents : une abstraction directe de l'hydrogène des groupes d'hydroxyles ou un processus de transfert d'électron, pour former un produit final stable qui est le diphényl-b picrylhydrazine coloré en jaune et qui donne une absorption forte à 515 nm (Figure 17) (Akowuah *et al.*, 2005 ; Kumaran, 2006 ; Amrouche et Yaya, 2017).

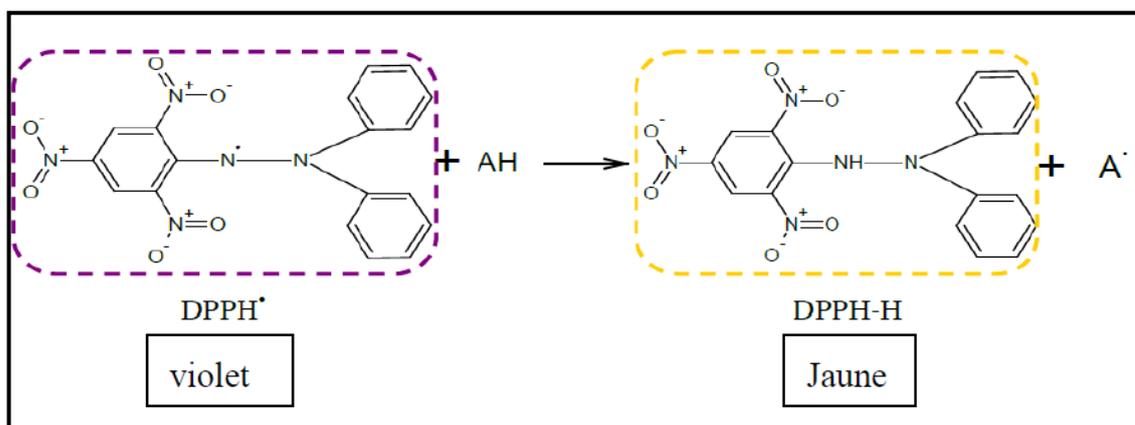


Figure 17. Réduction du radical DPPH (Chelghoum, 2016).

➤ **Mode opératoire:**

Le test du pouvoir antiradicalaire est réalisé selon la méthode de Brand William *et al.* (1995). 1,95 ml de réactif DPPH sont ajoutés à 50 µl d'extrait (Chloro, Méth, Inf, Déc) préparé à différentes concentrations (Annexe 10), le mélange est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité ; un contrôle négatif (blanc) est préparé avec 50 µl de méthanol et avec les mêmes étapes et conditions que les extraits. La lecture se fait au spectrophotomètre UV-Visible à 515 nm contre une référence (le méthanol). Les mesures ont fait l'objet de 3 répétitions.

Un témoin positif avec l'acide ascorbique à différentes concentrations est réalisé dans les mêmes conditions que les échantillons (Annexe 10 (Tableau I)). L'activité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH en suivant l'équation :

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) * 100$$

Abs contrôle: correspond à l'absorbance du contrôle.

Abs échantillon: correspond à l'absorbance de l'échantillon (le standard acide ascorbique ou les extraits).

La valeur de l'IC₅₀ a été déterminée pour l'acide ascorbique et pour chaque extrait, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH.

Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constitué de DPPH.

Les valeurs de l'IC₅₀ ont été calculées par les régressions linéaires, où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition (de réduction) à l'aide du logiciel Excel 2010.

II.4.1.2. Test de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

➤ Principe:

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium (Figure 18). D'autres oxydants peuvent être utilisés, tels que le dioxyde de manganèse (MnO₂) (Nadal, 2009).

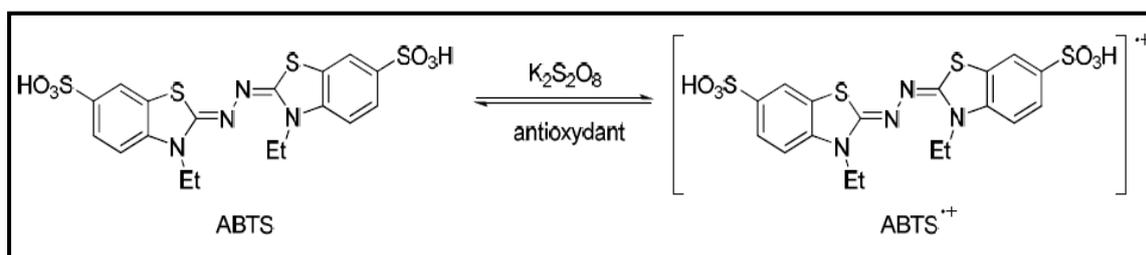


Figure 18. Production et réduction du radical ABTS^{•+}.

Ce radical est utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type

phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron. Ce radical est caractérisé par un spectre UV avec des maximums d'absorbance à 416, 650 et 734 nm. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration (Nadal, 2009).

➤ **Mode opératoire:**

Selon le protocole rapporté par Youmbai (2015), l'ABTS à 7 mM et le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) à 2,45 mM sont mélangés avec des volumes égaux, le mélange est incubé pendant 16 h, puis une dilution par l'éthanol a été réalisée jusqu'à l'obtention d'une absorbance à $0,700 \pm 0,01$ à 734 nm juste avant l'utilisation (Barahona *et al.*, 2011). Ensuite, pour 50 μ l d'extrait Chloro, Méth, Inf, Déc) préparé à des concentrations différentes (Annexe 10) 1,95 ml de la solution de l'ABTS d'absorbance 0,700 est ajouté. Le mélange est agité et incubé à l'obscurité pendant 6 min. L'absorbance est lue à 734 nm. Les essais sont répétés 3 fois.

Un contrôle négatif (le blanc) est préparé par 50 μ l de l'éthanol et 1,95 ml de solution ABTS. Une gamme d'étalons (témoin positif) (Annexe 10 (Tableau I)) est préparé par l'acide ascorbique à différentes concentrations (0,01 à 0,1 mg/ml).

L'activité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{*+}$ suivant l'équation:

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) * 100$$

Abs contrôle: correspond à l'absorbance du contrôle.

Abs échantillon: correspond à l'absorbance de l'échantillon (le standard acide ascorbique ou les extraits).

La concentration (IC_{50}) des extraits et de l'acide ascorbique permettant de réduire 50% de l' $ABTS^{*+}$ est déterminée en traçant une courbe de pourcentage de réduction en fonction de la concentration à l'aide du logiciel Excel 2010.

II.4.2. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de différentes concentrations des extraits (Chloro, Méth, Inf, Déc) a été effectuée selon la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (Treki *et al.*, 2009 ; Liao *et al.*, 2010). Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application de disques imprégnés de principes actifs sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes. La présence de l'activité antimicrobienne, se manifeste par l'apparition d'une zone circulaire transparente autour du disque qui correspond à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible.

L'Objectif de ce test est de déterminer *in vitro* parmi les extraits de *Moringa* (Chloro, Méth, Inf, Déc) préparés celui qui a la plus grande activité inhibitrice vis-à-vis des deux bactéries utilisées : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* provenant de la collection de l'hôpital de Métlili.

II.4.2.1. Préparation des dilutions des extraits (concentrations)

Différentes concentrations des extraits de *Moringa oleifera* (0,25 ; 0,5 ; 1 ; 5mg/ml) (Annexe 11) ont été préparées. Les concentrations de l'extrait Chloro et Méth ont été préparées par le DMSO alors que celles de l'extrait Inf et de l'extrait Déc ont été préparées dans de l'eau distillée stérile.

II.4.2.2. Préparation des disques

Des disques (patches) de 6mm de diamètre ont été découpés sur du papier Wattman n°1 puis ils sont mis dans un tube à essai et stérilisés dans l'autoclave à 120°C pendant 15min et conservés jusqu'à utilisation.

II.4.2.3. Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour le test de l'activité antibactérienne est le milieu de culture standard Mueller-Hinton (Annexe 11). Après préparation et stérilisation à l'autoclave pendant 15 min à 121°C, le milieu a été versé dans des boîtes de pétri à environ à 4 mm de hauteur puis laisser quelques minutes jusqu'à la solidification.

II.4.2.4. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure des deux bactéries à tester sur milieu gélose nutritive (Annexe 11) préalablement incubées dans l'étuve à 37°C environ 24h, quelques colonies bien isolées de bactéries ont été raclées par une anse de platine et déchargées dans de l'eau physiologique stérile à

0,9 % (Annexe 11). La suspension bactérienne par la suite a été bien homogénéisée puis l'absorbance de cette suspension a été mesurée dans l'intervalle de 0,08 à 0,12 à 625 nm afin d'avoir une concentration bactérienne de 10^8 UFC/ml.

L'utilisation de l'inoculum (l'ensemencement) doit être faite dans les 15 min qui suivent sa préparation à la température ambiante.

II.4.2.5. Ensemencement

La culture se fait dans un milieu stérile et qui consiste à tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne puis l'essorer un peu en le pressant sur la paroi interne du tube contenant la suspension bactérienne. L'écouvillon ainsi imbibé dans la suspension est frotté sur la totalité de la surface gélosée du milieu de culture (milieu Mueller-Hinton). Cette opération a été répétée deux fois, en tournant la boîte de pétri de 60° à chaque fois, afin d'assurer une culture homogène des deux bactéries utilisées (*E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

À l'aide d'une pince stérile et sous une hôte bien propre et stérilisée, les disques contenant les différentes concentrations des extraits ont été déposés sur la surface du milieu ensemencé. Un témoin négatif a été préparé avec de l'eau distillée stérile pour les extraits aqueux et le DMSO pour

Un disque de l'antibiotique (Gentamicin, 10µg) a été utilisé et déposé dans les boîtes de pétri ensemencées comme un témoin positif.

II.4.2. 6. Incubation

Après incubation pendant 18-24 heures à 37°C dans de l'étuve, les résultats de l'activité antibactérienne de nos extraits ont été observés tout en mesurant à l'aide d'une règle les diamètres d'inhibition des différentes concentrations des extraits et des témoins. Les tests ont été répétés trois fois.

	<p>Partie III: Résultats et Interprétations</p>

I. Analyse des quatre extraits des feuilles de *M. oleifera*

I.1. Analyse qualitative: Screening phytochimique

Les tests du criblage phytochimique ont détecté la présence de quelques métabolites secondaires dans les quatre extraits des feuilles de *Moringa oleifera*. Ces tests ont été réalisés par des réactions basés sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

I.1.1. Les polyphénols

L'apparition d'une coloration verte légèrement foncé dans l'extrait Chloro et verte moins foncé dans l'extrait Déc et Inf, et une coloration bleu noirâtre dans l'extrait Méth (Figure 19) signifie la présence des polyphénols.

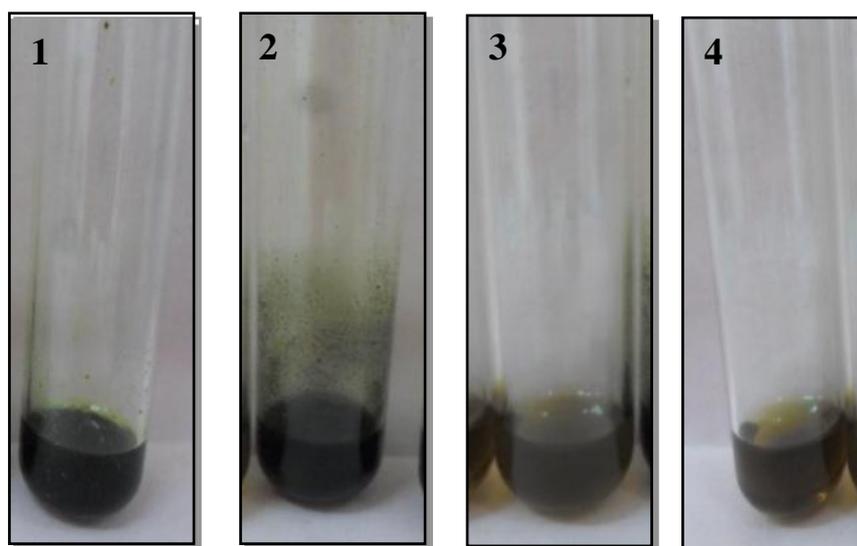


Figure 19. Mise en évidence chimique des polyphénols (original).

1: Chloro ; **2:** Méth ; **3:** Inf ; **4:** Déc.

I.1.2. Les flavonoïdes

L'observation d'une coloration rose orangé (clair) dans l'extrait Déc et moins foncé dans l'extrait Inf, foncé dans l'extrait Méth, et pas bien clair dans l'extrait Chloro (Figure 20) indique la présence des flavonoïdes. Cela signifie que notre plante contient des flavonoïdes libres qui peuvent être de type flavones.

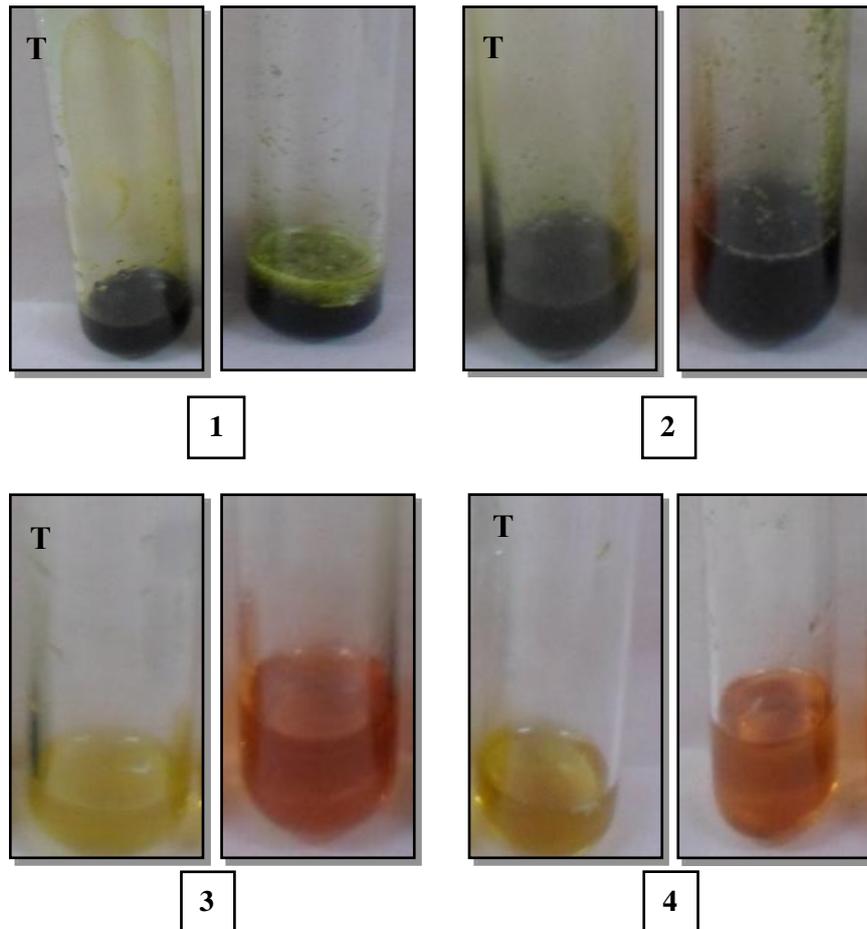


Figure 20. Mise en évidence chimique des flavonoïdes (original).

1: Chloro ; **2:** Méth ; **3:** Inf ; **4:** Déc. T: témoin

I.1.3. Les tanins condensés

La formation d'un précipité de couleur verte, jaune ou marron en gros flocons respectivement au fond des tubes des extraits Méth, Inf et Déc (Figure 21) révèle la présence des tanins condensés alors que l'extrait Chloro le résultat pas bien clair.

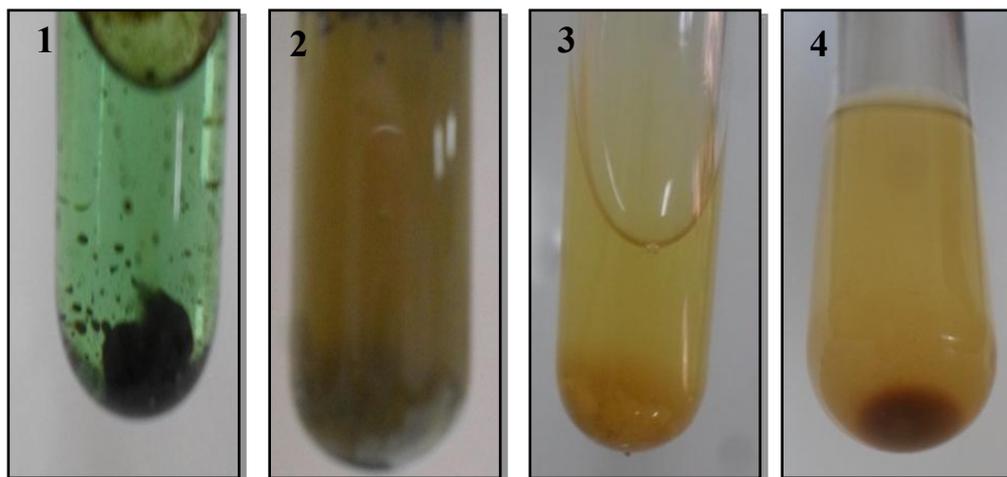


Figure 21. Mise en évidence chimique des tanins condensés (original).

1: Chloro ; **2:** Méth ; **3:** Inf ; **4:** Déc.

I.1.4. Les terpénoïdes

Un anneau marron apparaît à l'interphase dans les extraits Méth, Inf et Déc (Figure 22) indique la présence des terpénoïdes, alors qu'il est absent dans l'extrait Chloro.

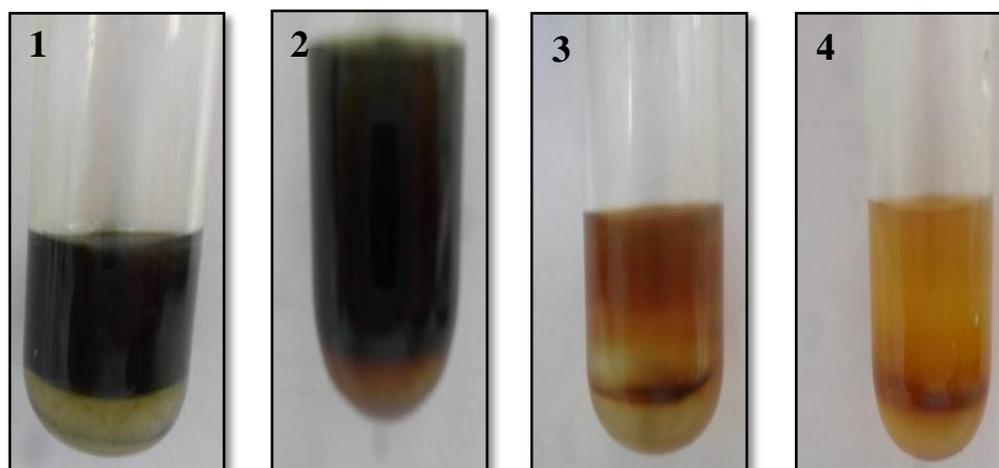


Figure 22. Mise en évidence chimique des terpénoïdes (original).

1: Chloro ; **2:** Méth ; **3:** Inf ; **4:** Déc.

I.1.5. Les saponosides

L'apparition dans l'extrait Déc (Figure 23), d'une mousse persistante avec une hauteur supérieur à 1cm (plus de 2 cm) indique une présence assez importante des saponines dans la plante. Par contre on a noté son absence dans l'extrait Inf.

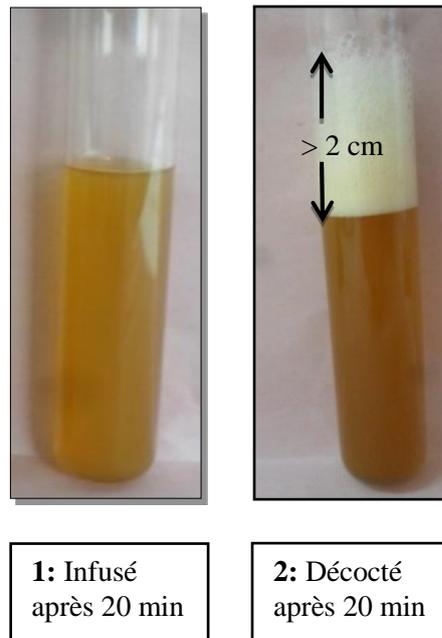


Figure 23. Mise en évidence chimique des saponosides (Méthode 1)
(original).

Selon la 2^e méthode, dans le tube 03 (figure 24) la mousse est mesurée à 0,9 cm qui est proche de 1cm. L'indice de mousse est calculé avec un résultat de 150 qui est supérieur à 100 et ceci montre la présence des saponines dans les feuilles de la plante.

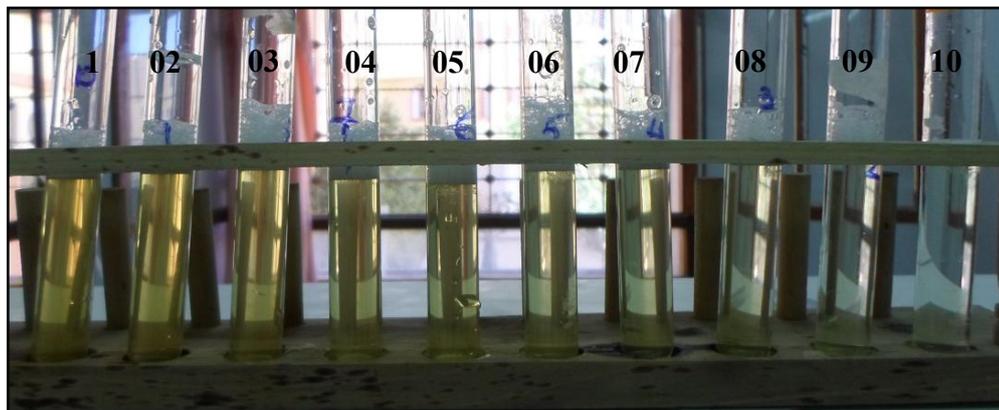


Figure 24. Aspect de la mousse dans la série des tubes après 20 min (Méthode 2) (original).

I.1.6. Les sucres réducteurs

Un précipité rouge brique a été observé dans les quatre extraits (Figure 25) ce qui indique que les feuilles de notre plante contiennent des sucres réducteurs.

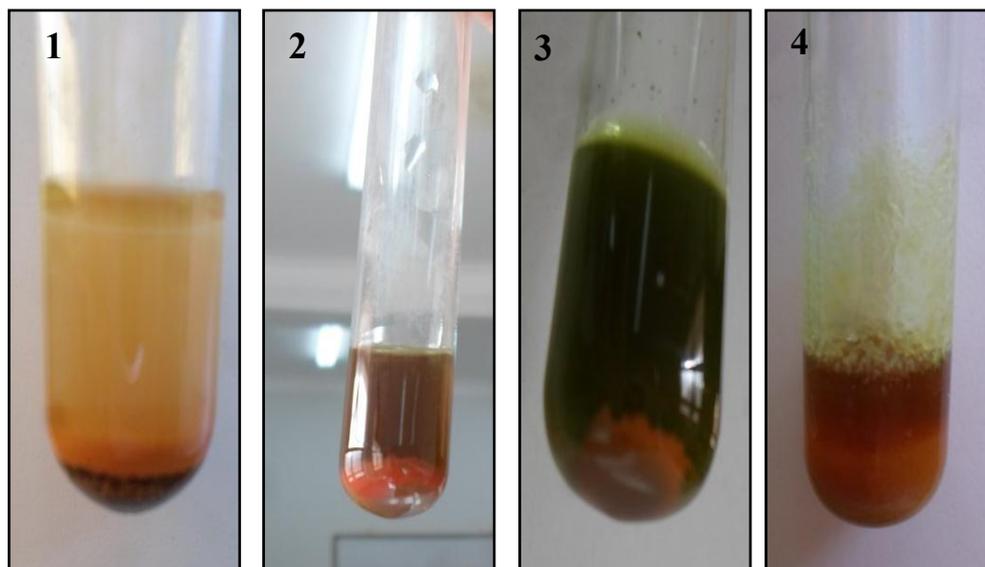


Figure 25. Mise en évidence chimique des sucres réducteurs (original).

1: Chloro ; **2:** Méth ; **3:** Inf ; **4:** Déc.

I.1.7. Les alcaloïdes

A travers des résultats de criblage des alcaloïdes réalisé par le test du réactif de Wagner, une apparition d'une couleur de précipité brun-rougeâtre dans l'extrait Déc, tandis que dans les extraits Méth et Inf transmettent des traces d'une couleur de précipité. Alors que dans l'extrait Chloro aucune couleur de précipité n'est apparue. Par contre des résultats des alcaloïdes par le test du réactif de Mayer dans les quatre extraits sont apparus négatif.

Les résultats du criblage phytochimique récapitulées dans le Tableau (3), montrent la présence des polyphénols et flavonoïdes, les sucres réducteurs dans tous les extraits. Les terpénoïdes et tanins condensés sont présents dans l'extrait Méth, Inf et Déc en quantité importante, alors ils ont été absents dans l'extrait Chloro. Les tanins catéchiques ont été aussi absents dans ce dernier extrait (Chloro) et présents dans les trois autres extraits (Méth, Inf, Déc).

La révélation de la présence des alcaloïdes par le test au réactif de Mayer a donné un résultat négatif pour les quatre extraits alors que l'utilisation du réactif de Wagner a montré qu'ils sont faiblement présents dans l'extrait Déc. Les saponosides ont été trouvés en quantité assez importante dans l'extrait Déc.

La présence ou l'absence d'un métabolite dans un extrait revient au type du solvant et la méthode d'extraction et le temps ; dont les métabolites apolaires (les terpénoïdes) sont plus solubles dans les

solvants organiques apolaires et moins solubles dans les solvants polaires alors que les métabolites polaires (polyphénols, tanins polysaccharides...) sont plus solubles dans les solvants polaires (méthanol, éthanol, eau...) et moins solubles dans les solvants organiques apolaires.

D'après les résultats obtenus des tests préliminaires du screening phytochimique, nous pouvons prédire que les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent une diversité de métabolites secondaires importante.

Tableau 3. Résultats des tests préliminaires de mise en évidence de quelques métabolites secondaires des quatre extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Métabolites		Résultats			
		Extrait chloroformique	Extrait méthanolique	Extrait infusé	Extrait décocté
Terpénoïdes		-	+++	+	++
Polyphénols		+	+++	++	++
Flavonoïdes		+ /-	+++	++	+
Tanins galliques		-	-	-	-
Tanins condensés		-	++	++	++
Alcaloïdes (réactif de Mayer)		-	-	-	-
Alcaloïdes (réactif de Wagner)		-	+/-	+/-	+
Saponosides	1 ^{ère} méthode	/	/	-	+++
	2 ^e méthode	/	/	/	+
Sucres réducteurs		++	++	+	++

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+): Faiblement présent ;

(-): Absence ; +/- Traces ; /: non déterminé.

I.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction, qui est exprimé en % et calculé par rapport au poids de la matière sèche de départ utilisée de *M. oleifera*, varie en fonction du solvant utilisé et de la méthode d'extraction. Il varie de 4,26 % à 78,66% respectivement chez l'extrait Chloro et Inf.

Les rendements les plus élevés ont été observés dans les extraits aqueux (Inf et Déc) par rapport aux extraits Chloro et Méth qui sont moins élevés. Le résultat le plus élevé est observé dans l'extrait Inf (Tableau 4).

On peut constater que le rendement d'extraction augmente avec la polarité des solvants et diffère entre les méthodes d'extraction pour le même type de solvant.

Tableau 4. Aspect, couleur, poids sec et rendement des quatre extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Extrait	L'aspect	La couleur	Poids sec (g)	Rendement (%)
Chloroformique	Pâteux	Vert foncé	0,85	4,26
Méthanolique	Pâteux	Vert foncé	1,25	6,23
Infusé	Poudre	Marron	7,87	78,66
Décocté	Poudre	Marron jaunâtre	18,95	27,07

Les extraits obtenus par solvants organiques (Chloro et Méth) présentent généralement après leurs séchage un aspect pâteux de couleur verte foncé et les extraits aqueux présentent un aspect poudreux de couleur marron foncé pour l'extrait Inf et jaunâtre pour l'extrait Déc (Tableau 4 ; Figure 26).

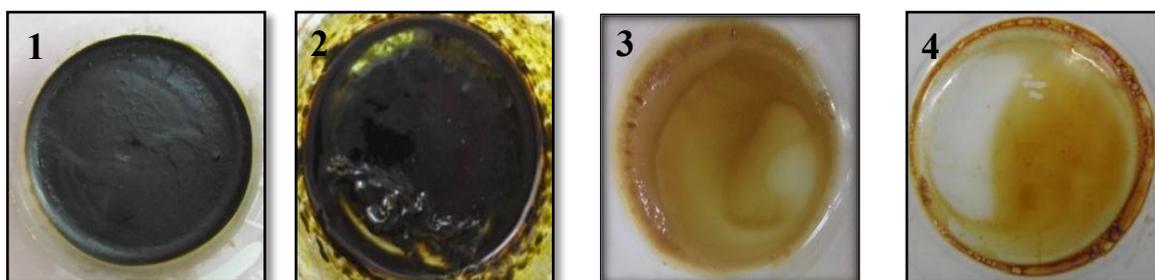


Figure 26. Aspect et couleur des quatre extraits après séchage (original).

1: Chloro ; 2: Méth ; 3: Inf ; 4: Déc.

I.3. Analyse quantitative: Dosage des composées phénoliques

Un dosage des polyphénols totaux (PTS), des flavonoïdes (Fl) ainsi que des tanins condensés (TC) a été réalisé sur les quatre extraits (Chloro, Méth, Inf, Déc) préparés à partir des feuilles de *Moringa oleifera*.

Le contenu en polyphénols totaux a été déterminé par la méthode du Folin-Ciocalteu avec utilisation de l'acide gallique comme standard (765nm). Les flavonoïdes ont été dosés par utilisation de la méthode du trichlorure d'aluminium tout en utilisant la rutine comme standard (430nm) alors que les tanins condensés ont été quantifiés selon la méthode de Deshpande *et al.* (1986) par la vanilline en utilisant la catéchine comme standard (500nm).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les quatre extraits spectrophotomètre UV-Visible sont représentés dans le Tableau 5 et les diagrammes (Figure 27). Les gammes d'étalonnage des trois standards sont représentées dans les Annexe 5, 7, 9.

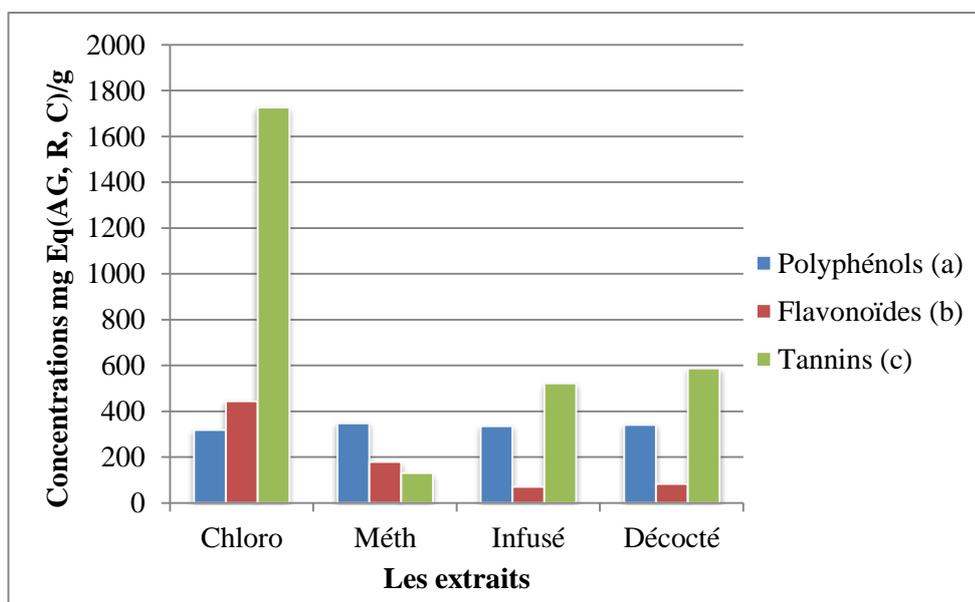


Figure 27. Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

Les résultats obtenus montrent une présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les quatre types d'extraits avec une variabilité des teneurs constatées entre eux. Pour les PTS, les teneurs dans les quatre extraits sont proches mais nous pouvons distinguer la teneur la plus élevée dans l'extrait Méth avec $348,61 \pm 7,55$ mg EAG/g de MS et la faible teneur dans l'extrait Chloro avec $318,37 \pm 2,52$ mg EAG/g de MS. Ces résultats confirment le test du criblage phytochimique qui a indiqué la présence des PTS dans tous les extraits et fortement dans l'extrait Méth.

Pour les teneurs en FI, les teneurs les plus faibles ont été enregistrées dans les extraits aqueux avec $70,27 \pm 0,14$ et $83,84 \pm 0,96$ mg ER/g de MS respectivement dans les extraits Inf et Déc, alors que les teneurs les plus élevées ont été enregistrées dans les extraits obtenus par les solvants organiques avec $444,32 \pm 0,82$ et $178,93 \pm 1,10$ mg ER/g de MS respectivement dans les extraits Chloro et Méth.

Les teneurs en TC ont été trouvées en quantité plus importante dans tous les extraits en comparaison avec les PTS et les FI ce qui peut indiquer que les feuilles de notre plante sont très riches en tanins. Les extraits aqueux (Inf et Déc) ont présentés des quantités moyennement élevée avec $522,50 \pm 20,53$ et $587,81 \pm 30,79$ mg EC/g de MS respectivement par contre la teneur la plus faible a été obtenue dans l'extrait Méth.

Donc, on peut dire que l'extrait Déc obtenu par la méthode préconisée en médecine traditionnelle donne des quantités élevées de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins que l'extrait d'infusion (Inf) et que les teneurs en ces métabolites peut dépendre de plusieurs facteurs comme : la solubilité de ces composés dans les solvants, la méthode de dosage et la méthode d'extraction.

Tableau 5. Teneurs en composées phénoliques dans les quatre extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

	Chloroformique	Méthanolique	Infusé	Décocté
Polyphénols (a)	$318,37 \pm 2,52$	$348,61 \pm 7,55$	$335,27 \pm 16,35$	$341,49 \pm 2,52$
Flavonoïdes (b)	$444,32 \pm 0,82$	$178,93 \pm 1,10$	$70,27 \pm 0,14$	$83,84 \pm 0,96$
Tanins (c)	$1727,14 \pm 115,20$	$130,62 \pm 41,05$	$522,50 \pm 20,53$	$587,81 \pm 30,79$

(a) exprimée en mg EAG/g d'extrait ou MS

(b) exprimée en mg ER/g d'extrait ou MS

(c) exprimée en mg EC/g d'extrait ou MS

II. Activité antioxydante des extraits

II.1. Test du DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits de feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotomètre UV-visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515 nm.

Les résultats du standard (Acide ascorbique) (Figure 28) et des quatre extraits (Chloro, Méth, Inf, Déc) sont présentés dans les Figures (29, 30, 31, 32). Une augmentation du pourcentage d'inhibition de DPPH a été noté avec l'augmentation des concentrations des extraits, dont les extraits Déc, Inf et Méth présentent respectivement une activité anti-radicalaire très importante et presque similaires avec des pourcentages maximales de $87,28 \pm 1,30$; $83,96 \pm 0,81$; $82,28 \pm 7,27\%$ et des

concentrations de 18,95 ; 17,06 ; 105,35 mg/ml. Alors que l'extrait Chloro possède une faible activité avec $31,91 \pm 0,90\%$ et une concentration de 4,86 mg/ml.

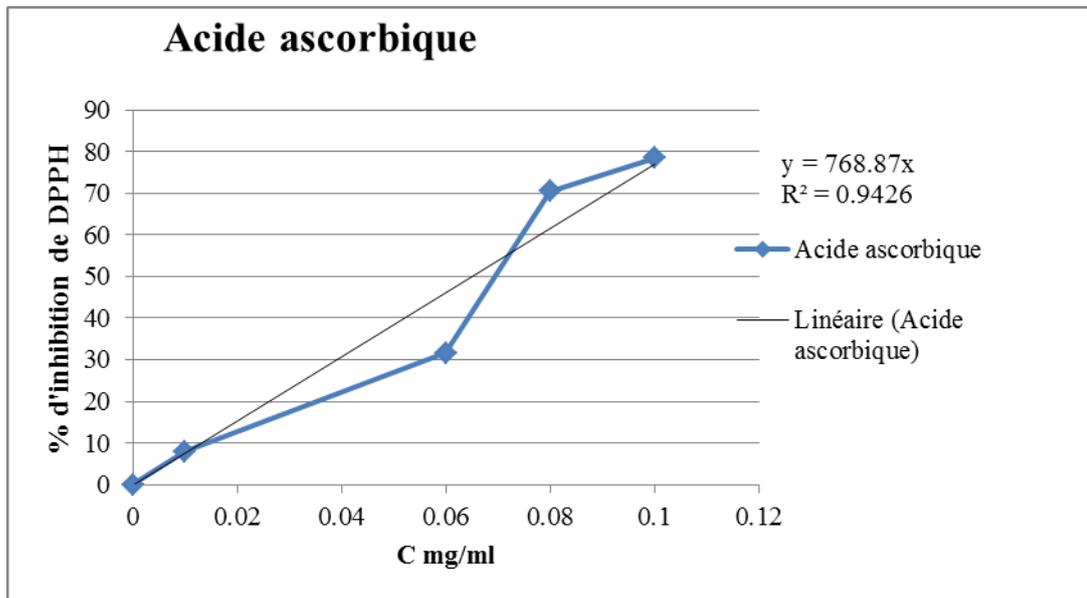


Figure 28. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'acide ascorbique.

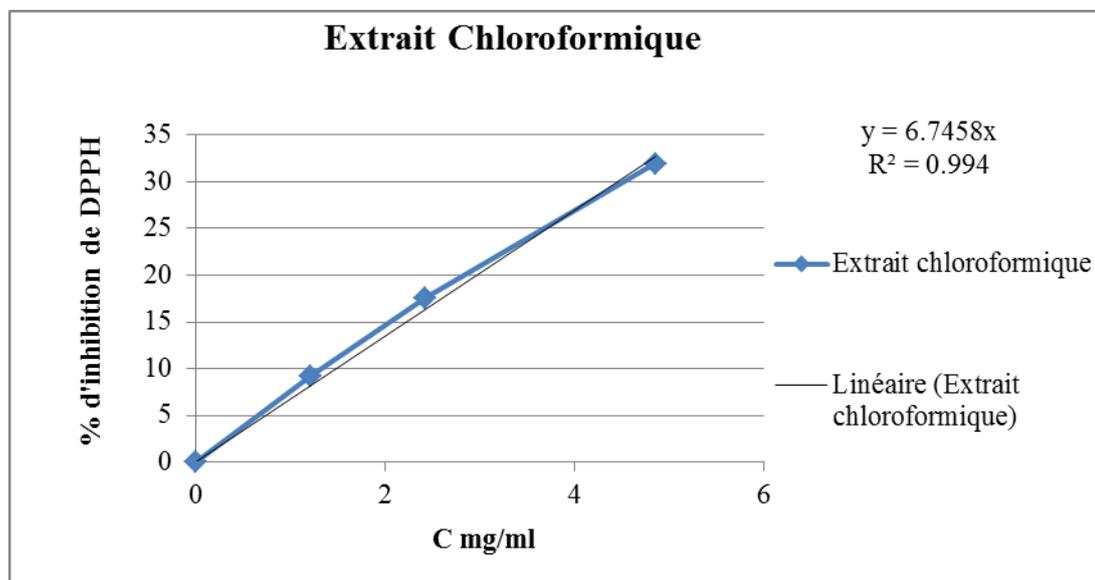


Figure 29. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Chloro.

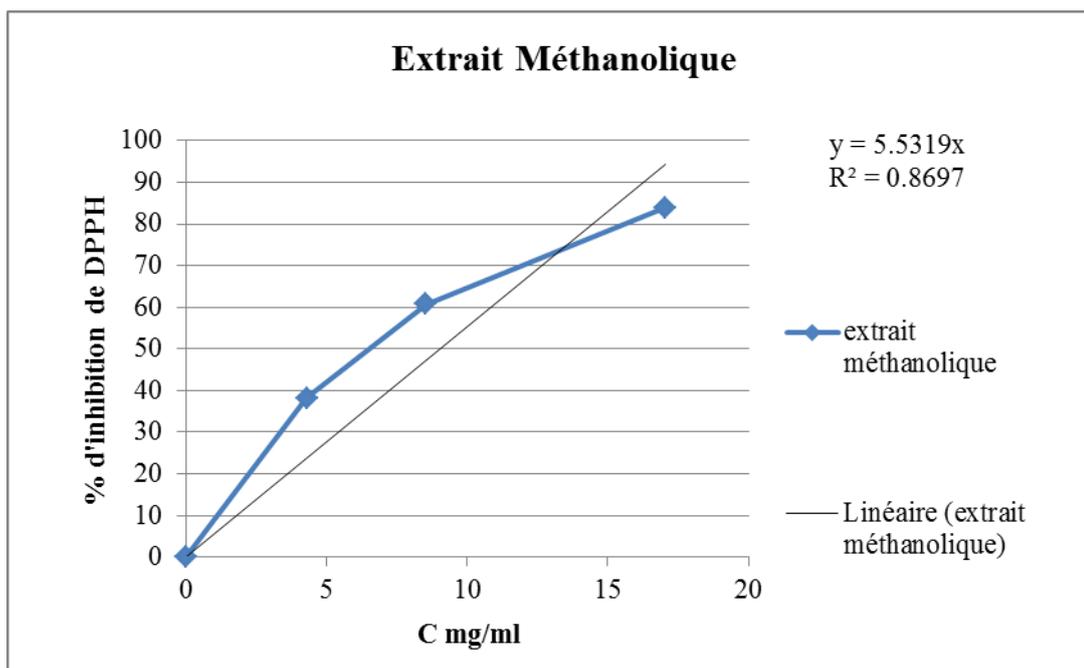


Figure 30. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Méth.

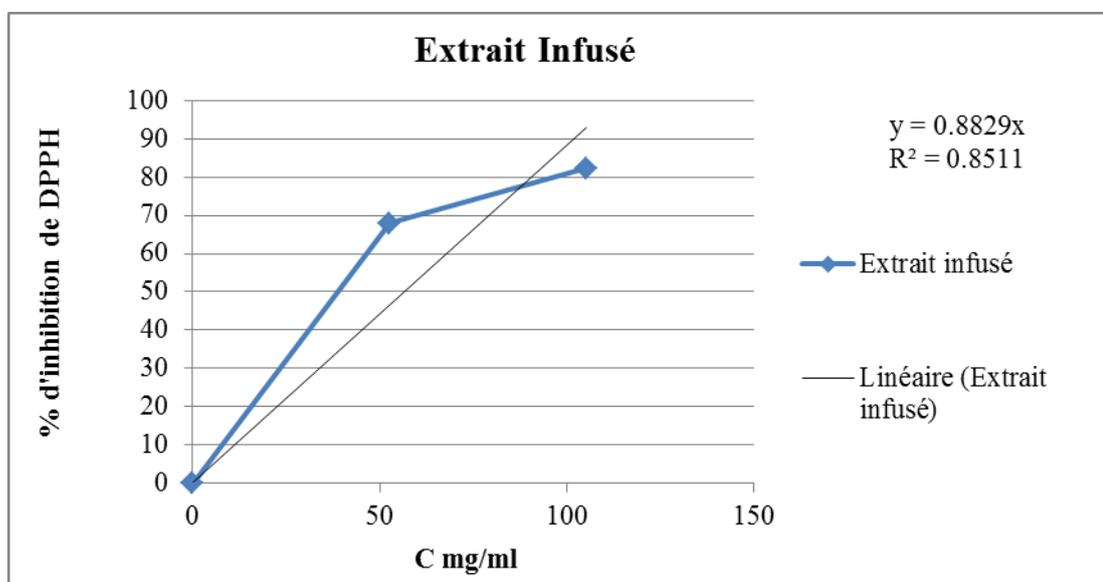


Figure 31. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Inf.

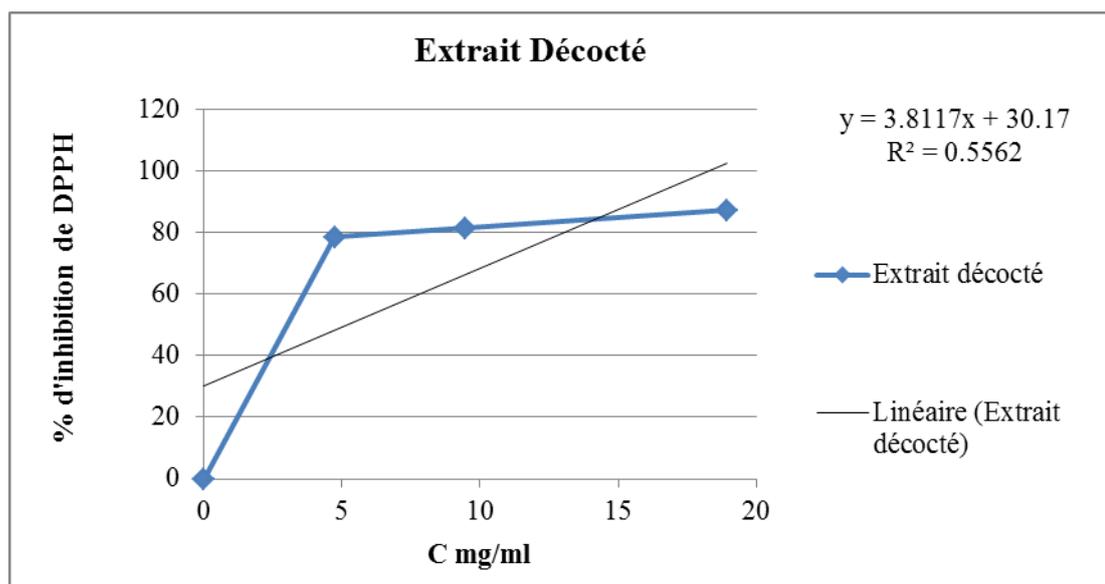


Figure 32. Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) de l'extrait Déc.

Les valeurs de l'IC₅₀ présentés dans le Tableau (6) et calculés à partir des courbes de tendance nous ont permis de distinguer : parmi les quatre extraits de notre plante, l'extrait Déc représente la meilleure activité inhibitrice avec une IC₅₀ de 5,2 mg/ml suivi par l'extrait Méth avec une IC₅₀ de 9,04 mg/ml, l'extrait Chloro avec une IC₅₀ de 7,41 mg/ml et l'extrait Inf avec IC₅₀ de 56,63 mg/ml. En comparaison avec l'IC₅₀ du standard (acide ascorbique) qui est de 0,07 mg/ml, les quatre extraits montrent une activité importante mais reste toujours faible par rapport à l'antioxydant le plus puissant qui est l'acide ascorbique.

Tableau 6. Valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) pour le test DPPH de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de *Moringa oleifera*.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
Chloroformique	7,41
Méthanolique	9,04
Infusé	56,63
Décocté	5,2
Acide ascorbique	0,07

II.2. Test de l'ABTS⁺

L'activité antioxydante des différents extraits de feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis du radical cation ABTS a été évaluée par spectrophotomètre UV-Visible, en suivant la réduction de ce radical qui est de couleur verte foncée et commence à devenir verte claire mesurable à 734 nm.

Les résultats *in vitro* (Figure 33) montrent qu'une activité antiradicalaire importante a été obtenue dont l'extrait Déc avec un pourcentage d'inhibition maximal de $74,19 \pm 1,45\%$ qui est supérieure au pourcentage d'inhibition de l'extrait Inf avec $56,23 \pm 1,97\%$, au pourcentage d'inhibition de l'extrait Méth avec $38,07 \pm 0,54\%$, et au pourcentage d'inhibition de l'extrait Chloro qui est de $29,47 \pm 0,59\%$. Ces pourcentages des extraits sont obtenus avec la concentration de 1mg/ml.

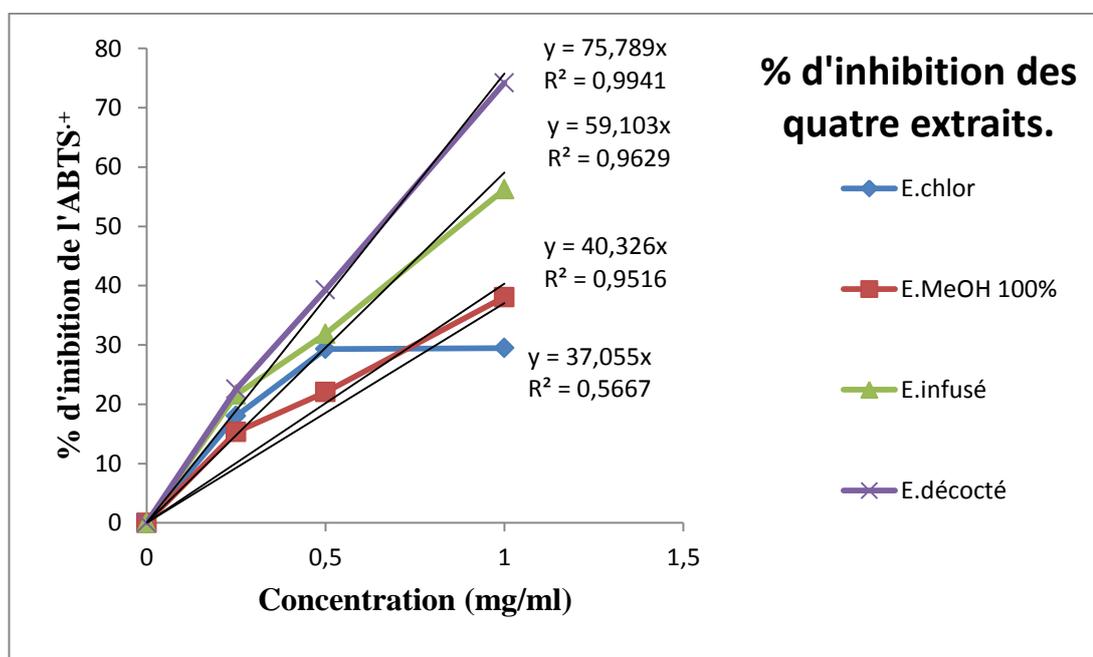


Figure 33. Variation du pourcentage d'inhibition de l'ABTS⁺ en fonction de la concentration des quatre extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Pour l'acide ascorbique, on a obtenu un pourcentage d'inhibition maximal de 57,56% avec la concentration de 0,08 mg/ml qui est inférieur au pourcentage d'inhibition d'extrait Déc et supérieur aux pourcentage d'inhibition des extraits Inf, Méth et Chloro (Figure 34).

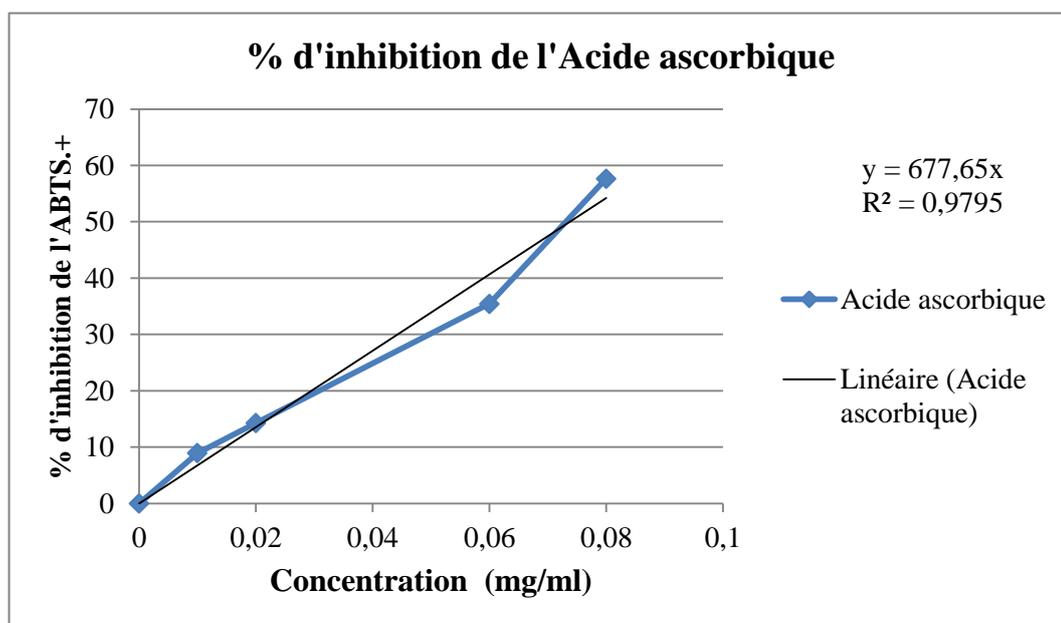


Figure 34. Variation du pourcentage d'inhibition de l'ABTS⁺ en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.

Les valeurs d'IC₅₀ définies dans le Tableau (7) expriment une activité antiradicalaire intéressante dont l'extrait Déc avec une concentration de valeur 0,66mg/ml par rapport aux extraits Inf, Méth et Chloro dont leurs IC₅₀ sont respectivement de 0,85 mg/ml, 1,24 mg/ml et 1,35 mg/ml.

En comparant l'IC₅₀ du standard (de l'acide ascorbique) qui est de 0,07 mg/ml avec nos quatre extraits, on peut dire que l'acide ascorbique reste toujours l'antioxydant le plus puissant du fait qu'il possède une activité antiradicalaire très élevée par rapport aux activités des quatre extraits malgré que ces derniers possèdent des activités antiradicalaires (des IC₅₀) très intéressantes surtout pour les extraits aqueux.

Tableau 7. Valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) pour le test ABTS de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de *Moringa oleifera*.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
Chloroformique	1,35
Méthanolique	1,24
Infusé	0,85
Décocté	0,66
Acide ascorbique	0,07

Les résultats du test de l'ABTS et du DPPH confirment les uns des autres avec des IC₅₀ des extraits Chloro et Méth supérieurs à celle des extraits aqueux (Inf et Déc) à l'exception de l'extrait

Inf qui a présenté une activité antiradicalaire faible avec une IC_{50} supérieur aux IC_{50} des autres extraits dans le test du DPPH. Ces résultats permettent de constater que les feuilles de notre plante présentent un pouvoir antioxydant très important, cela peut être expliqué par les teneurs élevées en polyphénols, flavonoïdes et en tanins condensés trouvées dans les quatre extraits.

III. Activité antibactérienne des extraits

Pour étudier *in vitro* l'activité antibactérienne de nos quatre extraits obtenus à partir des feuilles de *Moringa oleifera*, la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé a été utilisée.

Cette activité est estimée, après 24 heures d'incubation à une température de 37°C, par mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant les différentes concentrations des quatre extraits (Chloro, Méth, Inf, Déc) vis-à-vis des deux bactéries négatives testées (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats récapitulés dans le Tableau (8) ci-dessous montrent que les différentes concentrations des extraits ont des activités antimicrobiennes de degrés variables contre les deux bactéries testées. Une augmentation du diamètre de zones d'inhibition d'un extrait a été révélée avec l'augmentation de la concentration.

Pour la bactérie *E. coli*, les zones d'inhibitions les plus élevées ont été de 15 ; 9,5 ; 7 mm enregistrées dans l'extrait Déc (Figure 38) respectivement pour les concentrations 5 ; 0,5 ; 0,25 mg/ml. Les extraits Chloro et Méth (Figure 36) ont présentés des zones d'inhibition de diamètres moyens (de 6 à 11 mm pour l'extrait Chloro et de 7 à 8 mm pour l'extrait Méth) pour des concentrations variant de 0,25 à 5 mg/ml, alors que l'extrait Inf (Figure 37) n'a possédé aucune zone d'inhibition (aucune activité antibactérienne) pour les quatre concentrations de l'extrait.

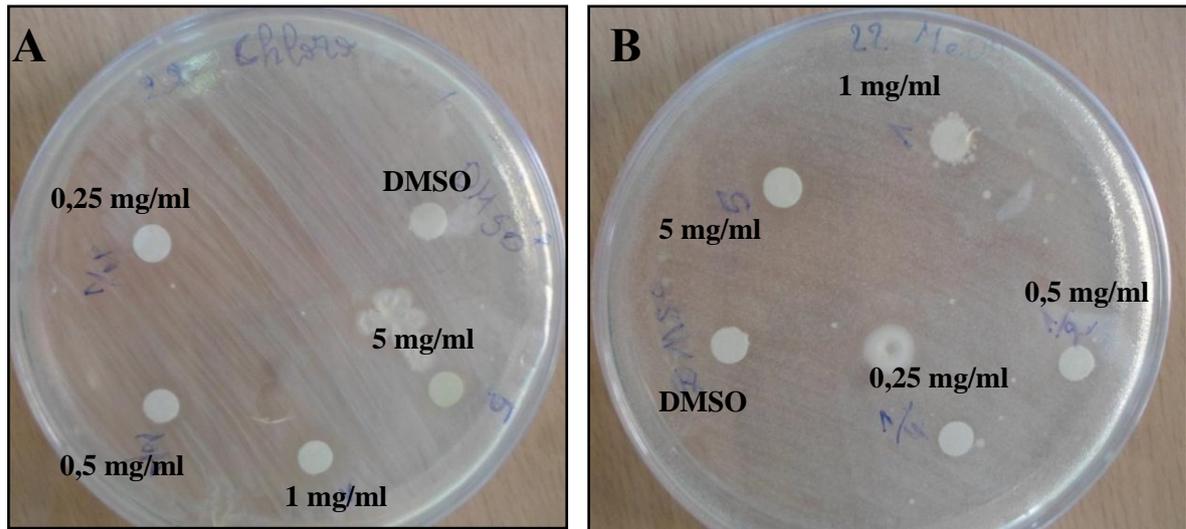


Figure 35. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Chloro (A) et Méth (B) sur *E. coli* (original).

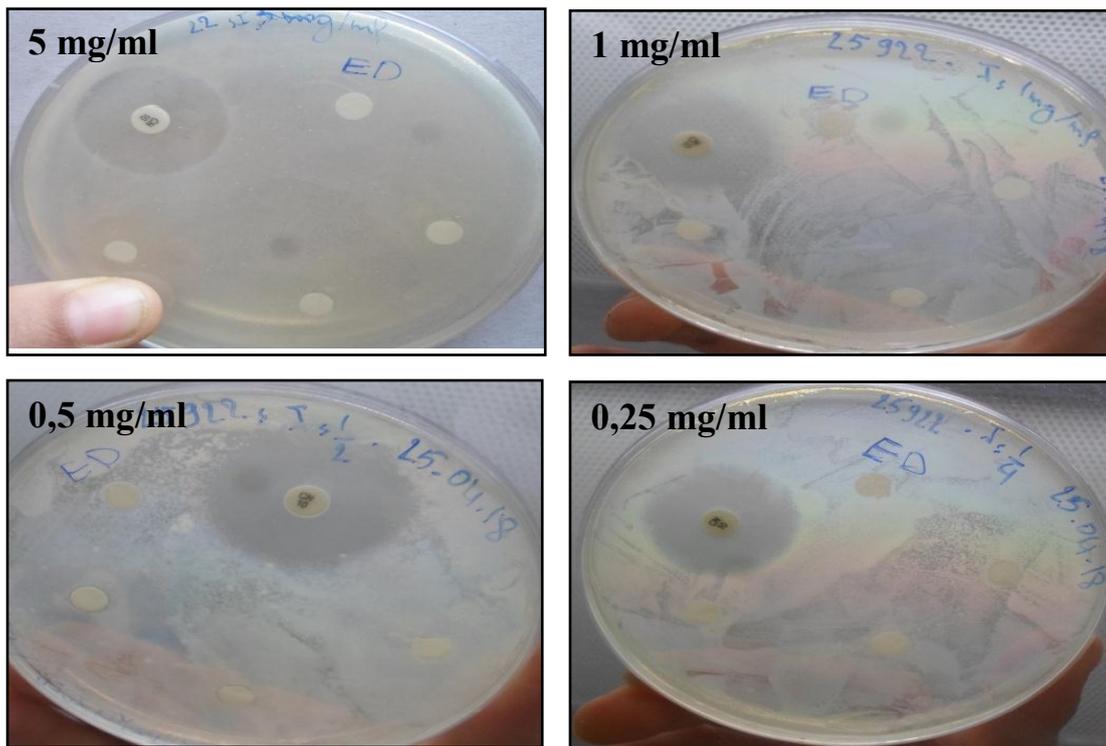


Figure 36. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Inf sur *E. coli* (original)

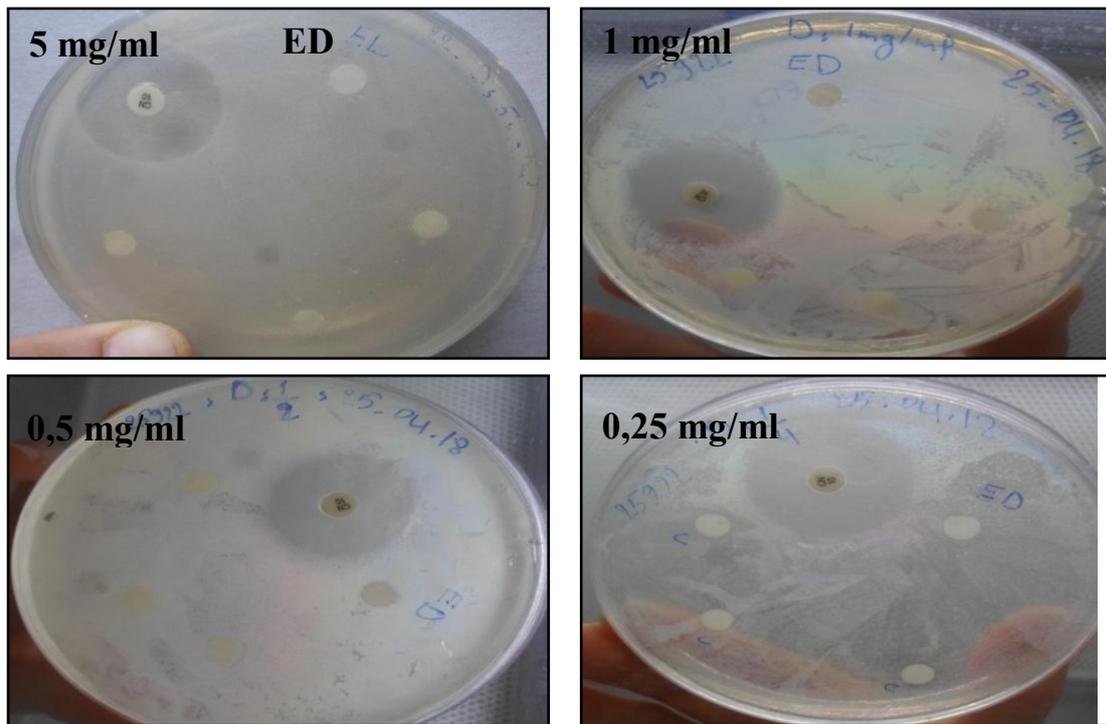


Figure 37. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Déc sur *E. coli* (original).

Concernant la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 39), nous remarquons que les extraits Méth et Chloro possèdent des zones d'inhibition presque similaires et les plus élevées par rapport aux deux autres extraits avec des diamètres allant de 6,5 ou 7 mm à 10mm respectivement pour les concentrations des extraits variant de 0,25 à 5 mg/ml. Pour l'extrait Inf, nous n'avons noté aucune inhibition pour les concentrations de 0,25 et 0,5 mg/ml alors que des diamètres d'inhibition de 6,5 mm et 7 mm ont été observé respectivement pour les concentrations de 1 et 5 mg/ml. Ces derniers diamètres ont été aussi notés dans l'extrait Déc pour les concentrations allant de 0,25 à 5 mg/ml.

Il faut noter que ces zones d'inhibition obtenues pour les différentes concentrations des quatre extraits contre les deux bactéries testées sont nettement faible en majorité par rapport au diamètre d'inhibition de l'antibiotique (Gentamicin, 10ug) mais il ne faut pas oublier que la concentration de ce dernier est plus élevée.

Donc, nous pouvons déduire que nos extraits possèdent une activité antibactérienne non négligeable voir importante pour les deux bactéries testées avec une sensibilité de *E. coli* plus prononcée que *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des quatre extraits. Cette activité antibactérienne trouvée dans nos extraits peut être due à la quantité importante en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins préalablement enregistrés.

Tableau 8: Diamètre des zones d'inhibition (mm) obtenus par les différentes concentrations des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera* contre les bactéries *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

La bactérie	Extrait	Concentration (mg/ml)				
		5	1	0,5	0,25	Gentamicin 10ug
<i>Escherichia coli</i>	Chloroformique	11mm	10mm	6,5mm	6mm	25,4 mm
	Méthanolique 100%	8mm	7mm	7mm	7mm	
	Infusé	0	0	0	0	
	Décocté	15mm	ND	9,5mm	7mm	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Chloroformique	10mm	7mm	7mm	7mm	21,125mm
	Méthanolique 100%	10mm	7mm	7mm	6,5mm	
	Infusé	7mm	6,5	0	0	
	Décocté	7mm	6,5mm	6,5mm	6,5mm	

PD: Non déterminé

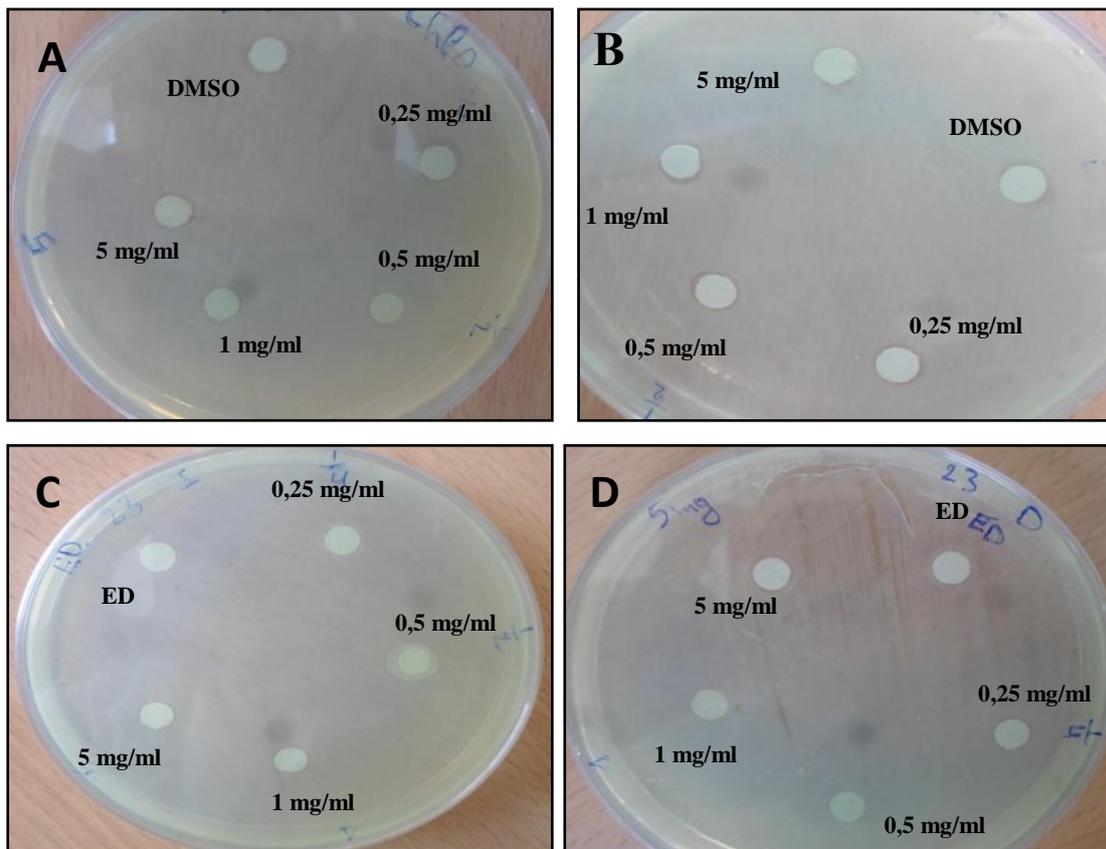


Figure 38. Photo représentative des zones d'inhibition (mm) des quatre extraits sur *Pseudomonas aeruginosa* (original).

A: Chloro ; B: Méth ; C: Inf ; D: Déc ; ED: eau distillée ; DMSO: Diméthylsulfoxyde.

Discussion

La comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature n'est pas facile en raison de l'influence de divers facteurs : l'origine géographique de l'échantillon et la procédure d'extraction et de dosage (Avallone *et al.*, 1997 ; Hristov *et al.*, 2013 ; Ladjemi et Ouhaddad, 2016).

Les tests préliminaires du criblage phyto-chimique ont permis la mise en évidence de quelques métabolites dans la partie feuilles de notre plante comme les polyphénols, les flavonoïdes (flavone), tanins, saponosides, terpénoïdes et composés réducteurs.

Shahriar *et al.* (2012) ; Roopalatha et Nair, (2013) ; Okumu *et al.* (2016) ; Sankhalbar et Vernekar (2016) ; Udosen *et al.* (2016) ont aussi rapporté la présence de ces mêmes composés chimiques au niveau des feuilles de *Moringa oleifera* ce qui rejoint parfaitement les résultats du criblage obtenu sur notre plante qui est *M. oleifera*.

L'effet des solvants sur le rendement d'extraction a été signalé dans de nombreuses études où on peut citer à titre d'exemple Hayouni *et al.* (2007) et Ben El Hadj Ali *et al.* (2014). Clara *et al.* (2010) et Khlifi *et al.* (2011) ont montré que la polarité du solvant a une grande importance, ainsi, la variation des rendements des divers extraits peuvent être attribués aux polarités des différents composés.

De ce fait, les extraits aqueux (Inf et Déc) ont donné les meilleurs rendements (respectivement 78,66 et 27,07%) que les extraits organiques (Chloro et Méth) avec 4,26 et 6,23% respectivement. Nous pouvons constater que le rendement augmente avec l'augmentation de polarité des solvants d'extraction et que l'eau a réalisé l'extraction d'une grande quantité de composé que les autres solvants.

Cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme de molécules dont une quantité importante de composés non phénoliques comme les glucides et les protéines (Bonnaillie *et al.*, 2012).

Le rendement obtenu dans notre extrait Inf a été révélé plus élevé que le rendement de l'extrait aqueux (macéré) de poudre (38,5%) obtenu par Khan *et al.* (2017), que le rendement de l'extraction par la perfusion de poudre dans l'eau chaude (8,5%) obtenu par Tsala *et al.* (2013) et aussi de l'extrait aqueux obtenu par la méthode de Soxhlet (11,78%) enregistré par Roopalatha et Nair (2013).

De plus, le rendement enregistré dans l'extrait Déc est aussi plus important que les rendements obtenus dans le perfusé (8,5%) (Tsala *et al.*, 2013) et par Soxhlet (11,78%) (Roopalatha et Nair, 2013), mais inférieur au rendement obtenu par macération de feuilles de *M. oleifera* (38,5%) rapportés par Khan *et al.* (2017).

L'extrait de feuilles obtenu par la méthode de Soxhlet en utilisant le chloroforme comme solvant a donné un rendement de 3,43% (Roopalatha et Nair, 2013) qui est légèrement inférieur au rendement de notre extrait Chloro (4,26%). Par contre le rendement de notre extrait Méth est inférieur que celui de l'extrait méthanolique obtenu par la méthode de Soxhlet (20%) enregistré chez Roopalatha et Nair (2013).

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode du Folin-Ciocalteu. Ce réactif n'est pas spécifique des polyphénols. Il est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais aussi de certains molécules comme les sucres et les protéines. L'analyse quantitative par ce réactif donne donc une évaluation brute et approximative de toutes les composées phénoliques d'un extrait (Beddou, 2015).

Le dosage nos extraits a montré que les extraits de feuilles de notre plante (*M. oleifera*) contiennent des quantités importantes de polyphénols ($348,61 \pm 7,55$; $341,49 \pm 2,52$; $335,27 \pm 16,35$; $318,37 \pm 2,52$ mg EAG/g respectivement dans l'extrait Méth, Déc, Inf et Chloro).

Ces teneurs sont très élevées en comparaison avec les résultats enregistrés par Pari *et al.* (2007) dans l'extrait méthanolique (100%) de feuilles de *M. oleifera* avec 118 mg /g et ceux enregistrés par Sankhalkar et Vernekar. (2016) dans le même type d'extrait avec 2,18 mg/ml. Ben Hamouche et Mohammedi (2016), en utilisant le méthanol 80% ont obtenus une teneur de 26,55 mg EAG/g dans les feuilles de *M. oleifera* alors que Okumu *et al.* (2016) ont obtenus une teneur de 52,04 mg EAG.g-1 dans les extraits de feuilles de *M. oleifera* séchées à l'air libre et cultivées au Kenya. Par contre les teneurs enregistrées dans les feuilles de *M. oleifera* des zones urbaines (0,6 mg/g) et des zones côtières (0,4 mg/ g) utilisant ce même dernier solvant (méthanolique 80%) (Babychan *et al.*, 2017) ont été nettement inférieurs à ceux enregistrées dans nos extraits.

Les teneurs de nos extraits aqueux sont aussi supérieurs aux résultats des extraits aqueux obtenus par Okumu *et al.* (2016) avec une teneur de 35,42 mg EAG/g MS et par Amrouche et Yaya (2017) avec des teneurs de 26,76 et 28,02 mg EAG/g MS respectivement dans deux poudres de feuilles de *M. oleifera* récoltées au Sud de l'Algérie et séchées dans deux endroits différents. Elles sont aussi supérieures à ceux de Tsala *et al.* (2013) avec 0,06 mg EAG / g MS dans l'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera*. Par ailleurs, nos résultats s'accordent bien avec la teneur enregistrée dans

l'extrait aqueux obtenu par macération des feuilles de *M. oleifera* où une dose de 31,62 g EAG/100g a été noté (Khan *et al.*, 2017).

Les résultats obtenus montrent que les quatre extraits contiennent des teneurs en flavonoïdes de $444,32 \pm 0,82$; $178,93 \pm 1,10$; $83,84 \pm 0,96$; $70,27 \pm 0,14$ mg ER/g respectivement dans l'extrait Chloro, Méth, Déc et Inf. Ces teneurs sont très importantes en comparaison avec le résultat obtenu avec l'extrait méthanolique (80%) de poudre de feuilles de *M. oleifera* où une teneur de 1,63 mg EQ/g d'échantillon a été enregistrée (Mouhoubi et Bachioua, 2017). Elles sont également supérieures aux résultats des extraits aqueux obtenus par Ladjemi et Ouhaddad (2016) dans du mucilage brut de la poudre de feuilles de *M. oleifera* avec une teneur de 1,56 mg EQ/g échantillon et par Amrouche et Yaya (2017) avec des teneurs de 0,24 et 0,22 mg EQ/g MS enregistrées dans les extraits méthanolique (80%) de poudre de feuilles de *M. oleifera* séchées à deux endroits différents.

Par ailleurs, nos résultats s'accordent bien avec la teneur totale en flavonoïdes enregistrée dans l'extrait méthanolique à 80% (366,09 mg EC/g) et l'extrait aqueux (79,13 mg EC/g) dans les feuilles de *M. oleifera* (Lam) (Okumu *et al.*, 2016). Alors, ils sont supérieurs à la teneur de l'extrait méthanolique à 80% des feuilles de *M. oleifera* où une teneur de 1,3 mg/g a été obtenu dans le *Moringa* de la zone urbaine et de 1,1 mg/g a été obtenu dans le *Moringa* de la zone côtière (Babychan *et al.*, 2017).

Donc, nos résultats montrent que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait Chloro est supérieure à celle de l'extrait Méth. Ces extraits possèdent des teneurs plus élevées par rapport aux extraits Déc et Inf, ce qui traduit que les feuilles de *Moringa oleifera* possèdent des teneurs en flavonoïdes libres plus solubles dans les solvants apolaires et des flavonoïdes glycosylés (hétérosides) qui sont plus solubles dans les solvants polaires.

Les résultats obtenus montrent que nos extraits contiennent des teneurs en tanins condensés en une quantité importante ($1727,14 \pm 115,20$; $587,81 \pm 30,79$; $522,50 \pm 20,53$; $130,62 \pm 41,05$ mg EC/g respectivement dans les extraits Chloro, Inf, Déc et Méth). Ces teneurs (spécialement les extraits aqueux) sont très élevées en comparaison avec les résultats des extraits méthanoliques (80%) obtenus par Mouhoubi et Bachioua (2017) dans des poudres de feuilles de *M. oleifera* séchés à deux endroits différents avec des teneurs de 1,18 mg EC/g Ech et 1,02 mg EC/g Ech). Elles sont également supérieures aux résultats des extraits aqueux aussi de la poudre de feuilles séchées de *M. oleifera* où une teneur de 0,48 mg EC/g MS a été obtenue (Amrouche et Yaya, 2017). Alors qu'elles sont toujours supérieurs à la teneur des extraits méthanoliques (80%) de feuilles de *M.*

oleifera de la zone urbaine (avec une teneur de 0,02 mg/g) et de la zone côtière (avec une teneur de 0,01 mg/g) (Babychan *et al.*, 2017).

Les extraits Déc et Inf et Méth et Chloro présentent une activité antiradicalaire contre le DPPH avec des pourcentages maximales obtenus de $87,28 \pm 1,30$; $83,96 \pm 0,81$; $82,28 \pm 7,27$; $31,91 \pm 0,90\%$ et des IC_{50} de 5,2 ; 56,63 ; 9,04 ; 7,41 mg/ml respectivement.

Des études récentes ont montré que l'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* présente une activité antioxydante contre le DPPH de 79,9% (Ben Hamouche et Mohammedi, 2016), de 55,1% à une concentration de 100 mg/ ml d'extrait aqueux (macération) de feuilles séchées de *M. oleifera* (Khan *et al.*, 2017) et de 81% de poudre de feuilles de *M. oleifera* extraite dans de l'eau distillée en utilisant un bain d'eau sous agitation (Fombang et Saa, 2016). Ces résultats trouvés sont presque similaires au pourcentage obtenu avec notre extrait Déc. Par contre les pourcentages obtenus par Fitriana *et al.*, (2016) montrent que les extraits méthanoliques et dichlorométhanoliques de feuilles de *M. oleifera* présentent un pouvoir antiradicalaire importante que notre extrait avec des pourcentages d'inhibition de 90,59 ; 17,67% et des IC_{50} de 49,30 ; 1035,57 μ g/ml respectivement.

Les résultats du test d'ABTS montrent que les extraits Chloro, Méth, Inf et Déc possèdent une activité antioxydante importante avec des IC_{50} de 1,35 ; 1,24 ; 0,85 et 0,66 mg/ml respectivement. Une IC_{50} similaire à notre extrait Méth a été obtenue par Charoensin (2014) où une valeur de 1,02 mg/ml a été enregistrée dans l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera*. Alors qu'une valeur nettement inférieur (11,73 μ g/ml) a été enregistrée dans l'extrait méthanolique de feuilles de cette même dernière plante (Fitriana *et al.*, 2016).

Selon Leone *et al.* (2015), les feuilles de *M. oleifera* présentaient une capacité antioxydante totale élevée, par conséquent à une teneur élevée en polyphénols totaux. Donc, une grande activité antioxydante se trouve dans des composés tels que les flavonoïdes, les phénols, les tanins, les saponines, les alcaloïdes, les terpénoïdes, qui induisent la restriction du stress oxydatif en piégeant les radicaux libres par produire des électrons (Babychan *et al.*, 2017). De cela, nous constatons que le potentiel important de l'activité antiradicalaire obtenu est peut-être dû aux teneurs élevées en composés phénoliques enregistrées dans nos extraits.

Le solvant d'extraction joue aussi un rôle important dans l'extraction des composés antioxydants. Selon Okumu *et al.* (2016), le système de solvant aqueux-méthanol a un meilleur potentiel d'extraction des composants antioxydants.

Pour la bactérie *E. coli*, les zones d'inhibitions les plus élevées (15 ; 9,5 ; 7 mm) ont été mesurées dans l'extrait Déc. L'extrait Chloro et Méth présentent des zones de diamètre entre 6 mm et 11 mm, alors que l'extrait Inf ne possède aucune zone d'inhibition pour les quatre concentrations utilisées (0,25 ; 0,5 ; 1 ; 5 mg/ml). Ces données s'accordent avec les travaux sur les extraits aqueux (infusé et macéré) de feuilles de *M. oleifera* où un effet contre *E. coli* a été enregistré avec une zone d'inhibition de 11mm (Pawaskar et Sasangan, 2017). Avec ces mêmes conditions d'étude, Udosen *et al.* (2016) n'ont obtenu qu'une zone de 3 mm alors que Vinoth *et al.* (2012) n'ont aucun effet inhibiteur sur *E. coli*.

L'effet inhibiteur de l'extrait Chloro de notre plante sur *E. coli* a aussi été observé par Devendra *et al.* (2012) et Bukar *et al.* (2011) où l'extrait chloroformique de feuilles de *M. oleifera* a donné un diamètre d'inhibition d'environ 8 mm. Alors que l'extrait méthanolique de Pawaskar et Sasangan (2017) a donné une zone d'inhibition de 12 mm ce qui n'est pas le cas pour notre extrait contre *E. coli*.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits Chloro et Méth contre l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* montrent que ces extraits possèdent une activité antibactérienne avec des zones d'inhibition élevées par rapport aux extraits aqueux (Déc et Inf). Ces derniers présentent des zones d'inhibition similaires de diamètre 7 et 6,5 mm pour les concentrations de 5 et 1mg/ml et différentes dans les concentrations 0,5 et 0,25 mg/ml (6,5 mm pour l'extrait Déc et 0 mm pour l'Inf). L'absence d'effet de notre extrait Inf contre *P. aeruginosa* aux concentrations de 0,5 et 0,25mg/ml a aussi été rapportée par Vinoth *et al.* (2012) dont l'activité antibactérienne a été aussi réalisée avec un extrait aqueux des feuilles séchées de *M. oleifera*. Alors que Pawaskar et Sasangan (2017) ont rapporté la présence d'une zone d'inhibition de 11 mm pour l'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* contre *P. aeruginosa*, qui est supérieur que celle trouvée avec nos extraits aqueux (Déc et Inf). En outre, selon Mashiar *et al.* (2009), l'extrait d'eau froide de feuilles fraîches de *M. oleifera* a montré un effet antibactérien relativement meilleur contre *P. aeruginosa* et *Pseudomonas spp* avec des zones d'inhibition enregistrées de 15 et 27,5 mm respectivement, et qui sont aussi supérieurs aux zones de nos extraits aqueux.

Un diamètre de la zone d'inhibition de 6,67 mm a été obtenu par Singh et Tafida (2013) avec un extrait méthanolique à une concentration de 30 mg/ml contre *P. aeruginosa*, alors ce même diamètre a été obtenu par notre extrait Méth à des concentrations seulement de 0,25 à 1mg/ml. Tandis que, l'extrait méthanolique de poudre de feuilles séchées de *M. oleifera*, a donné un diamètre de 12mm par Pawaskar et Sasangan (2017).

Ces même derniers auteurs et Devendra *et al.* (2011) et par la méthode de diffusion de puits d'agar ont rapportés une zone d'inhibition de 10 mm de l'extrait chloroformique de poudre de feuilles de *M. oleifera*, ce qui s'accorde bien au diamètre de la zone de notre extrait une concentration de 5mg/ml. Par contre, l'activité antibactérienne de ce même type d'extrait n'a montré aucun effet inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* (Vinoth *et al.*, 2012).

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est due aux différents composés chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles, les flavonoïdes et ainsi que d'autres composés de nature phénolique, qui sont considérées comme des composés antibiotiques très actifs. La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés trouvées dans cet extrait (Yakhlef, 2010).

Pour cela, l'activité antimicrobienne entre les extraits se diffère par conséquent à la différence dans les composés chimiques comme les polyphénols et tanins, flavonoïdes trouvant avec des teneurs différents entre les extraits.

De même, une tendance a été montrée indiquant que les extraits les plus riches en flavonoïdes présentent des activités antibactériennes les plus élevées (Beddou, 2015). A cet effet, nous avons trouvé qu'une activité antibactérienne considérable a été enregistrée dans les extraits Chloro et Méth (les plus riches en flavonoïdes) par rapport aux extraits aqueux (Inf et Déc).

	<h1>Conclusion</h1>

Conclusion

Le *Moringa oleifera* est une plante consommée dans la plupart des régions du monde pour ses nombreux bienfaits (médicinaux, nutritionnels...). Les feuilles de cette plante possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antidiabétiques, antihypertensives et antioxydantes (Idris et Adamu, 2018). C'est ainsi que l'objectif de notre travail a visé de tester l'activité antioxydante et antibactérienne des différents types d'extraits de feuilles de *M. oleifera*.

A cet effet, et dans la perspective d'approfondir les études sur le *Moringa*, notre travail a porté sur la réalisation des tests préliminaires pour analyser de façon qualitative les quatre types d'extraits de feuilles de *Moringa oleifera* obtenus à fin de faire un screening phytochimique suivie par un dosage des composés phénoliques majoritaire dans les quatre extraits obtenus et terminons par une étude des activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) de ces même extraits.

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence, par le screening phytochimique, la présence d'un nombre important de métabolites dans les quatre types d'extraits de feuilles de *M. oleifera* à savoir les terpénoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides et les composés réducteurs avec une fréquence ou abondance qui diffère d'un type d'extrait à un autre. La présence des composés phénoliques (Polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés), terpénoïdes, saponosides et composés réducteurs des différents extraits de feuilles de notre plante.

Les résultats de la détermination du rendement des extraits montrent que les extraits aqueux (Inf et Déc) sont nettement plus rentables par rapport aux deux autres types d'extraits de feuilles de *M. oleifera*. Un rendement de 78,66% et 27,07% a été obtenu respectivement par les extraits Inf et Déc, alors que les extraits obtenus par utilisation des solvants organiques (Chloro et Méth) n'ont donnés qu'un rendement de 4,26% et 6,23% respectivement.

L'analyse quantitative par dosage des composés phénoliques des quatre extraits a révélé que la teneur en polyphénols totaux est en quantité importante dans les extraits avec des teneurs presque similaires pour les quatre extraits alors la teneur en flavonoïdes varie en fonction des extraits, elle est élevée dans les extraits organiques avec des teneurs de $444,32 \pm 0,82$ et $178,93 \pm 1,10$ mg ER/g de MS respectivement pour les extraits Chloro et Méth par rapport aux extraits. La teneur en tanins condensés dans les extraits est très élevée pour les quatre extraits où l'extrait Chloro contient la teneur la plus élevée de $1727,14 \pm 115,20$ mg EC/g de MS.

Les tests de l'évaluation de l'activité antioxydant DPPH et ABTS ont montré que les feuilles de *Moringa oleifera* possèdent une activité antioxydante importante surtout pour les extraits aqueux et plus précisément dans l'extrait Déc obtenu par la méthode préconisée dans la médecine traditionnelle avec une IC_{50} très importante de 0,66 mg/ml obtenue par le test de l'ABTS.

L'activité antibactérienne des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera* contre la bactérie *Pseudomona aeruginosa* montre des effets non négligeable des quatre extraits avec un effet important des extraits Chloro et Méth à une concentration de 5 mg/ml. Par contre l'effet antibactérien des quatre extraits contre *E. coli* révèle que la majorité des extraits de feuilles de *M. oleifera* donnent une activité contre cette bactérie où l'extrait Déc donne une activité très considérable à 5 mg/ml de concentration par rapport autres.

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait judicieux de :

- Identifier, quantifier et caractériser les constituants non phénoliques solubilisés par les solvants d'extraction.
- Optimiser les méthodes et les solvants d'extraction utilisés à fin d'obtenir des quantités importantes des composés phénoliques.
- Optimiser les conditions de séchage des feuilles et des extraits à fin de maximiser les teneurs en métabolites
- Evaluer l'activité antibactérienne des extraits de feuilles obtenus sur des bactéries à Gram positif tel que les *Staphylococcus* et les *Bacillus*.
- Réaliser une étude ethnobotanique par des enquêtes sur la méthode d'utilisation et de consommation de la plante *Moringa oleifera* dans la Wilaya Ghardaïa.
- Essayer d'incorporer les feuilles fraîches ou la poudre de feuilles de *Moringa* dans le régime alimentaire et les préparations culinaires de la population dans la région de Ghardaïa.

	<p>Les références bibliographiques</p>

Les références bibliographiques:

- 1- **Achat, S.**, 2014. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia, Algérie. p. 17, 22.
- 2- **AGROCONSULT HAITI S A.**, 2016. Analyse des Potentialités de l'Exploitation du *Moringa* en Haïti. Rapport. Banque de la république d'Haiti. p. 20.
- 3- **Akowuah, G., Zhari, I., Norhayati, I., Sadikun, A.**, 2005. Radical Scavenging Activity of Methanol Leaf Extracts of *Orthosiphon stamineus*. *Pharmaceutical Biology*. Volume 42(8). p.p.: 629-635.
- 4- **Alilou, H., Bencharki, B., Hassani, L. M. I., Barka, N.**, 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolenssubsp odorus*. *Afrique Science*. Volume 10(3). p.p.: 316 – 328.
- 5- **Amrouche, A., Yaya, K.**, 2017. Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait aqueux de feuilles de *Moringa oleifera*. Mémoire de Master. Université A. MIRA de Bejaia, Algérie. p. 49.
- 6- **Atakpama, W., Kponor, E. G. E., Kanda, M., Dourma, M., Nare, M., Batawila, K., Akpagana, K.**, 2014. *Moringa oleifera* Lamarck (*Moringaceae*): Une ressource phytogénétique à usage multiple. *CAMES*. Volume 2. p.p.: 6-14.
- 7- **Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., Monzani, A.**, 1997. Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of Food Composition and Analysis*. Volume 10(2). p.p.: 166-172.
- 8- **Babychan, N., Reshma, J. K., Mole, L. S., Prabhachandh, S.**, 2017. Analysis of antioxidant properties of *Moringa oleifera* Lam. in urban and coastal area. *International Journal of Applied Research*. Volume 3(6). p.p.: 1098-1101.
- 9- **Beddou, F.**, 2015. Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillae radiate* Coss. Dur. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie. p. 143.
- 10- **Ben el Hadj Ali, I., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M., Harzallah-Skhiri, F.**, 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs. *Industrial Crops and Products*. Volume 62. p.p.: 188-195.
- 11- **Ben Hamouche, J., Mohammedi, A.**, 2016. Effets de l'extrait *Moringa oleifera* sur l'activité de deux enzymes: α -amylase et cellulase. Mémoire de Master. Université A. MIRA Bejaia. p. 47.

- 12- Bendif, H.,** 2017. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de doctorat. L'école normale supérieure de Kouba-Alger, Algérie. p. 4, 67.
- 13- Bentabet-Lasgaa, N.,** 2015. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *fredolia aretioides* et *Echium vulgare* de l'ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Université Aboubeker Belkaïd Tlemcen. Tlemcen, Algérie. p. 22.
- 14- Benzahi, K.,** 2001. Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon Dactylon*-L « Chiendent ». Mémoire de Magister. Université d'Ouargla, Ouargla, Algérie. p. 16
- 15- Bharali, R., Tabassum, J., Azad, M. R. H.,** 2003. Chemomodulatory effect of *Moringa oleifera* Lam. On hepatic carcinogen metabolizing enzymes, antioxidant parameters and skin papillomagenesis in mice. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. Volume 4(2). p.p.: 131-140.
- 16- Boizot, N., Charpontier, J. P.,** 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*. p. 79-82.
- 17- Bonnaille, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I.,** 2012. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue de génie industriel. Volume 7. p.p.: 35-45.
- 18- Bossokpi, P. L.,** 2002. Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de Doctorat, Bamako. p. 12.
- 19- Bourguou, S., Serairi Beji, R., Medini, F., Ksouri, R.,** 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology. Volume 28(12). p.p.: 1649-1655.
- 20- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C.,** 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology. Volume 28. p.p.: 25-30.
- 21- Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2^e Ed. Lavoisier, Paris. p. 915.
- 22- Bruneton, J,** 2009. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4^e Ed. Editions TEC et DOC (Lavoisier) Paris et Editions médicinales internationales. p. 274.
- 23- Budda, S., Butryee, C., Tuntipopipat, S., Rungsipipat, A., Wangnaitum, S., Lee, J. S., Kupradinun, P.,** 2011. Suppressive effects of *Moringa oleifera* Lam pod against mouse colon carcinogenesis induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. Volume 12. p.p.: 3221-3228.

- 24- Bukar, A., Uba, A., Oyeyi, T.I.,** 2010. Antimicrobial profile of *Moringa oleifera* Lam. Extracts against some food – borne microorganisms. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. Volume 3(1). p.p.: 43 – 48.
- 25- Caceres, A., Cabrera, O., Morales, O., Mollinedo, P., Mendia, P.,** 1991. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*: Preliminary screening for antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology. Volume 33(3). p.p.: 213-216.
- 26- Charoensin, S.,** 2014. Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. Journal of Medicinal Plant Research. Volume 8(7). p.p.: 318-325.
- 27- Chelghoum, N.,** 2016. Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait de fleurs de *Moringa oleifera*. Mémoire de Master. Université A. MIRA de Bejaia. Bejaia, Algérie. p. 37.
- 28- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N. P., Phivthong-Ngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Klai-Upsorn, S. P.,** 2007. The *in vitro* and *ex-vivo* antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. Journal of Ethnopharmacology. Volume 116(3). p.p.: 439-446.
- 29- Clara, G., Ana Cristina, F., Jesus B., Ana, M. M., Jose, S. U., Jose, G. B., Jose A. C., Antonio, M. F. P.,** 2010. Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles: Comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation. Journal of separation science. Volume 33. p.p.: 2211-2218.
- 30- Cowan, M.,** 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology Reviews. Volume 12(4). p.p.: 564–582.
- 31- Dacosta, E.,** 2003. Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. p. 317.
- 32- Daniel, M.,** 2006. Medicinal plants chemistry and properties. Edition Taylor and Francis Group. p. 140.
- 33- Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, T., Zair, M., Ibijbijen. J., Nassiri, L.,** 2015. Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. Journal of Applied Biosciences. Volume 87. p.p.: 8094– 8104.
- 34- Deshpande, S. S., Cheryan, M., Salunkhe, D. K.,** 1986. Tannin analysis of food products. Critical Reviews in Food Science & Nutrition. Volume 24(4). p.p.: 401-449.
- 35- Devendra, B. N., Srinivas, N., Prasad, T. V. S. S. L., Swarna, L. P.,** 2011. Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam., leaf extract, against selected bacterial and fungal strains. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Volume 2(3). p.p.: 13-18.

- 36- Djerroumi, A., Nacef, M.,** 2012. 100 plantes médicinales d'Algérie. l'imprimerie Houma-34, lotissement la Bruyère Bouzaréah-Alger. Algérie. p. 159.
- 37- Edoga, C. O., Njoku, O., Amadi, E. N., Okeke, J. J.,** 2013. Blood sugar lowering effect of *Moringa oleifera* Lam. in Albino Rats. International Journal of Science and Technology. Volume 3. p.p.: 88-90.
- 38- Fahey, J. W.,** 2005. *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. Phytochemistry. Volume 47. p.p.: 123-157.
- 39- Fitriana, W. D., Ersam, T., Shimizu, K., Fatmawati, S.,** 2016. Antioxidant activity of *Moringa oleifera* extracts. Indones. J. Chem. Volume 16 (3). p.p.: 297-301.
- 40- Foidl, N., Makkar, H., Becker, K.,** 2001. Potentiel de développement des produits du *Moringa* In Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Dar es Salaam, Tanzanie. 29 octobre - 2 novembre.
- 41- Fombang, E. N., Saa, W. R.,** 2016. Production of a Functional Tea from *Moringa oleifera* Lam leaf powder: Optimization of phenolic extraction using response surface methodology. J Nutr Food Sci. Volume 6(6). p.p.: 1-7.
- 42- Fuglie, L. J.,** 1999. The miracle tree: *Moringa oleifera*: Natural nutrition for the tropics. Church World Service, Dakar. 68 pp.; revised in 2001 and Published as The Miracle Tree: The Multiple Attributes of *Moringa*, 172.
- 43- Fuglie, L. J.,** 2001. Development potential for *Moringa* products In Combating Malnutrition with *Moringa*. Dar es Salaam, Tanzania. October 29th - November 2nd.
- 44- Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap, M. P., Tulliez, J., Chap, H., Payrastre, B.,** 1999. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI3-kinase. General Pharmacology. Volume 32. p. p.: 279-286.
- 45- Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Oueld-Mokhtar, S. M., Fercha, N., Bousselfela, H.,** 2014. Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. Algerian Journal of Natural Products. Volume (2)2. p.p.: 64-74.
- 46- Giridhari, A.V., Malathi, D., Geetha, K.,** 2011. Antidiabetic property of drumstick (*Moringa oleifera*) leaf tablets. International Journal of Health and Nutrition. Volume 2(1). p.p.: 1-5.
- 47- Hans, W. K.,** 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p. 6-7.
- 48- Harikrishna, D., Appa Rao, A. V. N., Prabhakar, M. C.,** 2004. Pharmacological investigation of prunigen-6''-O-P coumarates: A flavonoid glycoside. Indian J. pharmacol. Volume 36(4). p.p.: 244 – 250.

- 49- Havsteen, B. H.**, 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeut. p. 96, 67– 202.
- 50- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M.**, 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry. Volume 105(3). p.p:1126 -1134.
- 51- Hopkins, W. G.**, 2003. Physiologie végétale. Traduction de la 2^e américaine par serge Rambour Ed. Edition Dd Boek Université. Bruxelles. p. 268, 276.
- 52- Houndji, B. V. S., Bodjrenou, S., Londji, S., Ouetchehou, R., Acakpo, A., Amouzou, K.**, 2013. Amélioration de l'état nutritionnel des enfants âgés de 6 à 30 mois à Lissèzoun (Centre-Bénin) par la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (Lam.). International Journal of Biological and Chemical Sciences. Volume 7(1). p.p.: 225-235.
- 53- Hristov, A., Oh, J., Firkins, J., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Makkar, H., Adesogan, A., Yang, W., Lee, C.**, 2013. Special topics—Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. Journal of Animal Science. Volume 91(11). p.p.: 5045-5069.
- 54- Idris, S. B., Adamu, U. R.**, 2018. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in humans and animals in Sokoto. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine. 3. p.p.: 30-34.
- 55- Isorez, G.**, 2007. Contribution à la chimie des flavonoïdes: Accès à des analogues de pigments du vin rouge. Thèse doctorat, Université Louis Pasteur de Strasbourg. p. 218.
- 56- Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S.**, 2011. Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. Journal of Medicinal Plants Research. Volume 5. p.p.: 6017-6023.
- 57- Khan, W., Parveen, R., Chester, K., Parveen, S., Ahmad, S.**, 2017. Hypoglycemic potential of aqueous extract of *Moringa oleifera* leaf and *In vivo* GC-MS metabolomics. *Frontiers in Pharmacology*. Volume 8. p.p.: 1-16.
- 58- Khlifi, D., Hamdi M., El Hayouni, A., Cazaux S., Souchard, J. P., Couderc, F., Bouajila, J.**, 2011. Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) leaves. *Molecules*. Volume 16. p.p.: 10592-10603.
- 59- Konkon, N. G., Simaga, D., Adjoungova, A. L, N., Guessan K. E., Zirihi, C. N., Kone, B. D.**, 2006. Etude phytochimique de mitragynainermis (WILLD) O. KTZE (RUBIACEAE), plante à feuille antidiabetique. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* Volume 14. p.p.: 73-80.

- 60- Koul, B., Chase, N.,** 2015. *Moringa oleifera* Lam.: Panacea to several maladies. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. Volume 7(6). p.p.: 687-707.
- 61- Kumaran, A., karunakaran, R. J.,** 2005. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. Food Chemistry. Volume 97(1). p.p.:109-114.
- 62- Kumari, D.,** 2010. Hypoglycemic effect of *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* in type-2 diabetes. Bioscan. Volume 5. p.p.: 211-14.
- 63- Lacampagne, S.,** 2010. Localisation et caractérisation des tannins dans la pellicule du raisin : Etude de l'impact de l'organisation physico-chimique des parois cellulaires sur la composante tannique, la qualité du fruit et la typicité des raisins de Bordeaux. Thèse de Doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2. p. 69.
- 64- Ladjemi, A., Ouhaddad, A.,** 2016. Les mucilages de *Moringa oleifera* : teneur en métabolites secondaires, activité antioxydante et effet prébiotique. Mémoire de Master, Université A. MIRA - Bejaia. Bejaia, Algérie. p. 37.
- 65- Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E.V. B., Laleye, A.,** 2015. Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (*Moringaceae*), Int. J. Biol. Chem. Sci. Volume 9(5). p.p.: 2682-2700.
- 66- Lehout, R., Laib, M.,** 2015. Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine, Algérie. p. 3.
- 67- Leone, A., Fiorillo, G., Criscuoli, F., Ravasenghi, S., Santagostini, L., Fico, G., Spadafranca, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Pozzi, F., di Lello, S., Filippini, S., Bertoli, S.,** 2015. Nutritional characterization and phenolic profiling of *Moringa oleifera* leaves grown in Chad, sahwari refugee camps, and Haiti. Int. J. Mol. Sci. Volume 16. p.p.: 18923-18937.
- 68- Liao, C. H., Lai, C. C., Hsu, M. S., Chu, F. Y., Wu, M. Y., Huang, Y. T., Hsueh, P. R.,** 2010. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates determined by the agar dilution, disk diffusion and Etest methods: comparison of results using GC agar and chocolate agar. Int. J. Antimicrob. Agents. Volume 35(5). p.p.: 457-60.
- 69- Lipipun, V., Kurokawa, M., Suttisri, R., Taweechotipart, P., Pramyothin, P., Hattori, M., Shiraki, T.,** 2003. Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection *in vitro* and *in vivo*. Antiviral Res. Volume 60(3). p.p.: 175-180.
- 70- Lockett, C. T., Christopher, C. C., Grivetti, L. E.,** 2000. Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural

- fulani, northeastern Nigeria. International Journal of food sciences and nutrition. Volume 51(3). p.p.: 195-208.
- 71- Louni, S.,** 2009. Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera*. Mémoire de Magister. Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach, Alger, Algérie. p. 14.
- 72- Macheix, J. J., Flouriet, A., Jay-Allemand, C.,** 2005. Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition Press polytechniques et universitaires romandes. Lousanne. p. 192
- 73- Madi, A.,** 2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister. Université Mentouri Constantine. Constantine. p. 31.
- 74- Mashiar, R. M., Mominul, I. S. M., Akhtar, S. S., Soriful, I. M., Atikur R. M., Mizanur, R. M., Alam, M. F.,** 2009. Antibacterial activity of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some human pathogenic bacteria. CMU. J. Nat. Sci. Volume 8(2). p.p.: 219-227.
- 75- Merghem, R.,** 2009. Elément de biochimie végétale. Bahaeddine. Constantine, Algérie. p. 171.
- 76- Mibindzou Mouellet, A.,** 2004. Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegr. (rubiaceae) récoltées au Gabon, thèse de Doctorat, Mali. p. 58, 59.
- 77- Millogo, H., Guisson, I. P., Nacoulma, O., Traore, A. S.,** 2005. Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.
- 78- Mouhoubi, N., Bachioua, K.,** 2017. Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait au méthanol des feuilles de *Moringa oleifera*. Mémoire de Master, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia. Bejaia, Algérie. p. 44.
- 79- Muhl, Q. E.,** 2009. Seed germination, tree growth and flowering responses of *Moringa oleifera* Lam. (Horseradish tree) to temperature. Master memory. University of Pretoria.p. 08.
- 80- Nadal, B.,** 2009. Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants. Thèse de Doctorat. Université Paris Sud XI. p. 134-135.
- 81- Nambiar, V. S., Guin, P., Parnami, S., Daniel, M.,** 2010. Impact of antioxidants from drumstick leaves on the lipid profile of hyperlipidemics. Journal of Herbal Medicine and Toxicology. Volume 4(1). p.p.: 165-172.

- 82- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi M. R., Krishna, D. R.,** 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology. Volume 33. p.p.: 2-16.
- 83- Ndong, M., Wade, S., Dossou, N., Guiro, A.T., Gning, R. D.,** 2007. Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development. Volume 7(3). p.p.: 1684-5374
- 84- Nikkon, F., Saud, Z. A., Rehman, M. H., Haque, M. E,** 2003. *In vitro* antimicrobial activity of the compound isolated from chloroform extract of *Moringa oleifera* Lam. Pak. J.Biol. Sci. Volume 22. p.p.:1888–1890.
- 85- Okumu, M. O., Mbaria, J. M., Kanja, L. W., Gakuya, D. W., Kiama, S. G., Ochola, F. O.,** 2016. Phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Volume 5(4). p.p.: 302-308.
- 86- Pari, L., Karamać, M., Kosińska, A., Rybarczyk, A., Amarowicz, R.,** 2007. Antioxidant activity of the crude extracts of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) and sweet broomweed (*Scoparia dulcis* L.) leaves. Pol. J. Food Nutr. Sci. Volume 57(2). p.p.: 203–208.
- 87- Pawaskar, S. M., Sasangan, K. C.,** 2017. Phytochemical and *in vitro*- antimicrobial analysis of *Moringa oleifera* Lam. leaf extract. International Journal of Development Research. Volume 7(8). p.p.: 14775-14781.
- 88- Peixoto, J. R. O., Silva, G. C., Costa, R. A., De Sousa Fontenelle, J. R. L., Vieira, G. H. F., Filho, A. F., Vieira, R. H. S. D. F.,** 2011. *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. Volume 4(3). p.p.: 201-204.
- 89- Putri, S. H., Nuranjani, F., Ardiansah, I.,** 2017. Study of preparation method in antioxidants analysis from kelor seeds (*Moringa oleifera* L.) tofu coagulation. Journal of industrial and information technology in agriculture. Volume 1(2). p.p.: 73- 78.
- 90- Raj, A. J., Gopalakrishnan, V. K., Yadav, S. A., Dorairaj, S.,** 2011. Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* (Lam.) root extract. Journal of Pharmacy Research. Volume 4(5). p.p.: 1426-1427.
- 91- Rauha, J-P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H. Vuorola, P.,** 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. Int. J. Food Microbio. Volume 56. p.p.: 3-12.

- 92- Roopalatha, U. C., Nair, V. M.,** 2013. Phytochemical analysis of successive reextracts of the leaves of *Moringa oleifera* Lam. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Volume 5. p.p.: 0975-1491.
- 93- Saint Sauveur, A., Broin, M.,** 2010. Produire et transformer les feuilles de *Moringa*. Editions CTA, CDE, Horizon Gémeno éd, France. p. 69.
- 94- Sankhalbar, S., Vernekar.,** 2016. Quantitative and qualitative analysis of phenolic and flavonoid content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. Pharmacognosy Res. Volume 8(1). p.p.: 16–21.
- 95- Sarni-Manchado, P., Cheynier, V.,** 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. France quercy-46090 Mercués. France. p. 398.
- 96- Seshadri, S., Nambiar, V. S.,** 2004. Kanjero (*Digera arvensis*) and drumstick leaves (*Moringa oleifera*): Nutrient profile and potential for human consumption. World Review of Nutrition and Dietetics. Volume 91. p.p.: 41-59.
- 97- Shahriar, M., Hossain, I., Bahar, A. N., Akhter, S., Haque, A., Bhuiyan, M. A.,** 2012. Preliminary phytochemical screening, *in-vitro* antioxidant and cytotoxic activity of five different extracts of *Moringa oleifera* leaf. Journal of applied pharmaceutical science. Volume 2(05). p.p.: 65-68.
- 98- Siddiq, A., Anwar, F., Manzoor, M., Ammara, F.,** 2005. Antioxydant activity of different solvent extract of *Moringa oleifera* leaves under accelerated storage of sunflower oil. Asian journal of plant sciences. Volume 4(6). p.p.: 630-635.
- 99- Side Larbi, K.,** 2016. Potentiel du contenu polyphénolique et huiles essentielles de quelques plantes médicinales à activités anticartilagineuse et biologiques. Thèse de Doctorat. Université Mustapha Stambouli, Mascara, Algérie. p. 25, 27.
- 100- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A., Simonič, M., Knez, Z.,** 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activity. Food Chemistry. Volume 89. p.p.: 191-198.
- 101- Simon, N., Bagard, S.,** 2008. Physique Chimie. Editions Bréal. p. 127.
- 102- Singh, K., Tafida, G. M.,** 2013. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* (Lam) leaves extracts against some selected bacteria. Int J Pharm Pharm Sci. Volume 6(9). p.p.: 52-54.
- 103- Singhal, A. K., Jarald, E. E., Showkat, A., Daud, A.,** 2012. *In vitro* evaluation of *Moringa oleifera* gum for colon-specific drug delivery. International journal of pharmaceutical investigation. Volume 2(1). p.p.: 48-51.
- 104- Soussi, S.,** 2015. Les interactions entre les plantes médicinales et les médicaments des pathologies cardiovasculaires. Thèse de Doctorat, Université Toulouse III Paul Sabatier. p. 178.

- 105- Suarez, M., Haenni, M., Canarelli, S., Fisch, F., Chodanowski, P., Servis, C., Michielin, O., Freitag, R., Moreillon, P., Mermod, N., 2005.** Structure function characterization and optimization of a plant derived antibacterial peptide. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. Volume 49(9). p.p.: 3847-3857.
- 106- Tabart, J., Baldo, A., Vermout, S., Nusgens, B., Lapiere, C., Losson, B., Mignon, B., 2007.** Reconstructed interfollicular feline epidermis as a model for *Microsporum canis* dermatophytosis. *J Med Microbiol*. Volume 56. p.p.: 971-975.
- 107- Tamsa, A. A., Nola, M., Lontsi, D. C., Nandjou, N. R.V., Nougang, M. E., Bricheux, G., Sime-Ngando, T., 2013.** Comparison of the inhibition of commensally and enteropathogenic *E. coli* strains in the presence of *Eucalyptus microcorys* leaves extract in aquatic microcosm. *Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci*. Volume 2(6). p.p.: 80-96.
- 108- Thurber, M. D., Fahey, J. W., 2009.** Adoption of *Moringa oleifera* to combat under-nutrition viewed through the lens of the “diffusion of innovations” theory. *Ecology of food and nutrition*. Volume 48(3). p.p.: 212-225.
- 109- Tian, F., Li, B., Zhang, G., Luo, Y., 2009.** Identification and structure-activity relationship of gallotannins separated from *Galla Chinensis*. *LWT-Food Sci. Technol*. Volume 42. p.p.: 1289-1295.
- 110- Torres-Castillo, J. A., Sinagawa-García, S. R., Martínez-Ávila, G. C. G., López-Flores, A. B., Sánchez-González, E. I., Aguirre-Arzola, V. E., Torres-Acosta, R. I., Olivares-Sáenz, E., Osorio-Hernández, E., Gutiérrez-Díez, A., 2013.** *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. *φYTON ISSN*. Volume 82. p.p.: 193-202.
- 111- Trapti, R., Vijay, B., Komal, M., Aswar, P. B., Khadabadi, S. S., 2009.** Comparative studies on anthelmintic activity of *Moringa oleifera* and *Vitexnegundo*. *Asian J. Research. Chem*. Volume 2(2). p.p.: 181-182.
- 112- Treki, A. S., Merghem, R., Dehimat, L., 2009.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. Volume 29. p.p.: 25-29.
- 113- Tsala, D. E., Simplicie, F. H., Thierry, B. N. M., Justin, B., Justin, B., Emmanuel, N., 2013.** Anti-Inflammatory Activity of Hot Water Extract of *Moringa oleifera* Lam in Rats. *International Science Press, (India)*. Volume 4(1). p.p.: 25-31.
- 114- Udosen, I. E., Okwori, A. E. J., Ijebor, J. A., Jonson, P. O., Adikwu, T. I., 2016.** Effects of *Moringa oleifera* Leaf tea on *Salmonella Typhi* and *Escherichia Coli*. *Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*. Volume 15(3). p.p.: 62-66.

- 115- Verpoorte, R., Alfermann, A. W.,** 2000. Metabolic engineering of plant secondary metabo-lism. Edition Kluwer Academic. p. 1-23.
- 116- Vetter, J.,** 2004. Poison hemlock (*Conium maculatum* L). Food and Chemical Toxicology. Volume 42. p.p.: 1373-1382.
- 117- Viera, G. H. F., Mourão, J. A., Ângelo, Â. M., Costa, R. A., Vieira, R. H. S. D. F.,** 2010. Antibacterial effect (*in vitro*) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against gram positive and gram negative bacteria. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Volume 52(3). p.p.: 129-132.
- 118- Vinoth, B., Manivasagaperumal, R., Balamurugan, S.,** 2012. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Moringa oleifera* Lam. International Journal of Research in Biological Sciences. Volume 2(3). p.p.: 98-102.
- 119- Wong, S. P., Leong, L. P., William Koh, J. H.,** 2006. Antioxidant activities of extracts of selected plants. Food chemistry. Volume 99. p.p.:775-783.
- 120- Yakhlef, G.,** 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L. Mémoire de Magister. Université El Hadj Lakhdar, Batna. p.p. 62-63.
- 121- Yezza, S., Bouchama, S.,** 2014. Index des métabolites secondaires végétaux. Mémoire de Licence. Université Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla, Algérie. p. 47.
- 122- Youmbai, A.,** 2015. Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien). Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Ouargla, Algérie. p. 37.
- 123- Zeghad, N.,** 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine, Faculté des sciences de la nature et de la vie. Constantine, Algérie. p. 96.
- 124- Zeghouane, H.,** 2014. Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est- Algérien. Mémoire Master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie. p. 17, 18.
- 125- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W.,** 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. Food chemistry. Volume 64 (4). p.p.: 555-559.

Les sites internet:

(1): Adresse URL: <https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm> (consulter le 20 Avril 2018).

(2): Adresse URL: <http://phytotherapie-tp1s.e-monsite.com/pages/diffundefinedrents-types.html> (consulter le 20 Avril 2018).

(3): Adresse URL: <http://phytotherapie-tp1s.e-monsite.com/pages/qu-est-ce-qui-diffundefinedrencie-la-phytothundefinedrapie-de-la-mundefineddecine-synthundefinedtisundefinede.html>(consulté le 20 Avril 2018).

(4): Adresse URL: <http://phytotherapie-tp1s.e-monsite.com/pages/quelles-sont-les-inconvundefinednients-de-la-phytothundefinedrapie.html> (consulter le 01 Juin 2018).

	<h1>Annexes</h1>

Annexe1. Composition en éléments nutritifs de la fleur de *Moringa* (AGROCONSULT HAITI S A, 2016).

Éléments	Composition dans 100 g de produit (Fleur fraîche)	Composition dans 100 g de produit (fleur séchée)
Humidité	81,97	-
Protéines (g)	8,64	47,97
Matières grasses(g)	1,14	6,34
Cellulose(g)	0,68	3,79
Cendre (g)	0,29	1,61
Glucide(g)	7,28	40,29
Energie (Kcal)	-	410,10
Ca (mg)	15,76	87,47
Na (mg)	10,14	55,98
K (mg)	57,70	320,04
Mg (mg)	8,55	47,47
Fe (mg)	4,20	23,34
Zinc (mg)	0,15	0,86

Annexe 2. Teneur en éléments de la feuille fraîche et de la poudre de *Moringa* (100g)
(AGROCONSULT HAITI S A, 2016)

Éléments	Feuille fraîche	Poudre de feuille
Calories	92	205
Protéine (g)	6,7	27,1
Lipides (g)	1,7	2,3
Glucides (g)	13,4	38,2
Fibre (g)	0,9	19,2
Calcium (mg)	440	2003
Cuivre (mg)	1,1	0,57
Fer (mg)	7	28,2
Potassium (mg)	24	368
Soufre (mg)	137	870
Sélénium (mg)	---	0,09
Zinc (mg)	---	3,29
Acide Oxalique	101	1600
Vitamine A (mg)	6.8	18,9
Vitamine B (mg)	423	----
Vitamine B1 (mg)	0,21	2,64
Vitamine B2 (mg)	0,05	20,5
Vitamine B3 (mg)	0,8	8,2
Vitamine C (mg)	220	17,3
Vitamine E (mg)	----	113
Acides Aminés		
Arginine (mg)	402	1325
Histidine (mg)	141	613
Isoleucine (mg)	422	825
Leucine (mg)	623	1950
Lysine (mg)	288	1325
Méthionine (mg)	134	350
Phénylalanine (mg)	429	1388
Thréonine (mg)	328	1188
Tryptophane (mg)	127	425
Valine (mg)	476	1063

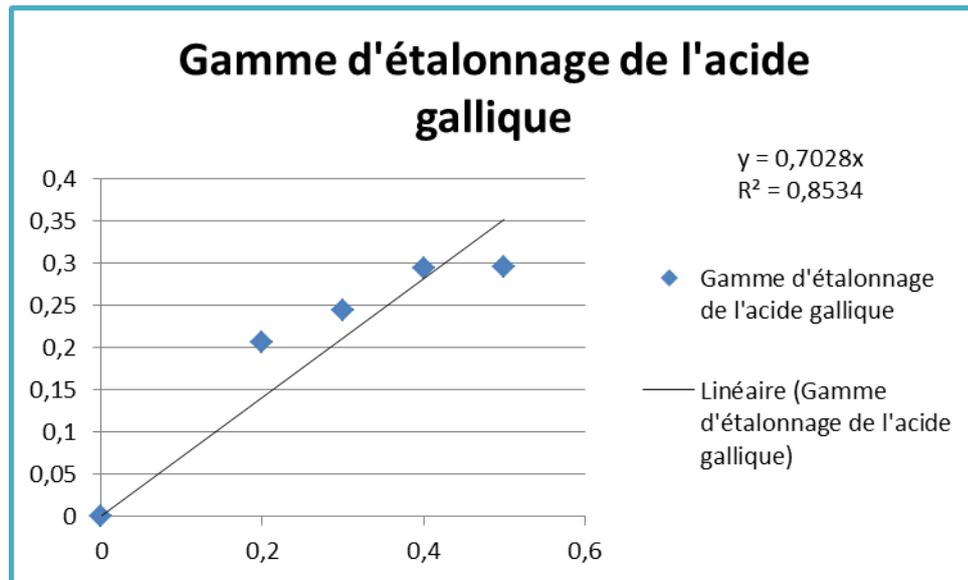
Annexe 3. Les réactifs utilisés et leurs préparations.

Réactifs	Mode de préparation
Alcool de Chlorure ferrique à 2%	Dissoudre 2 g dans 100 ml d'alcool (méthanol).
Alcool chlorhydrique	Alcool (éthanol) + eau distillée +acide chlorhydrique concentré en volumes égaux.
Réactif de Stiasny	Formaldéhyde 40% + HCl concentré (2:1) (V/V) Ex: 20 ml de formaldéhyde 40% est mélangé avec 10 ml de HCl.
Formaldéhyde 40%	40 ml de formaldéhyde concentré est complété par l'eau distillée jusqu'à 100 ml.
Acétate de sodium 1%	1 g d'acétate de sodium est dissout dans 100 ml d'eau distillée.
Chlorure ferrique (FeCl ₃) 1%	1 g de FeCl ₃ est dissout dans 100 ml d'eau distillée.
Alcool 60 %	60 ml de méthanol ou éthanol est complet par qsp d'eau distillée jusqu'à 100 ml.
Vanilline 5,8 %	Dissoudre 5,8 g de vanilline dans 100 ml de méthanol.
HCl 24 %	24 g d'HCl est complété par qsp de méthanol jusqu'à 100 ml.
Vanilline–HCl (La préparation est juste avant l'utilisation)	Des volumes égaux de vanilline 5,8% et HCl 24% sont mélangé exemple : 20 ml de vanilline 5,8 + 20 ml d'HCl 24%

Carbonate de sodium C=75mg/ml	1,87 g est dissous dans 25ml d'eau distillée.
Réactif de Folin-Ciocalteu : 0,1N	<p>C_1 : concentration 2N de R. Folin ; V_1 : volume prélevé de R. Folin 2N ; C_2 : concentration 0,1N ; V_2 : volume de R. Folin qui résulte de l'ajout d'eau distillée au V_1 afin d'atteindre V_2 de R. Folin 0,1N</p> <p>$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$ Donc : $C_2 = (C_1 * V_1) / V_2$ $C_2 = (2N * 1,8ml) / 36$ $= 0,1N$</p>
Acide gallique : C = 1mg/ml	La mesure de rutine 0.01 g d'acide gallique est diluée dans 10 ml d'eau distillée.
Trichlorure d'aluminium($AlCl_3$) à 2%	2g est diluée dans 100 ml d'eau distillée.
Rutine : C=1mg/ml	Dissoudre 0,01 g de rutine dans 10 ml d'eau distillée.
Catéchine : C=1mg/ml	0,01 g de catéchine est diluée dans 10 ml d'eau distillée.

Annexe 4. Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

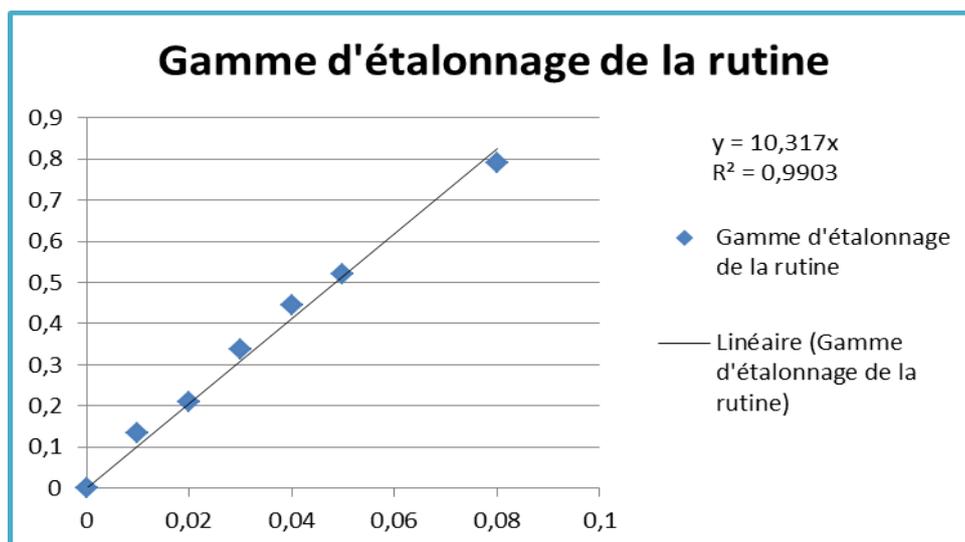
Tubes	1	2	3	4
Concentration de l'acide gallique (mg/ml)	0,2	0,3	0,4	0,5
Volume de l'acide ascorbique prélevé (en μ l) à partir de la concentration mère	200	300	400	600
Volume d'eau distillée ajouté (μ l)	800	700	600	500
Volume total (μ l)	1000	1000	1000	1000



Annexe 5. Gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Annexe 6. Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes

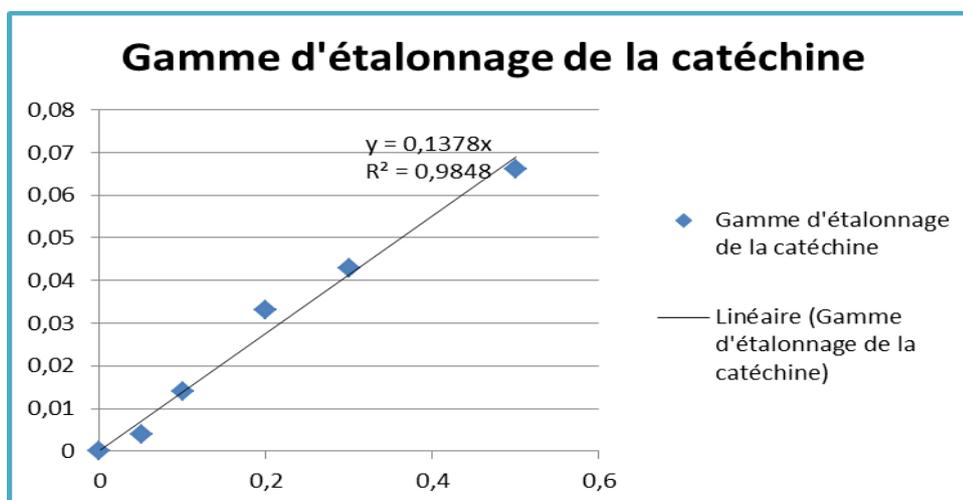
Tubes	1	2	3	4	5	6
Concentration de la rutine (mg/ml)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,08
Volume de la rutine prélevé (en μl) à partir de la concentration mère	50	100	150	200	250	350
Volume de méthanol ajouté (μl)	4950	4900	4850	4800	4750	4650
Volume total (μl)	5000	5000	5000	5000	5000	5000



Annexe 7. Gamme d'étalonnage de la rutine

Annexe 8. Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins

Tubes	1	2	3	4	5
Concentration de la catéchine (mg/ml)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5
Volume de la catéchine prélevé (en μ l) à partir de la concentration mère	100	200	400	600	1000
Volume d'eau distillée ajouté (μ l)	1900	1800	1600	1400	1000
Volume total (μ l)	2000	2000	2000	2000	2000



Annexe 9. Gamme d'étalonnage de catéchine

Annexe 10: Activité antioxydante (préparation des réactifs et les concentrations des extraits).

❖ **Préparation du DPPH:**

Dissoudre 25 mg dans 80 ml de MeOH (100%), puis ajouter 20 ml d'eau distillée à l'obscurité ou dissoudre 25 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (100%).

Une dilution de solution mère est effectuée juste avant le dosage par le méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance entre 1,1 et 1,2 à 515 nm.

Ensuite l'absorbance sera mesurée et diluée par le méthanol (100%) afin d'atteindre une absorbance de 1,2 à 1,1 dans une longueur d'onde de 515 nm.

❖ **Préparation de l'ABTS^{·+} et K₂SO₃:**

Dissoudre 0,036 g 100 ml d'eau distillée calculée par la relation suivante:

Concentration massique = Concentration molaire* masse molaire

$$3,6 \text{ g/l} = 7\text{mM} * 514,62\text{g/mol}$$

K₂SO₃ (2,45 mM): dissoudre 0,0662g dans 100ml d'eau distillée.

Mélanger en volumes égaux l'ABTS (7mM) et K₂SO₃ de (2,43 mM) et incuber pendant 16 h, ensuite l'absorbance sera mesurée dans une longueur d'onde de 734 nm. Ce mélange est dilué par l'éthanol afin d'atteindre une absorbance de (0,700).

❖ **Préparation de concentration mère 0,1 mg /ml de l'acide ascorbique (pour le DPPH et l'ABTS):**

Dissoudre 0,001g de l'acide ascorbique dans 10 ml d'eau distillée puis préparer une gamme pour la courbe d'étalonnage (tableau I)

Tableau I. La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Tubes	1	2	3	4	5
Concentration de l'acide ascorbique (mg/ml)	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08
Volume de l'acide ascorbique prélevé (en μ l) à partir de la concentration mère	100	200	400	600	800
Volume d'eau distillée ajouté (μ l)	900	800	600	400	200
Volume total (μ l)	1000	1000	1000	1000	1000

❖ **Préparation des différentes concentrations des extraits pour le test de DPPH:**

➤ **Extrait chloroformique:**

-Préparation de concentration mère 4,86 mg/ml : dissoudre 0,0243 g dans 5ml d'éthanol.

-Dilution $\frac{1}{2}$: prélèvement de 1ml de la concentration mère associé avec 1ml d'éthanol pour atteindre une concentration de 2,43 mg/ml.

- Dilution $\frac{1}{4}$: prélèvement de 1ml de la concentration mère associé avec 3ml d'éthanol pour atteindre une concentration de 1,215 mg/ml.

➤ **Extrait méthanolique:**

- Préparation de concentration mère 17,06 mg/ml : dissoudre de 0,0853g dans 5ml de méthanol.

-Dilution $\frac{1}{2}$: prélèvement de 1ml de la concentration mère associé avec 1ml de méthanol pour atteindre une concentration de 8,53 mg/ml.

- Dilution $\frac{1}{4}$: prélèvement de 1ml de la concentration mère associé avec 3ml de méthanol pour atteindre une concentration de 4,265 mg/ml.

➤ **Extrait infusé:**

- Préparation de concentration mère 210,7 mg/ml : dissoudre 0,2107g dans 1 ml d'eau distillée.

-Dilution $\frac{1}{2}$: prélèvement de 0,25 ml de la concentration mère associé avec 0,25 ml d'eau distillée pour atteindre une concentration de 105,35 mg/ml.

- Dilution $\frac{1}{4}$: prélèvement de 0,25 ml de la concentration mère associé avec 0,75ml d'eau distillée pour atteindre une concentration de 52.675 mg/ml.

- Dilution $\frac{1}{8}$: prélèvement de 0,25 ml de la concentration mère associé avec 1,75 ml d'eau distillée pour atteindre une concentration de 26,337 mg/ml.

➤ **Extrait décocté:**

- Préparation de concentration mère 37,9 mg/ml : la mesure de 0,0379 est diluée dans 1ml d'eau distillée.

-Dilution $\frac{1}{2}$: prélèvement de 0,25 ml de la concentration mère associé avec 0,25 ml d'eau distillée pour atteindre une concentration de 18,95 mg/ml.

- Dilution $\frac{1}{4}$: prélèvement de 0,25 ml de la concentration mère associé avec 0,75ml d'eau distillée pour atteindre une concentration de 9,475 mg/ml.

- Dilution $\frac{1}{8}$: prélèvement de 0,25 ml de la concentration mère associé avec 1,75 ml d'eau distillée pour atteindre une concentration de 4,7375 mg/ml.

Préparation des différentes concentrations des extraits pour le test de l'ABTS:

-Préparation des concentrations mères 1mg /ml:

-Dissoudre 0,01g de chaque extrait dans 10 ml d'éthanol pour l'extrait chloroformique et 10 ml de méthanol pour l'extrait méthanolique et 10 ml d'eau distillée pour les extraits infusé et décocté.

-Dilution $\frac{1}{2}$: prélèvement de 1ml de la concentration mère associé avec 1ml d'éthanol pour l'extrait chloroformique 1ml de méthanol pour l'extrait méthanolique et 1ml d'eau distillée pour les extraits infusé et décocté.

- Dilution $\frac{1}{4}$: prélèvement de 1ml de la concentration mère associé avec 3ml d'éthanol pour l'extrait chloroformique et 3ml de méthanol pour l'extrait méthanolique et 3ml d'eau distillée pour les extraits infusé et décocté.

Annexe 11: Activité antibactérienne (préparation des milieux de culture et les concentrations des extraits).

❖ **Préparation du milieu Gélose nutritive (GN):**

Lors de la préparation du milieu Gélose nutritive 4,6088 g est dissout dans 200ml d'eau distillée, puis chauffé et ajouté jusqu'à la dissolution totale. Cette préparation est autoclavée à 121°C pendant 15 min.

❖ **Préparation du milieu Gélose Mueller-Hinton:**

Lors de la préparation du milieu Gélose Mueller-Hinton 36,0 g est suspendu dans 1 litre d'eau distillée, puis chauffé jusqu'à la dissolution totale. Cette préparation est autoclavée à 121°C pendant 15 min.

❖ **Préparation de l'eau physiologique stérilisée (0,9%):**

La mesure de 0,009g de NaCl est diluée dans 100ml d'eau distillée stérilisée à l'autoclave à une température de 120°C pendant 15min.

❖ **Préparation des différentes concentrations des extraits pour le test de l'activité antibactérienne:**

-Préparation des concentrations mères 5mg /ml des différentes concentrations s'article sur:

-Dissolution de 0,01g de chaque extrait dans 2ml de DMSO pour les extraits (chloroformique et méthanolique) et 2ml d'eau distillée pour les extraits (infusé et décocté).

- Préparation des concentrations 1mg/ml:

0,4 ml de la concentration mère associé avec 1,6 ml de DMSO pour les extraits (chloroformique et méthanolique) et 1,6 ml d'eau distillée pour les extraits (infusé et décocté) pour atteindre le volume 2ml.

- Préparation des concentrations 0,5 mg /ml:

(0,2 ml) de la concentration mère associé avec 1,8 ml de DMSO pour les extraits (chloroformique et méthanolique) et 1,8 ml d'eau distillée pour les extraits (infusé et décocté) pour atteindre le volume 2ml.

- Préparation des concentrations 0,25 mg /ml:

(0,1 ml) de la concentration mère associé avec 1,9 ml de DMSO pour les extraits (chloroformique et méthanolique) et 1,9 ml d'eau distillée pour les extraits (infusé et décocté) pour atteindre le volume 2ml.

