



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire

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

Intitulé :

Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques du *Moringa oleifera* : étude théorique

Par

Mlle BOUDJENDLIA Nour Djihan & Mlle OUDINA Houda

Le: 24/09/2020

Jury d'évaluation

Président : MCB KITOUNI *Rachid* -Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Encadreur : MCA BOUANIMBA *Nour* -Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Examineur : M.R.C BENSOUICI *Chawki* -Centre de Recherche en Biotechnologie Constantine.

Année universitaire
2019 – 2020

Remerciement

Au début nos remerciements vont en particulier à Dieu, le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage pour poursuivre nos études.

*On tient à exprimé toute notre reconnaissance et notre gratitude à notre encadreur de recherche **Bouanimba Nour (MCA)** d'avoir accepté de diriger ce travail, sans ses orientations et ses précieux conseils, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury **Mr Bensouici Chawki (M.R.C)** pour l'intérêt qu'il ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous tenons aussi à remercier **Mr Kitouni Rachid (MCB)** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions jusqu'à l'obtention du diplôme de master.

Enfin, il est particulièrement agréable d'exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

œ Dédicaces œ

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

Je dédie ce travail :

À mes chers parents

*Mon cher Papa **abd elhak**,*

Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le vôtre, Inchallah tu trouveras ici toute mon affection et ma profonde gratitude pour toutes ces années de sacrifice pour moi.

*Ma chère Maman **Najet**,*

Nul mot ne parviendra jamais à exprimer l'amour que je te porte. Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et le témoignage de ma profonde affection.

*À mon frère **Mohammed Anouar***

À mes chères amis (es) et particulièrement,

Maissa, Rahil, Sandra, Amira, Ines.

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

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

A vous tous merci.

Houda

∞Dédicaces ∞

Je dédie ce présent travail à mes très chers parents, mes soeurs

Alaa et Walaa ainsi mes frères.

Je le dédie aussi à mes amies : Roufaïda, Nour El Houda et ma

chère Nour El Houda

A ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans les moments les

plus difficiles

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma

profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour

moi

Nour

Tables des matieres

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE I : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ASPECTE BOTANIQUE ET ETUDES CHIMIQUES ANTERIEURES

I.1. Plantes médicinales.....	3
I.2. Phytothérapie	3
I.2.1. Formes de phytothérapies	3
I.3. Généralités sur <i>Moringa oleifera</i>	5
I.3.1. Origine et distribution de <i>Moringa oleifera</i>	5
I.3.2. Systématique et nomenclature.....	5
I.3.2.1. Position systématique de <i>Moringa oleifera</i>	5
I.3.2.2. Les différentes espèces de <i>Moringa oleifera</i>	6
I.3.2.3. Dénomination	7
I.3.3. Description botanique.....	8
I.3.4. Ecologie de <i>Moringa oleifera</i>	10
I.3.5. Composition chimique et valeurs nutritionnelles des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	10
I.3.6. Utilisation de <i>Moringa oleifera</i>	11

II. METABOLITES SECONDAIRES

II.1. Généralités sur les métabolites secondaires.....	14
II.2. Différentes classes des métabolites secondaires.....	14
II.2.1. Les composés phénoliques.....	14
II.2.1.1. Généralités sur les polyphénols.....	14
II.2.1.2. Principaux groupes des polyphénols.....	15
II.2.1.2. 1. Les acides phénoliques simples (C6-C1 ou C6-C3)	16
II.2.1.2. 1. A. Acides hydroxycinnamiques (C6-C3).....	16
II.2.1.2. 1.B. Acides hydroxybenzoïques (C6-C1).....	16

II.2.1.2. 2. Les flavonoïdes.....	16
II.2.1.2. 2. 1. Structures chimiques et classification.....	17
II.2.1.2.3. Les tanins	19
II.2.1.2.3.1. Classification et structure chimique des Tannins.....	19
II.2.1.2.4. Lignines.....	20
II.2.1.2.5. Les coumarines.....	21
II.2.1.3. Effets biologiques des polyphénols.....	21
II.2.2. Les alcaloïdes.....	22
II. 2.2.1. Classification et Structure chimique.....	22
II.2.2.2. Effets biologiques des alcaloïdes.....	23
II.2.3. Les composés terpéniques.....	23
II.2.3.1. Les terpenoïdes.....	23
II.2.3.1.1. Classification des terpènoïdes.....	24
II.2.3.2. Les stéroïdes.....	25

III. STRESS OXYDANT ET LES ACTIVITES BIOLOGIQUES

III.1. stress oxydant et Les radicaux libres.....	26
III.1.1. stress oxydant.....	26
III.1.2. Les radicaux libres.....	26
III.1.3. Les espèces réactives d'oxygène (ERO)	26
III.1.3.1. Différents Types d'espèce réactive d'oxygène (ERO).....	26
III.1.3.1.1. Dérivés primaires de l'oxygène.....	26
III.1.3.1.2. Dérivés secondaires de l'oxygène.....	28
III.1.4. Les principales sources des radicaux libres.....	28
III.1.4.1. Les Sources exogènes.....	28
III.1.4.2. Les Sources endogènes.....	29
III.1.5. Mécanisme d'action des radicaux libre.....	30
III.1.6. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif	30
III.1.6.1. Antioxydants enzymatiques	31
III.1.6.2. Antioxydants non-enzymatiques (naturels)	32
III.2. Les activités biologique.....	32
III.2.1. Activité antioxydante	32
III.2.1.1. Les tests de capacité antioxydante totale.....	32
III.2.1.2. Quelques méthodes de dosage des antioxydants.....	33

III.2.2. Activité anti- diabétique.....	36
III.2.2. 1. Le diabète.....	36
III.2.2.2. Diabète et les plantes médicinales.....	37
III.2.3. Activité cardioprotectrice.....	37
III.2.3.1. Cardiotoxicité de la doxorubicine.....	37
III.2.3.2. Types de cardiotoxicité.....	38
III.2.3.3. Mécanisme de cardiotoxicité par la doxorubicine	38
III.2.3.4. Evaluation des lésions cardiaques induites par la doxorubicine.....	39

CHAPITRE II : PRESTATION DES ETUDES EXPERIMENTALES SUR LES FEUILLES DE *Moringa oleifera*

I. ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE LA PLANTE

I.1. Extraction des métabolites secondaires.....	40
I.2. Analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes.....	40
I.2.1. Quantification des polyphénols totaux (TPC)	40
I.2.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)	43

II. EVALUATION DE QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES FEUILLES DE *Moringa oleifera*

II.1. Evaluation du potentiel antioxydant.....	44
II.1.1. Test de piégeage du radical DPPH●.....	45
II.1.2. Test de la capacité réductrice ferrique d'antioxydants (FRAP).....	47
II.1.3. Capacité antioxydante équivalente de trolox (TEAC)	49
II.2. Evaluation de l'activité cardioprotectrice.....	51
II.3. Evaluation de l'activité anti- diabétique.....	54

CONCLUSION GENERALE	57
----------------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	58
---	-----------

RESUMES

Liste des abréviations

(%) : Pourcentage

• : Electron célibataire

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique

ALAT: Alanine aminotransférase

ANP: Atrial natriuretic peptide

ASAT/TGO: Aspartate aminotransférase

AsCH- : Ascorbat anionique

ATP : Adénosine-Triphosphate

BEM: Biopsie endomyocardique

BNP/ NT-pro BNP: Brain natriuretic peptide

CI₅₀ : Concentration inhibitrice médiane

CMC : Carboxyméthylcellulose

CPK/CK: Créatine phosphokinase

DM : Dichlorométhane

DO : Densité optique

DOX : Doxorubicine

DPPH : 1, 1 diphényl-2-picryl hydrazyle

DPPH-H : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine

EAG : Equivalents de l'acide gallique

Eq AA : Equivalent Acide Ascorbique

Eq AG : Equivalent Acide Gallique

Eq Q : Equivalent quercétine

EQ : Equivalent de quercitrine

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

ERO : Espèce réactive d'oxygène

EtOAc : Acétate d'éthyle

FAD : Flavine adénine dinucléotide

FRAP: Ferric Reducing-Antioxydant Power

GPx : Glutathion peroxydase

h: Heure

Hx : Hexane

IPP : Isopentényl-pyrophosphate

M.O: *Moringa oleifera*

MeOH : Hydro-méthanol

mL : Millilitre

MS : Matière sèche

NADH :

NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

nm : Nanomètre

pH : Potentiel Hydrogène.

PTS : Phénols totaux soluble

SOD : Superoxyde Dismutase

SOD : Superoxyde dismutase

TE : Transfert d'électrons

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

TECP : Transfert d'électrons couplés aux protons

TFC : Quantification des flavonoïdes totaux

THA : Transfert d'atomes d'hydrogène

TM : **teinture mère**

TPTZ: Tripirydyltrizine

UV : Ultra-violet

µL : Microlitre

Liste des figures

Figure 1 : Forme tisane	4
Figure 2 : huiles essentielles	4
Figure 3 : Forme gélule.....	5
Figure 4 : Arbre, tronc de <i>Moringa oleifera</i>	8
Figure 5 : Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	9
Figure 6 : Fleurs de <i>Moringa oleifera</i>	9
Figure 7 : Gousses mûres et graines de <i>Moringa oleifera</i>	10
Figure 8 : Formule chimique brut d'une fonction phénol (C ₆ H ₅ OH).....	14
Figure 9 : Structure de base des acides hydroxycinnamique.....	15
Figure 10 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques.....	16
Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes.....	17
Figure 12 : Structure de base des tannins.....	19
Figure 13 : Structure chimique des acides gallique (A) et éllagique (B)	20
Figure 14 : Squelette de base des coumarines.....	21
Figure 15 : Effets biologiques des polyphénols.....	22
Figure 16 : Structure chimique d'isoprène.....	23
Figure 17 : Réduction de l'oxygène en eau (H ₂ O)	29
Figure 18 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants.....	31
Figure 19 : Réduction du radical DPPH*)	34
Figure 20 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP.....	35
Figure 21 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test TEAC.....	35
Figure 22 : structure chimique de la doxorubicine.....	38
Figure 23 : Contenu phénolique total des plantes médicinales.....	41
Figure 24 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits des plantes médicinales.....	41
Figure 25 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> macérées.....	44
Figure 26 : Courbes des absorbances en fonction des concentrations (Pouvoir réducteur)....	46
Figure 27 : Pourcentage d'inhibition de l'ABTS de divers extraits de <i>M. oleifera</i>	50
Figure 28 : Profil histopathologique cardiaque causé par la doxorubicine et l'extrait éthanolique de <i>Moringa oleifera</i>	52
Figure 29 : Réaction d'évaluation de la production de NO ⁻ par le réactif de riess.....	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : la systématique du <i>Moringa oleifera</i>	6
Tableau 2 : les treize espèces de <i>Moringa</i>	7
Tableau 3 : Quelques noms vernaculaires du <i>Moringa oleifera Lam</i>	7
Tableau 4 : classification des composés phénoliques.....	14
Tableau 5 : dérivés de l'acide hydroxycinnamique.....	15
Tableau 6 : dérivés de l'acide hydroxybenzoïque.....	16
Tableau 7 : Principales classes des flavonoïdes.....	18
Tableau 8 : Quelques exemples des différents types de terpenoïdes.....	25
Tableau 9 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux d'extrait méthanolique de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	42
Tableau 10 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux d'extrait méthanolique de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	42
Tableau 11 : Effet de l'extrait de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> sur les taux de glucose sanguin de rats avec un diabète induit à l'alloxane.....	54
Tableau 12 : Le taux de glycémie post prandiale du groupe expérimenta.....	56

Introduction générale

Au travers des âges, l'être humain a pu dépendre sur le règne végétal pour subvenir à ses besoins dont la thérapie. L'utilisation thérapeutique des plantes pour le traitement de certaines pathologies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Le règne végétal représente une très grande variété de molécules bioactives parmi ces composés on retrouve les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. **(Bahorun, 1996).**

A l'époque l'Europe médiévale a réservé le nom de père de la médecine à Galien, un médecin grec qui a classé les plantes médicinales selon leurs qualités essentielles secs ou humides, chaudes ou froides **(Selection du Reader's Digest, 1999).**

Parmi les plantes médicinales recensées à ce jour *Moringa oleifera* ceux de la famille Moringaceae, elle est aussi appelée « arbre de la vie ». C'est un arbuste, originaire du sud d'Asie, Afrique, Pacifique et des îles de caribbes **(Alhakmani et al., 2013)**. C'est l'une des espèces les plus cultivées de la famille des Moringaceae **(James., 1983)**. Cet arbre présent dans la région du sud algérien est très peu connu et très peu étudié.

Moringa est largement utilisé dans la médecine traditionnelle **(Alhakmani et al., 2013)**, Elle a une gamme impressionnante d'utilisations médicales avec une valeur nutritionnelle élevée et connue pour son énorme potentiel thérapeutique, puisqu'elle peut traiter plus de 300 maladies. **(Nadeem, F., et al 2020).**

Différentes parties de cette plante contiennent un profil de minéraux importants et sont une bonne source de protéines, vitamines, bêta-carotène, acides aminés et divers phénols. L'usine de *Moringa* fournit une combinaison riche et rare de zéatine, quercétine, bêta-sitostérol, acide chlorogénique et kaempferol. La zéatine est « toute classe d'hormones végétales, produites par les racines et voyageant vers le haut à travers le xylème, qui favorisent la croissance des tissus et le bourgeonnement et, sur l'application, retardent la sénescence des plantes. » **(George Hodge., 2015).**

Les feuilles de *Moringa oleifera* sont utilisées en tant que plante médicinale et nutritionnelle **(Jed et al., 2005)**. L'incorporation de poudre de feuilles de *M. oleifera* dans l'alimentation humaine s'est avérée bénéfique. Un certain nombre de facteurs antinutritionnels ont également été trouvés dans les feuilles (tannins, composés phénoliques...) provoquant des effets antinutritionnels pour

leur action sur les protéines et les polysaccharides empêchant ainsi leur assimilation par l'organisme et par inhibition de l'activité des enzymes digestifs (Gonçalves *et al.*, 2010).

Le but de cette recherche est d'effectuer un état de l'art sur l'estimation de la teneur totale en phénols et en flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi l'évaluation de ses activités antioxydant, antidiabétique et son effet cardioprotecteur.

Ce manuscrit s'organise en deux grands chapitres :

Dans le premier chapitre, une étude bibliographique présente dans un premier temps une généralité sur l'espèce *Moringa oleifera*. Dans un seconds temps une présentation du stress oxydatif et La dernière partie de ce chapitre s'intéresse aux activités biologiques.

Le deuxième chapitre se focalise sur la présentation des études menées sur les feuilles de *Moringa oleifera* (Analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux et évaluation de quelques activités biologiques des feuilles de *Moringa oleifera*).

*Recherche
bibliographique*

I. Aspecte botanique et études chimiques antérieures

I.1. Plante médicinale

Une plante médicinale est une plante dont les organes (les feuilles l'écorce ou fruits...etc.) possèdent des vertus curative grâce aux principes actifs qui sont destinées à produire une activité pharmacologique (**Chevallier., 2001**).

Les plantes aromatiques et médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composantes à valeurs thérapeutiques (**Nostro et al., 2000**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisés directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaco logiquement actifs (**Ameenah., 2006**).

L'utilisation inconsidérée des plantes médicinales peut provoquer des intoxications graves parfois mortelle (**Fouché et al., 2000**).

I.2. Phytothérapie

Le terme phytothérapie provient du grec, il est composé de deux mots : « phyto » signifiant plante et « thérapie » signifiant traitement. L'association des deux mots signifie donc traitement par les plantes (**Baba aissa., 2000**).

La phytothérapie est la science des plantes médicinales ou la médication par les plantes, c'est l'une des sources de traitement des maladies qui demeurent basé sur l'observation ou l'analyse vient confirmer ce qu'on observe depuis déjà des millénaires (**Beloud., 2001**).

I.2.1. Formes de phytothérapies

Les remèdes en phytothérapie peuvent prendre plusieurs formes :

- **La teinture mère (TM) ou macération hydro-alcoolique**

Il s'agit d'une macération des plantes fraîches dans l'alcool, dans l'eau ou dans un mélange hydro-alcoolique de titre variable qui se présente sous la forme d'un flacon muni d'un compte-gouttes.

- **Tisane**

Est une préparation aqueuse buvable aux propriétés très curatives obtenue par macération, digestion, infusion ou décoction de matériel végétal (fleurs fraîches ou séchées, feuilles, tiges, racines), dans de l'eau chaude ou froide. Elle recueille que les principes actifs solubles dans l'eau.



Figure 1: Forme tisane.

- **Les huiles essentielles**

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances végétales, obtenu par extraction ou distillation de molécules volatiles de la plante d'origine. Les utilisations des huiles essentielles sont multiples (diffusion, massage, bain, inhalation, voie orale).



Figure 2 : huiles essentielles.

- **La gélule**

Les gélules à base de poudre de plante constituent une forme d'utilisation pratique, elles contiennent la plante sous forme poudre où il a le principe actif. <https://www.futura-sciences.com/>



Figure 3 : Forme gélule

I.3. Généralités sur *Moringa oleifera*

Moringa oleifera (Moringaceae) aussi appelé « l'arbre de la vie » est largement utilisé dans la médecine traditionnelle. C'est un arbuste, originaire du sud d'Asie, Afrique et des îles de caraïbes (Alhakmani et al., 2013). Cette plante a de nombreuses propriétés valorisables, ce qui fait d'elle un sujet d'étude très intéressant. Elle est très prometteuse en fonction de :

- Teneur en nutriment,
- Activité Antioxydante,
- Composés phytochimiques,
- Facilité de culture et de transformation (Laleye et al., 2015).

I.3.1. Origine et distribution de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera Lamarck est un arbre originaire des régions d'Agra et d'Oudh, au nord-est de l'Inde, au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya, mais il est cultivé aujourd'hui dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde (Rajangam et al., 2001).

La plante *Moringa oleifera* peut se trouver dans des zones très arides comme le Sahara, mais elle préfère les climats semi-tropicaux humides (Olson., 2001).

I.3.2. Systématique et nomenclature

I.3.2.1. Position systématique de *Moringa oleifera*

Tableau 1 : la systématique du *Moringa oleifera* (Imohiosen, O et al., 2014).

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

Moringa oleifera appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres des Moringaceae qui comprend environ 13 espèces, dont la plus connue et répandue est l'espèce *Moringa oleifera* (Chukwuebuka., 2015).

I.3.2.2. Les différentes espèces de *Moringa oleifera*

Dans la nature il existe environ 33 espèces de Famille des Moringaceae, Parmi celles-ci seulement treize espèces sont bien connues et présentes dans le monde entier (Anwar., 2007).

Tableau 2 : les treize espèces de Moringa (Owolabi *et al.*, 2007).

L'espèce de Moringa
<i>Moringa oleifera</i>
<i>Moringa arborea</i>
<i>Moringa borziana</i>
<i>Moringa concanensis</i>
<i>Moringa drouhardii</i>
<i>Moringa hildebrandtii</i>
<i>Moringa longituba</i>
<i>Moringa ovalifolia</i>
<i>Moringa peregrina</i>
<i>Moringa pygmaea</i>
<i>Moringa arivae</i>
<i>Moringa ruspolian</i>
<i>Moringa stenoptala</i>

I.3.2.3. Dénomination

- **Nom scientifique** : *Moringa oleifera* Lamark. (Agroconsult., 2016).
- **Nom vernaculaire** : « *Moringa* » vient de *muringa* en malayalam une langue indienne (Fuglie, 2001).

Tableau 3 : Quelques noms vernaculaires du *Moringa oleifera* Lam.

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

I.3.3. Description botanique

- **Port**

Moringa oleifera ou « arbre miracle » est une plante à croissance rapide qui, en fin de croissance, peut atteindre jusqu'à 10 à 15 m de haut et son diamètre jusqu'à 3 mètres, c'est une espèce qui demande très peu d'eau et elle peut tolérer jusqu'à 6 mois de sécheresse (Neto et al., 2017).

Le tronc est de couleur gris violacé, il est généralement droit, mais peut se ramifier, atteindre parfois 3 mètres. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol (Foidl et al, 2001).



Figure 4 : Arbre, tronc (Roloff et al., 2009).

- **Racines, tiges**

Le système racinaire est de structure tubulaire, il est formé d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 m de profondeur lui offrant ainsi une grande résistance à la sécheresse. Des racines secondaires issues du pivot central se ramifient ensuite latéralement jusqu'à constituer une chevelure dense (Rosa, 1993). Pour ce même auteur, la tige à une écorce de couleur brun-pâle et lisse, parfois tachetée de marron et son bois tendre et mou ne lui permet pas de résister aux vents agressifs.

- **Feuilles**

Les feuilles sont alternes, tripennées à la base et bipennées au sommet (Panchal et al., 2011), se développent principalement dans la partie terminale des branches, 3 à 6 cm long avec 2 à 6 paires de pinnules. Chacune de pinnule a 3 à 5 feuillettes elliptiques qui sont de 1 à 2 cm de long

et de 0.3 à 0.6 cm de large. Le feuillet terminal est ovale et souvent légèrement plus grand (Olson, 2001).



Figure 5 : Feuilles de *Moringa oleifera* (Harimalala et Razanamparany., 2014).

- **Fleurs**

Après 8 à 12 mois, l'arbre commence à fleurir sur une base continue tout au long de l'année. Ses fleurs de 2,5 cm de large se développent en panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm, Elles sont odorantes, de couleur blanche ou crèmeuse, avec des points jaunes à la base, ces dernières se composent de 5 sépales sont symétriques et lancéolés, 5 pétales inégaux, sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur, et entourent, 5 étamines et 5 staminodes (Hêdji *et al.*, 2014 ; Agroconsult, 2016).



Figure 6 : Fleurs de *Moringa oleifera* (Roloff *et al.*, 2009)

- **Fruits et grains**

Les fruits de *Moringa oleifera* sont en forme de gousses allongées à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long et de 2 cm de diamètre, ils sont initialement vert clair, minces et tendres,

devenant finalement marron et ferme à maturité, et contenant de nombreuses graines (Muhl et al., 2011).

Lorsque les fruits sont secs, ils s'ouvrent en trois parties, en libérant 12 à 35 graines de forme ronde, à trois angles, elles ont un diamètre de 10 à 12 mm, avec une coque semi-perméable et brunâtre. La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet à 120 degrés d'intervalle. (Foidl et al., 2001 ; Olson, 2001).



Figure 7 : Gousses mûres et graines de *Moringa oleifera* (www.moringane ws.org).

I.3.4. Ecologie de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera a une grande adaptation à des milieux très diversifiés, Cependant, Certaines conditions du milieu favorisent son épanouissement (Saint sauveur et Broin., 2010).

I.3.5. Composition chimique et valeurs nutritionnelles des feuilles de *Moringa Oleifera*

Plusieurs travaux ont mis en évidence les qualités nutritionnelles exceptionnelles des feuilles de *M. oleifera* qui sont utilisées dans l'alimentation en raison de leur richesse en protéines, vitamines (A, B, C, E) certains minéraux (en particulier le fer), elles contiennent aussi les acides aminés et les acides gras essentiels (Nouman et al., 2012 ; Osman et al., 2012).

Les minéraux occupent une part importante de la matière sèche des feuilles de *Moringa oleifera* avec des teneurs de 0,6 à 11,42% de matière sèche. Quant à la matière grasse contenue

dans les feuilles de *M. oleifera*, elle varie de 2,3 à 10% de masse sèche. Les feuilles de *Moringa oleifera* sont une excellente source de protéines dont les teneurs moyennes varient entre 19-35 % de masse sèche (**Bello., 2010**).

Les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent aussi des alcaloïdes, flavonoïdes et des composés phénoliques entre 0,67% et 3,4 % des phénols totaux et de 0,5% à 1,4% en tanins, les tanins condensés sont absents ou sous forme de traces. Les teneurs en saponines varient entre 5 et 6,4 %, ce qui affirme le potentiel antioxydant de cette plante (**Makkar et Becker, 1996 ; Richter et al., 2003**).

I.3.6. Utilisation de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est considéré comme un arbre polyvalent ; il a de nombreuses applications agricoles, médicinales, et surtout industrielles y compris l'alimentation animale et la fabrication des compléments alimentaires (**Denton et al., 2004**).

Toutes les parties de *Moringa oleifera* sont utilisées à des fins comestibles et autres :

- **Les feuilles de *Moringa oleifera***

Sont une excellente source de légumes verts. Elles représentent la partie la plus nutritive de la plante très bénéfique aux mères qui allaitent, aux femmes enceintes et aux jeunes enfants car elles contiennent des quantités appréciables de minéraux, de vitamine A, de vitamine B et de vitamine C, notant bien que la poudre de ces feuilles aide à rétablir la malnutrition des nourrissons.

Elles sont considérées comme une source riche de zéatine une hormone végétale importante appartenant aux cytokinines qui stimule la croissance naturelle des plantes. En outre, l'extrait des feuilles présente une activité biopesticide considérable et va être s'est révélé efficace contre les larves de *Trogoderma granarium*, entraînant une réduction significative des infections fongiques. (**Ashfaq et al., 2012**).

- **Les fleurs de *Moringa oleifera***

Sont utilisées pour faire du thé ou ajoutées dans des sauces pour faire des pâtes (**Yu et al., 2005**). Elles sont utilisées pour produire une aphrodisiaque utile substance pour le traitement de la rate élargie, les tumeurs, de l'hystérie, les maladies musculaires et les inflammations graves. (**Yabesh et al., 2014**).

- **Les racines de *Moringa oleifera***

Sont légèrement toxiques par nature mais elles sont utilisées quand même comme alternative au raifort. (Yu et al., 2005). Elles agissent comme des composants antiparalytiques et anthelminthiques potentiels ce qu'il les permet de traiter de nombreuses maladies (Anwar et al., 2007).

- **Les gousses de *Moringa oleifera***

Se divisent en deux types ; les jeunes gousses et les gousses âgées. Les jeunes gousses sont utilisées à des fins comestibles et ont un goût d'asperge, tandis que les gousses plus âgées sont ajoutées dans les currys (épice) et les sauces pour renforcer l'amertume (Yu et al., 2005).

- **Les graines de *Moringa oleifera***

Il y en a les gousses immatures qui sont cuites de différentes manières et les graines matures qui sont rôties et consommées comme des cacahuètes (Yu et al., 2005). La poudre des graines de moringa est utilisée dans la purification de l'eau par le remplacement des produits chimiques dangereux et explosifs comme le sulfate d'aluminium (Popoola et Obembe., 2013).

Les graines constituent près de 30 % à 40 % de "l'huile de ben" comestible qui peut être utilisée pour l'assaisonnement des salades et la cuisson à la place de l'huile d'olive, car elle est très résistante au rancissement et fournit des quantités importantes de tocophérol, de stérols et d'acide oléique (Yu et al., 2005).

- **L'huile de *Moringa oleifera***

Est utilisé dans la fabrication des parfums et de fragrances, de lubrifiants, et la préparation des peintures (Denton et al., 2004).

- **L'écorce de *Moringa oleifera***

Elle est utilisées pour traiter des graves maux d'estomac, des ulcérations, des douleurs d'estomac, de l'hypertension, de l'anémie, du diabète, des douleurs articulaires et une mauvaise vue (Abe and Ohtani, 2013). Elle traite ainsi les troubles utérins, les hémorroïdes et les maux de dents (Yabesh et al., 2014).

II. Métabolites secondaires

II.1. Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires, molécules organiques complexes synthétisées par les végétaux à partir de métabolites primaires (acétyl COA, acides aminés, acides gras) par diverses voies (**Poutrain., 2008**). Ces molécules se trouvent dans toutes les parties des plantes supérieures par faibles concentrations différentes, ils sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante (**Bruneton., 2009**).

Ces composés jouent un rôle majeur dans l'adaptation de la plante avec son environnement en assurant des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores) et abiotiques (UV, température) (**Kabera et al., 2014**).

II.2. Différentes classes des métabolites secondaires

Trois grandes familles de métabolites secondaires ont été définies, sur la base de leurs voies de biosynthèses : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (**Bourgand et al. 2001**). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (**Huang et Ferraw., 1991**).

II.2.1. Les composés phénoliques

II.2.1.1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols, également dénommés composés phénoliques, ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (**Bahorun., 1997**). Ils sont présents dans tous les organes de la plante : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Beta et al., 2005**).

Ces molécules dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxybenzène (**Gee et Johnson., 2001**). Ils sont hydrosolubles sous forme des monomères, des polymères ou des composés complexes dont le poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (**Harborne., 1980**).

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

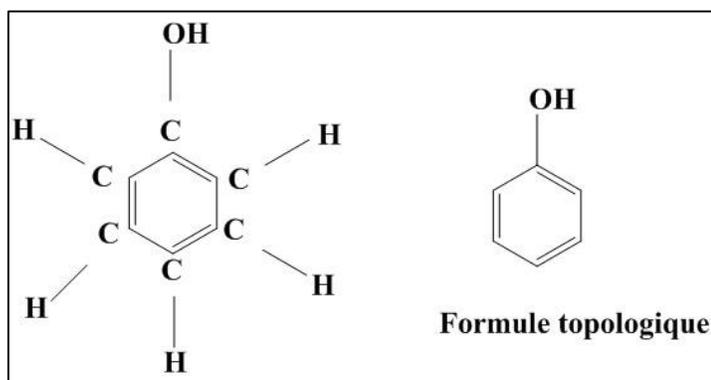


Figure 8 : Formule chimique brut d'une fonction phénol (C_6H_5OH).

II.2.1.2. Principaux groupes des polyphénols

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Hanasaki et al., 1994**).

Les principales classes de composants phénoliques sont : Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques) ; les flavonoïdes ; les tanins et lignines et plus rares les coumarines et les stilbènes.

Tableau 4 : classification des composés phénoliques (**Harborne et Simmonds., 1980**).

Squelette carboné	Classe
C_6	Phénols simples
C_6-C_1	Acides Hydroxybenzoïques Acides
C_6-C_3	Hydroxycinnamiques
C_6-C_4	Coumarines Naphthoquinones
$C_6-C_3C_6$	Flavonoïdes
$(C_6-C_3)_2$	Isoflavonoïdes Lignanes
$(C_6-C_3)_n$	Lignines
$(C_{15})_n$	Tanins condensés

II.2.1.2. 1. Les acides phénoliques simples (C₆-C₁ ou C₆-C₃)

Les acides phénoliques représentent la forme la plus simple des composés phénoliques, Ils sont solubles dans les solvants organiques, (Guignard., 2001).

Les acides phénoliques se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamique (Bruneton., 1999).

II.2.1.2. 1. A. Acides hydroxycinnamiques (C₆-C₃)

Ce sont des dérivés de l'acide cinnamique ont une structure générale de base de type (C₆-C₃), ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques (esters, amide, glucosides). (Harrar., 2012).

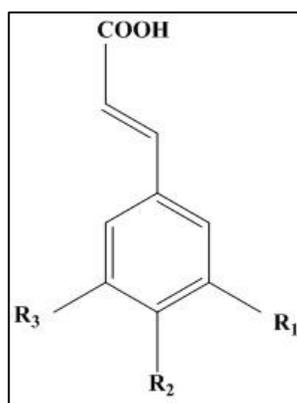


Figure 9 : Structure de base des acides hydroxycinnamique (Macheix et al., 2006)

Tableau 5 : dérivés de l'acide hydroxycinnamique (Macheix et al., 2006).

R ₁	R ₂	R ₃	Le nom du dérivé
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide p-coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH ₃	OH	H	Acide férulique
OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

II.2.1.2. 1.B. Acides hydroxybenzoïques (C₆-C₁)

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C₆-C₁), ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Harrar., 2012**).

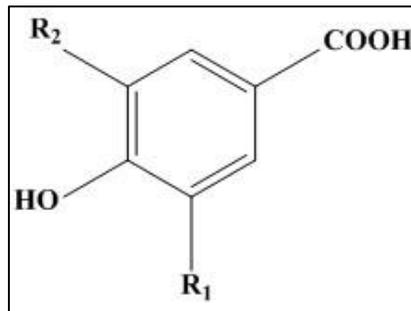


Figure 10 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques (**Macheix et al., 2006**).

Tableau 6 : dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (**Macheix et al., 2006**).

R ₁	R ₂	Le nom du dérivé
H	H	Acide p-hydroxybenzoïque
OH	H	Acide protocatéchique
OCH ₃	H	Acide svanillique
OH	OH	Acide gallique
OCH ₃	OCH ₃	Acide syringique

II.2.1.2. 2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires issus des plantes, occupant une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont des pigments végétaux jaune orangé (leur nom venant du mot latin flavus : jaune), responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ces composés sont des dérivés de la naringénine-chalcone, elle-même issue de la condensation de trois résidus malonyl-CoA avec une molécule d'acide cinnamique (**Bruneton., 1999**).

Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer

une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-allergiques, anti-inflammatoires (Van Acker et al., 1996).

II.2.1.2. 2. 1. Structures chimiques et classification

Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base ($C_6-C_3-C_6$), ils contiennent quinze atomes de carbone (C_{15}) dans leur structure de base : deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle, que désigne la lettre C (Boubakeri., 2014).

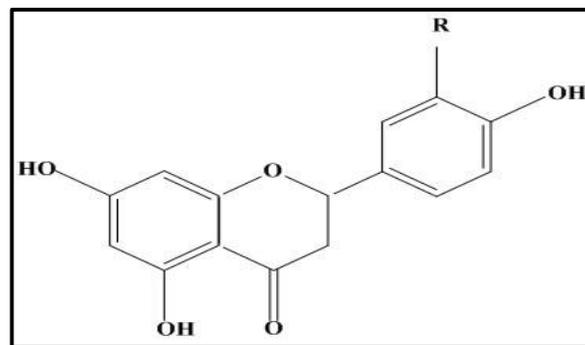
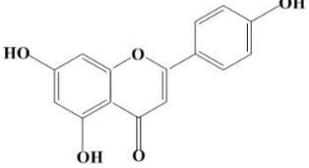
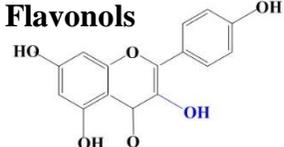
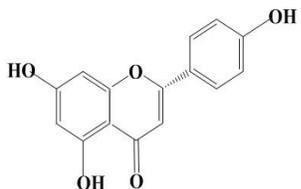
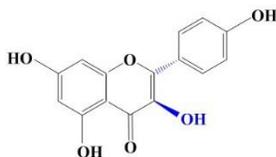
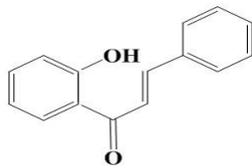


Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes (Boubakeri., 2014).

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité structurale selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (l'hétérocycle C) : alors que les composés individuels de chaque classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés) sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle central C. ils sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5' (Bruneton., 1993).

Tableau 7 : Principales classes des flavonoïdes (Zoughlache., 2008).

Les flavonoïdes	Exemple	Aliments	Les caractéristiques
Flavones 	L'apigénine, Lutéoline, Chryisine	Peau des fruits, Persil et céleri	Les flavonoïdes sont caractérisés par la présence d'une double liaison entre C ₂ et C ₃ , et L'existence d'hydroxyle en C ₃ dans les flavonols
Flavonols 	Quercétine Kaempférol Myricétin	Oignon, pomme, Olive et brocolis	
Flavonones 	Naringénine, Eriodictyol, Taxifoline	Poireau, radis, thé Noir, oignon, olive, brocolis, et vin rouge	Ces molécules sont Caractérisées par l'absence De double liaison entre C ₂ et C ₃ et par la présence de centre d'asymétrie
Dihydroflavonols 	Dihydrokaempférol	Fruits de genre <i>citrus</i>	La seule différence entre ces deux classes est la présence d'hydroxyle en C ₃ dans les dihydroflavonols
Anthocyanidols	Cyanidol, malvidol et apigénidol	Fraise, Raisin et framboise	
Chalcones 	Butéine, phlorétine	/	Les chalcones, dépourvues de l'hétérocycl central sont caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné, cétonique α, β-insaturé

II.2.1.2.3. Les tanins

Ce sont des composés phénoliques hydrosolubles, capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter (Silanikove *et al.*, 2001). Leur poids moléculaire est compris entre 5000 et 3000 Daltons (Bruneton., 2008).

Ils sont caractérisés par leur capacité antioxydante et leur propriété thérapeutique, ces molécules permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections, aussi traiter la diarrhée ou les irritations cutanées (Achille R., 1980).

II.2.1.2.3.1. Classification et structure chimique des Tannins

Les structures chimiques des Tannins sont variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes (Dahmani, 2013).

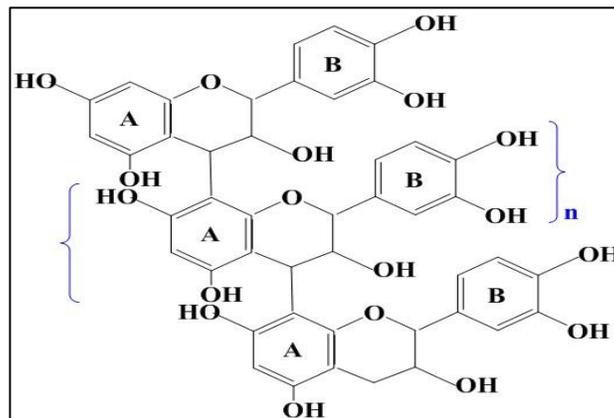


Figure 12 : Structure de base des tanins (Dahmani, 2013).

Toute classification chimique des tannins est forcément arbitraire. Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins :

- **Les Tannins hydrolysables**

Qui sont des oligoesters ou des polyesters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable d'acide phénol (acide gallique dans le cas des gallotanins soit l'acide éllagique dans le cas des tanins classiquement dénommés éllagitanins). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Bruneton, 2009).

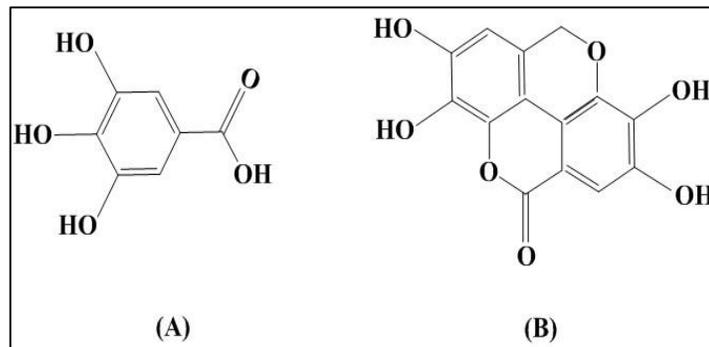


Figure 13 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B) (Bruneton, 2009).

- **Tanins condensés**

Ils sont désignés aussi sous le nom de « tannins catéchiques ». Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines) qui sont liées entre elles par des liaisons de type C-C ou C-O-C, ce qui rend difficilement hydrolysable sauf que dans des conditions fortement acides. Ces molécules difficilement hydrolysables tels que cyanidol et delphinidol ((Merghem., 2009).

Ces molécules se diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Bruneton, 2009).

II.2.1.2.4. Lignines

C'est un polymère naturel aromatique, elle est rattachée aux composés phénoliques en raison de sa structure chimique et des voies de biosynthèse qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes (Edeas *et al.*, 2007).

Ce sont les produits de la polymérisation de trois unités monomères phénoliques dérivées de l'alcool cinnamique (des monolignols), principalement l'alcool coniférylique, l'alcool sinapylique et l'alcool p-coumarylique (Privas., 2013). Ses principales fonctions sont de rendre la rigidité et l'imperméabilité des parois des cellules (Hopkins., 2003).

II.2.1.2.5. Les coumarines

Les coumarines sont des Substances naturelles aromatiques, constituent une classe des métabolites secondaires des plantes dérivés de C₆-C₃ d'acide cinnamique par cyclisation de la chaîne latérale de l'acide *o*-coumarique. (Harrar., 2012).

La coumarine est utilisée en parfumerie. Son odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé (Cowan., 1999).

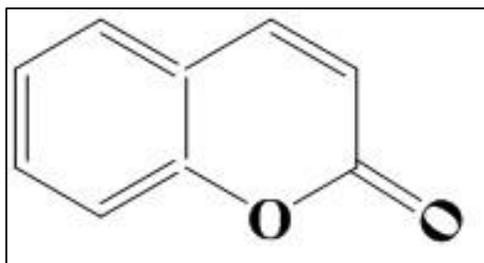


Figure 14 : Squelette de base des coumarines (Cowan., 1999).

II.2.1.3. Effets biologiques des polyphénols

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques tel que les coumarines, possèdent des propriétés anti-inflammatoires, ils se révèlent être des composés immunostimulants provoquent l'augmentation des lymphocytes T dans la circulation sanguine. (Stefanova *et al.*, 2007). D'autres, tel que les lignanes, possèdent des propriétés cytostatiques. Alors que Les flavonoïdes, une vaste famille de composés phénoliques, protègent les tissus contre les rayons UV grâce à leurs activités antioxydantes et anti-tumorales (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

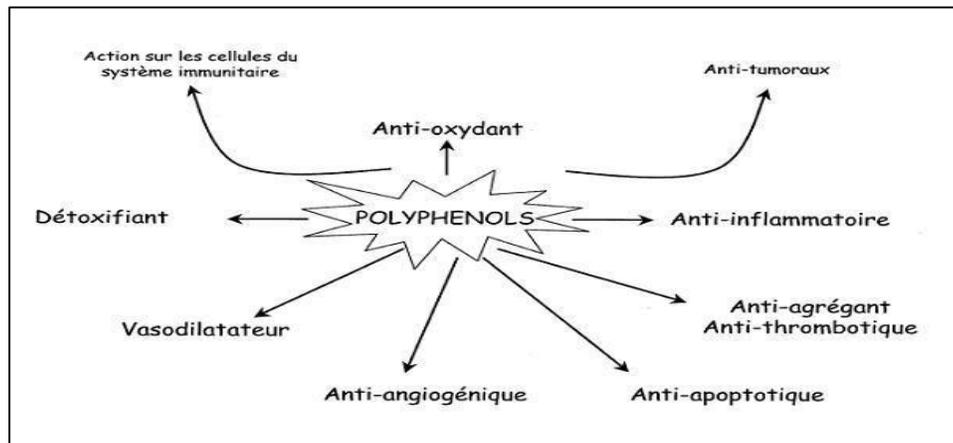


Figure 15 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.2.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine naturelle, provenant essentiellement des plantes. Leurs caractéristiques communes sont la présence d'au moins un atome d'azote et leur forte activité biologique. L'atome d'azote accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution, d'où leur nom **d'alcaloïde**. (Zenk et Juenger., 2007).

II. 2.2.1. Classification et Structure chimique

La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position d'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en déclenchent (Hesse, 2002).

Dans la nature On distingue trois classes d'alcaloïdes :

- **Alcaloïdes vrais** : Ils sont formés à partir des acides aminés, inclus l'azote dans un hétérocycle, on les trouve sous forme de sels. (Bruneton, 1999).
- **Pseudo-alcaloïdes** : Ils possèdent les mêmes caractéristiques de celle des vrais alcaloïdes, mais ils ne sont pas formés à partir des acides aminés. (Bruneton, 1999).
- **Proto-alcaloïdes** : Ce sont des amines simples qui n'incluent pas de l'azote intra-cyclique (Guignard., 2000).

II.2.2.2. Effets biologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont plusieurs applications pharmaceutiques chez l'Homme et leurs propriétés sont généralement variées et dépendent de leurs composantes chimiques par exemple :

- Action sur le système nerveux central comme anti-dépresseur : (Codéine, Morphine).
- Action sur les vaisseaux « hypertenseur » : (Hydrastine).
- Action sur la circulation sanguine et améliore la circulation cérébrale : (Vincamine).
- Action antitumoral : (Vinblastine).
- Action antibiotique, antiparasitaire, anti-inflammatoires, anti-malaria et un rôle dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (Chenni., 2010 ; Badiaga., 2011).

II.2.3. Les composés terpéniques

Tous les terpènes et les stéroïdes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées de l'isopentényl-pyrophosphate (Bruneton., 2009).

II.2.3.1. Les terpenoïdes

Les terpènes sont des métabolites secondaires issus de la condensation d'un nombre entier d'unité isoprène (C_5H_8)_n (Merghem., 2009). Les principaux terpènes sont les monoterpènes et les sesquiterpènes, les hémiterpènes, diterpènes, triterpènes et tétraterpènes. Un terpène contenant de l'oxygène est appelé terpenoïde appelé aussi isoprénoïdes (Bakkali et al., 2008).

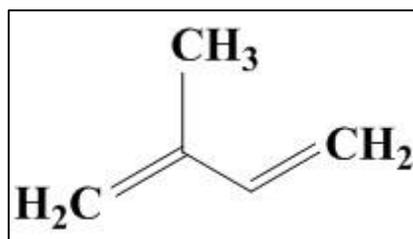


Figure 16 : Structure chimique d'isoprène (Khenaka., 2011).

II.2.3.1.1. Classification des terpénoïdes

Plus de 22 000 molécules ont été découvertes (**Connoly et Hill, 1992**), selon le nombre de répétition de l'unité de base isoprène on distingue : Hémiterpènes (C_5), les monoterpènes ou terpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}), Tetraterpènes (C_{40}) et les polyterpènes (C_{4000}) (**Hopkins W. G., 2003**).

- **Hémiterpènes**

Ce sont les plus simple terpénoïdes, l'isoprène est l'hémiterpène le plus important, il est émis par les feuilles de nombreux arbres comme les conifères, les peupliers, les chênes et les saules on le trouve aussi dans les herbes comme Hamamelis japonica. (**Croteau et Johnsos., 1985**).

- **Les monoterpènes (terpènes)**

Ces composés sont constitués d'un squelette à 10 atomes de carbone, Ils contiennent deux unités d'isoprène. Les monoterpènes ou terpènes proprement dit, sont subdivisées en trois catégories selon leurs structures : les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un seul cycle (monocyclique) et ceux avec deux cycles (bicycliques) (**Singh G., 2007**).

- **Les Sesquiterpène**

Le terme « sesqui » est un mot latin signifie une fois et demie. Les sesquiterpènes sont constitués d'une molécule et demie des vrais terpènes, leur formule $C_{15}H_{24}$ (**Merghem., 2009**).

Cette classe contient plus de 3000 molécules et se divisent en sous classes selon leurs structures : les sesquiterpènes acyclique, monocyclique, bicyclique et tricyclique (**Loomis et Croteau, 1980**).

- **Les diterpènes**

Ce sont des dérivés des hydrocarbures de formule ($C_{20}H_{32}$) (**Merghem., 2009**). Ils sont constitués d'un groupe de composés chimiquement hétérogènes possédant tous un squelette de carbone C_{20} (**Lanzotti., 2013**), Ils sont composés de quatre unités d'isoprène (**Chemat et al., 2007**).

Les diterpènes sont classés en diterpènes linéaires, bicycliques, tricycliques, tétracycliques, pentacycliques ou macrocycliques en fonction de leur noyau squelettique (**Lanzotti.,2013**).

- **Les triterpènes**

Des substances en C₃₀, elles résultent de la fusion tête-à-tête de deux molécules de farnésyl-pyrophosphate (**Robinson, 1975**). Ils peuvent être aliphatique, tétracyclique ou pentacyclique (**Roland J.C et F, 2001**). On les trouve dans les plantes à l'état libre (phytostérol), estérifiés ou hétérosidiques (saponosides) (**Merghem., 2009**).

- **Les Tetraterpènes**

Autrement dit « les caroténoïdes », dérivés du carotène extrait de la racine de la carotte, ce sont des substances colorées en jaune, orange ou rouge (**Merghem., 2009**).

- **Les polyterpènes**

Des composés macromoléculaires qui se composent de plus de huit unités d'isoprène, ce sont des hydrocarbures isoprénoïdes polymériques de 500 à 5000 unités isopréniques sous forme Cis (dans caoutchouc indien) ou Trans (dans gutta-percha) (**Merghem., 2009**).

Tableau 8 : Quelques exemples des différents types de terpenoïdes (**Belbache., 2003**).

N	Squelette carboné	Type de terpenoïdes	Exemple demolécule
1	C5	Hemiterpene	Isoprène
2	C10	Monoterpène	Menthol
3	C15	Sesquiterpène	Linalol
4	C20	Diterpène	Sclaréol, phytol
6	C30	Triterpène	Acide oléanolique
8	C40	Tetraterpène	B-carotène
> 8	> C40	Polyterpène	Caoutchouc

II.2.3.2. Les stéroïdes

Ce sont des composés issus de la biodégradation de triterpènes C₃₀, ces composés sont très abondants dans la nature notamment chez les végétaux et les animaux (**Bruneton., 1993**).

III. Stress oxydant et les activités biologiques

III.1. stress oxydant et Les radicaux libres

III.1.1. stress oxydant

Le stress oxydatif représente l'incapacité de l'organisme de se défendre contre l'agression des radicaux libres oxygénés (**Koechiin., 2006**). Il a été dit que « une perturbation des systèmes pro-oxydants/antioxydants en faveur du premier peut être considérée comme un stress oxydatif » (**Davies., 2000**). Il résulte soit d'une diminution des antioxydants ou d'une augmentation de production des radicaux libres (**Favier., 2003**).

III.1.2. Les radicaux libres

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

Les radicaux libres peuvent être considérés comme un sous-ensemble d'espèces réactives de l'oxygène (O) ou de l'azote (N) (**Henry et al., 2002**).

III.1.3. Les espèces réactives d'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène sont de petites molécules dérivées des molécules d'oxygène (**Bedard K et Krause KH., 2007**).

Les espèces réactive d'oxygène (ERO) ; est un terme collectif utilisé pour un groupe d'oxydants, qui sont soit des radicaux libres, soit des espèces moléculaires non radicalaires facilement transformés en radicaux libres (dérivés primaires non radicalaires) (**Kunwar et Priyadarsini., 2011**).

III.1.3.1. Différents Types d'espèce réactive d'oxygène (ERO)

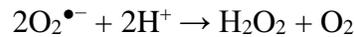
III.1.3.1.1. Dérivés primaires de l'oxygène

a. Les espèces réactives d'oxygène non-radicalaires

Ce sont des molécules d'oxygène non radicalaires qui sont dans un état excité (**Masaki, 2010**).

- **Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂**

Le peroxyde d'hydrogène est une molécule neutre moins réactif que certains autres espèces réactives, elle est stable dans le pH et la température physiologique en absence des ions métalliques (**Salman., 2013**). Il se forme par dismutation de l'anion superoxyde O₂^{•-} sous l'action d'une enzyme : le superoxyde dismutase (SOD) :



SOD

Il peut générer des radicaux hydroxyles HO[•] en présence de cations métalliques tels que Fe²⁺ et de Cu⁺. (**Salman KA., 2013**).

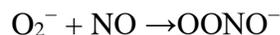
- **L'oxygène singulet •O₂**

L'oxygène singulet est plutôt doux et non toxique pour les tissus des mammifères, il est formé lors des réactions chimiques (**Salman KA., 2013**). Il est à la fois un signal et une arme à pouvoir thérapeutique contre divers agents pathogènes tels que les microbes, les virus et les cellules cancéreuses (**Foote N., 1985**).

- **Le peroxyde ONOO**

Au pH physiologique, ONOO⁻ est un oxydant plus puissant que O₂⁻ ou NO, et il oxyde les lipides, les protéines, les acides aminés nitrés et l'ADN. (**Barbusiński, K., 2009**).

Le peroxyde comme biomarqueur potentiel des cancers associés à l'inflammation et un produit formé par une réaction entre le radical NO et l'anion superoxyde, provoque des dommages à l'ADN (**Salman., 2013**).



b. Les radicaux libres oxygénés

- **Le radical hydroxyle HO[•]**

Le radical hydroxyle (•OH) est le plus réactif et le plus dangereux, peut être formé à partir de l'anion superoxyde et de H₂O₂ en présence d'ions métalliques (**Lee, J., 2004**).

L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

La chaîne de transport d'électrons est responsable de la majeure partie de la génération de l'anion superoxyde par réduction partielle de l'oxygène (**Han et al., 2001**).

- **Le radical hydroperoxyde HO_2^{\bullet}**

C'est la forme protonée de l'anion superoxyde (**Hool. L.C., 2006**).

- **Le monoxyde d'azote ou oxyde nitrique NO^{\bullet}**

L'oxyde nitrique une molécule lipophile non chargée, c'est un neurotransmetteur et un régulateur de la pression sanguine, et il peut produire de puissants oxydants pendant états pathologiques. Cette molécule est impliquée dans la reperfusion de l'ischémie, et les maladies neuro- dégénératives et inflammatoires chroniques (**Salman., 2013**).

L'oxyde nitrique est généré lors de la décomposition de l'arginine en citrulline par une famille d'enzymes appelée synthase de l'oxyde nitrique (**Bolisetty., 2013**).

III.1.3.1.2. Dérivés secondaires de l'oxygène

Ces radicaux se forment par réaction des radicaux primaires (dérivés primaire de l'oxygène) avec certains composés biochimiques de la cellule.

- **Le radical peroxyde RO_2^{\bullet}**

C'est un radical très réactif avec la plupart des molécules, il est impliqué notamment dans la propagation de l'oxydation des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires. (**Gulcin., 2020**).

III.1.4. Les principales sources des radicaux libres

III.1.4.1. Les Sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables d'induire la synthèse des radicaux libres parmi ces agents citant Les rayonnements UV , pollution de l'air et de l'eau, Des médicaments tels que (l'Halothene, le Paracetamol, la Bleomycine, la Doxorubicine, Métrenidazole, éthanol), Pesticides, Température élevée , Le tabac , Solvants industriels et Cuisson à l'alcool (viande fumée, huile usagée, graisse) qui sont capable de donner naissance au radicaux libres (**Pham-Huy et al., 2008**) .

III.1.4.2. Les Sources endogènes

- **Chaîne respiratoire mitochondriale**

En effet, les cellules aérobies apportent leur énergie principalement par la respiration oxydative. Au niveau de la chaîne respiratoire située dans la membrane interne de la mitochondrie, les coenzymes réduites (FADH₂, NADH et NADPH) vont fournir les électrons et les protons nécessaires pour la synthèse de l'ATP libérant ainsi une molécule d'eau H₂O.



Cette réduction de l'oxygène en H₂O nécessite l'apport de 4 électrons qui peuvent s'additionner un par un, successivement sur O₂, en produisant aux intermédiaires les espèces oxygénées suivantes l'O₂^{•-}, H₂O₂ et [•]OH (Gardès et al., 2003) ainsi l'oxygène singulet et surtout l'anion O₂^{•-} qui ont résultent de la réduction incomplète de l'O₂ (Milane., 2004 ; Haton., 2005 ; Borg et Reeber., 2008).

Ces espèces oxygénées issue de la réduction incomplète de l'O₂ peuvent exercer des effets délétères si sont libéré dans un milieu dépourvu de protons (Milane, 2004 ; Favier, 2003).

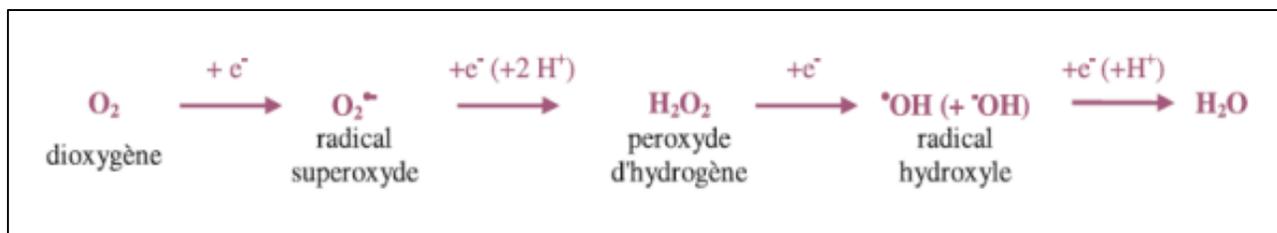


Figure 17 : Réduction de l'oxygène en eau (H₂O) (Gardès et al., 2003).

- **Réticulum endoplasmique**

Les enzymes du réticulum endoplasmique telles que les enzymes cytochromiques et la diamine oxydase contribuent à la formation des espèces réactifs de l'oxygène (Cheeseman et Slater., 1993), ainsi la thiol oxydase qui catalyse le transfert d'électrons des dithiols vers l'oxygène moléculaire, ce qui entraîne la formation de H₂O₂ (Gross., 2006).

- **Les peroxysomes**

Les différentes enzymes peroxysomales telles que les acyl CoA oxydases, la D-aminoacide oxydase, la L-a-hydroxy oxydase, l'urate oxydase, xanthine oxydase, D-aspartate oxydase

produisent différents espèces réactives d'oxygène parmi eu l' H_2O_2 et $\text{O}_2^{\bullet-}$ (Schrader et Fahimi., 2006).

III.1.5. Mécanisme d'action des radicaux libre

Les espèces réactives oxygénées peuvent induire beaucoup de dommages dont les quels on cite la peroxydation des lipides, l'oxydation des protéines, et les mutations de l'ADN.

Mis è part de leur rôle cytotoxique dans la cellule, les radicaux superoxydes jouent aussi le rôle d'un second messenger au niveau des mécanismes de signalisation cellulaire, ils interviennent ainsi dans le mécanisme de l'apoptose, la prolifération des cellules vasculaires, agrégation plaquettaire et l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales (Gardès-Albert et al., 2003).

Le stress oxydant, principale cause de plusieurs pathologies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire. Il est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels que le diabète, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Montagnier et al., 1998).

III.1.6. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher L'oxydation des substrats biologiques (Boyd et al., 2003). C'est une molécule qui réagit et neutralise les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres. (Mates et al., 1999). Elle est présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable (Conforti et al.,2008).

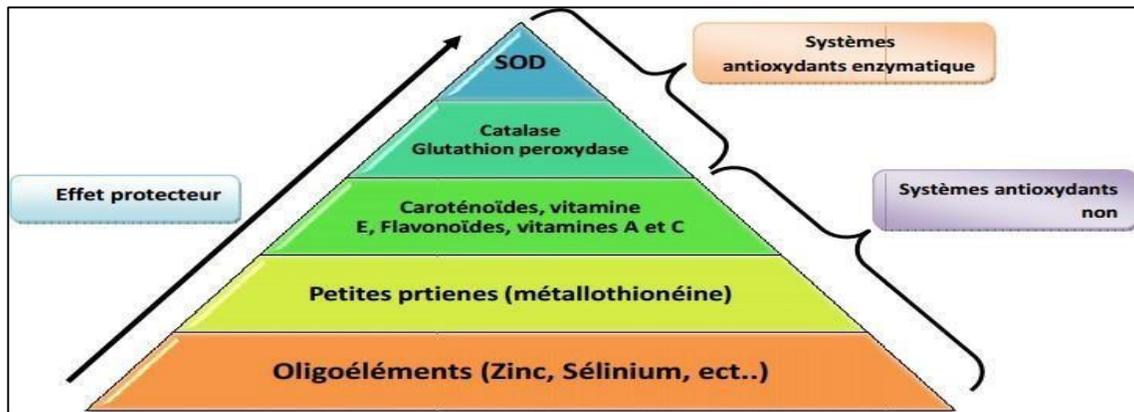


Figure 18 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants.

III.1.6.1. Antioxydants enzymatiques

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme, ils sont considérés comme la première ligne de défense contre les différents espèces oxydants (Garait., 2006). Leur rôle principal est de diminuer la quantité de l'espèce oxydante dans la cellule. Parfois ces enzymes nécessitent des cofacteurs comme les oligoéléments (Zn, Cu, Mn, Se, Fe) pour exercer leur activité enzymatique (Halliwell B., 1994).

- **Le superoxyde dismutase (SOD)** est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation des ions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) (point de départ de la chaîne de production des radicaux libres) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et oxygène (O_2) (Sánchez et al., 2002).
- **La catalase** est une enzyme qui transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) présent à haute concentration en dioxygène (O_2) et en molécules d'eau (H_2O) (Menvielle-Bourg., 2005).
- **La glutathion peroxydase (GPx)** détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques formés par l'oxydation des acides gras insaturés présentent à haute concentration en H_2O et O_2 (Youdim K., et al., 2002).

III.1.6.2. Antioxydants non-enzymatiques (naturels)

Certaines substances ingérées sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ils sont d'origine végétale pour la plupart ; les plus connus sont la vitamine E, la vitamine C, le β -carotène et les polyphénols (**Berger., 2005**).

- **Acide ascorbique** (Vitamine C) est un antioxydant hydrosoluble, il est connu pour son rôle protecteur contre l'oxydation membranaire (**Yamamura., et al. 1998**).
- **Tocophérol** (Vitamine E) est un antioxydant liposoluble, il est connu pour son rôle protecteur contre l'oxydation des structures membranaires et des lipoprotéines. L' α -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E (**Rose et Bode., 1993**).
- **Les caroténoïdes** sont des pigments orangés ou jaunes de nature liposolubles, ils appartiennent à la famille chimique des terpénoïdes. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de neutraliser les radicaux $ROO\bullet$, $HO\bullet$, $O_2\bullet$ - (**Valko et al., 2006**).
- **Les composés phénoliques: essentiellement**
 - Les flavonoïdes sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. (**Justine., 2005**).
 - Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Bougandoura et al., 2011**).
 - Les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles (**Djemoui., 2012**).

III.2. Les activités biologiques

III.2.1. Activité antioxydante

III.2.1.1. Les tests de capacité antioxydante totale

Les tests de capacité antioxydante peuvent être classés de manière générale comme des tests basés sur le transfert d'électrons (TE) et le transfert d'atomes d'hydrogène (TAH).

- **Transfert d'atome d'hydrogène**

Transfert d'atome d'hydrogène les mécanismes de l'action antioxydante de la THA dans lesquels l'atome d'hydrogène (H) d'un phénol (Ar-OH) est transféré à un radical ROO• peuvent être résumés par la réaction suivante : $\text{ROO}\bullet + \text{AH/ArOH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{A}\bullet/\text{ArO}\bullet$

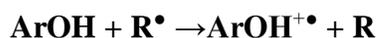
Donc les espèces AH et ArOH désignent respectivement les biomolécules protégées et les antioxydants phénoliques.

Le radical aryloxy (ArO⁻) formé par la réaction du phénol antioxydant avec le peroxyde est stabilisé par résonance.

Les antioxydants phénoliques efficaces doivent réagir plus rapidement que les biomolécules avec les radicaux libres pour protéger ces derniers de l'oxydation.

- **Transfert d'un seul électron :**

Dans ce mécanisme, un électron est transféré au radical libre R•. L'anion et le cation radical ArOH⁺• ainsi formés sont généralement des entités stables



- **Mode mixte TAH/TE**

Tous les tests d'évaluation de la capacité antioxydant ne peuvent pas être clairement classés dans un mécanisme basé sur le transfert d'un seul électron ou transfert d'atome d'hydrogène. En fait, certains tests utilisent les deux modes. Ces essais en mode mixte sont généralement basés sur le piégeage d'un chromophore radical stable ou fluorophore par des antioxydants, dans lesquels les mécanismes de TAH, TE et le transfert d'électrons couplés aux protons (TECP) peuvent jouer des rôles différents à des degrés divers en fonction des conditions de réaction correspondantes. (John et Sons Ltd., 2018).

III.2.1.2. Quelques méthodes de dosage des antioxydants

- **Piégeage du radical libre DPPH•**

L'effet scavenger du radical DPPH est mesuré selon la méthode de (Brand-Williams et al., 1995)

- **Principe**

L'activité antioxydant a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), de formule brute (C₁₈H₁₂N₅O₆) le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert du radical H sur le DPPH• (à une couleur

mauve dû à la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPH-H de couleur jaune.

La réduction du DPPH[•] en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH[•], mesurable par spectrophotométrie de 515-518 nm. (Popovici et al., 2010).

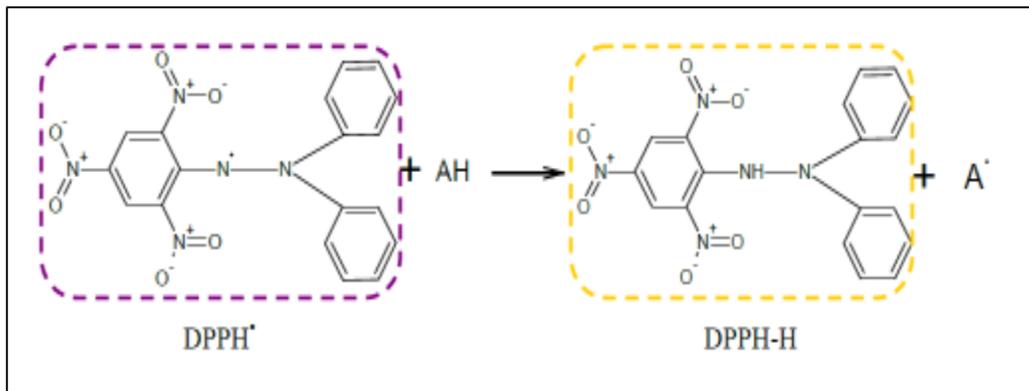


Figure 19 : Réduction du radical DPPH[•]

Le pourcentage de piégeage des radicaux DPPH est calculé à l'aide de l'équation suivante :

Abr : l'absorbance avant la réaction

Aar : l'absorbance après que la réaction

- **Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (FRAP)**

- **Principe**

Cette technique correspond à la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants (AH) à la présence du ligand tripirydyltrizine (TPTZ) qui forme un complexe avec le fer ferreux (Fe^{2+}) (John et Sons Ltd., 2018).

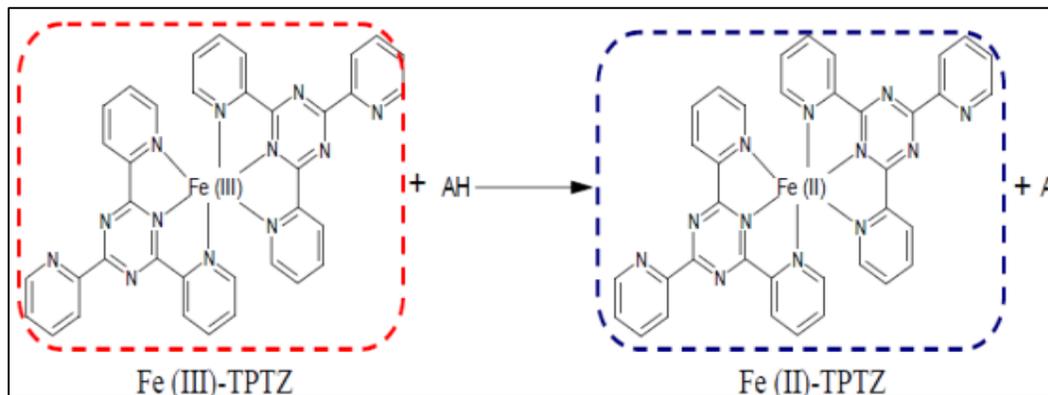


Figure 20 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP (Thomas, 2011).

La réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense avec un maximum d'absorption à 593 nm. Les valeurs obtenues sont comparées avec l'absorption d'un témoin qui est usuellement l'acide ascorbique (Benzie et Strain., 1996 ; Pulido et al., 2000).

- **Capacité antioxydants équivalente de trolox (TEAC)**

- **Principe**

La méthode TEAC est un test de décoloration basé sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical-cation ABTS^{•+} de couleur vert bleu, comparativement à un antioxydant de référence, le Trolox (l'analogue hydrophile de la vitamine E) (Pellegrini et al., 2003). La décoloration de l'ABTS est mesurée à 734 nm). La valeur TEAC correspond à la concentration (mmol/l ou mg/l) de Trolox ayant la même activité que la concentration unitaire du composé à tester (Marc et al., 2004).

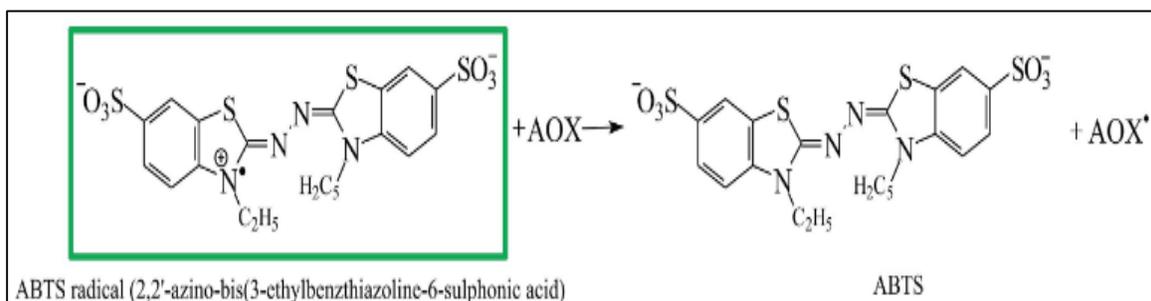


Figure 21 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test TEAC (Becker et al., 2019).

III.2.2. Activité anti- diabétique

III.2.2. 1. Le diabète

Le diabète est une pathologie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résulte soit d'un dysfonctionnement des cellules β des îlots de Langerhans, sécrétrices de l'insuline, ou une mauvaise assimilation de cette dernière par les tissus périphériques (l'insulinorésistance) (Wens et al., 2005).

Il existe essentiellement 3 types de diabète : le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel. Cependant, il y a d'autres types de diabète sont regroupés sous la catégorie « autres types spécifiques de diabète ».

- **Diabète de type I**

Le diabète type I, également appelé diabète insulino-dépendant ou autrefois, diabète juvénile, est un état d'hyperglycémie chronique dû à une destruction auto-immune de pancréas endocrine dont les îlots de Langerhans ne secrète plus d'insuline (Calop et al., 2008). Cette maladie peut toucher les personnes de tout âge mais affecte surtout les enfants, l'adolescent, et aussi les jeunes adultes (<40ans), il concerne 10% des diabétiques (Gille Côté et al., 2013).

- **Diabète de type II**

Le diabète de type II, autrefois dit non insulino-dépendant ou diabète d'âge mûr, il survient généralement chez les sujets d'âge mûr et très majoritairement en surpoids (plus de 40 ans), cette maladie représente presque 90% des cas de diabète au monde (Portha., 2003). C'est une pathologie métabolique glucidique, protéique et lipidique, caractérisée par une hyperglycémie chronique dû à une diminution de la sensibilité à l'insuline au niveau des tissus cibles comme le foie le muscle et le tissu adipeux, et d'une diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules pancréatiques (Cheng et al., 2009).

- **Diabète gestationne**

C'est une forme de diabète caractérisée par une hyperglycémie chez la femme pendant la période de grossesse, ce trouble métabolique de gravité modérée apparaissant en fin de grossesse en relation avec une résistance à l'insuline augmentée et/ou déficit de sécrétion d'insuline et qui disparaît dans le postpartum (Lesluyes et Vialettes, 1996).

III.2.2.2. Diabète et les plantes médicinales

Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leur permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, elles ont une action hypoglycémiant, dont le mécanisme diffère ainsi que le principe actif responsable. Parmi les constituants des plantes ayant une activité hypoglycémiant, on trouve les peptides, les alcaloïdes, les stéroïdes, les flavonoïdes, les phénols, les coumarines, les ions inorganiques et les guanidines (**Jarald et al., 2008**).

Dans des travaux récents publiés, l'action des polyphénols, sur le métabolisme du glucose s'explique à trois niveaux, diminution de l'absorption intestinale du glucose, meilleure sensibilité des récepteurs du pancréas au glucose et meilleure absorption du glucose par les tissus périphériques (**Kumar et al., 2011**). En effet, les composés phénoliques sont doués d'une activité inhibitrice des enzymes hydrolysant les glucides, telles que l' α -amylase et l' α -glucosidase, (**Sales et al., 2012**).

Donc L'aptitude d'un médicament à base de plantes à retarder la production ou l'absorption intestinale du glucose en inhibant les enzymes hydrolysant les glucides, est l'une des approches thérapeutiques permettant de réduire la glycémie et améliorer le diabète de type II (**Tiwari et Rao., 2002**).

III.2.3. Activité cardioprotectrice

III.2.3.1. Cardiotoxicité de la doxorubicine

- **Cardiotoxicité**

La cardiotoxicité est l'apparition d'une lésion cardiaque ou par un dysfonctionnement électrophysiologique du cœur causé par un traitement chimio-thérapeutique (comme la doxorubicine), taux élevé des métaux lourds ou par des complications de l'anorexie mentale, cela va empêcher le cœur de faire pomper le sang dans le corps. (**Volkova, M., & Russell, R. 2012**)

- **la doxorubicine**

La doxorubicine (ou adriamycine) est un médicament antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines elle est extraite par actinobactéries mutantes de genre *Streptomyces Peucetius var. caesioides* elle est caractérisée par une couleur rouge dû à son suffixe rubicine.

Malgré sa cardiotoxicité élevée la doxorubicine est considérée comme l'un des agents chimiothérapeutiques efficaces du cancer y compris les leucémies, les lymphomes (maladie de Hodgkin) et les tumeurs solides (cancer du sein et de l'ovaire, sarcomes osseux et tissulaires et neuroblastomes) (Kara., 2018).

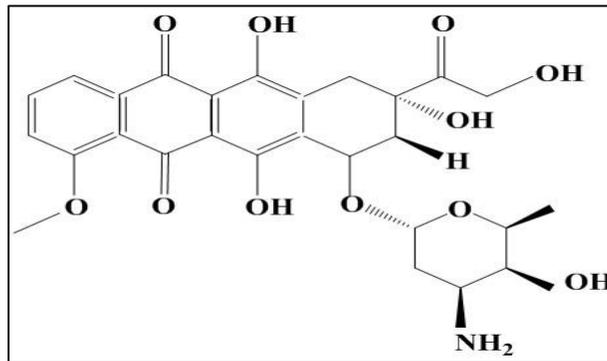


Figure 22 : Structure chimique de la doxorubicine.

III.2.3.2. Types de cardiotoxicité

Il existe deux types de cardiotoxicité chimiothérapeutique. La première ; cardiotoxicité de type (I) est causée par la mort de cardiomyocytes, soit par nécrose, soit l'apoptose et, par conséquent, n'est pas réversible. La deuxième ; cardiotoxicité de type (II) est due à un dysfonctionnement des cardiomyocytes plutôt qu'à une mort et peut donc être réversible (Volkova et Russell., 2012).

III.2.3.3. Mécanisme de cardiotoxicité par la doxorubicine

Les principaux mécanismes retrouvés sont représentés par :

- Production de radicaux libres:
 - Par voie enzymatique.
 - Par La voie dépendante des ions ferriques.
- Perturbation de l'homéostasie calcique.
- Modification de l'expression de certains gènes dans les cardiomyocytes.
- Induction de la mort cellulaire programmée (Kara., 2018).

III.2.3.4. Evaluation des lésions cardiaques induites par la doxorubicine

La lésion cardiaque dû à la toxicité par la doxorubicine est évalué par l'augmentation des marqueurs biologiques dans le sang ainsi par des anomalies anatomopathologique dans le tissu cardiaque

- **Les marqueurs biologiques de la cardiotoxicité de la doxorubicine**

La lésion cardiaque dû à la toxicité par la doxorubicine entraine la libération de certain enzyme dans la circulation sanguine, l'aspartate aminotransférase (ASAT ou TGO), alanine aminotransférase (ALAT) et la créatine phosphokinase (CPK ou CK). Ainsi la libération de certaines protéines telles que la troponine, la myoglobine et la copeptine. De nouveaux marqueurs sont aussi un signe précoce d'agression myocardique, qui sont les peptides natriurétiques ; le peptide natriurétique atrial (ANP), peptide natriurétique de type B (BNP) et (NT-pro BNP) (Kara., 2018).

Les anomalies histologiques cardiaques induites par la doxorubicine :

L'observation des anomalies histologiques cardiaques induites par la doxorubicine ce fait par une technique de biopsie endomyocardique (BEM) du ventricule droit.

L'administration de la DOX entraîne des lésions au niveau des cardiomyocytes et du tissu interstitiel cardiaque. Macroscopiquement, le cœur endommagé par le DOX est flasque et ses ventricules sont souvent dilatés avec remaniements importants de la matrice extracellulaire : raréfaction, voir disparition du réseau fibreux périmyocyttaire, remplacé par des plaques de tissu fibreux cicatriciel dense.

Macroscopiquement, l'examen montre des anomalies quantitatives et qualitatives dans les cardiomyocytes qui apparaissent petits, rétractés avec un cytoplasme présentant une accumulation lipidique, des lysosomes nombreux, une perte myofibrillaire et un aspect vacuolaire par dilatation du réticulum sarcoplasmique. Puis une raréfaction de leur citernes terminales et parfois sa disparition complète, ensuite un œdème mitochondriale qui sont alors surchargées en dépôts calciques avec épaissement de ces membranes, une dégénérescence nucléaire suivis de perte de myofibrilles puis installation d'une fibrose conduisant à la mort cellulaire (Kara., 2018).

*Prestation des études
phytochimiques et activités
biologiques de feuilles du
Moringa
oleifera*

I. Étude phytochimique de la plante

1.1. Extraction des métabolites secondaires

L'extraction du matériel végétal par macération a pour but de faire diffuser dans la phase liquide les composés phénoliques présents, en utilisant des solvants organiques sélectifs qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction (Ryan *et al.*, 2002).

Selon Siddhuraju et Becker (2003), le méthanol et l'éthanol sont les meilleurs solvants pour extraire les composés antioxydants des feuilles de *Moringa oleifera*. Ils donnent un meilleur rendement d'extraction qui dépasse celui obtenu avec l'eau de sept fois.

Le rendement d'extraction désigne le pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction, il permet de comparer la capacité des solvants à extraire les molécules (Abe *et al.*, 2010). La valeur du rendement peut être liée au type (la polarité) du solvant utilisé dans l'extraction, puisque la polarité des solvants utilisés est influencée par la solubilité différentielle des différents composés phénoliques et d'autres métabolites secondaires contenus dans les extraits de plantes (Garciasalas *et al.*, 2010). Mais il y a également d'autres paramètres qui peuvent attribuer cette différence telle que : le pH, la structure, la température du milieu et le temps d'extraction (Quy Diem Do *et al.*, 2014).

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la masse de matière sèche selon la formule suivante :

$$R (\%) = [M_1 / M_0] \times 100$$

R % : Rendement des extraits exprimée en g /100g de matière sèche

M₁ : la masse de l'extrait récupérée exprimée en g

M₀ : la masse de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g

I.2. Analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes

I.2.1. Quantification des polyphénols totaux (TPC)

Le choix de quantifier les polyphénols parmi les différentes substances phytochimiques, résulte du fait que les polyphénols ont des activités biologiques très importantes (Garcia *et al.*, 2010).

D'après (Gulcin., 2020) la teneur en polyphénols totaux dans les extraits des plantes médicinales s'estime par la méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu qui repose sur le transfert d'électrons des composés phénoliques vers le réactif Folin-Ciocalteu dans un milieu alcalin. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Sa réduction lors de l'oxydation des phénols dans des conditions alcalines forme un complexe bleu d'oxydes de tungstène et de molybdène, dont l'absorption est maximale au voisinage de 765 nm et proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

La quantification des polyphénols totaux a été faite par (Mwamatope et al., 2020) à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire, en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g⁻¹ MS), puis Mwamatope et ces collaborateurs ont comparé la teneur en phénols de l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* avec celles des extraits méthanoliques des feuilles des autres plantes médicinales *Senna singueana*, *Melia azedarach* et *Lannea discolor*. Les résultats sont présentés dans la (Figure 23)

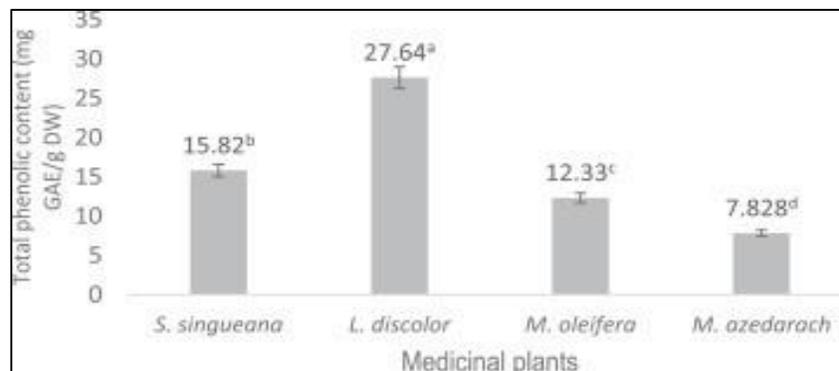


Figure 23 : Contenu phénolique total des plantes médicinales en (mg EAG g⁻¹ MS) (Mwamatope et al., 2020).

◇ Les valeurs suivies de différente lettre révèlent une différence significatif élevé ($p < 0.05$)

L'analyse statistique de Mwamatope montre une variabilité significative des teneurs en phénols totaux de $7,828 \pm 0,05$ mg GAE/g⁻¹ MS à $27,64 \pm 0,09$ mg GAE/g⁻¹MS ($p < 0,05$).

L. discolor représentait la teneur la plus élevée en composés phénoliques tandis que *M. azedarach* a montré la plus basse valeur. La variation des valeurs de TPC a augmenté dans l'ordre suivant :

$$L. discolor > S. singueana > M. oleifera > M. azedarach$$

La teneur en phénols totaux de feuilles de *Moringa oleifera* est de 12,33 mg EAG g⁻¹ MS, cette valeur a été comparée avec celles rapportées par d'autres chercheurs comme (**Charoensin., 2014**) qui a trouvé 216,45 mg EAG g⁻¹ MS ; une valeur très élevée par rapport à la valeur trouvée par **Mwamatope, B** et ces collaborateurs.

Plusieurs études ont montré que les feuilles de *Moringa oleifera* sont très riches en polyphénols, parmi ces travaux, l'étude réalisée par (**Charoensin., 2014**) qui avait pour but de quantifier les polyphénols et les flavonoïdes présents dans l'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera*. **Charoensin (2014)** a trouvé une teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* de 216,45 mg EAG/g⁻¹MS (**Tableau 9**) ; tandis que (**Vyas et al., 2015**) ont trouvé 144,7738 mg EAG/g⁻¹MS (**Tableau 10**) ; une valeur moins élevée par rapport à la valeur rapportée par (**Charoensin., 2014**).

Tableau 9 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux d'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* (**Charoensin., 2014**).

<i>Moringa oleifera</i>	Polyphénols totaux (mg EAG/g ⁻¹ MS)	flavonoïdes totaux (mg EQ/g ⁻¹ MS)
Extrait méthanolique	216,45 ± 4,64	65,38 ± 2,37

Tableau 10 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux d'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* (**Vyas et al, 2015**).

<i>Moringa oleifera</i>	Polyphénols totaux (mg EAG/g ⁻¹ MS)	flavonoïdes totaux (mg EQ/g ⁻¹ MS)
Extrait méthanolique	144,7738 ± 3,64	57,64 ± 1,64

Mwamatope et al (2020) ont montré que les variations des concentrations de composés phénoliques dans les espèces végétales pourraient être dues à plusieurs raisons, citant la présence

d'autres métabolites secondaires à des concentrations différentes et à d'autres facteurs, tels que la maturité des plantes et les génotypes. Elle pourrait aussi être due à des méthodes d'extraction et les différentes polarités des solvants, ainsi les différentes zones phytogéographiques et les différentes saisons de récolte des plantes qui peuvent également modifier la teneur en composés phénoliques et autres substances phytochimiques de ces plantes médicinales.

I.2.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

Le choix de quantifier les flavonoïdes parmi les différentes classes de composés phénoliques résulte du fait que les flavonoïdes ont des activités pharmacologiques très intéressantes que les autres classes des polyphénols (**Middleton., 2000**).

La détermination quantitative des flavonoïdes contenus dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* est effectuée par (**Ordenez et al., 2006**) suivant une méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Cette méthode est basée sur la capacité des flavonoïdes à se complexer avec le chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait, dont l'absorption est maximale à 415 nm.

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercitrine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercitrine par g d'échantillon (**mg EQ/g⁻¹ MS**).

Plusieurs études ont montré que les feuilles de *Moringa oleifera* sont principalement riches en flavonoïdes, par exemple (**Charoensin., 2014**) a trouvé une teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* de 65,38 mg EQ/g⁻¹ MS (**tableau 9**), tandis que (**Vyas et al, 2015**) ont trouvés 57,64 mg EQ/g⁻¹ MS (**tableau 10**), alors que (**Vangsak et al., 2013**) ont rapportés une valeur de 40,14 mg EQ/g⁻¹ MS ; des valeurs inférieures à celles signalées par (**Charoensin., 2014**).

Une autre étude récente publiée par (Mwamatope et al., 2020) dans le journal “Scientific africain” avait pour but d’évaluer et de comparer la teneur en composés phénoliques d’extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* avec les teneurs des extraits méthanolique de feuilles de trois plantes médicinales *Senna singueana*, *Melia azedarach* et *Lannea discolor*. (Mwamatope et al., 2020) ont trouvés des teneurs considérables en flavonoïdes totaux dans les extraits méthanoliques des feuilles de *M. oleifera* et *S. singueana* et qui sont plus riches que *L. discolor* et *M. azedarach* (Figure 24).

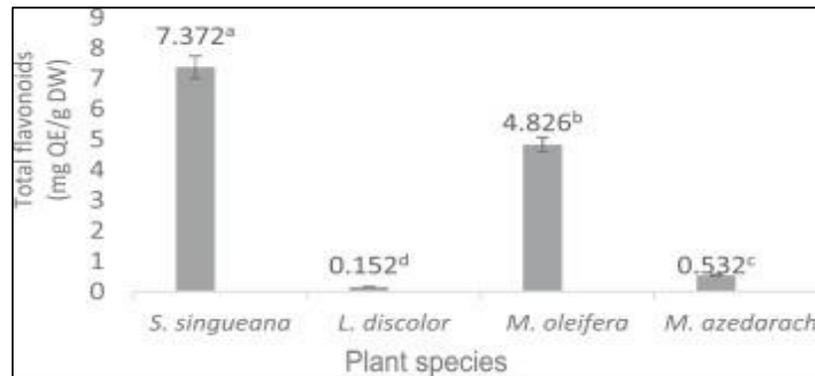


Figure 24 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits des plantes médicinales en mg EQ/g⁻¹ MS (Mwamatope et al., 2020).

◇ Les valeurs suivies de différente lettre révèlent une différence significatif élevé ($p < 0.05$).

La variation de la concentration en flavonoïdes dépend de plusieurs facteurs. En effet, Il a été démontré par plusieurs auteurs (Tomas-Menor et al., 2013) que la composition phytochimique des plantes dépend de plusieurs variables telles que l’âge de la plante, la saison de la récolte, la partie récoltée et les conditions climatiques. En plus de ces facteurs de variabilité, il s’ajoute l’effet de la méthode de préparation des feuilles et des techniques d’analyses des composés phénoliques, ainsi des différences de solubilisation des composés phénoliques dans les solvants d’extraction. Au totales, les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent des proportions négligeables de facteurs antinutritionnels (Makkar et Becker., 1996).

II. Evaluation de quelques activités biologiques des feuilles de *Moringa oleifera*

II.1. Evaluation du potentiel antioxydant

Pour une évaluation efficace, globale et complète du pouvoir antioxydant des extraits des plantes il est préférable d'utiliser deux ou trois test d'activité antioxydante car le résultat d'une seule méthode ne suffit pas pour évaluer cette activité. Trois méthodes colorimétriques ont été mises au point pour déterminer in vitro l'activité antioxydante des extraits de la plante du genre Moringa, dont la combinaison de ces techniques complémentaires basées sur deux mécanismes d'action ; un effet scavenger : c'est-à-dire les tests mesurant le transfert d'hydrogène vers un radical coloré stable facile à détecter (DPPH•, ABTS•⁺) et une activité réductrice du fer (pouvoir réducteur), serait idéale pour l'évaluation (Huang et al., 2005 ; Prior et al., 2005).

II.1.1. Test de piégeage du radical DPPH•

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de *Moringa oleifera* par le test de piégeage du radical libre DPPH•, Seghir et al (Seghir et al., 2019) ont ajouté une quantité de 1,9 mL de solution de DPPH (0,025 g/L) à 100 µL de chaque concentration des extraits dissous dans le méthanol (de 0,0156 à 1 mg/mL), puis ils l'ont agité et incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min.

La lecture a été effectuée en mesurant l'absorbance à 517 nm (AA) par le spectrophotomètre, Ils ont utilisé le méthanol comme un blanc et la solution d'acide ascorbique comme un témoin positif, l'acide ascorbique représente un antioxydant standard dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les résultats du test fait par Seghir et al (Seghir et al., 2019) ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (%). La (Figure 25) présente une courbe de régression linéaire après avoir calculé le pourcentage d'inhibition avec l'équation suivante :

$$I (\%) = ((AB-AA) / AB) \times 100$$

AB : absorbance de la solution de DPPH• en absence de l'extrait (blanc)

AA : absorbance de la solution de DPPH• en présence de l'extrait

Seghir et al (Seghir et al., 2019) n'ont pas évaluer l'activité antioxydante de *Moriga Oleifera* dans l'extrait méthanolique seulement mais aussi dans l'extraits acétonique et aqueux afin de déterminer le meilleur solvant d'extraction des métabolites secondaires de la plante. Et à

la fin ils ont comparé les résultats du test de piégeage du radical DPPH• avec celle de l'acide ascorbique.

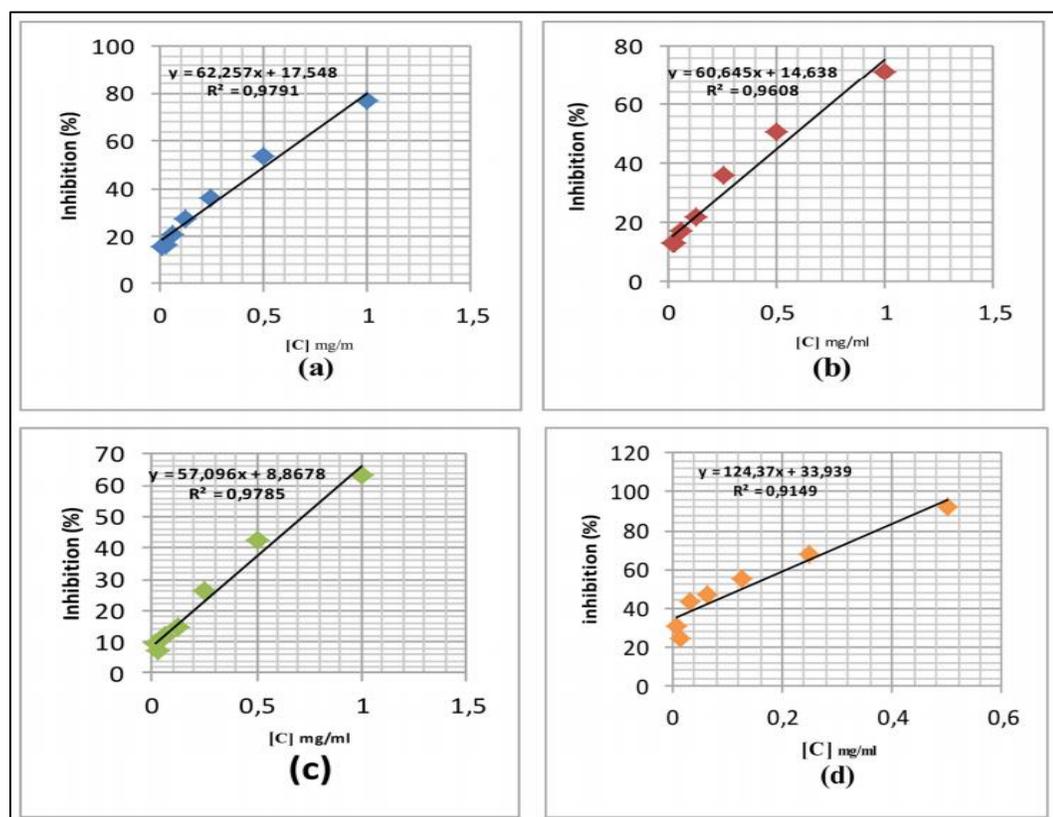


Figure 25 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de feuilles de *Moringa oleifera* macérées. **a :** extrait acétonique ; **b :** extrait méthanolique ; **c :** extrait aqueux ; **d :** Acide ascorbique (Seghir *et al.*, 2019).

Les résultats de cette expérience ont montré que l'extrait hydroacétonique de *Moringa oleifera* a présenté le pourcentage d'inhibition du DPPH du radical libre le plus élevé par rapport aux autres extraits, à une concentration de 1 mg/mL, elle a atteint un pourcentage d'inhibition égal à 80 % et $CI_{50} = 0.52 \pm 0.029$ mg/mL, tandis que les extraits hydrométhanoliques et aqueux

n'ont atteint que 75,28 % avec $CI_{50} = 0.583 \pm 0.33$ mg/mL et 65,96 % avec $CI_{50} = 0.73 \pm 0.007$ mg/mL, respectivement, à la même concentration.

(Moyo et al., 2012) rapporte des pourcentages d'inhibition des extraits acétonique, méthanolique et aqueux de *Moringa oleifera* égal à 98,24%, 83,66%, 72,35% respectivement, qui sont supérieures à celle obtenues par (Seghir et al., 2019).

D'après (Malesev, D., 2007), cette forte activité antioxydante de l'extrait acétonique et méthanolique pourrait s'expliquer par la présence de tanins et de flavonoïdes. Le choix du système solvant approprié reste l'une des étapes les plus importantes dans l'optimisation de l'extraction des polyphénols, des flavonoïdes et d'autres composés antioxydants. Les résultats de l'activité antioxydante peuvent ainsi être influencés par la nature de l'organe végétal étudié.

II.1.2. Test de la capacité réductrice ferrique d'antioxydants (FRAP) :

Cette méthode est souvent utilisée comme un indicateur de l'activité donneuse d'électrons, qui est un mécanisme important de l'action antioxydante phénolique et peut être fortement corrélée avec d'autres propriétés antioxydants (Dorman et al., 2003).

Duh, P.D. (1998) a dit que la présence d'agents réducteurs dans les extraits végétaux entraîne la réduction du Fe^{3+} sous forme ferreuse dans le complexe de cyanure ferrique. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de densité de la couleur bleue.

Pour effectuer le test de la capacité réductrice ferrique, Seghir et ces collègues (Seghir et al., 2019) ont fait préparés les extraits méthanolique de différentes concentrations (de 1 à 5 mg/mL), ensuite ils ont mélangé 1 mL d'eau distillée avec 2,5 mL d'une solution tampon de phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 mL de cyanure ferrique de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%), ils l'ont incubé à 50°C pendant 20 min. Par la suite, 2,5 mL d'acide trichloroacétique (10 %) ont été ajoutés. Le mélangeur entier a été centrifugé à 3000 g pendant 10 min. À la fin, 2,5 mL du surnageant de chaque concentration ont été mélangés avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de $FeCl_3 \cdot H_2O$ (0,1 %), et l'absorbance a été mesurée à 700 nm.

L'activité réductrice des extraits (méthanoliques, acétonique et aqueux) a été comparé avec celle du témoin positif qui est l'acide ascorbique. Les résultats du pouvoir réducteur des

différents extraits sont représentés dans la (Figure 26) qui montre les courbes de la capacité réductrice du fer ferrique en fonction des concentrations en extraits et le standard (l'acide ascorbique).

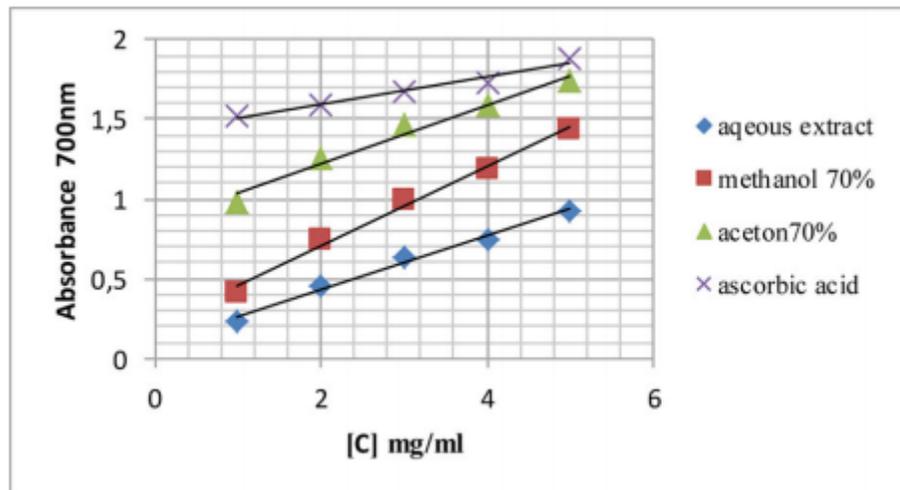


Figure 26 : Courbes des absorbances en fonction des concentrations (Pouvoir réducteur) (Seghir et al., 2019).

Selon Seghir et ces collègues (Seghir et al., 2019) l'analyse statistique des résultats manifeste une proportionnalité entre les absorbances des échantillons et leurs concentrations respectives (Figure 26). Plus l'absorbance est élevée, plus le pouvoir réducteur est important. L'extrait acétonique de feuilles de *Moringa oleifera* a montré une grande capacité antioxydante, par rapport à celle de l'extrait aqueux et méthanolique, ce qui se reflète dans les densités optiques obtenues à différentes concentrations (DO maximale = 1,73 à la concentration de 5 mg/mL), encore plus proche de celle de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique (DO = 1,88) pour la même concentration de 5 mg/mL.

Ils ont classé le pouvoir réducteur du fer des différents extraits étudiés à la concentration de 5 mg/mL comme suit :

Extrait d'acide ascorbique > extrait hydroacétonique > extrait hydrométhanolique > extrait aqueux.

Le pouvoir réducteur de feuilles *Moringa oleifera* est probablement dû à la présence du groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Des travaux antérieurs ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé

peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Jeong SM et al.2004 ; Kumaran A., 2007**).

D'après (**Moyo, B. et al., 2012**) les valeurs plus élevées de phénols et flavonoïdes dans l'extrait d'acétone des feuilles de *M. oleifera* en comparaison avec les autres extraits, pourrait être dû à un degré de polarité différent des solvants utilisés pour l'extraction des composés polyphénoliques.

II.1.3. Capacité antioxydante équivalente de trolox (TEAC) :

L'activité scavenger des extraits méthanol (MeOH), acétate d'éthyle (EtOAc), dichlorométhane (DM) et n-hexane (Hx) de feuilles de *Moringa oleifera* est également étudiée en utilisant l'ABTS. Ce dernier réagit avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) pour donner le radical $ABTS^+$. L'ajout de l'extrait entraîne une décoloration de la solution indiquant l'existence d'une activité scavenger des échantillons. (**Fitriana et al., 2016**)

Ce test a été réalisé par **Fitriana et ses collaborateurs (Fitriana et al., 2016)** en faisant ajouté 1 mL de solution $ABTS^{\bullet+}$ (dilué avec l'éthanol 99,5 %) à 40 μ L de différentes concentrations des extraits, puis la lecture a été effectuée en mesurant l'absorbance à 734 nm par un spectrophotomètre dans UV-Visible après 4 minutes d'incubation à température de 30°C dans l'obscurité. L'éthanol 99,5% est utilisé comme un blanc alors que le Trolox est utilisé comme témoin positif.

Le pourcentage de réduction ou d'inhibition de ce radical est calculé suivant cette formule :

$$AA (\%) = [1 - (A \text{ Extrait} / A \text{ blanc})] \times 100$$

Où (A Extrait) est l'absorbance de la solution $ABTS^{\bullet+}$ en présence de l'extrait à une concentration donnée.

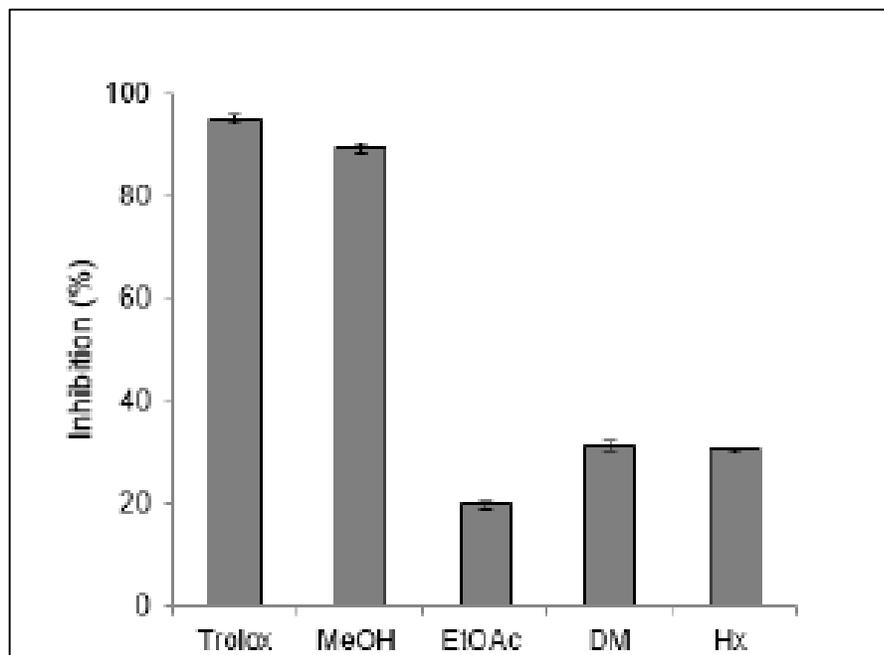


Figure 27 : Pourcentage d'inhibition de l'ABTS de divers extraits de *M. oleifera* de 319.45 $\mu\text{g/mL}$: Méthanol (MeOH), acétate d'éthyle (EtOAc), dichlorométhane (DM) et n-hexane (Hx).
(Fitriana et al., 2016).

(Fitriana et al., 2016) ont trouvé que le pourcentage d'inhibition ABTS et CI_{50} de divers extraits MeOH, acétate d'éthyle, dichlorométhane et n-hexane était de 89,40% avec $\text{CI}_{50}=11.73 \mu\text{g/mL}$ / 20,0% avec $\text{CI}_{50}= 241.33 \mu\text{g/mL}$ / 31,37 % avec $\text{CI}_{50}= 159.06 \mu\text{g/mL}$ et 30,94 % avec $\text{CI}_{50}=163.79 \mu\text{g/mL}$ respectivement, tandis que le trolox, en tant que norme, avait une activité antioxydante de 94,99 % avec $\text{CI}_{50} = 3.06 \mu\text{g/mL}$. L'extrait de méthanol avait la plus forte activité parmi les autres extraits de feuilles.

L'extrait a une activité antioxydante actif, si la valeur CI_{50} de l'extrait est de $\leq 100 \mu\text{g/mL}$, alors qu'il a une activité antioxydante inactif si la valeur CI_{50} de l'extrait est de $\geq 200 \mu\text{g/mL}$.

D'après Chu, Y.H et al. (2000) le balayage du radical ABTS est dû au balayage des radicaux protons induits par le don d'électrons.

Certains auteurs ont rapporté que les propriétés antioxydantes des feuilles de *Moringa leifera* sont dues à la présence d'un polyphénol : le kaempférol (Bajpai et al., 2005). En effet, les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour capturer les radicaux libres et d'après certaines études, ils sembleraient être responsables de l'activité de piégeage de ces derniers (Babu

et *al.*, 2006 ; Karou et *al.*, 2011). Cependant, Zongo et *al.* (2010) ont signalé qu'il a été également une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de plantes.

II.2. Evaluation de l'activité cardioprotectrice

Pour voir l'effet cardioprotecteur de *Moringa oleifera* **Fikriansyah et ses collaborateurs (2015)** ont fait des études qui vise à observer les effets du traitement par l'extrait éthanolique de feuilles *Moringa oleifera* sur le profil histopathologique et la concentration de NO dans le tissu cardiaque des rats.

- **Observation du profil histopathologique**

Afin de déterminer l'effet de l'extrait éthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* cinq groupe des rats ont été préparé par **Fikriansyah et al (Fikriansyah et al., 2015)** chaque groupe contient cinq rats, ces derniers sont traités par la doxorubicine et l'extrait éthanolique de la manière suivante :

Le groupe I : a reçu de la DOX à 4,67 mg/kg de poids corporel par voie intrapéritonéale deux fois par 14 jours (le premier et le huitième jour).

Le groupe II : a reçu de la DOX à 4,67 mg/kg de poids corporel par voie intrapéritonéale deux fois par 14 jours (le premier et le huitième jour) et une dose de 500 mg/kg de poids corporel d'extrait de *Moringa oleifera* par voie orale tous les jours pendant 14 jours (du premier jour jusqu'au 14ème jour).

Le groupe III : a reçu de la DOX à 4,67 mg/kg de poids corporel par voie intrapéritonéale deux fois par 14 jours (le premier et le huitième jour) et une dose de 1000 mg/kg de poids corporel d'extrait de *Moringa oleifera* par voie orale tous les jours pendant 14 jours (du premier jour jusqu'au 14ème jour).

Le groupe IV : a reçu une dose de 1000 mg/kg de poids corporel d'extrait de *Moringa oleifera* dans le solvant CMC-Na à 0,5 % par voie orale.

Le groupe V : n'a reçu aucun traitement (groupe témoin).

Au 15^{ème} jour **Fikriansyah** a obtenu les cœurs des rats par chirurgie afin de déterminer leurs profile histopathologique cardiaque en fixant les tissus cardiaques dans de la paraffine pour préserver la morphologie des tissus, puis en les coupant et en les plaçant sur un objet en verre, ensuite il les a traité par l'hématoxyline et l'éosine afin de pouvoir observer leurs structures au microscope optique.

Selon (**Fischer et al., 2008**), l'utilisation de l'hématoxyline sert a coloré les acides nucléiques en bleu-pourpre profonde par une réaction complexe et incomplètement comprise tandis que L'éosine donne une couleur rose au protéines cytoplasmique. Donc lorsqu'on traite un tissu avec ces deux produits, les noyaux sont colorés en bleu, alors que le cytoplasme et la matrice extracellulaire présentent des degrés variables de coloration rose ce qui nous permet de visualiser la structure des tissus sous microscope.

Les résultats d'observation histologique des muscles cardiaques traités par la DOX et l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera* sont présentés dans la **Figure 28**.

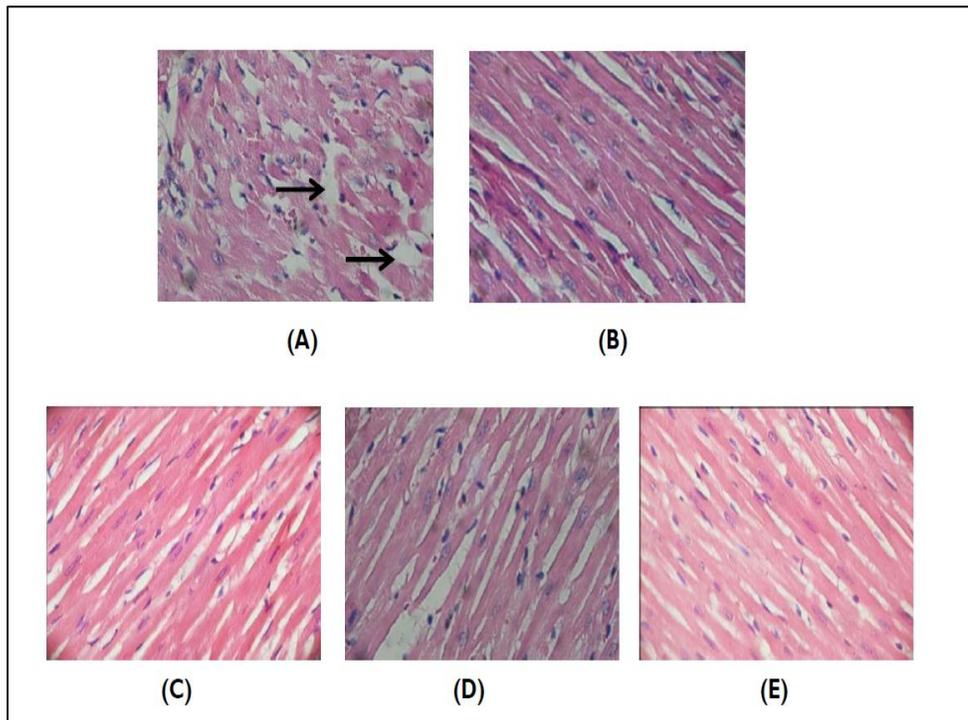


Figure 28 : Profil histopathologique cardiaque causé par la doxorubicine et l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera*. (**Fikriansyah et al., 2015**).

Après faire comparer les quatre tissus des groupes avec celle du témoin, (**Fikriansyah et al., 2015**) ont présenté ces résultats comme suivant :

Le groupe I (A) : présente des lésions du muscle cardiaque caractérisées par le nombre de cellules sans noyau et des cellules hypertrophiées, il a eu une extravasation des érythrocytes car les parois des vaisseaux sanguins ne sont pas intactes.

Le groupe II (B) et III (C) : la structure des cellules du muscle cardiaque est régulière. Les cellules contiennent encore les noyaux et la taille de chaque cellule et noyau presque uniforme.

Le groupe IV (D) : Le profil histopathologique du cœur s'est révélé légèrement mauvais car de nombreuses cellules ont manqué le noyau. Probablement, cette condition due au traitement par l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera* a été combinée par DOX avec une dose de 1000 mg/kg est trop élevée.

Le groupe V (E) : Le profil histopathologique cardiaque semble normal sans aucune lésion, il n'y a pas eu d'extravasation des érythrocytes, et les parois des vaisseaux sanguins restent intactes.

Ces observations histologiques suggèrent que l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera* est capable de réparer les cellules du muscle cardiaque endommagées par la doxorubicine.

Une deuxième méthode a été faite par (**Fikriansyah, et al., 2015**) pour bien confirmer l'effet de cette espèce dans la diminution de la cardiotoxicité induite par la doxorubicine. Cette méthode consiste à déterminer la quantité d'oxyde nitrique NO dans le coeur par des réactions enzymatiques qui convertissent le nitrate en nitrite à l'aide de la nitrate réductase. Cette réaction est suivie d'une détection colorimétrique du nitrate avec le produit azoïque coloré de la réaction de Griess. Les produits d'absorbance ont été mesurés à une lumière de longueur d'onde de 533 nm.

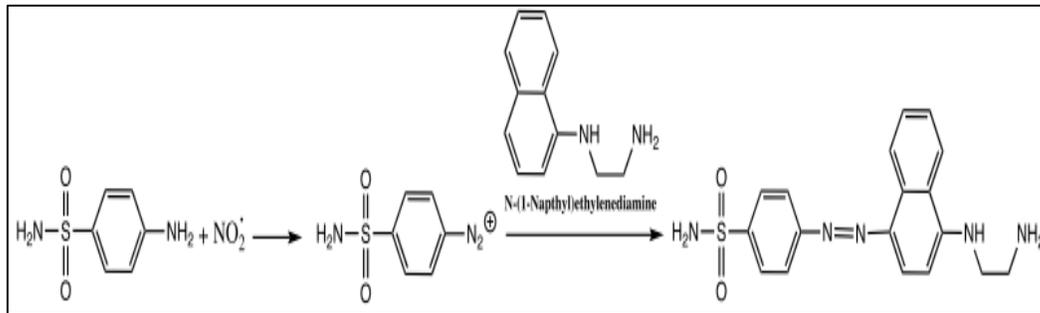


Figure 29 : Réaction d'évaluation de la production de NO^- par le réactif de Griess (Fikriansyah et al., 2015).

Cette dernière a montré que l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera* améliorait le profil histopathologique du cœur des rats. La diminution de la concentration du NO en fonction de l'augmentation des niveaux de dose de l'extrait éthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* en combinaison avec la doxorubicine signifie que les métabolites secondaires présents dans l'extrait ont diminué la fabrication des espèces radicalaires oxygénés par une activité antioxydante ce qui a réduit la cardiomyopathie chez les rats.

II.3. Evaluation de l'activité anti- diabétique

Plusieurs études suggèrent un effet positif du Moringa dans le traitement du diabète. La plupart ont été faites sur des rats, parmi ces travaux, une étude réalisée par l'Université du Nigeria, publiée par Edoga et al en janvier 2013 dans " International Journal of Science and Technology " avait pour but d'étudier l'effet des feuilles de Moringa sur la glycémie des rats albinos diabétiques induits par l'alloxane. Edoga et al (2013) ont trouvés que l'administration d'extrait aqueux de Moringa aux posologies croissantes de 100, 200 et 300 mg/kg chez rats albinos diabétiques induits par l'alloxane exerçant une toxicité sélective sur les cellules pancréatiques productrices d'insuline, entraîne une baisse glycémique dose-dépendante de 31,22%, 40,69%, et 44,06% respectivement, et elle est presque aussi efficace que le médicament standard (tolbutamide) (200 mg / kg) 46,75% de réduction (Tableau 11).

Tableau 11 : Effet de l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* sur les taux de glucose sanguin de rats avec un diabète induit à l'alloxane (Edoga et al., 2013).

Dose de médicament mg/Kg	Niveau du glucose dans le sang mg/Kg				Réduction maximal %
	0h	1h	3h	6h	
100	105,05	98	81	72,25	31,22
200	101,67	90,30	78,67	60,34	40,69
300	103,70	93,3	82	57,08	44,96
200 tolbutamide	106,30	83	64,69	56,60	46,75
2 mg /Kg de saline normal	117,67	117	115,3	115,01	2,26

Cependant, une étude menée par **Jaiswal et al. (2009)** avait pour but de déterminer l'efficacité de feuilles de *Moringa oleifera* sur le contrôle de la glycémie. L'étude a prouvé la véracité de cette affirmation en montrant que l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* à la posologie de 200mg/kg pouvait réduire le taux de glycémie de rats normaux à 29,9%. De plus, il a également réduit le taux élevé de glycémie chez les rats prédiabétiques et les rats souffrant de diabète léger et avancé à 31,1%, 32,8% et 51,2%, respectivement. L'extrait de feuille de moringa a présenté une efficacité similaire aux médicaments Tiolbutamid et Glipizide et s'est révélé plus efficace pour réduire la glycémie que les autres médicaments.

Au cours d'un essai sur des sujets humains par (**Giridhari et al., 2011**), l'administration de comprimés de feuille de moringa, associée à un régime basses calories a réduit le taux de glycémie de patients diabétiques de manière significative sur une période de trois mois. Les résultats ont montré que la glycémie post prandiale du groupe expérimental était initialement de 2,10 g/L et qu'elle était réduite à 1,91, 1,74 et 1,50 g/L respectivement après le premier, deuxième et troisième mois de supplémentation.

Tableau 12 : Le taux de glycémie post prandiale du groupe expérimental en g/l (**Giridhari et al., 2011**).

	Début	1 ^{er} mois	2 ^{ème} mois	3 ^{ème} mois
groupe expérimental	2,10 ± 0,48	1,91 ± 0,43	1,74 ± 0,36	1,50 ± 0,21

Selon (**Waterman., 2015**), les caroténoïdes, les vitamines antioxydantes C et E et les flavonoïdes présents dans les feuilles de *Moringa oleifera*, avaient un rôle important dans la réduction de la glycémie des patients diabétiques. Cela est dû à l'amélioration du métabolisme du glucose altéré et à la diminution de la résistance à l'insuline. Alors que (**Oboh., 2015**) a souligné que les Isothiocyanates du Moringa empêche la néoglucogenèse hépatique, préviennent l'obésité et le gain de poids lié au diabète de type-2, et aussi que les acides caféique et chlorogénique, en inhibant l' α -amylase et l' α -glucosidase, enzymes-clés liées au diabète de type 2, sont une explication de l'action antidiabétique des acides phénoliques. . C'est ce qui donne au moringa ses propriétés antidiabétiques naturelles.

Conclusion générale

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Le but de cette recherche est d'effectuer un état de l'art sur l'estimation de la teneur totale en phénols et en flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi l'évaluation de ses activités antioxydant, antidiabétique et son effet cardioprotecteur.

D'après les résultats obtenus dans différents travaux de recherche, concernant l'évaluation du contenu phénolique et flavonoïdique total des feuilles de *Moringa oleifera*, en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et du trichlorure d'aluminium, ainsi les résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de ces feuilles par l'application de plusieurs tests : DPPH•, ABTS•+ et le pouvoir réducteur, on conclut que ces derniers sont riches en composés phénoliques et flavonoïdique et qu'elles possèdent un pouvoir anti-oxydant puissant.

Tandis que les résultats d'évaluation de l'effet cardioprotecteur de *M.O* basée sur l'observation histologique et quantification de la concentration de NO dans les tissus cardiaques des rats indiquent que l'extrait de feuille Moringa pourraient aider à prévenir les dommages cardiaques.

Finalement les résultats obtenus dans différents travaux de recherche, concernant de l'évaluation de l'activité antidiabétique de *M.O* par l'administration d'extrait aqueux de Moringa aux posologies croissantes chez des rats albinos diabétiques et d'un essai sur des sujets humains par l'administration de comprimés de feuille de Moringa, associée à un régime basses calories ont permis de conclure que l'extrait de feuille de *Moringa oleifera* en poudre est efficace dans la réduction des taux de glucose dans le sang.

Références

Bibliographiques

A

- Abe, R., Ohtani, K.** (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. *Journal of Ethnopharmacology*, 145, 554-565.
- Achille, R.** (1980). *Botanique médicale*, 4ème Ed. Paris : l'imprimerie de Gignoux. p 321.
- Agbogidi, O., Metllondu, E.M.** (2012). *Moringa oleifera Lam*: its potentials as a food security and rural medicinal item. *J.Bio.Innovl*, (6), 156-167.
- Alhakmani, F., Kumar, S., Okindra, A., et Khan, A.** (2013). Estimation of total phenolic content, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicin*, 3(8), 623-627.
- Allen, K. G., D. V. Ban Thorpe, and B. V. Charlwood.** (1977). Metabolic pools associated with monoterpene biosynthesis in higher plants. *Phytochemistry*, 16, 79-83.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.** (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple bio-chemical and medicinal uses. *Phytother Res*, 21, 17–25.
- Ashfaq, M., Basra, S.M., Ashfaq, U.** (2012). Moringa: a miracle plant for agro-forestry. *Journal of Agriculture and Social Sciences*. p 8.

B

- Badiaga, M.** (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal – Clermont Ferrand II. Français. p 184.
- Barbusiński, K.** (2009). Fenton reaction controversy concerning the chemistry, *Ecological Chemistry and Engineering Science*, 16(3), 309–314.
- Bauduhuin, P.** (1966). Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiology Rev*, 46, 323–357.
- Beckman, J.S., Beckman, T.W., Chen, J., Marshall, P.A., Freeman, B.A.** (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Science*, 87, 1620–1624.

- Bedard K., Krause KH.** (2007). The NOX family of ROS- generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87, 245–313.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J.** (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Saperstein, H.D.** (2005). Phenolic Content and antioxidant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem*, 82(4), 390-393.
- Borg, J.M., Reeber, A.** (2008). *Biochimie métabolique*, Ellipses, France. pp 257-269.
- Boudjedra, Z.** (2011). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'*Achillea ligustica* (Anthemideae), et *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae). Diplôme de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option : Phytochimie .Université Mentouri- Constantine. pp 40-41.
- Boudjouref, M.** (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbes, Setif. pp 9-28.
- Bougandoura, N.** (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha sspnepta* (nabta) et *Ajugaiva L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Diplôme de magister en Biologie Option Substances naturelles : activités biologiques et synthèse. Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen. p 27.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi S., Gontier, E.** (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science*, 161, 839–851.
- Boyd, B., Ford C., Koepke, M., Gary, K., Horn, E., McAnalley S., McAnalley, B.** (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'*Ambrotose* AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4 (6), p 7.
- Bruneton J.** (2008). *Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales*. Edition : Technique et Documentations. p1120.
- Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition. *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(7), 318-325.
- Bruneton, J.** (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 4ème éd. Lavoisier.Tec et Doc. Paris. pp 783-785.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème éd. Lavoisier. Tec et Doc. Paris. p 1240.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ; 4ème édition, paris. p 150.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ; 4ème édition, paris. p 550.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie. Technique et documentation-Lavoisier, Paris. p78.

C

Charoensin, S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. Edition tec & doc, Paris. P783-823.

Charoensin, S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. J MedPlants Res, 8(7), 318-325

Cheeseman, K., Slater, T. (1993). An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull, 49(3), 481–493.

Conforti, F., Menichini, F., Loizzo, M. R., Statti, A. G., Rapisarda, A., Menichini, F., Houghton, P.J. (2008). Antioxidant, α -amylase inhibitory and brine shrimp toxicity studies on *Centaurea centaurium*. Methanolic root extract. Natural Product Research, 22(16), 1457-1466.

Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4), 564- 582.

Croteau, R, Johnsos, M. (1985). Biosynthesis of terpenoid wood extractives. In: Higuchi T, editor. Biosynthesis and biodegradation of wood components. Orlando, FL: Academic Press. pp 379-439.

D

- Dacosta, Y.** (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta, Paris. p 317.
- Dahmani, S.** (2013). Utilisation des Extraits du café, du thé et la farine du caroubier pour l'obtention des nanoparticules de divers métaux. Mémoire du Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. p 23.
- Dahot M.** (1988). Vitamin contents of flowers and seeds of *Moringa oleifera*. Pak J Biochem, 21, 21–24.
- Davis, J.B., McMurray, H.F., and Schubert, D.** (1992). The amyloid betaprotein of Alzheimer's disease is chemotactic for mononuclear phagocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun, 189, 1096–1100.
- Djemai, S.** (2008). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna. p 27.
- Djemoui, D.** (2012). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla. 2012. p 17.
- Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R.** (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. J. Agric. Food Chem, 51, 4563-4569.
- Drew B., Leeuwenburgh, C.** (2002). Aging and the role of reactive nitrogen species. Annals of the New York Academy Science, 959, 66–81.
- Duh, P.D.** (1998). Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linné): Its scavenging effect on free radical and active oxygen. Journal of the American Oil Chemists' Society, 75(4), 455–461.

E

- Edeas, M.** (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. Phytothérapie, 5(5), 264- 270.
- Edoga, C., Njoku, O., Amadi, E., Okeke, J.** (2013). Blood sugar lowering effect of *Moringa oleifera* Lam in albino rats. Int. J. Sci. Technol, 3, 88–90.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Review. L'actualité chimique novembre. pp 108-115.

Fikriansyah, F., Widiastuti, M., Wulandari, N., Tirtanirmala, P., & Murwanti, R. (2015). Cardioprotective effect of Kelor (*Moringa oleifera*) leaf ethanolic extract against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention, 6(2), 53-57.

Fitriana, W. D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. (2016). Antioxidant activity of *Moringa oleifera* extracts. Indonesian Journal of Chemistry, 16(3), 297-301.

Frankel, E.N. & Finley, J.W. (2008). How to standardize the multiplicity of methods to evaluate natural antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 4901-4908.

G

Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and Vegetable samples. Molecules, 15, 8813-8826.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). L'actualité Chimique. pp 91-96.

Gee, J.M., Johnson I.T. (2001). Polyphenol compounds: interactions with the gut and complications for human health. Current Medicinal chemistry, 8(11), 1245-55.

Giridhari, V., Malathi, D., Geetha, K. (2011). Anti-diabetic property of drumstick (*Moringa oleifera*) leaf tablets. Int J Health Nutr, 2(1), 1-5.

Gross, E, Sevier, C., Heldma, N., Vitu, E., Bentzur, M. (2006). Generating disulfides enzymatically: reaction products and electron acceptors of the endoplasmic reticulum thiol oxidase Ero1p. Proc Nat Acad Sci USA, 103(2), 299-304.

Guignard, J. L. (2000). Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, pp 198- 207.

Guignard, J.L. (1998). Abrégé de botanique, Masson (Ed). Paris. p 212.

Guignard, J.L. (2001). In Botanique systématique moléculaire. 12ème Edition Masson (Paris). pp 304.

Gulcin, İ. (2020). *Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. Archives of Toxicology.*

H

Halliwell, B. (1999). Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker, 57, 104–113.

Halliwell, B. (2001). Free Radicals and other reactive species in disease. Nature Encyclopedia of life sciences. pp 1–7.

Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. Biochemical Society Transactions, 35, 1147–1150.

Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygen's scavenging and ant oxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med*, 16, 845-850

Harborne, J. B., Simmonds, N. W. (1964). Biochemistry of Phenolic Compounds, Academic Press, London. pp 101.

Harborne, J.B. (1998). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. 3rd. Ed. London, UK : Thompson Science. p 1317.

Haton, C. (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France. pp 43-58.

Hool, L.C. (2006). Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 33, 146-151.

Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale, 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris. p 514.

Huang, C., Zhang, X., Ramil, J. M., Rikka, S., Kim, L., Lee, Y. (2010). Juvenile Exposure to Anthracyclines Impairs Cardiac Progenitor Cell Function and Vascularization Resulting in Greater Susceptibility to Stress-Induced Myocardial Injury in Adult Mice. *Circulation*, 121(5), 675–683.

Huang, L. (2005). Cloning and identification of methionine synthase gene from *Pichia pastoris*. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 37(6), 371-378.

Huang, M.T., Ferraw, T. (1991). Phenolic compound in food and cancer prevention. Phenolic compounds in food and their effects on health. p 83.

I

Imohiosen, O., Gurama, H. H., & Lamidi, T. B. (2014). Phytochemical and antimicrobial studies on *Moringa oleifera* leaves extracts. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(1), 39-45.

J

Jaimes, E. (2013). Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology, *International Journal of Molecular Science*, 14, 6306–6344.

Jaiswal, M. (2006). Optically Stimulated Luminescence Dating of fluvial sediments: Applications and Implications to palaeoseismology and Paleoclimatology. Thesis submitted to M.S. University of Baroda. Vadodara, India. pp 139.

John, W. (2018). Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications. pp 8-9.

K

Klebanoff, SJ. (1980). Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Annals of Internal Medicine*, 93, 480–489.

Koehlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 165-177.

Kohen, R., Nyska, A. (2002). Invited review Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *ToxicolPathol*, 30(6), 620–650.

Kunwar, A., Priyadarsini, K.I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J. Med. Allied Sci.* 1, 53–60.

L

Lee, J., Koo, N., Min, B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 21–33.

Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*. 102,771-776.

Loomis, D., and R. Croteau. (1980). Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stump and E. E. Conn. *The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function*, 4, 364-410.

Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. In *Pharmacognosy*. pp 233-266.

M

Makkar, H., Becker, K. (1996). Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 63, 211-228.

Malesev, D., Kuntic, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(10), 921–939.

Manzocco, L., Anese, M.C. (1998). Nicotinic Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing *Lebens-mittel-Wissenschaft Und-Technologies*, 31 (8), 694-698.

Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., Fritsch P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Med Sci (Paris)*, 20(4), 458-463.

Masaki, H. (2010). Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*, 58(2), 85-90.

Mates, J. M., Perez-Gomez, C., Nunez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *ClinBiochem*. 32, 596.

Meanalley, B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4 (6), 7.

Merghem, R. (2009). *Eléments de biochimie végétale*. 1 ère Edition, Algérie, Constantine Bahaeddine, p 172.

Middleton, E. J. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv. Exp. Med. Bio.* 439, 175-182.

Middleton, J.E., Kandaswami, C., eTheoharides, T.C. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.

Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur. pp 13-36.

Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., & Muchenje, V. (2012). Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Science*, 91, 441–447.

Mwamatope, B., Tembo, D., Chikowe, I., Kampira, E., & Nyirenda, C. (2020). Total phenolic contents and antioxidant activity of *Senna singueana*, *Melia azedarach*, *Moringa oleifera* and *Lannea discolor* herbal plants. *Scientific African*.

N

Nadeem, F., Hanif, M. A., Bhatti, I. A., Ahmed Basra, S. M. (2020). *Moringa*. *Medicinal Plants of South Asia*. pp 509–523.

Nouioua, W. (2012). Biodiversite Et Ressources Phyto-genetiques D'un Ecosysteme Forestier « *Paeonia Masculata (L.) Mill.* ». Diplôme de MAGISTER Option : Biodiversité et gestion des écosystèmes. Université Ferhat Abbas –Sétif. p 20.

O

Oboh, G., Ademiluyi, A., Akinyemi, A. (2012). Inhibition of acetylcholinesterase activities and some pro-oxidant induced lipid peroxidation in rat brain by two varieties of ginger (*Zingiber officinale*). *Exp Toxicol Pathol*, 64, 315–319.

Ordoñez, L., Gomez, J., Vattuone, M., Isla, M. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. *Food Chem*, 97, 452–458.

Owolabi, M., Coker, H., Jaja, S. (2007). Flavonoid metabolites in urine after oral administration of the aqueous extract of *Persea Americana* to rats. *J. Nat. Med*, 61, 200-204.

P

Paris, M., Hurabielle, M. (1981). Abrégé de matière médicale « Pharmacognosie ». Tome 1, Généralités, Morphologies. Ed. Masson, Paris, 256-266.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays, *J Nutr*, 133(9), 2812-2819.

Pham-Huy, L, Hua, H, Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*, 4(2), 89–96.

Popoola, J.O., Obembe, O.O. (2013). Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera Lam.* (Moringaceae) in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 682-691.

Popovici, C., Saykov, I., Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industrielle*, 4, 25-39.

Pulido, R., Bravo, L., Sauro-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay, *J. Agri. Food. Chem*, 48, 3396-3402.

R

Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U. A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatogr.* 2, 31–63.

S

Salman, K., Ashraf, S. (2013). Reactive oxygen species: A link between chronic inflammation and cancers. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 21(2), 42-49.

Sánchez, F., Vera, B., Gálvez, J. (2002). Effect of quercitrin on the early stages of hapten induced colonic inflammation in the rat. *Life Sci.* 70 (26), 3097-3108.

Saurabh, D., Astha, T., Prabhat, K. (2016). Medicinal properties of *Moringa oleifera*. *International Journal of Education and Science Research*, 2, 173-185.

Schrader, M, Fahimi, H. (2006). Review Peroxisomes and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*, 1763(12), 1755–1766.

Seghir, A., Moussaoui, A., Draoui, M., & Saad, A. (2019). Antiradical Properties of *Moringa oleifera* (Saharan Plant from Southwestern Algeria). *Phytothérapie*.

Siddhuraju, P., Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera Lam.*) leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 51(8), 2144-2155.

Silanikove, N., Perevolotsky, A., Provenza, F. D. (2001). Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1), 69-81.

Singh, G. (2007). *Chemistry of terpenoids and carotenoids*. New Delhi: Discovery Publisher Pvt. Ltd. pp 281-286.

Sinha, B., Mimnaugh, E., Myers, C. (1989). Adryamicin activation and oxygen free Radical formation in human breast tumor cells. *Cancer Res*, 49, 3844-3848.

Soulimani, R. (2008). Chemical composition and antioxidant potential of *Rutamontana* L. Essential oil from Algeria. *Journal of Medicinal Food*, 11(3), 593-595

T

Tachini, P. (2010). Le stress oxydatif et les antioxydants. Journal edel therapeutique B/EPFL, Lausanne.pp 21-21.

Thomas, M. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaé rhomboïdes*), Thèse de Doctorat en Chimie Analytique – Phytochimie l'université d'Orléans. P 34.

V

Vibet, S. (2008). Rôle du statut oxydant et de la vascularisation tumorale .Augmentation de la sensibilité des cellules tumorales mammaires aux agents anticancéreux par les acides gras polyinsaturés n-3.thèse de doctorat. pp 80-81.

Volkova, M., Russell, R. (2012). Anthracycline Cardiotoxicity: Prevalence, Pathogenesis and Treatment. Current Cardiology Reviews, 7(4), 214–220.

Vongsak, B., Sithisarn, P., Gritsanapan, W. (2013). Bioactive contents and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage conditions. Industrial Crops and Products.49:419– 421.

Vyas, S., Kachhwaha, S., Kothari, L. (2015). Comparative analysis of phenolic contents and total antioxidant capacity of *Moringa oleifera Lam.* Pharm J.

W

Waterman, C., Cheng, D., Rojas-Silva, P., Poulev, A., Dreifus, J., Lila, M. (2014). Stable water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. Phytochemistry, 103, 114-122.

Wink, M. (2010). Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant xanthophylles au complexe de collecte de lumière en vrac du photosystème II des plantes supérieures. J. Biol. Chem, 28, 25160–25169.

Y

Yabesh, J.M., Prabhu, S., Vijayakumar, S. (2014). An ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in silent valley of Kerala, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 154, 774-789.

Yamamura, S., Ozawa, K., Ohtani, K. (1998). Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry*, 48 (1), 131-136.

Youdim, K. A., McDonald, J., Kalt, W. (2002). Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J. Nutr Biochem*, 13 (5), 282-288.

Yu, L., Parry, J., Zhou, K. (2005). Oils from herbs, spices, and fruit seeds. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*.

Z

Zongo, C., Savadogo, L., Ouattara, I., Bassole, C., Ouattara, A., Ouattara, N., Barro, J., Koudouand, A.S. (2010). Polyphenols content antioxidant and antimicrobial activities of *Ampelocissus grantii* (Baker) Planch. (Vitaceae), a medicinal plant from Burkina Faso. *Int. J.Pharmacol.*, 6(6), 880-887.

Zwenger, S., Basu, C. (2008). Plant terpenoids: applications and potential. *Biotechnol Mol Biol Rev*, 3, 1-7.

Sites-Web consultés

<https://www.futura-sciences.com>.

www.moringanews.org.

Résumé

L'objectif de cette recherche est d'effectuer un état de l'art sur l'estimation de la teneur totale en phénols et en flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi que l'évaluation de ses activités antioxydantes et cardioprotectrices et son effet antidiabétique.

Les résultats obtenus dans différents travaux de recherche ont montré que *Moringa oleifera* a une teneur phénolique et flavonoïdique total moins élevée par rapport à celle des autres trois espèces. L'évaluation du pouvoir antioxydant par trois méthodes DPPH, TEAC et FRAP a révélé des capacités antioxydantes variables chez les extraits d'acétate d'éthyle, acétone, méthanol, aqueux, dichlorométhane et n-hexane et que les fractions acétate d'éthyle, acétone et de méthanol sont les plus antioxydantes. Tandis que l'évaluation de l'effet cardioprotecteur par quantification de NO, qui a été réalisée par l'observation histologique au microscope optique des tissus cardiaques traités par la doxorubicine, a montré que l'extrait éthanolique a diminué la concentration du NO et a amélioré le profil histologique cardiaque des rats. En revanche, l'activité antidiabétique est évaluée par l'administration d'extrait aqueux de *Moringa* aux posologies croissantes de 100, 200 et 300 mg/kg chez des rats albinos diabétiques a montré que cette dernière entraîne une baisse glycémique.

Mots clés : *Moringa oleifera*, Activité antioxydante, Cardioprotecteur, Activité antidiabétique, Phénols, Flavonoïdes, DPPH, FRAP, TEAC.

Abstract

The objective of this research is to carry out a state of the art on the estimation of the total content of phenols and flavonoids in *Moringa oleifera* leaf extract, as well as the evaluation of its antioxidant and antidiabetic activity and its cardioprotective effect.

The results obtained in various research works have shown that *Moringa oleifera* has a lower total phenolic and flavonoid content compared to the other three species. Evaluation of antioxidant potency by three methods DPPH, TEAC and FRAP revealed variable antioxidant capacities in ethyl acetate, acetone, methanol, aqueous, dichloromethane and n-hexane extracts and that the ethyl acetate, acetone and methanol fractions are the most antioxidant. While the evaluation of the cardioprotective effect by NO quantification of the histological observation of cardiac tissues treated with doxorubicine showed that the ethanolic extract decreased the concentration of NO and improved the cardiac histological profile of the rats.

On the other hand, the activity apart antidiabetic is evaluated by the administration of aqueous extract of Moringa at increasing doses of 100, 200 and 300 mg/kg in diabetic albino rats showed that the latter leads to a decrease in glycemia.

Keywords: *Moringa oleifera*, Antioxidant activity, Cardioprotective, Antidiabetic activity, Phenols, Flavonoids, DPPH, FRAP, TEAC.

ملخص

الهدف من هذا البحث هو تجميع وتلخيص مجموع الابحاث التي تقدير المحتوى الإجمالي من الفينولات والفلافونويدات في مستخلص *Moringa oleifera* وكذلك تقييم نشاطها المضاد للأكسدة، المضاد لمرض السكري وتأثيرها الوقائي للقلب.

النتائج المتحصل عليها في عدة ابحاث علمية اظهرت أن اوراق *Moringa oleifera* تحتوي على قيمة قليلة من البوليفينول والفلافونويد مقارنة بالانواع الثلاثة الأخرى من النباتات. تقييم القدرة المضادة للأكسدة بثلاث طرق DPPH، TEAC و FRAP كشفت على أن القدرة المضادة للأكسدة متغيرة في مستخلصات خلاص الإيثيل، الأسيتون، الميثانول، الماء، ثنائي كلورو الميثان والهكسان وأن مستخلصات ثنائي كلورو الميثان والأسيتون والميثانول لهم أكبر قدرة مضادة للأكسدة. في حين أن تقييم التأثير الوقائي بالتقدير الكمي لتركيز ال NO والملاحظة المجهرية الأنسجة القلبية المعالجة ب doxorubicine قد أظهرت أن المستخلص الإيثانولي خفض تركيز NO و حسن الأنسجة القلبية للفئران. ومن ناحية أخرى فإن تقييم النشاط المضاد للسكري في *M.O* من خلال استخدام المستخلص المائي من *Moringa oleifera* بجرعات متزايدة من 100، 200، 300 ملغ/كغ في فئران ألبينو المصابين بداء السكري أظهرت أن هذه الأخيرة خفض نسبة السكر في الدم

الكلمات المفتاحية: *Moringa oleifera* نشاط مضادة للأكسدة، الوقائي للقلب، المضاد لمرض السكري،

فينولات، فلافونويدات، DPPH، FRAP، TEAC

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par : BOUDJENDLIA Nour Djihan

OUODINA Houda

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Option : Biochimie Appliquée

Thème : Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques du *Moringa oleifera* : étude théorique

Résumé

L'objectif de cette recherche est d'effectuer un état de l'art sur l'estimation de la teneur totale en phénols et en flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi l'évaluation de ses activités antioxydantes et cardioprotecteurs et son effet antidiabétique.

Les résultats obtenus dans différents travaux de recherche ont montré que *Moringa oleifera* a une teneur phénolique et flavonoïdique total moins élevée par rapport à celle des autres trois espèces. L'évaluation du pouvoir antioxydant par trois méthodes DPPH, TEAC et FRAP a révélé des capacités antioxydantes variables chez les extraits d'acétate d'éthyle, acétone, méthanol, aqueux, dichlorométhane et n-hexane et que les fractions acétate d'éthyle, acétone et de méthanol sont les plus antioxydantes. Tandis que l'évaluation de l'effet cardioprotecteur par quantification de NO, qui a été réalisée par l'observation histologique au microscope optique des tissus cardiaques traité par la doxorubicine, a montré que l'extrait éthanolique a diminué la concentration du NO et a amélioré le profil histologique cardiaque des rats. En revanche, l'activité antidiabétique est évaluée par l'administration d'extrait aqueux de *Moringa* aux posologies croissantes de 100, 200 et 300 mg/kg chez des rats albinos diabétiques a montré que cette dernière entraîne une baisse glycémique

Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Université des frères Mentouri Constantine 1

Mots clés : *Moringa oleifera*, Activité antioxydante, Cardioprotecteur, Activité antidiabétique, Phénols, Flavonoïdes, DPPH, FRAP, TEAC.

Jury d'évaluation :

Président : MCB KITOUNI *Rachid* -Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Encadreur : MCA BOUANIMBA *Nour* -Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Examineur : M.R.C BENSOUICI *Chawki* -Centre de Recherche en Biotechnologie Constantine.