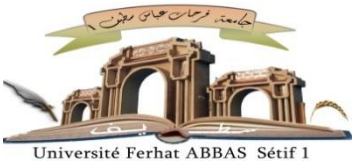
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

University of Ferhat Abbas – Setif1
Faculty of Natural and LifeScience

جامعة فرحات عباس سطيف1
كلية علوم الطبيعة والحياة



DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

Nº…….. /SNV/2024

MÉMOIRE

Présenté par

KHANSAL WIEME

LAHRECHE AMINA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: Biologie

Spécialité: Biochimie appliqué

THÈME

Effet antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles de *Moringa oleifera Lam*.

Soutenu publiquement le : **02/07/2024**

DEVANT LE JURY:

Présidente : KADA Seoussen	**MCB. UFA Sétif 1**
Promotrice : KARNOUF Nassima	**MCB. UFA Sétif 1**
Examinatrice : BOUDOUKHA Chahra	**MCA. UFA Sétif 1**

Laboratoire de biochimie appliquée: 2023/2024

REMERCIEMENTS

*Avant toute chose nous rendons grâce à **ALLAH** le tout puissant de nous avoir accordé la force, donné le courage et la volante de poursuivre nos études.*

*Tout d'abord, nous tenons à remercier tout particulièrement notre encadrante, **Dr. KARNOUF Nassima**, pour nous avoir suivis et conseillés tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury**Dr. Kada Seoussen** et **Boudoukha Chahra**pour leur volonté d'examiner et de juger ce travail.*

Enfin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance et notre considération à tous les professeurs et au cadre administratif de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

DEDICACE

Je dédie ce projet À la mémoire éternelle de mon cher père. C'est un hommage à son esprit et à son héritage, avec l'espoir que, d'où il est, il puisse ressentir toute la fierté et l'amour que je garde pour lui.

À ma chère mère, puisse Dieu le tout-puissant la préserver, lui accorder la santé, la longue vie et le bonheur.

Ma sœur : Sabrina, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager tout au long de mes études.

Mes frères : AbdErraouf, Deradji.

À mes amis Yasmine Assala Maroua Et Sara pour leur présence et leurs encouragements.

À Ma chère binôme Amina.

Et a vous chers lecteurs.

Wième

DEDICACE

Je dédie ce projet À ma chère mère, puisse Dieu le tout-puissant la préserver, lui accorder la santé, la longue vie et le bonheur.

A celui qui ma fait une femme. Ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon support qui était toujours à mes cotés pour me soutenir et m'encourager, à mon prince ***papa***

Mes sœures : Raouia, Fairouze, Sara, Merieme et Amiraqui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager tout au long de mes études.

Mon frère : Khalifa.

À celui qui m'a comblé de ses sentiments et de ses conseils sincères, Salem

À mes amis Nada Soumia pour leur présence et leurs encouragements.

À Ma chère binôme Wième.

Et a vous chers lecteurs.

(وآخر دعواهم أن الحمد لله ربي العالمين)

Amina

ملخص

مورينغا اوليفيرا، نبات صالح للأكل يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. يهدف العمل الحالي إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي لأوراق هذا النبات. أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية أن المستخلص غني بعديدات الفينول والفلافونويبدات. أظهر تقييم قوة مضادات الأكسدة عن طريق اختبار ازاحة جذورDPPH أن المستخلص المائي له نشاط مضاد للأكسدة قوي مع IC_{50} تساوي 86.25 ± 4.05 ميكروغرام/مل. هذا النشاط أقل من نشاط مضاد الاكسدة المرجعي BHA (IC_{50}= ± 1.12 86.15ميكروغرام/ مل). يُظهر المستخلص النباتي أيضًا تأثيرًا قويًا لاستخلاب الحديد (IC_{50}= ± 8,26 57,81ميكروغرام/ مل). وبالمثل، فإن المستخلص لديه قدرة ارجاع جيدة تعتمد على التركيز مع EC_{50}(115.86 ± 0.884 ميكروغرام/مل)، وتظهر نتائج هذه الدراسة أيضًا أن مستخلص النبات له تأثير وقائي ضد تحلل اغشية كريات الدم الحمراء بواسطة AAPH. يتم توفير أفضل حماية بواسطة 50 ميكروجرام/مل من المستخلص مع HT_{50} يساوي 2.13 ±0.12 ساعة. ومن هذه النتائج نرى أن مستخلص المورينغا اوليفيرا له نشاط مضاد للأكسدة كبير جدا، مما يؤكد التأثيرات الدوائية لهذا النبات وكذلك استخدامه التقليدي للأغراض العلاجية.

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للانحلال، أنواع الأكسجين التفاعلية، *مورينغا اوليفيرا* ، الإجهاد التأكسدي.

Résumé

Moringa Oleifera, est une plante comestible largement utilisée en médecine traditionnelle. Le présent travail vise à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante. L'étude phytochimique a montré que l'extrait est plus riche en polyphénols et en flavonoïdes. L'évaluation du pouvoir antioxydant par le test de DPPH a montré que l'extrait aqueux a une forte activité anti-oxydante avec une IC_{50} de 86,25 ± 4,05 µg/ml. Cette activité est inférieure à celle de BHT (IC_{50} = 86,15 ± 1,12µg/ml). L'extrait de la plante montre aussi un puissant effet chélateur de fer (IC_{50}= 57,81 ± 8,26 µg/ml). De même, l'extrait présente un bon pouvoir réducteur concentration dépendant avec EC_{50} de 115,86 ± 0,884 µg/ml, Les résultats de cette étude montrent aussi que l'extrait de la plante exerce un effet protecteur contre la lyse membranaire induite chez les érythrocytes par l'AAPH. La meilleure protection est exercée par 50 µg/ml de l'extrait avec un HT_{50} de 2,13±0.12 heures. D'après ces résultats, on constate, que l'extrait de *Moringa Oleifera* possède une activité anti-oxydante très importante, ce qui confirme les effets pharmacologiques de cette plante ainsi que son usage traditionnel à des fins thérapeutiques.

Mots clés : Activité antioxydante, Activité anti-hémolytique, Espèces réactives de l'oxygène, *Moringa Oleifera*, stress oxydant.

Abstract

Moringa Oleifera is an edible plant widely used in traditional medicine.The present work aims to evaluate the antioxidant activity of the aqueous extract of the leaves of this plant.The phytochemical study showed that the extract is rich in polyphenols and flavonoids. The evaluation of the antioxidant power by the DPPH test showed that the aqueous extract of has a strong antioxidant activity with an of IC_{50} 86,25 ± 4,05µg/ml. This activity is lowerthan that of BHA(IC_{50}=86,15 ± 1,12 µg/ml). The plantextractalso shows a powerful iron chelating effect (IC_{50}= 57, 81 ± 8,26 µg/ml). Likewise, the extract has a good concentration-dependent reducing power with EC_{50} of 115, 86± 0,884 µg/ml. The results of this study also show that the plant extract has a protective effect against membrane lysis induced in erythrocytes by AAPH. The best protection is exerted by 50 µg/ml of the extract with an HT_{50} of 2.13 ± 0, 12 hours. According to these results, it isfound that the extract of *Moringa Oleifera* has an important antioxidant activity, which confirms the pharmacological effects of this plant as a well as traditional use for therapeutic purposes.

Keywords: Antioxidant activity, Anti-hémolytic activity, *Moringa oleifera*, Reactive oxygen species, Oxidant stress.

LISTE ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

ABTS : Acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

ADN : Acid Désoxyribo-nucléique

ARN_m : Acide ribonucléique messager (mRNA en anglais, Messenger RNA)

ATP : Adenosine Triphosphate

BHA : Hydroxyanisolbutylé

CAT : Catalase

COX : Cyclooxygénase

DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EC50 : Concentration Effectrice à 50%

EDTA : Ethylene diamine tetra aceticacid

EQ : Equivalents de Quercétine

GPx : Glutathion peroxydases

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion

GST : Glutathion S-transférase

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

iNOS : NO Synthases Inductibles

LOX : Lipoxygénases

MDA : Malondialdéhydes

MPO : Myéloperoxydases

NO : Nitric Oxyde

NOX : NADPH oxydases

PBS : Tampon phosphate

RL : Radicaux libres

RNS : Espèces réactives de l'azote

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SD : Standard déviation

SOD : Superoxyde dismutase

TH50 : Temps de demi-Hémolyse

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant dans le phénomène du stress oxydant 3

Figure 2. La production/élimination des ROS 7

Figure 3. ROS : Concepts de base, sources, signalisation cellulaire et ses implications dans les voies de vieillissement 13

Figure 4. Oxydation de la cystéine 18

Figure 5. Réaction de la peroxydationlipidique 19

Figure 6. Système de défense antioxydant dans l'organisme 23

Figure 7. Formule semi-développée du glutathion réduit (GSH) 24

Figure 8. Structure chimique des tocophérols 27

Figure 9. Feuilles, fleurs, fruits et graines de *M. Oleifera* 29

Figure 10. Résumé des bienfaits potentiels de *M. Oleifera* pour la santé 35

Figure 11. Droite d'étalonnage de l'acide gallique 45

Figure 12. Droite d'étalonnage de la quercétine 46

Figure 13. Effetanti-radicalaire de l'extrait aqueux des feuilles de *M. Oleifera* et de BHA 52

Figure 14. Activités chélatrices de l'extrait aqueux de *M. Oleifera* et de EDTA 54

Figure 15. Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *M. Oleifera* et de BHA 56

Figure 16. Cinétique de l'hémolyse érythrocytaire induite par l'AAPH en présence de l'extrait aqueux 58

Figure 17. Effet des extraits des feuilles de *M. Olefeira* sur le temps de demi hémolyse (HT_{50}) 58

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Relation entre les maladies et le stress oxydant 21

Tableau 2. La composition en nutriments des feuilles, de la poudre des feuilles, des graines et des gousses 31

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE 2
I. Stress oxydant 3
I.1. Radicaux libres et espèces réactives 4
I.1.1 Espèces réactives de l'oxygène 4
I.1.2 Espèces réactives de l'azote 6
I.2. Sources des espèces réactives oxygénées 6
I.2.1. Sources endogènes 6
I.2.2. Sources exogènes 12
I.3. Rôles physiologiques des espèces réactives de l'oxygène 12
I.3.1. Inflammation 13
I.3.2. Prolifération 14
I.3.3. Mort cellulaire 15
I.3.4. Autres fonctions 16
I.4. Principales cibles biologiques du stress oxydant 17
I.4.1. Oxydation des protéines 17
I.4.2. Peroxydation lipidiques 18
I.4.3. Oxydation de l'ADN 20
I.4.4. Oxydation des glucides 20
I.5. Implication pathologique du stress oxydant 21
I.6. Système de défense antioxydant 21
I. 6.1. Le système enzymatique 22
I.6.2. Système non enzymatique 24
II. *Moringa Oleifera. Lam* 28
II.1. Classification de la plante *M. Oleifera* 28
II.2. Aspects botaniques de *Moringa Oleifera* 28
II.3. Utilisations traditionnelles 29
II.4. Composition chimique de *M. Oleifera* 30
II.4. 1. Phénols 32
II.4. 2. Flavonoïdes 32
II.4. 3. Glucosinolates 33

SOMMAIRE

II.4. 4. Ester....33
II.4. 5. Alcaloïdes....33
II.4. 6. Stérols et terpènes....34
II.4. 7. Autres composés....34
II.5. Activités biologiques de *M. Oleifera*....34
II.5.1. Activité anti-inflammatoire....35
II.5.2. Activité anti-diabétique....36
II.5.3. Activité anticancéreuse....36
II.5.4. Activité neuroprotectrice....37
II.5.5. Activité anti-hypertensive et hypocholestérolémiante....37
II.5.6. Activité infectieuse....38
II.5.7. Activité antioxydante....39
II.5.8. Activité antispasmodique et anti-asthmatique....39
II.5.9. Activité hépatoprotectrice....40
II.5.10. Activité immunomodulatrice....40
II.5.11. Autres activités....40
MATERIEL ET METHODES....42
I. Matériel....43
I.1.Réactifs....43
I.2. Matériel végétal....43
I.3. Sang des souris....43
II. Méthodes....43
II.1. Préparation des extraits aqueux....43
II.2. Analyses phytochimiques....44
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux....44
II.2.2. Dosage des flavonoïdes....45
II.3. Activité antioxydante....45
II.3.1. Piégeage du radical DPPH....46
II.3.2. Chélation du fer ferreux....47
II.3.3. Pouvoir réducteur....47
II.3.4. Test d'hémolyse....48
III. Analyse statistique....48
RESULTATS ET DISCUSSION....49

SOMMAIRE

I.1. Extraction et dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.....50
II. Activité antioxydante de l'extrait.....51
II.1. Activité antiradicalaire.....51
II.2. Activité chélatrice.....53
II.3. Activité réductrice.....55
II.4. Test d'hémolyse.....56
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....62