

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie

Laboratoire des sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

**Étude intégrée de Morisia : caractérisation phytochimique,
évaluation des activités biologiques *in vitro* et analyse
toxicologique *in silico***

Présenté par M^{elle} HARZALLAH Manel
M^{elle} TAMRABET Fella

Devant le Jury :

Mme MAKHLOUF	MCA	SNV, USDB1	Présidente
Mr BOUKHATEM MN	PR	SNV, USDB1	Examineur
Mme MOKRANE A	MCA	SNV, UMMTO	Promotrice
Mme NADJI S	PDG	Centre ORPIN	Co-Promotrice

Remerciement

Tout d'abord, nous exprimons notre profonde gratitude envers le Dieu Tout-Puissant qui nous a accordé le courage, la détermination et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

*Nous adressons ensuite nos plus sincères remerciements à notre chère promotrice, **Mme MOKRANE A** et à notre chère co-promotrice **Mme NADJI S**, et tout le Personnel du Centre ORPIN à Blida en particulier **NAILA**, pour sa présence constante et ses précieux conseils.*

Pour leurs précieuses orientations, leurs judicieux conseils, leur encadrement bienveillant et leur grande disponibilité ont été déterminants pour mener à bien ce projet. Nous leur sommes infiniment reconnaissants pour la confiance qu'elles nous ont témoignée et pour le temps qu'elles y ont consacré.

*Nous exprimons nos profonds remerciements à l'ensemble des membres du jury : Nous tenons à gratifier **Mme MAKHLOUF C** d'avoir accepté de présider le jury de ce travail. Nous adressons nos vifs remerciements à **Mr BOUKHATEM MN** pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner.*

Nous remercions tous les professeurs intervenants tout au long de notre cursus universitaire.

*Nous tenons également à remercier toute **l'équipe du centre ORPIN Blida**, notre enseignante **Mme Allileche** et **Mr youcef** pour leur précieuse collaboration.*

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Tous d'abord, je tiens à remercier **DIEU** de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail. Du profond de mon cœur, je dédie*

ce Project fin d'étude à tous ceux qui me sont chers,

*A la mémoire de mon père **Djamel**, le héros silencieux de ma vie, décédé trop tôt, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que vous êtes fiers de moi, puisse Dieu le tous puissante l'avoir en sa sainte miséricorde.*

*A ma chère mère **Razika**, mon ange gardien, mes piliers, ma lumière, et ma source inépuisable d'Amour. Merci pour tout le soutien et l'amour infini que vous me portez depuis mon enfance, pour tes prières, tes larmes cachées et ta force. Que Dieu te garde auprès de moi en bonne santé et entouré d'amour. Et*

j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes grands-parents, je vous souhaite une bonne santé.

*A mes belles sœurs (**LILIA, IMANE, SARAH**), en signe d'amour, de gratitude, pour les sacrifices dont vous avez fait toujours preuve à mon égard.*

A tous les membres de ma grande famille, je t'aime de tout mon cœur.

*A tous les gens m'aiment : /OUCEF, MANEL, FARAH, NOUR, /ASMINE,
Celles qui ont partagé mes rires, mes larmes et mes rêves. Merci pour l'énergie
positive, son soutien moral dans les moments difficiles.*

*A mes encadreurs, Mme MOKRANE A et Mme NADJI S, et tous les enseignants,
qui par un mot, un geste, un regard ont semé en moi le graine de
la persévérance et du savoir.*

*Sans oublier ma chère binôme, FELLA, merci d'être la meilleure version de toi-
même, pour son entente et sa sympathie.*

A toute personne formidable que je connaisse.

*Avec toute mon émotion,
Mlle MANEL.*

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude envers Dieu, source de toute force, de toute sagesse et de toute inspiration. Par Sa volonté, j'ai pu franchir chaque étape de ce parcours. Que toute louange Lui soit rendue pour les bienfaits dont Il m'a comblée.

Je dédie ce travail à ma famille bien-aimée...

À ma mère chérie, la femme au cœur immense, dont l'amour inconditionnel, la patience et les prières silencieuses ont été mes repères.

À mon père, l'homme de principes et de courage, ton exemple de droiture, ta force tranquille et ta guidance paternelle ont été pour moi une source intarissable d'inspiration et de résilience.

À ma sœur Cheima, mon alliée de toujours, ma confidente et soutien indéfectible, merci pour ton encouragement, affection et ta fidélité sans faille.

À mes sœurs Jasmin et Noor, merci pour votre soutien et votre présence constante.

À ma grande famille, merci pour votre bienveillance, vos prières et vos encouragements.

Je pense également à mes précieux amies, et plus particulièrement à ma binôme Manel, partenaire de chaque étape, avec qui j'ai partagé les longues journées de travail, les doutes et les réussites, merci pour ta loyauté.

Ce travail est aussi dédié à mes enseignants, avec une gratitude toute particulière à mes encadreuses Mme Mokrane A et Mme Nadji S pour m'avoir guidée avec bienveillance et professionnalisme à chaque étape de ce projet et à ma promotion de B.P.M 2024/2025.

*Une pensée spéciale à la grande famille du Club Ibdaa et spécialement à mon équipe
RH, l'espace de dépassement de soi et de créativité, merci pour la confiance, les
projets, et l'esprit collectif qui m'a tant inspirée.*

Fella

Table des matières

Remerciement	i
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures	ix
Liste des abréviations.....	xi
Résumé	xiv
Abstract.....	xv
ملخص	xvi

INTRODUCTION	17
--------------------	----

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralité sur <i>Moringa Oleifera</i> et <i>Artemesia Annua</i>	4
I.1.1. Définition.....	4
I.1.2. Structure et morphologie.....	4
I.1.3. Valeurs nutritionnelles.....	5
I.1.4. Utilisation traditionnelle et moderne.....	6
I.2. Les métabolites primaires et secondaires.....	7
I.3. Activités biologiques	9
I.3.1. Activités anti-inflammatoires	9
I.3.2. Activité antioxydantes.....	11
I.3.3. Activités antimicrobiennes.....	12
I.3.4. Autres activités biologiques	13
1.4. Modélisation <i>in silico</i> de la toxicité	15

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel	18
II.1.1. Matériel biologique.....	18
II.1.2. Matériel non biologique	21
II.2. Méthodes	21
II.2.1. Méthode d'extraction de <i>Moringa oleifera</i> et <i>Artemisia annua</i>	23

II.2.2. Caractérisation phytochimique.....	25
II.2.3. Identification des principes actifs de <i>Morisia</i>	28
II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	29
II.2.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	31
II.2.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i>	32
II.2.7. Méthodes de prédiction <i>in silico</i> des propriétés toxicologiques des molécules bioactives.....	33
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Résultats.....	35
III.1.1. Résultats des extractions et le rendement des extraits végétaux	35
III.1.2. Criblage phytochimique.....	36
III.1.3. Teneurs en composés phénoliques	37
III.1.4. Teneurs en flavonoïdes.....	38
III.1.5. Teneurs en tanins hydrolysables	39
III.1.6. Teneurs en tanins condensés	41
III.1.7. Identification des Principes actifs de <i>Morisia</i>	42
III.1.8. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	47
III.1.9. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	50
III.1.10. Evaluation de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i>	52
III.1.11. Identification des composés à haut risque de toxicité <i>in silico</i>	53
III.2. Discussion.....	57
Conclusion et Perspectives.....	78
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	80
ANNEXES.....	96

Liste des tableaux

Tableau 1 : Description et pouvoir pathogène des souches testées.

Tableau 2 : Caractéristiques et rendements des extraits.

Tableau 3: Résultats du criblage phytochimique de la matière première.

Tableau 4 : Teneur des extraits de la matière première en composés phénoliques.

Tableau 5 : Teneur des extraits de la matière première en flavonoïdes.

Tableau 6 : Teneur des extraits de la matière première en tanins hydrolysables.

Tableau 7 : Teneur des extraits de la matière première en tanins condensés.

Tableau 8 : Résultats explicatifs du chromatogramme HPLC (original).

Tableau 9 : Résultats explicatifs du chromatogramme HPLC (original).

Tableau 10 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀).

Tableau 11 : Valeurs des IC₅₀ du mélange 50/50 (activité antioxydante).

Tableau 12 : Valeurs des IC₅₀ des cinq mélanges testés (activité antioxydante).

Tableau 13 : Valeurs des IC₅₀ de la matière première (activité anti-inflammatoire).

Tableau 14 : Valeurs des IC₅₀ des cinq mélanges (activité anti-inflammatoire).

Tableau 15 : Sensibilité et CMI (mg/mL) des souches bactériennes testées aux extraits méthanoliques de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua*.

Tableau 16 : Profil toxicologique prédit des composés bioactifs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* selon ADMETlab 3.0.

Liste des figures

Figure 1 : Mécanisme d'action anti-inflammatoire de *Moringa oleifera* via l'inhibition de la phosphorylation d'IKB α et la suppression de la voie NF- κ B (Pareek et al., 2023).

Figure 2 : Mécanismes antiviraux et anti-inflammatoires proposés de l'artémisinine (ART) et de l'artésunate (AS) contre le SARS-CoV-2 (Farmanpour-Kalalagh et al., 2022).

Figure 3 : Activités biologiques de *Artemisia annua* (L. Xinchu Feng et al., 2020).

Figure 4 : Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale.

Figure 5 : Mécanisme de réduction du radical DPPH $\bullet$ par un antioxydant (RH) : principe du test d'évaluation de l'activité antioxydante.

Figure 6 : Démarche de l'évaluation de la toxicité *in silico* (originale).

Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux (originale).

Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes (original).

Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tanins hydrolysables (originale).

Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés (originale).

Figure 11 : Chromatogramme HPLC (original).

Figure 12 : Chromatogramme HPLC (original).

Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'artémisinine obtenue par HPLC.

Figure 14 : Chromatogramme de l'étalon d'artémisinine.

Figure 15 : Chromatogramme de l'extrait hexanique d'*Artemisia annua*.

Figure 16 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique du Morisia 50A/50M (originale).

Figure 17 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique du Morisia 50A/50M (originale).

Figure 18 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀) des cinq mélanges (activité antioxydante) (originale).

Figure 19 : Profil toxicologique des principes actifs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* (originale).

Figure 20: Résumé de certaines des fonctions contribuant aux capacités antioxydantes des flavonoïdes

Figure 21: Un modèle schématique des mécanismes hypothétiques de l'action moléculaire de MIC-1 affectant les voies Nrf2 et NF- κ B

Liste des abréviations

A. annua : *Artémisia Annua*

ACE2: Angiotensin-Converting Enzyme 2

ACT : Antimalarial Combination Therapies

ADMET: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity

ADMETlab : (plateforme de prédiction ADME-Tox)

AR: Androgen Receptor

ARE : Antioxidant Response Element

ARN Pol II : ARN polymérase II

ART: Artemisinin

AS: Artesunate

Bcl-xL: B-cell lymphoma-extra large

BHT: Butylated Hydroxytoluene

CAT: Catalase

CBM : Concentration bactéricide minimale

CDK4: Cyclin-Dependent Kinase 4

CK: Creatine Kinase

COX: Cyclooxygenase

COX-2: Cyclooxygenase-2

CTP1A1: Cytochrome P450, famille 1, sous-famille A, member 1

CYP3A4: Cytochrome P450, famille 3, sous-famille A, member 4

DILI: Drug-Induced Liver Injury

DMSO: Dimethyl Sulfoxide

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

E. coli : *Escherichia coli*

EAG : Equivalent acide gallique.

EC: Catechin

EQ : Equivalent quercétine.

ERK1/2: Extracellular Signal-Regulated Kinases 1/2

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GA: Acide Gallique

GLUT4: Glucose Transporter Type 4

GSH: Reduced Glutathione

GSH-Px / GPx: Glutathione Peroxidase

HBV: Hepatitis B Virus

HEK-293: Human Embryonic Kidney 293 cell line

hERG: Human Ether-à-go-go-Related Gene (cardiac potassium channel)

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography

HSV-1/2: Herpes Simplex Virus type 1 and 2

IC50: Concentration inhibitrice à 50 %

IKK: IκB kinase

IL-6: Interleukin-6

iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase

IκB : Inhibitor of NF-κB

Keap1 : Kelch-like ECH-associated protein 1

LD50: Dose Létale à 50%

LDH: Lactate Dehydrogenase

LOX: Lipoxygenase

LPS : Lipopolysaccharide

M. oleifera : *Moringa Oleifera*

MAP2K1: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 1

MDA: Malondialdehyde

MDM2: Mouse Double Minute 2 homolog

mg CE/g MS : milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche

mg GAE/g MS : milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

mg QE/g MS : milligrammes d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche

mg TAE/g MS : milligrammes d'équivalent acide tannique par gramme de matière sèche

MMP-9: Matrix Metalloproteinase-9

NFKB1: Nuclear Factor Kappa B subunit 1

NF-κB: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NO: Nitric Oxide

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PGE₂ : Prostaglandine E2

PI3K/mTOR: Phosphoinositide 3-kinase / Mammalian Target of Rapamycin

pkCSM : (plateforme de prédiction de pharmacocinétique/toxicité)

ProTox-II : (plateforme de toxicité in silico)

PTGS2: Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2

Q: Quercetin

RH: Hydrogen Donor Molecule

ROS : Reactive Oxygen Species

rpm: Revolutions Par Minute

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SARS-CoV-2: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

Smac/DIABLO: Second Mitochondria-derived Activator of Caspases / Direct IAP-Binding Protein with Low pI

SOD: Superoxide Dismutase

TA: Acide Tannique

T-AOC: Total Antioxidant Capacity

TLR4/MyD88: Toll-Like Receptor 4 / Myeloid Differentiation primary response 88

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule-1

Résumé

En réponse à l'intérêt croissant pour des alternatives naturelles efficaces et sûres, cette étude a porté sur deux plantes médicinales disponibles en Algérie, *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, choisies pour leur richesse en composés bioactifs. L'objectif de ce travail a été de caractériser leurs extraits sur le plan phytochimique, d'évaluer leurs activités biologiques in vitro antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, ainsi que leur profil toxicologique à l'aide d'outils in silico. L'analyse phytochimique a révélé une forte teneur en polyphénols et flavonoïdes, dont l'artémisinine dans *Artemisia annua*, et la quercétine, l'isoquercétine et l'acide chlorogénique dans *Moringa oleifera*. Concernant l'activité antioxydante, *Artemisia annua* a montré une capacité radicalaire élevée avec une IC_{50} de 0,0217 mg/mL, surpassant l'activité de référence de l'acide ascorbique, tandis que *Moringa oleifera* a présenté une activité plus modérée (IC_{50} = 0,2125 mg/mL). En ce qui concerne l'effet anti-inflammatoire, *Artemisia annua* a atteint une IC_{50} de 0,49 mg/mL contre 0,603 mg/mL pour *M. oleifera*, alors que le mélange synergique à 90 % *Moringa oleifera* / 10 % *Artemisia annua* a permis de réduire cette valeur à 0,208 mg/mL, confirmant ainsi l'intérêt d'une association. *Artemisia annua* a montré une forte activité antimicrobienne contre des souches Gram positif, notamment *Acinetobacter baumannii* NDM-1 (CMI = 2,1 mg/mL) et *Enterococcus faecalis* (CMI = 2,5 mg/mL), tandis que *Moringa oleifera* a été plus efficace contre les bactéries Gram négatif telles que *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 2,5 mg/mL) et *Escherichia coli* (CMI = 2,9–3,33 mg/mL). L'analyse toxicologique in silico a révélé une faible toxicité globale, à l'exception de l'artémisinine, dont le potentiel mutagène justifie une attention particulière. Ces données ont conduit à l'élaboration d'un complément alimentaire alliant efficacité, innocuité et stabilité.

Mots clés : Activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne, activité antioxydante, analyse in silico, *Artemisia annua*, complément alimentaire, *Moringa oleifera*

Abstract

In response to the growing interest in safe and effective natural alternatives to conventional treatments, this study focused on two medicinal plants available in Algeria, *Moringa oleifera* and *Artemisia annua*, selected for their richness in bioactive compounds. The aim of this work was to characterize their extracts phytochemically, evaluate their *in vitro* biological activities antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial; and assess their toxicological profile using *in silico* tools. Phytochemical analysis revealed a high content of polyphenols and flavonoids, including artemisinin in *Artemisia annua*, and quercetin, isoquercetin, and chlorogenic acid in *Moringa oleifera*. Regarding antioxidant activity, *Artemisia annua* demonstrated a high free radical scavenging capacity with an IC_{50} of 0.0217 mg/mL, outperforming the reference standard ascorbic acid, while *Moringa oleifera* showed a more moderate effect (IC_{50} = 0.2125 mg/mL). In terms of anti-inflammatory potential, *Artemisia annua* reached an IC_{50} of 0.49 mg/mL compared to 0.603 mg/mL for *Moringa oleifera*, while the synergistic mixture (90% *Moringa oleifera* / 10% *Artemisia annua*) reduced this value to 0.208 mg/mL, confirming the interest of their combination. *Artemisia annua* also exhibited strong antimicrobial activity against Gram-positive strains such as *Acinetobacter baumannii* NDM-1 (MIC = 2.1 mg/mL) and *Enterococcus faecalis* (MIC = 2.5 mg/mL), whereas *Moringa oleifera* was more effective against Gram-negative bacteria such as *Klebsiella pneumoniae* (MIC = 2.5 mg/mL) and *Escherichia coli* (MIC = 2.9–3.33 mg/mL). *In silico* toxicological analysis indicated low overall toxicity for both extracts, although artemisinin warrants particular attention due to a predicted mutagenic potential. These findings led to the development of a dietary supplement formulation that combines efficacy, safety, and stability.

Keywords: Anti-inflammatory activity, antimicrobial activity, antioxidant activity, *in silico* analysis, *Artemisia annua*, dietary supplement, *Moringa oleifera*

ملخص

استجابةً للاهتمام المتزايد بالبدائل الطبيعية الآمنة والفعالة للعلاجات التقليدية، ركزت هذه الدراسة على نباتين طبيين متوفرين في الجزائر، هما *Moringa oleifera* و *Artemisia annua*، لاختيارهما بناءً على غناهما بالمركبات النشطة بيولوجيًا. هدفت الدراسة إلى توصيف مستخلصاتهما فيتوكيماويًا، وتقييم أنشطتهما البيولوجية في المختبر، بما في ذلك النشاط المضاد للأكسدة، والمضاد للالتهاب، والمضاد للميكروبات، إضافةً إلى تحليل سميتهما بواسطة أدوات تحليلية حاسوبية (*in silico*). كشفت التحاليل عن محتوى مرتفع من البوليفينولات والفلافونويدات، لاسيما الأرتيميسينين في الأرتيميسيا، والكيرسيتين والإيزوكيرسيتين وحمض الكلوروجينيك في المورينغا. أظهرت *Artemisia annua* قدرة قوية على تثبيط الجذور الحرة ($IC_{50} = 0.0217$ ملغ/مل)، متفوقة على حمض الأسكوربيك، بينما أظهرت *Moringa oleifera* نشاطًا معتدلًا ($IC_{50} = 0.2125$ ملغ/مل). (أما من حيث النشاط المضاد للالتهاب، فقد سجلت الأرتيميسيا $IC_{50} = 0.49$ ملغ/مل مقابل 0.603 ملغ/مل للمورينغا، في حين أن المزج بنسبة 90% مورينغا / 10% أرتيميسيا خفض هذه القيمة إلى 0.208 ملغ/مل، مما يعكس فعالية تآزرية. وبالنسبة للنشاط المضاد للميكروبات، فقد أظهرت الأرتيميسيا فعالية ضد سلالات موجبة الغرام مثل *Enterococcus faecalis* و *Acinetobacter baumannii* NDM-1، بينما كانت المورينغا أكثر فعالية ضد السلالات سالبة الغرام مثل *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli*. أظهرت التحاليل التنبؤية *in silico* سُمية منخفضة لكلا المستخلصين، مع الإشارة إلى ضرورة الحذر من الأرتيميسينين بسبب احتمالية تأثيره الطفري وفقًا لبعض المحاكاة. وقد أسفرت هذه النتائج عن تطوير مكمل غذائي يجمع بين الفعالية، والأمان، والاستقرار.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للالتهاب، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، التحليل الحاسوبي (*in silico*)، الأرتيميسيا (*Artemisia annua*)، المكمل الغذائي، المورينغا (*Moringa oleifera*)

INTRODUCTION

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales constituent une source fondamentale dans le traitement de nombreuses affections humaines à travers le monde. De nos jours, l'intérêt croissant pour les remèdes d'origine naturelle s'explique par la volonté de réduire les effets indésirables et la toxicité associés aux médicaments de synthèse. Les données issues des études *in vitro*, *in vivo*, ainsi que des essais cliniques, confirment que les plantes médicinales et leurs principes actifs représentent des alternatives thérapeutiques prometteuses, en particulier chez les patients souffrant de maladies chroniques (El Khasmi et al., 2022).

Dans ce contexte, la recherche de nouvelles molécules pharmaceutiques d'origine naturelle connaît un essor notable. Deux plantes en particulier, *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, suscitent un intérêt particulier en raison de leur richesse en métabolites secondaires bioactifs, de leur capacité d'adaptation à des environnements difficiles, ainsi que de leurs nombreuses propriétés pharmacologiques démontrées. En effet, plusieurs études mettent en évidence leur large spectre d'activités biologiques, incluant des effets antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens et immunomodulateurs (Twinomujuni et al., 2024).

Moringa oleifera est une plante aux vertus nutritionnelles et médicinales remarquables. Riche en vitamines, minéraux, protéines, acides aminés essentiels (Razis et al., 2014) et de grandes quantités de polyphénols entraînant une activité antioxydante élevée. Traditionnellement, la plante est utilisée pour soigner les plaies, la douleur, les ulcères, les maladies du foie, les maladies cardiaques, le cancer et l'inflammation (Pareek et al., 2023).

Artemisia annua est une plante aromatique annuelle reconnue pour ses importantes propriétés médicinales. Le métabolisme secondaire de l'*Artemisia annua* semble constituer une source riche en composés biologiquement actifs. Parmi ces derniers, l'artémisinine représente le principe actif majeur. Cette molécule, ainsi que ses dérivés sont largement utilisés pour lutter contre le paludisme résistant aux médicaments (Bhakuni et al., 2001).

L'efficacité de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* repose en grande partie sur la synergie entre leurs constituants phytochimiques, qui permet de potentialiser les effets biologiques. Cette interaction favorise une activité globale accrue, notamment antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, dépassant celle des composés isolés. Ce phénomène, central en phytothérapie moderne, améliore non seulement l'efficacité thérapeutique, mais aussi la biodisponibilité et la

durabilité de l'action. Comme le rappellent Silvano et al. (2022), ces interactions peuvent être additives ou synergiques, d'où l'importance de les caractériser pour optimiser les formulations à base de plantes. Dès lors, une question centrale se pose : En quoi la caractérisation phytochimique et l'évaluation biologique des extraits combinés de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* ouvrent-elles la voie à des solutions thérapeutiques innovantes et mieux tolérées ?

Une attention particulière a ainsi été portée à ce domaine afin de valoriser les plantes médicinales algériennes. L'étude porte sur une caractérisation physico-chimique des extraits de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, d'évaluer certaines de leurs activités biologiques à visée thérapeutique, ainsi que de prédire leur profil de toxicité à l'aide d'outils de modélisation *in silico*. Pour ce faire, nous avons fixé les objectifs suivants :

- ✓ La caractérisation phytochimique vise à identifier et quantifier les composés bioactifs majeurs (polyphénols, flavonoïdes, etc.)
- ✓ Evaluation *in vitro* de l'effet antioxydant par l'utilisation de méthode de piégeage du radical libre DPPH.
- ✓ Evaluation *in vitro* de l'effet anti-inflammatoire par l'utilisation de méthode de dénaturation des protéines.
- ✓ Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée par la méthode de diffusion sur disque, et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).
- ✓ L'évaluation toxicologique *in silico* pour prédire les risques potentiels des composés bioactifs à partir de leur structure moléculaire.
- ✓ Analyser la synergie biologique potentielle entre les extraits de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua*.

Ce travail est structuré en trois parties. La première, synthèse bibliographique, présente les données essentielles sur *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, en mettant l'accent sur leur composition phytochimique et leurs propriétés biologiques. La deuxième partie, matériel et méthodes, décrit les techniques utilisées : extraction et purification des extraits, analyses phytochimiques, évaluation *in vitro* des activités antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne, prédiction toxicologique *in silico*, ainsi que l'étude de la synergie entre les deux plantes. La troisième partie est consacrée aux résultats et à la discussion des résultats obtenus, en

lien avec les objectifs fixés. Le travail se conclut par une synthèse des résultats et des perspectives de valorisation thérapeutique combinée.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralité sur *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*

Les plantes médicinales, telles que *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, sont utilisées depuis l'antiquité pour prévenir et traiter diverses maladies en raison de leurs composés bioactifs aux effets thérapeutiques. *Moringa oleifera*, connu comme l'arbre miracle, possède des propriétés anti-inflammatoires, antidiabétiques et nutritives, tandis qu'*Artemisia annua*, connue sous le nom de « *qinghao* » en Chine, est une plante aromatique annuelle reconnue pour ses importantes propriétés médicinales. Originaires d'Asie, elles sont célèbres pour l'artémisinine, un composé clé dans le traitement du paludisme. Ces deux plantes sont au cœur de recherches en phytothérapie et en santé publique.

I.1.1. Définition

➤ *Moringa oleifera*

Le *Moringa oleifera*, dont le nom dérive du terme malayalam *muringa*, est une espèce originaire des chaînes subhimalayennes de l'Inde, largement cultivée dans les climats tropicaux, subtropicaux et steppiques (Malo, 2014; Padayachee et al., 2020 ; Leone et al., 2016). Également connu sous les noms d'arbre à baguettes, arbre à raifort, arbre à huile de ben ou arbre miracle, il est la variété la plus répandue de la famille des Moringacées (Mahfus et al., 2019).

➤ *Artemisia annua*

Artemisia annua L., communément appelée *Artemisia annua* ou *Qinghao*, est une plante médicinale importante reconnue dans la médecine traditionnelle. Ses caractéristiques botaniques uniques ont attiré l'attention des chercheurs et des botanistes (Ding et al., 2025).

I.1.2. Structure et morphologie

➤ *Moringa oleifera*

Le *Moringa oleifera* (*M. oleifera*) est un arbre à croissance rapide pouvant atteindre 10 à 12 mètres de hauteur et 60 cm de diamètre, avec une couronne étalée formée de branches fines et pendantes. Il possède une écorce blanchâtre, liégeuse, un bois tendre et une tige cassante (Parrotta, 2014 ; Sonewane et al., 2022). Ses feuilles tripennées, disposées en spirale, mesurent entre 20 et 70 cm et portent de nombreuses folioles ovales (Ralezo, 2006). Les fleurs, parfumées et bisexuées,

sont regroupées en panicules axillaires, avec cinq pétales jaunâtres à blanchâtres (Chiş et al., 2023). Le fruit, une capsule trilobée de 10 à 60 cm, renferme 12 à 35 graines rondes (Hêdji et al., 2014 ; FAO, 2014 ; Bosch, 2004 ; Foidl et al., 2001). Ces graines, de 1 à 1,5 cm de diamètre, sont entourées d'une coque semi-perméable et de trois ailes papilleuses, et sont riches en huile (Radovich, 2009). Enfin, son système racinaire pivotant, profond d'environ 1,30 m, lui confère une forte résistance à la sécheresse (Bosch et al., 2004).

➤ *Artemisia annua*

Artemisia annua (*A. annua*) est une plante annuelle à jours courts appartenant à la famille des *Asteraceae*, se distingue par un arôme prononcé et une tige dressée, de couleur brunâtre ou brun violacé. Elle atteint généralement une hauteur de 30 à 100 centimètres, mais peut croître jusqu'à 2 mètres sous des conditions idéales. Les feuilles, mesurant entre 3 et 5 centimètres de long, sont caractérisées par des bords dentelés. L'été, *A. annua* produit des fleurs jaunes qui s'épanouissent en grappes denses, contribuant à son attrait visuel tout en attirant les pollinisateurs et les insectes bénéfiques. La plante se reproduit par de petites graines brunes, dont le poids pour mille graines est de 0,03 gramme, utilisées pour la propagation (Ding et al., 2025).

I.1.3. Valeurs nutritionnelles

➤ *Moringa oleifera*

Les propriétés nutritionnelles de *Moringa oleifera* varient selon les conditions environnementales telles que le type de sol et le climat (Chukwuebuka, 2015). Cette plante est particulièrement riche en composés bioactifs et éléments nutritifs essentiels, présents dans ses différentes parties. Les feuilles de *M. oleifera* présentent une **haute teneur en protéines** (22,99 à 29,36 %), une **faible teneur en matières grasses** (4,03 à 9,51 %), des **fibres alimentaires** modérées (6,00 à 9,60 %) et une **teneur en cendres** de 8,05 à 10,38 %. Elles contiennent également **des glucides (9,1 g/100 g)**, une grande **quantité de vitamine C** (187,96 à 278,50 mg/100 g), ainsi que des **vitamines A, B1, B2, B3, B5, B6, B9 et C** (Oluantá et al., 2023 ; Pareek et al., 2023 ; Laleye et al., 2015). Les feuilles de *M. oleifera* sont **riches en calcium** (1,322 à 2,645 %), **phosphore** (0,152 à 0,304 g/100 g), **potassium** (1,317 à 2,025 g/100 g), ainsi qu'en fer, magnésium, manganèse, sodium et zinc (Oluantá et al., 2023). Les feuilles contiennent également

des **acides aminés essentiels** (au nombre de 9), du **saccharose**, du **D-glucose**, ainsi que des **minéraux tels que le calcium et le potassium** (Pareek et al., 2023). Les gousses de *M. oleifera* sont une source de **vitamines A, B et C**, d'**acides aminés essentiels** (méthionine, cystine, tryptophane, lysine) et de **polysaccharides** (Kumar et al., 2021 ; Outani et al., 2023; Laleye et al., 2015). Les graines matures contiennent une **huile comestible riche en acides gras insaturés**, notamment en **acide oléique (38 à 54 %)**, ainsi que d'autres acides gras tels que l'acide linoléique, stéarique, palmitique et linolénique. Elles sont également riches en **phytostérols** (β -sitostérol, campestérol, stigmastérol) (Outani et al., 2023).

➤ *Artemisia annua*

Artemisia annua se distingue par sa richesse nutritionnelle. Les feuilles de cette plante présentent une teneur élevée en protéines, atteignant 27,1 % de la matière sèche, environ 8 % de glucides, 6,7 % des lipides et une teneur en fibres alimentaires brutes atteignant 14,2 %, ce qui en fait une source potentielle de fibres fonctionnelles. *A. annua* est une bonne source de vitamine E, avec des concentrations allant de 1,19 à 22,63 mg/kg. Elle contient également des minéraux essentiels tels que le calcium, le potassium, le magnésium, le fer, le zinc et le manganèse (Trendafilova et al., 2021; Iqbal et al., 2012).

I.1.4. Utilisation traditionnelle et moderne

➤ *Moringa oleifera*

Moringa oleifera, utilisé depuis l'Antiquité en Inde, en Afrique et en Égypte, est reconnu pour ses propriétés médicinales variées. Il est traditionnellement employé contre l'asthme, la goutte, les rhumatismes, les infections, les troubles digestifs, hépatiques, rénaux et neurologiques, ainsi que pour traiter la fièvre, l'anémie, l'hypertension, la tuberculose, le choléra et les blessures (Soto et al., 2024 ; Pareek et al., 2023 ; Mishra et al., 2012 ; Padayachee et al., 2020 ; George et al., 2021). Toutes les parties de l'arbre sont valorisées : feuilles (fortifiant et nutraceutique), graines (huile, purification de l'eau), gousses et fleurs (alimentation et santé), racines et écorce (troubles digestifs, respiratoires, cutanés) (Mahfuz et al., 2019 ; George et al., 2021). Des études modernes confirment ses propriétés antidiabétiques, anti-inflammatoires, hypocholestérolémiantes, antivirales, cardioprotectrices et anticancéreuses, favorisant son intégration dans les produits

pharmaceutiques et nutraceutiques (Tshabalala et al., 2019 ; Benarima et al., 2021 ; Pandey et al., 2011). Les feuilles sont aussi utilisées pour lutter contre la malnutrition, enrichir des aliments transformés et contribuer à la conservation microbienne des produits (Zarina et al., 2024). Résistant aux climats difficiles, le *Moringa oleifera* est promu comme culture stratégique pour la sécurité alimentaire en Afrique subsaharienne, en Inde et en Amérique latine.

➤ *Artemisia annua*

Artemisia annua est utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle asiatique et africaine, notamment pour traiter le paludisme et les états fébriles, souvent sous forme de tisanes ou de jus (Ekiert et al., 2021). En médecine traditionnelle chinoise, ses usages s'étendent à l'ictère, la dysenterie, certaines maladies tuberculeuses fébriles, les affections auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde et le lupus, ainsi qu'au traitement des hémorroïdes, des plaies et de troubles oculaires (Ekiert et al., 2021). Elle figure aujourd'hui dans les pharmacopées officielles de la Chine, du Vietnam et de l'OMS, et attire l'intérêt de l'industrie cosmétique, notamment en Europe (Septembre-Malaterre, 2020). Principalement connue pour sa teneur en artémisinine, molécule clé dans les thérapies antipaludiques combinées (ACT), *A. annua* possède également une large activité antimicrobienne contre divers parasites (*Plasmodium*, *Leishmania*, *Schistosoma*, *Toxoplasma gondii*), virus (hépatite A, HSV-1/2, VIH), champignons (*Candida*, *Malassezia*) et bactéries (*Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, etc.) (Feng et al., 2020). Elle présente aussi des propriétés anticancéreuses, anti-inflammatoires, immunorégulatrices, antiulcéreuses, anti-asthmatiques, antalgiques, anti-obésité et anti-ostéoporose (Feng et al., 2020).

I.2. Les métabolites primaires et secondaires

➤ *Moringa oleifera*

Les métabolites **primaires** de *Moringa oleifera*, essentiels à la croissance et au métabolisme de la plante, incluent des **glucides** (D-glucose, D-mannose), des **acides aminés** (notamment les acides aminés essentiels tels que la leucine, la lysine, la méthionine, la thréonine), ainsi que des

acides gras (oléique, linoléique, stéarique, palmitique) présents principalement dans les graines et l'huile (Oluantá et al., 2023; Outani et al., 2023; Laleye et al., 2015). Ces composés sont à l'origine de la synthèse des métabolites secondaires. Les **métabolites secondaires**, dérivés de ces premiers, sont responsables des effets thérapeutiques de la plante. On y retrouve :

- ✓ **Flavonoïdes** : quercétine, kaempférol, isoquercitrine, myricétine, lutéoline, apigénine, génistéine (Pareek et al., 2023).
- ✓ **Composés phénoliques** : acides gallique, ellagique, caféique, férulique, chlorogénique, syringique, sinapique (Chiş et al., 2023).
- ✓ **Glucosinolates** : glucomoringine, glucotropaeoline ; leurs dérivés, les isothiocyanates, contribuent aux propriétés antimicrobiennes et anticancéreuses (**Kumar** et al., 2021).
- ✓ **Alcaloïdes** : moringine, moringinine, niazimicine, niaziminine (Pareek et al., 2023).
- ✓ **Phytostérols** : β -sitostérol, campestérol, stigmastérol (Outani et al., 2023).
- ✓ **Saponines, tanins, vanilline, D-allose** (Pareek et al., 2023).

Ces métabolites secondaires confèrent à *M. oleifera* une large gamme d'activités biologiques : **antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, antidiabétique, cardioprotectrice, hépatoprotectrice, anticholestérolémique et anticancéreuse** (Tshabalala et al., 2020 ; Benarima et al., 2021 ; Pandey et al., 2011).

➤ *Artemisia annua*

Les métabolites primaires d'*Artemisia annua*, bien que moins étudiés que les composés secondaires, jouent un rôle essentiel dans le métabolisme de base de la plante. Parmi eux figurent divers **acides aminés**, nécessaires à la biosynthèse des protéines végétales, ainsi que des **sucres simples et complexes** comme le glucose, le fructose et le saccharose, qui servent de source d'énergie et de réserves carbonées. La plante contient également des **acides gras** tels que les acides linoléique, oléique et palmitique, qui entrent dans la constitution des membranes cellulaires et jouent un rôle important dans la signalisation lipidique (Trifan et al., 2022). On y retrouve aussi des **phytostérols**, notamment le bêta-sitostérol, le campestérol et le stigmastérol, qui participent à la régulation de la fluidité membranaire et présentent en plus des propriétés bénéfiques pour la santé humaine (Trifan et al., 2022). En outre, *A. annua* contient des **tanins**, des **saponines** et des **fibres**, qui, bien qu'ils soient souvent associés aux métabolites secondaires en raison de leurs effets

biologiques, remplissent également des fonctions structurales ou de protection primaire chez la plante. L'ensemble de ces métabolites primaires constitue la base biochimique indispensable à la croissance, au développement et à la survie de l'espèce. Outre ses métabolites primaires indispensables à la survie végétale, *Artemisia annua* se distingue par une remarquable diversité de **métabolites secondaires** :

- ✓ **Terpénoïdes** : **artémisinine**, un lactone sesquiterpénique à noyau endoperoxydique, principalement responsable de l'activité antipaludique de la plante (Al-Khayri et al., 2022 ; Zhang et al., 2024). Autres terpènes présents dans l'huile essentielle, comme, camphène, camphre, β -pinène, β -caryophyllène, germacrène D, bornéol, cuminal (Trifan et al., 2022 ; Deng et al., 2025).
- ✓ **Flavonoïdes** : artémétine, casticine, dérivés de la quercétine, lutéoline, apigénine et kaempférol. Ces composés représentent environ 85 % des polyphénols présents dans la plante (Ekiert et al., 2021).
- ✓ **Coumarines** : scopolétine, esculétine, tomentine, mélilotosides cis et trans (Ekiert et al., 2021 ; Trifan et al., 2022).
- ✓ **Acides phénoliques** : acide chlorogénique, acide caféique, acide rosmarinique et acide quinique (Ekiert et al., 2021).
- ✓ **Autres composés** : polyalcènes, des tanins, des saponines, des phytostérols et des acides gras, contribuant à son activité biologique (Trifan et al., 2022).

1.3. Activité biologiques

Moringa oleifera et *Artemisia annua* possèdent une large gamme d'activités biologiques, telles que des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses, grâce à la richesse de leurs métabolites primaires et secondaires.

I.3.1. Activité anti-inflammatoire

➤ *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est une plante médicinale riche en composés bioactifs (environ 36 identifiés dans ses différentes parties) aux propriétés anti-inflammatoires, notamment les tanins, phénols,

alcaloïdes, flavonoïdes, β -sitostérol, vanilline, moringine, ainsi que les flavonols quercétine et kaempférol (Padayachee et al., 2020 ; Ouantan et al., 2023). Ces composés inhibent la phosphorylation d'I κ B α , empêchant l'activation de NF- κ B et réduisant la production de médiateurs inflammatoires tels que TNF- α , COX-2, IL-6 et iNOS, contribuant ainsi au traitement de pathologies comme l'obésité, l'arthrite ou encore certains cancers (Chis et al., 2024). La quercétine et le kaempférol inhibent les enzymes pro-inflammatoires COX et LOX, limitant la synthèse des prostaglandines et leucotriènes. Par ailleurs, des glucosides phénoliques issus des fruits ont démontré une inhibition du NO dans les macrophages activés par LPS, tandis que des composés extraits des racines ont freiné la production de TNF- α . L'extrait de fruits bloque également la translocation du NF- κ B (Pareek et al., 2023 ; Chis et al., 2024) (Figure 1). Enfin, les extraits aqueux de graines ont réduit les niveaux de TNF- α et IL-1 β tout en stimulant la cytokine anti-inflammatoire IL-10, et l'extrait de feuilles a montré une efficacité dans le traitement de la dermatite atopique (Padayachee et al., 2020 ; Pareek et al., 2023 ; Chis et al., 2024).

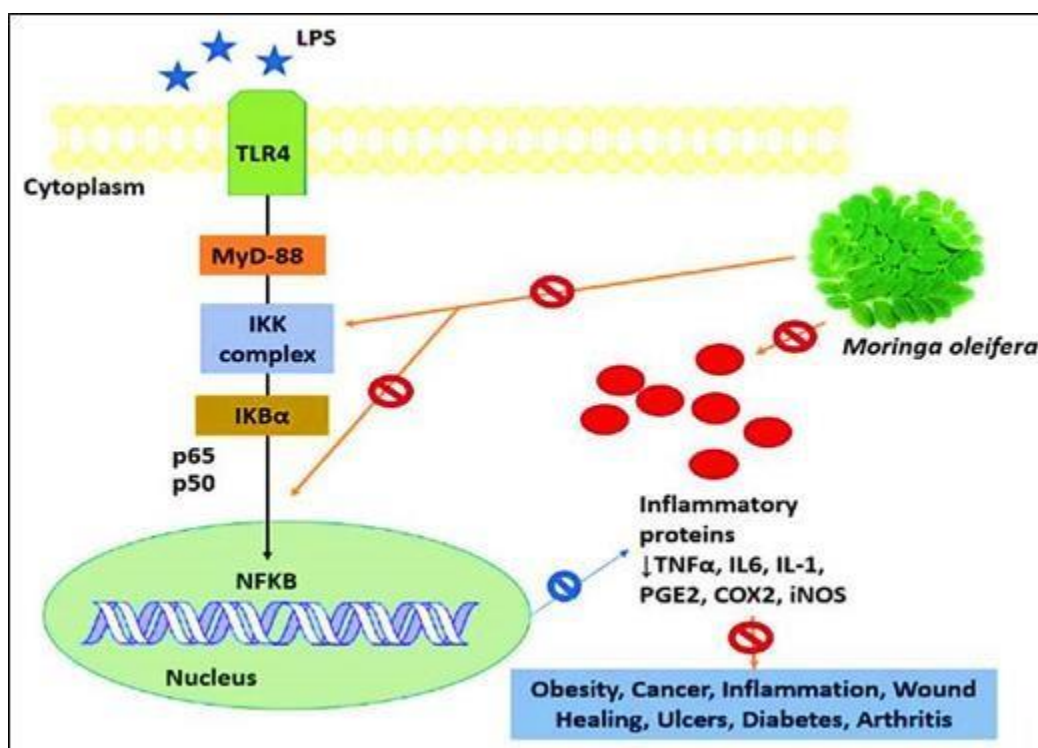


Figure 1 : Mécanisme d'action anti-inflammatoire de *Moringa oleifera* via l'inhibition de la phosphorylation d'I κ B α et la suppression de la voie NF- κ B (Pareek et al., 2023).

➤ *Artemisia annua*

Les composés bioactifs de l'*Artemisia annua*, tels que l'artémisinine, la dihydroartémisinine, la désoxyartémisinine, l'artémisinine B et l'acide rosmarinique, possèdent une activité anti-inflammatoire significative. L'extrait de feuilles réduit la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8, TNF- α , IL-1 β) en modulant les voies TLR4/MyD88 et en inhibant la translocation nucléaire du facteur de transcription NF- κ B (Ekiert et al., 2021 ; Favero et al., 2024 ; Zhang et al., 2024). L'artémisinine B inhibe la production de NO dans les cellules microgliales activées, tandis que la désoxyartémisinine favorise la synthèse de prostaglandines cytoprotectrices (Favero et al., 2024). Par ailleurs, l'extrait de l'*Artemisia annua* inhibe les enzymes CYP3A4 et CYP1A1, contribuant à la fois à l'effet anti-inflammatoire et à l'amélioration de la biodisponibilité de l'artémisinine (Ekiert et al., 2021). De nombreux agents pathogènes, dont le SARS-CoV-2, activent la voie NF- κ B, un régulateur clé de la réponse immunitaire et inflammatoire. Dans ce contexte, l'artémisinine (ART) et l'artésunate (AS) présentent trois mécanismes antiviraux contre le SARS-CoV-2 : (1) inhibition de l'interaction spike/ACE2, empêchant l'endocytose virale ; (2) inhibition de la voie NF- κ B via IKK ; et (3) blocage de l'activité transcriptionnelle du complexe p50/p65 (Figure 2) (Farmanpour-Kalalagh et al., 2022).

Depuis 2001, l'OMS recommande les thérapies combinées à base d'artémisinine (ACT) comme traitement de référence du paludisme, afin d'améliorer l'efficacité et limiter les résistances (Favero et al., 2024). De plus, des études récentes soulignent leur potentiel contre diverses pathologies inflammatoires, cancers et infections virales, y compris la COVID-19 (Zhang et al., 2023).

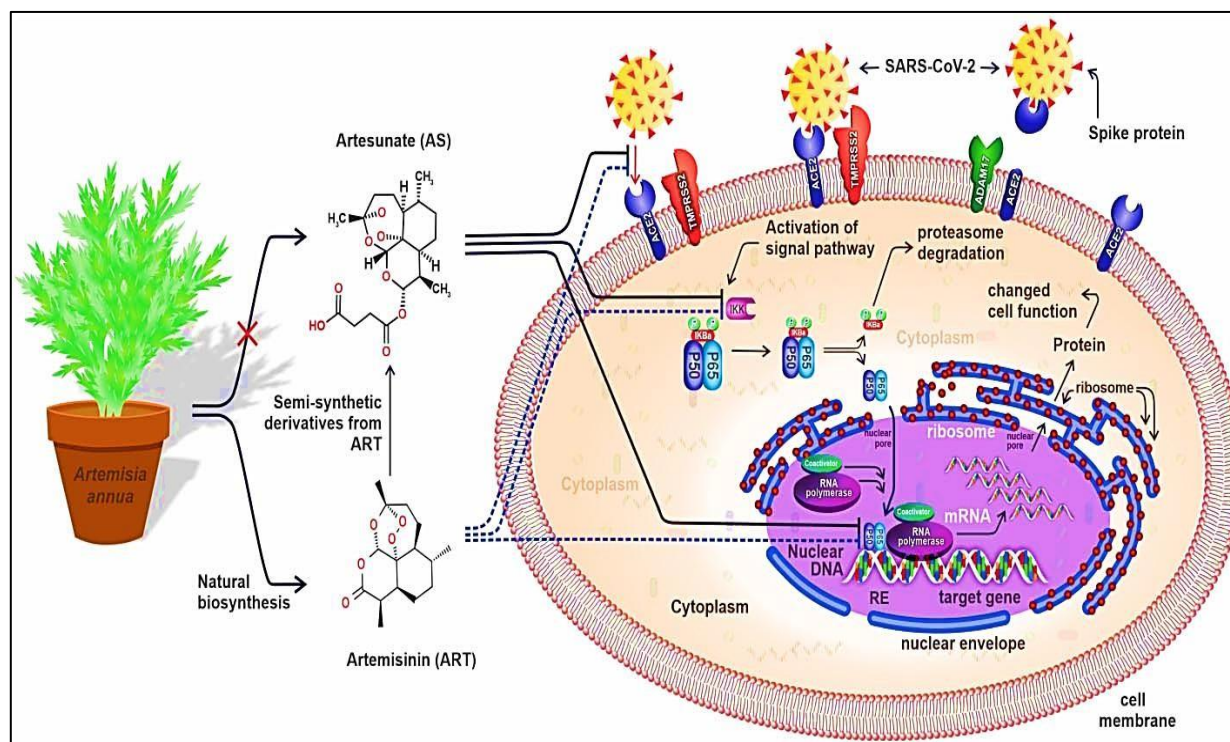


Figure 2 : Mécanismes antiviraux et anti-inflammatoires proposés de l'artémisinine (ART) et de l'artésunate (AS) contre le SARS-CoV-2 (Farmanpour-Kalalagh et al., 2022).

I.3.2. Activité anti-oxydante

➤ *Moringa oleifera*

Moringa oleifera présente une forte activité antioxydante, principalement grâce à sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes (quercétine, myricétine, isoquercétine), vitamines (C, α - et γ -tocophérols, β -carotène), ainsi qu'en acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), qui neutralisent les ROS et protègent les biomolécules cellulaires (Ding et al., 2025 ; Umiey, 2019 ; Padayachee et al., 2020). Les extraits de feuilles et de gousses montrent une capacité marquée à piéger les radicaux libres (DPPH, NO) et à réduire le fer (FRAP). Ils augmentent également les taux de glutathion (GSH) et réduisent les niveaux de MDA sans toxicité, indiquant une protection cellulaire efficace (Pareek et al., 2023).

Des composés spécifiques comme la myricétine (extrait de graines), plus puissant que le BHT et l' α -tocophérol, ainsi que l'astragaline et l'acide cryptochlorogénique, contribuent à la réduction des ROS dans les cellules HEK-293 (Pareek et al., 2023 ; Ding et al., 2015).

➤ ***Artemisia annua***

Artemisia annua possède une activité antioxydante notable grâce à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes, reconnus pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres (Sembiring et al., 2022). Diverses études ont montré que *Artémisia annua* est capable d'augmenter significativement l'activité des enzymes antioxydantes telles que la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GSH-Px) et la superoxyde dismutase (SOD), notamment dans le sérum et les tissus du jéjunum. Elle contribue également à l'élévation du taux de capacité antioxydante totale (T-AOC), soulignant son rôle dans l'amélioration du métabolisme des radicaux libres et la protection des membranes cellulaires contre le stress oxydatif (Cui et al., 2024). En outre, la capacité des extraits de feuilles d'*Artémisia annua* à inhiber l'hémolyse des érythrocytes par peroxyde d'hydrogène démontre un potentiel protecteur des dommages oxydatifs des globules rouges, en atténuant l'effet des espèces réactives de l'oxygène sur les cellules (Chukwurah et al., 2014).

I.3.3. Activité anti-microbienne

➤ ***Moringa oleifera***

Moringa oleifera exerce une forte activité antimicrobienne grâce à ses composés bioactifs (flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, etc.) présents dans ses feuilles, graines, racines et fruits. Ses extraits inhibent divers agents pathogènes, notamment des bactéries Gram-positives et Gram-négatives (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*), ainsi que des champignons (*Aspergillus spp.*, *Candida albicans*) (Padayachee et al., 2020 ; Nishant et al., 2021 ; Pareek et al., 2023). Cette action est liée à des molécules actives comme le 4-(α -L-rhamnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate, la ptérygospermine, une lectine hydrosoluble et d'autres isothiocyanates, capables d'endommager les membranes cellulaires microbiennes (Coriolano et al., 2020 ; Pareek et al., 2023).

➤ ***Artemisia Annua***

Artemisia annua présente une puissante activité antimicrobienne et antivirale, grâce à une diversité de composés bioactifs aux mécanismes d'action variés. La quercétine, l'acide p-coumarique, l'acide vanillique et l'acide sinapique agissent contre des bactéries multirésistantes en perturbant les membranes, l'ADN, la synthèse protéique ou les systèmes d'efflux (Bordean et al., 2023). Les artémisinines, composés majeurs de la plante, sont actives contre diverses bactéries, champignons et virus (HSV-1/2, hépatites A/B/C, grippe A, SRAS-CoV-2), en inhibant la réplication virale et en modulant les voies apoptotiques liées au stress oxydatif (Tao et al., 2020 ; Zhao et al., 2025). Les tanins condensés renforcent cette activité, notamment contre HSV-2 et HBV (Tao et al., 2020).

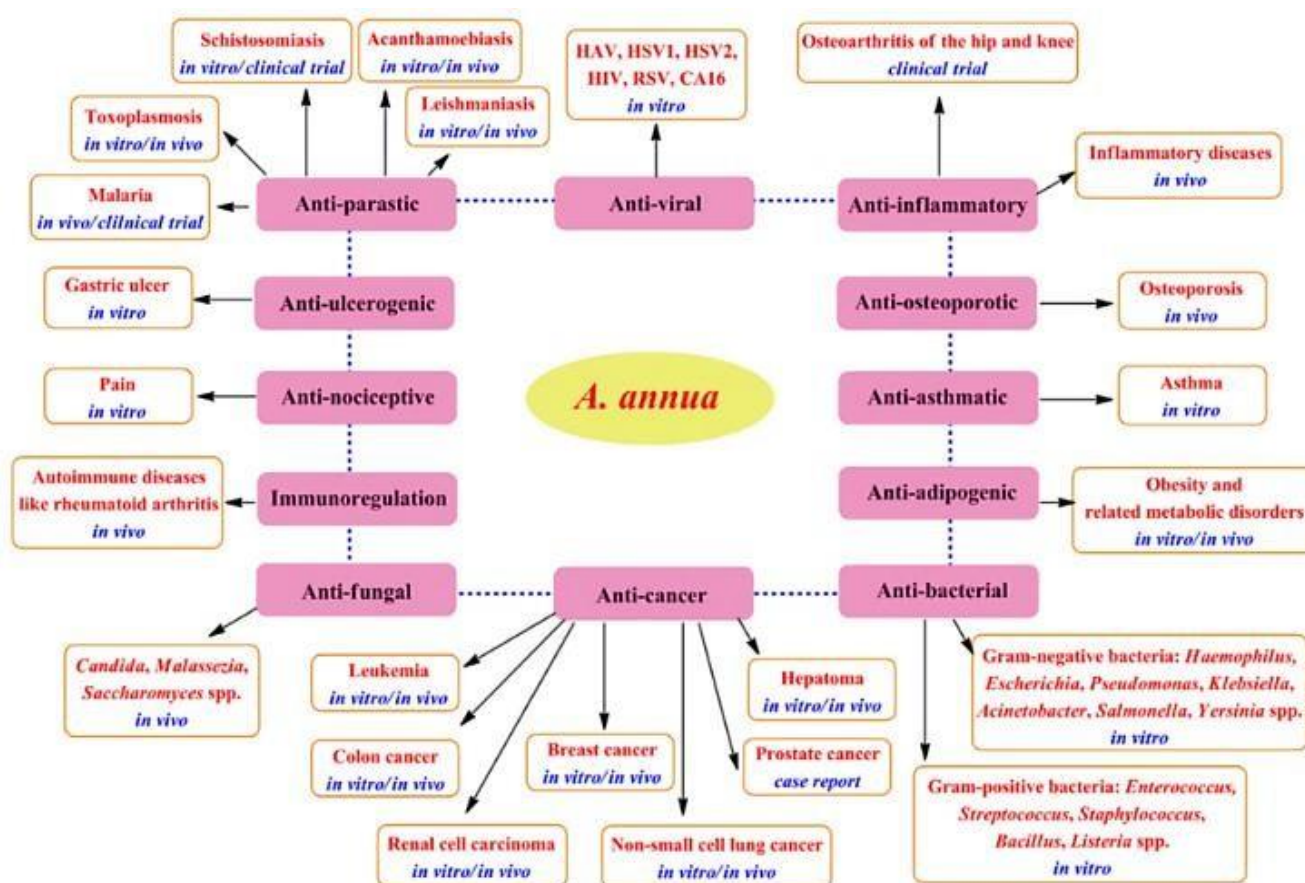
I.3.4. Autres activités biologiques

➤ *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est une plante médicinale aux multiples propriétés thérapeutiques, attribuées à ses composés bioactifs tels que la quercétine, la niazimicine, la glucomoringine ou encore l'acide chlorogénique (Umiey, 2019 ; Islam et al., 2021). Ses extraits ont montré des effets anticancéreux marqués en inhibant la prolifération de lignées tumorales (sein, côlon, poumon, pancréas), en induisant l'apoptose et en régulant des protéines clés comme p53, Bcl-xL, caspase-3 et la voie NF- κ B (Soto et al., 2024). Sur le plan antidiabétique, les extraits de feuilles et de graines de *M. oleifera* améliorent la tolérance au glucose, activent l'AMPK, stimulent la sécrétion d'insuline et modulent GLUT4 et la gluconéogenèse (Pareek et al., 2023 ; Chis et al., 2024). En médecine régénérative, *M. oleifera* présente des effets cicatrisants, gastroprotecteurs, hépatoprotecteurs, hypotensifs et cardioprotecteurs par l'activation d'enzymes antioxydantes telles que la SOD, la catalase, la GPx, la CK et la LDH (Laleye et al., 2015 ; Pareek et al., 2023). Les extraits méthanoliques ont également démontré un potentiel immunostimulant via l'activation des voies MAPK et l'expression d'IL-2 (Padayachee et al., 2020). Le *M. oleifera* protège également les neurones dopaminergiques, améliore la mémoire, agit comme anticonvulsivant et régule des gènes impliqués dans l'adipogenèse, la leptine et la résistine. Enfin, un extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* a significativement augmenté le taux d'hémoglobine chez des femmes anémiées dans une étude clinique rigoureuse (Pareek et al., 2023).

➤ *Artemisia Annua*

Artemisia annua présente un large spectre d'activités biologiques, notamment un fort potentiel anticancéreux attribué à des composés tels que l'artémisinine, le chrysosplénol D, la quercétine, le kaempférol, la lutéoline, l'isorhamnétine et l'artémétine. Ces molécules agissent via divers mécanismes : inhibition de la prolifération cellulaire (par régulation de CDK4, PTGS2 ou la β -caténine), induction de l'apoptose, de l'autophagie ou de la ferroptose, suppression du phénotype des cellules souches et blocage de voies clés comme PI3K/mTOR et ERK1/2 (Dawood et al., 2023 ; Guo et al., 2024). L'artémisinine, concentrée dans les cellules tumorales via les récepteurs de la transferrine, libère des radicaux libres cytotoxiques (Ait Mouse, 2016), et cible des gènes majeurs de la tumorigénèse tels que NFKB1, MAP2K1, AR et MDM2, suggérant une efficacité contre divers cancers (sein, poumon, mésothéliome) (Dawood et al., 2023). En parallèle, *A. annua* est



dotée d'une puissante activité antipaludique, principalement grâce à l'artémisinine, qui interfère avec le métabolisme mitochondrial de *Plasmodium falciparum*, inhibe la pompe à calcium et génère des espèces réactives de l'oxygène (Ekiert et al., 2021).

Figure 3 : Les activités biologiques d'*Artémisia Annua* (Feng et al., 2020)**1.4. Synergie entre *Moringa Oleifera* et *Artemisia annua***

Le terme « synergisme » signifie que l'effet de deux ou plusieurs substances entraîne une activité biologique meilleure que les substances pures administrées en une seule dose (Wagner et al., 2009). Dans ce contexte, de nombreuses plantes médicinales contiennent une gamme de composés actifs qui peuvent agir de manière synergique pour produire des effets thérapeutiques plus prononcés que les effets des composés individuels pris isolément (Lazouni et al., 2024). Certains produits phytochimiques commercialisés présentent un effet synergique, ce qui signifie que la combinaison de plusieurs composés naturels améliore leurs effets biologiques, notamment antioxydants et antimicrobiens et permet d'obtenir une action thérapeutique plus complète et durable. Cette synergie optimise ainsi le potentiel thérapeutique des extraits végétaux, justifiant leur utilisation en phytothérapie moderne pour prévenir et traiter plusieurs affections tout en réduisant les effets secondaires associés aux traitements synthétiques. Par ailleurs, la combinaison de deux ou plusieurs substances phytochimiques peut influencer la biodisponibilité ainsi que les effets biologiques finaux de chaque composant. De nombreux mélanges, qu'il s'agisse de composés bioactifs purifiés ou d'extraits de plantes riches en substances phytochimiques, sont reconnus pour induire une synergie dans des domaines tels que l'activité antioxydante, l'anti-inflammation, les effets anticancéreux, ainsi que la chimioprévention face au stress oxydatif et à divers troubles métaboliques in vitro. Les interactions entre phytochimiques peuvent être catégorisées comme étant additives, synergiques ou antagonistes (Twinomugisha et al., 2022).

L'association de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* montre une synergie thérapeutique dans le traitement du VIH et du paludisme. Selon Twinomujuni et al. (2024), cette combinaison améliore les marqueurs immunitaires (CD4, suppression virale, plaquettes) sans interférer avec les antirétroviraux. Elle réduit également la charge virale et régule positivement l'IL-2 et le PD-1. En ce qui concerne l'activité antiparasitaire, *M. oleifera* renforce l'efficacité d'*A. annua* contre *Toxoplasma gondii* par son effet hépatoprotecteur (Tété-Bénissan et al., 2015). Concernant le paludisme, les flavonoïdes de *M. oleifera* renforcent l'efficacité de l'artémisinine, augmentant la toxicité sélective contre *Plasmodium falciparum* tout en protégeant l'hôte des effets secondaires

(Veronica et al., 2020). Cette synergie fonctionnelle ouvre des perspectives pour des traitements naturels combinés contre les infections opportunistes et les maladies chroniques.

1.5. Modélisation *in silico* de la toxicité

La modélisation *in silico* désigne l'ensemble des simulations informatiques utilisées pour prédire le comportement de substances biologiques ou chimiques au sein de l'organisme. Introduite dans les années 1990, cette approche s'est imposée comme un outil incontournable en toxicologie prédictive. Elle permet d'évaluer la toxicité potentielle de composés sans recourir systématiquement aux expérimentations *in vitro* ou *in vivo*, réduisant ainsi les coûts, les délais, ainsi que l'utilisation de modèles animaux, tout en améliorant la précision dans la sélection des molécules (Raies et al., 2016).

Dans ce contexte, l'analyse ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) constitue une étape clé du développement préclinique. Elle offre des informations essentielles sur le profil pharmacocinétique et la toxicité potentielle des substances bioactives, avant toute validation expérimentale (Xiong et al., 2021). La plateforme ADMETlab 3.0 est un outil de prédiction avancé, basé sur des modèles d'apprentissage automatique, qui intègre des estimations d'incertitude afin d'accroître la fiabilité des résultats. Elle permet d'évaluer un large éventail de paramètres toxicologiques, parmi lesquels : la toxicité hépatique, la mutagénicité, la cancérogénicité, ainsi que les toxicités hépatique, rénale, neurologique et hématologique. D'autres critères sont également analysés, tels que la cytotoxicité sur les cellules HEK293, la génotoxicité, l'inhibition du canal hERG (associée à un risque d'arythmies cardiaques), et la dose létale 50 (DL₅₀), indicateur de toxicité aiguë. Cette analyse permet de prioriser les composés les plus sûrs.

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'objectif de cette étude est de caractériser physico-chimiquement les extraits de feuilles *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, d'évaluer certaines de leurs activités biologiques à visée thérapeutique, et d'estimer leur profil toxicologique à l'aide d'outils de modélisation *in silico*.

L'étude est réalisée *in vitro* et porte principalement sur l'analyse phytochimique des polyphénols issus de l'extraction des feuilles de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, à l'aide de différentes méthodes d'extraction (Soxhlet méthanolique, Soxhlet éthanolique et macération hydroéthanolique), ainsi que sur la détermination de leurs activités antioxydante (par le test DPPH), anti-inflammatoire (par inhibition de la dénaturation des protéines) et antimicrobienne (par diffusion sur disque et microdilution). En complément, une prédiction *in silico* des propriétés toxicologiques des molécules bioactives identifiées a été réalisée à l'aide de la plateforme ADMETlab 3.0.

Les travaux expérimentaux ont été menés au Laboratoire d'analyse de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Saad Dahlab, Blida 1 ; au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) de Bousmail, ainsi qu'au Centre ORPIN de Blida et ces partenaires (Laboratoire de développement et de contrôle des préparations pharmaceutiques hospitalières, service de chimie analytique - CHU Annaba).

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

Le choix de des plantes *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* dans cette étude repose sur une enquête préliminaire mettant en évidence leurs remarquables propriétés thérapeutiques dans le traitement de diverses pathologies. *Moringa oleifera* est une espèce largement répandue à travers le monde, notamment en Asie, en Afrique, en Amérique latine, dans les îles du Pacifique, à Madagascar et dans d'autres régions (Ashutosh et al., 2023). Elle s'adapte à des températures variant entre 25 et 35 °C et à des sols dont le pH se situe entre 4,5 et 8, jusqu'à 2 000 m d'altitude (Messaoud, 2019). En Algérie, elle est cultivée dans plusieurs régions : Tabelbala (Béchar), Adrar, Ghardaïa, Tindouf, Oran, Alger, Blida, etc. (Seghir et al., 2022 ; Makhloufi et al., 2021 ; Kacem et al., 2019). Sa culture est particulièrement prometteuse dans les zones arides comme Ouargla, en

raison de sa tolérance à la sécheresse et à des sols peu fertiles (Suwei et al., 2013 ; Naco et al., 2024).

Artemisia annua, quant à elle, est cultivée dans de nombreuses régions du globe : Europe occidentale et centrale, Asie du Sud-Est, Amérique du Nord et du Sud, Afrique, Australie et zones tropicales (Wang et al., 2022). Elle est largement utilisée comme plante médicinale, notamment sous forme de tisane, ainsi que comme épice alimentaire (PMC, 2020). En Algérie, sa culture s'étend progressivement, en raison de son potentiel médicinal reconnu.

➤ Classification taxonomique

La classification botanique des deux plantes étudiées (*Moringa oleifera* et *Artemisia annua*) est présentée comme suit :

***Moringa oleifera* (Kumar et al., 2021 ; John, 2014)**

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Superdivision : *Supermatophyta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Dilleniidae*

Ordre : *Capparales*

Famille : *Moringaceae*

Genre : *Moringa*

Espèce : *Moringa oleifera* (Lam., 1785)

***Artemisia annua* (Myrtéa Formations, 2015)**

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Asteraceae*

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia annua*

➤ Echantillonnage

La récolte des échantillons a été réalisée par l'équipe du Centre ORPIN de Blida, par temps sec et chaud, après le lever du soleil, afin d'éviter toute humidification. En effet, les plantes mouillées par la rosée ou la pluie nécessitent un temps de séchage plus long, ce qui peut entraîner leur altération, leur moisissure, leur fermentation et, par conséquent, la perte de leurs propriétés thérapeutiques. Lors de la collecte, les parties fanées ou abîmées ont été soigneusement retirées. Les échantillons utilisés *Moringa oleifera* a été récoltée dans la région de M'niaa et *Artemisia annua* dans la région de Doueouda, Tipaza, conformément aux bonnes pratiques de collecte et de conservation des plantes médicinales.

II.1.1. 2. Souches bactérienne

Le Tableau 1 présente les différentes souches microbiennes testées dans cette étude, leur classification, leur référence, ainsi que leur pouvoir pathogène, en lien avec les infections humaines qu'elles peuvent provoquer.

Tableau 1 : Description et pouvoir pathogène des souches testées

Microorganismes	Espèces	Références	Pouvoir pathogène
Bacilles à Gram négatif	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1	Infections nosocomiales multirésistantes : respiratoires, urinaires...
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Infections gastro-intestinales et urinaires
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Souche de référence, pathogène opportuniste
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	Infections pulmonaires, urinaires, et septicémies
	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	Infections alimentaires et gastro-entérites

	<i>Serratia marcescens</i>	—	Infections hospitalières : urinaires, respiratoires, sanguines
Cocci à Gram positif	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Infections urinaires, endocardites, infections intra-abdominales
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Infections cutanées, respiratoires, osseuses et sanguines
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Infections de la peau et des muqueuses, souche de référence industrielle

II.1.2. Matériel non biologique

Une variété de matériel non biologique (verrerie, réactifs, appareillages, etc.) a été mobilisée pour la réalisation des différentes techniques expérimentales. Les travaux ont été effectués au laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Saad Dahlab, Blida 1 ; ainsi qu'au Centre de Recherche en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) de Bousmail et Annaba.

Tous les réactifs utilisés sont de qualité analytique, notamment : éthanol (96 %), méthanol (99,5 %), 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), L'**acide ascorbique**, acétate de sodium (CH_3COONa), acide chlorhydrique (HCl), catéchine, Iodate de potassium (KIO_3), acide sulfurique, le réactif de Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium (Na_2CO_3), Acide gallique, trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Quercétine, Vanilline, Albumine, Solution tampon pH=6,4, Diclofénac, **chlorure de sodium** (NaCl), chlorure de potassium (KCl), dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), **Dihydrogénophosphate de sodium** (NaH_2PO_4), DMSO, MHB solution saline, Gélose nutritive, eau distillée, ainsi que le milieu de culture Mueller-Hinton (MH), Éthanol 70%, Du matériel spécifique en microbiologie a également été utilisé.

La plateforme ADMETlab 3.0 a été utilisée comme outil de modélisation *in silico* pour l'évaluation des propriétés toxicologiques des composés étudiés. Elle est accessible librement en ligne à l'adresse suivante : <https://admetlab3.scbdd.com>

Les détails relatifs au matériel et aux réactifs employés (Annexe 1), ainsi qu'à l'appareillage utilisé (Annexe 4) sont précisés dans les annexes correspondantes.

II.2. Méthodes

Cette étude évalue plusieurs paramètres expérimentaux. La méthodologie adoptée est synthétisée dans le schéma suivant (Figure 4).

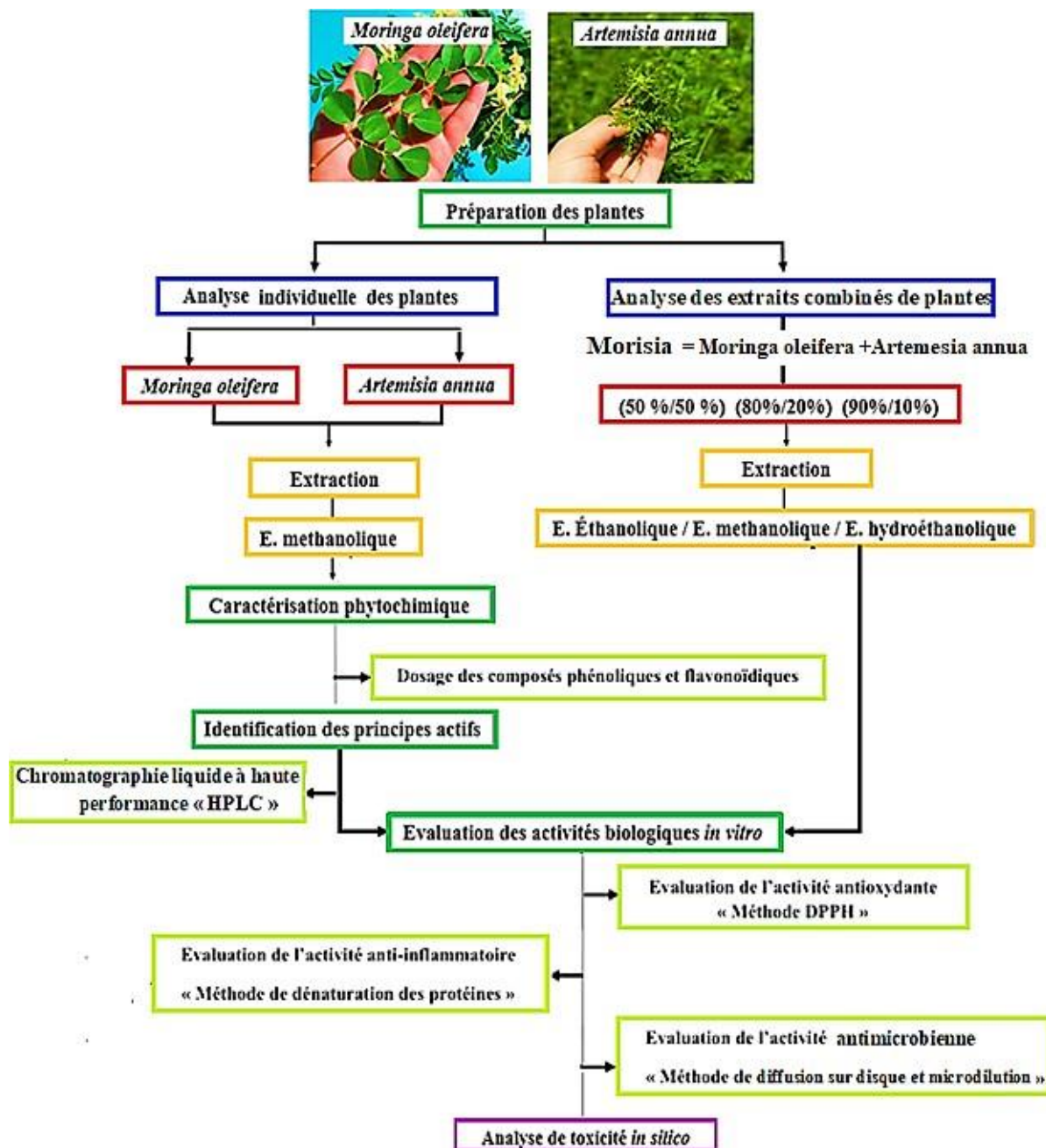


Figure 4 : Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale

➤ Récolte, séchage et broyage de la plante

La récolte de *Moringa oleifera* a été réalisée environ 3 à 4 mois après la plantation, au niveau de M'niaa, tandis que celle des feuilles de *Artemisia annua* a eu lieu dans la région de Doueouda, Tipaza. Après la récolte, les feuilles matures ont été soigneusement séparées des tiges, puis soumises à l'une des deux méthodes de séchage. La première consistait en un séchage à l'air libre, dans un environnement propre, bien ventilé et à température ambiante, pendant une durée de quatre jours, jusqu'à obtention de feuilles sèches (Annexe 2), croustillantes et friables. La seconde méthode reposait sur l'utilisation d'un sécheur électrique, réglé à 60 °C pendant 1 à 2 heures, en fonction du taux d'humidité initial des feuilles. Une fois séchées, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. Le broyat obtenu a ensuite été tamisé afin de produire une poudre homogène et de finesse uniforme. Cette étape est essentielle pour augmenter la surface de contact entre la matière végétale et le solvant, facilitant ainsi l'extraction des composés bioactifs. Enfin, la poudre sèche a été pesée à l'aide d'une balance de précision, conformément aux quantités requises par le protocole d'extraction.

II.2.2. Méthode d'extraction de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*

Dans cette étude, une extraction individuelle de chaque plante (*Moringa oleifera* et *Artemisia annua*) a été réalisée à l'aide de l'extraction méthanolique par Soxhlet. Parallèlement, des extractions du mélange des deux plantes ont été effectuées en utilisant trois méthodes distinctes : l'extraction méthanolique par Soxhlet, l'extraction éthanolique par Soxhlet et l'extraction hydréthanolique par macération. Ces techniques ont été choisies afin d'optimiser l'obtention des composés bioactifs en fonction de leur polarité et de leur sensibilité thermique. L'objectif de cette démarche est d'identifier la méthode la plus performante pour extraire les principes actifs d'intérêt, et de comparer l'efficacité des extraits issus des plantes seules et de leur combinaison, dans le cadre d'une évaluation phytochimique et biologique.

➤ Extraction méthanolique par Soxhlet

Cette méthode permet une extraction performante des composés bioactifs solubles dans le méthanol, notamment les polyphénols, flavonoïdes et autres métabolites secondaires, tout en préservant les substances thermosensibles grâce au contrôle de la température lors de l'évaporation.

sous vide. L'extraction méthanolique par Soxhlet a été réalisée avec du méthanol à 99 %, selon un protocole adapté de Sultana et al. (2009).

Deux approches ont été suivies : d'une part, une extraction individuelle de chaque plante (*Moringa oleifera* et *Artemisia annua*) à partir de 100 g de poudre placée dans la cartouche de l'extracteur ; d'autre part, une extraction du mélange (50 % de chaque plante, soit 100 g au total) soumise aux mêmes conditions expérimentales. Dans chaque cas, le ballon inférieur contenait 400 mL de méthanol. Le solvant chauffé se vaporise, condense puis imbibe la poudre, permettant la dissolution des composés bioactifs. Ce cycle s'est répété 12 fois afin d'optimiser le rendement d'extraction. Les extraits obtenus ont ensuite été concentrés par évaporation sous vide à 60 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis séchés à 45 °C dans une étuve. Les extraits secs ont été transférés dans des tubes Eppendorf préalablement pesés et conservés à 4 °C pour les analyses ultérieures.

➤ **Extraction éthanolique par Soxhlet**

L'extraction a été réalisée par Soxhlet (Annexe 4) en utilisant 400 mL d'éthanol à 95 % pour 100 g de poudre végétale issue d'un mélange homogène de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*. Après 12 cycles successifs d'évaporation-condensation, l'extrait concentré contenant les composés bioactifs dissous dans le solvant est obtenu. Cet extrait alcoolique a ensuite été récupéré par évaporation sous vide à 60 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis séché à 45 °C dans une étuve. Enfin, il a été transféré dans un tube Eppendorf préalablement pesé et conservé à 4 °C en attendant les analyses ultérieures.

Le but de cette extraction est d'optimiser l'isolement des composés bioactifs polaires et modérément polaires du mélange végétal, tout en préservant leur intégrité en vue d'évaluations phytochimiques et biologiques.

➤ **Extraction hydro éthanolique par macération**

La macération est un procédé qui consiste à mettre en contact des feuilles séchées de plantes à froid pendant une longue période, permettant ainsi d'extraire les composés solubles à température ambiante (Faye et al., 2022). Conformément au protocole décrit par Bruneton (1999), cette méthode a été retenue. Deux mélanges de poudres végétales ont été préparés pour l'extraction : le premier composé de 50 g de *Moringa oleifera* et 50 g de *Artemisia annua*, le second de 80 g de

Moringa oleifera et 20 g d'*Artemisia annua*. Chaque mélange (100 g) a été macéré séparément dans 500 mL d'un solvant hydroalcoolique (70 % éthanol / 30 % eau distillée), sous agitation magnétique à température ambiante pendant 48 heures. Après filtration (Annexe 3), les extraits ont été concentrés par évaporation à 40 °C à l'aide d'un rotavapor, séchés dans une étuve, puis conservés au congélateur.

➤ Calcul du rendement de l'extraction et le rendement relatif

Le calcul du rendement d'extraction vise à évaluer l'efficacité des différentes méthodes employées pour extraire les composés bioactifs, que ce soit à partir des plantes individuelles (*Moringa oleifera* ou *Artemisia annua*) ou de leur mélange. Le rendement a été déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = [(P1-P0) / P] \times 100$$

- P1= Le poids de récipient après séchage (g).
- P0 = poids de récipient vide (g).
- P = poids de la matière végétale sèche(g) de départ.

Le calcul du rendement relatif vise à évaluer l'efficacité comparative des différentes méthodes d'extraction, en exprimant chaque rendement en pourcentage par rapport au rendement le plus élevé (pris comme référence à 100 %). Cela permet de mettre en évidence la performance de chaque solvant ou condition d'extraction de manière standardisée, indépendamment des quantités absolues extraites. Le rendement relatif a été déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement relatif (\%)} = (\text{Rendement de l'extrait donné} / \text{Rendement le plus élevé}) \times 100$$

II.2.3. Caractérisation phytochimique

Le criblage phytochimique constitue une approche qualitative reposant sur une série de réactions physico-chimiques permettant d'identifier les principaux groupes de métabolites secondaires présents dans un extrait végétal, telles que *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*. Ces réactions peuvent être effectuées soit directement sur la poudre de plante, soit sur un extrait aqueux à 10 %. Les méthodes de caractérisation s'appuient sur les protocoles établis par Azzi (2012), Alain

et al. (2011), Sofowora (2010) et Harborne (1998). Le criblage cible les familles de métabolites secondaires suivantes : les alcaloïdes, les tanins, les composés phénoliques et flavonoïdiques. Les tests spécifiques utilisés pour la mise en évidence de chacun de ces groupes sont les suivants :

➤ **Les alcaloïdes**

L'objectif de cette manipulation est de mettre en évidence la présence éventuelle d'alcaloïdes, des métabolites secondaires azotés connus pour leurs nombreuses propriétés pharmacologiques. Pour cela, 1 g de poudre de plante est macéré dans 5 mL d'acide sulfurique dilué au 1/10^e, à température ambiante, pendant 24 heures. Après filtration, la présence d'alcaloïdes dans le filtrat est révélée à l'aide du réactif de Bouchardat, qui entraîne la formation d'un précipité brun en cas de résultat positif.

➤ **Détection et dosage des tanins**

• **Tannins condensés**

L'objectif de ce protocole expérimental est de qualifier et quantifier les tanins condensés présents dans un extrait végétal, selon la méthode colorimétrique à la vanilline décrite par Harborne (1998). Ces composés phénoliques complexes, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et cardioprotectrices, suscitent un intérêt croissant dans le domaine pharmaceutique. Le dosage repose sur la formation d'un complexe coloré entre la vanilline et les unités flavan-3-ols des tanins condensés, en présence d'acide chlorhydrique dans un milieu méthanolique. À cette fin, une solution de vanilline à 1 % et une solution de HCl à 8 % a été préparée dans le méthanol, de même qu'une solution mère de catéchine à 1 mg/mL, utilisée pour établir une courbe d'étalonnage. Une série de dilutions (de 1/50 à 1/2) a été réalisée à partir de l'extrait méthanolique en ajoutant entre 20 et 500 µL de solution mère pure, puis en complétant avec du méthanol pour obtenir un volume final constant de 1 000 µL. Un blanc a également été prévu afin de corriger l'absorbance des réactifs seuls. Pour chaque échantillon et chaque standard, 2,5 mL de solution de vanilline et 2,5 mL de solution de HCl sont ajoutés, puis le mélange est incubé dans un bain-marie à 30 °C pendant 20 minutes. La lecture de l'absorbance est ensuite réalisée à une longueur d'onde de 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre .

- **Les tanins hydrolysables**

L'objectif de ce protocole expérimental est le dosage des tanins hydrolysables dans un extrait végétal, selon la méthode colorimétrique utilisant l'iodate de potassium (KIO_3), telle que décrite par Azzi (2012). Les tanins hydrolysables, composés phénoliques largement présents dans le règne végétal, sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, et leur quantification permet d'évaluer leur activité biologique potentielle dans les extraits naturels. Cette méthode repose sur l'oxydation spécifique des groupes galloyles par le KIO_3 , entraînant la formation d'un complexe coloré mesurable. L'acide tannique, utilisé comme tanin standard, permet l'établissement d'une courbe d'étalonnage. Une solution de KIO_3 à 2,5 % est préparée avec de l'eau distillée comme solvant. L'extrait méthanolique a été dilué à différentes concentrations (de 1/50 à 1/2) en ajoutant de 20 à 500 μL de la solution mère, puis complété avec du méthanol pour obtenir un volume final de 1 000 μL . Pour le dosage, 2,5 mL de la solution de KIO_3 sont d'abord incubés à 30 °C pendant 7 minutes, puis 0,5 mL de l'extrait est ajouté. Le mélange est agité, puis incubé à nouveau pendant 2 minutes à 30 °C. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait par 0,5 mL de méthanol.

➤ **Dosage des composés phénoliques et flavonoïdiques totaux**

- **Composés phénoliques totaux**

L'objectif de ce protocole expérimental est le dosage des composés phénoliques totaux dans un extrait végétal, à l'aide de la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, telle que décrite par Hogan et al. (2009). Le réactif utilisé est un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), qui, lors de l'oxydation des phénols, est réduit en un complexe d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration bleue, dont l'absorption maximale se situe entre 725 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits analysés. Plusieurs solutions ont été préparées : une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 % (7,5 g dans 100 mL d'eau distillée), une dilution au 1/10^e du réactif de Folin-Ciocalteu (5 mL de RFC + 45 mL d'eau distillée), ainsi qu'une solution standard d'acide gallique à 0,2 mg/mL dans le méthanol, servant à établir une courbe d'étalonnage. Des dilutions de l'extrait méthanolique ont été préparées avec des volumes allant de 0 à 200 μL , complétés avec du

méthanol jusqu'à 1 000 μL . Pour chaque dilution, 1 mL de RFC dilué est ajouté, suivi d'un temps de repos de 5 minutes, puis de l'ajout de 800 μL de Na_2CO_3 à 7,5 %. Après incubation à température ambiante pendant 30 minutes, à l'abri de la lumière, la lecture de l'absorbance est réalisée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions avec du méthanol au lieu de l'extrait.

- **Composés flavonoïdiques totaux**

L'objectif de ce protocole est de doser les flavonoïdes présents dans un extrait végétal, selon la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium, décrite par Alain et al. (2011) et Sofowora (2010). Cette méthode repose sur la formation d'un complexe coloré entre les ions aluminium (Al^{3+}) et les groupes hydroxyles des flavonoïdes. Une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10 % est préparée en dissolvant 10 g d' AlCl_3 dans 100 mL de méthanol, et une solution d'acétate de sodium (CH_3COONa) est obtenue en dissolvant 0,984 g dans 100 mL d'eau distillée. Une solution standard de quercétine est également préparée pour établir une courbe d'étalonnage. Une série de dilutions (1/50 à 1/5) est réalisée à partir de l'extrait méthanolique en ajoutant de 20 à 200 μL de solution mère pure, complétée avec du méthanol jusqu'à un volume final de 1 000 μL . Pour chaque dilution, 0,5 mL de la solution d' AlCl_3 est ajoutée, suivi de 0,5 mL d'acétate de sodium. Le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière. Un blanc est préparé avec 1 mL de méthanol, 0,5 mL d' AlCl_3 et 0,5 mL d'acétate de sodium. La lecture de l'absorbance est effectuée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II.2.4. Identification des principes actifs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* par Chromatographie liquide à haute performance

L'identification des constituants bioactifs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Annexe 5), une méthode analytique de référence utilisée pour séparer, identifier et quantifier les métabolites secondaires présents dans les extraits végétaux. Cette technique repose sur l'utilisation d'une colonne en phase inverse de type C18 et d'un système de détection par spectrophotométrie UV, permettant une analyse précise des composés cibles.

➤ ***Moringa oleifera***

L'analyse des composés bioactifs de *Moringa oleifera* a été effectuée à l'aide d'une colonne C18 (4,6 × 250 mm, 5 µm), maintenue à une température constante de 45 °C. La phase mobile était constituée de deux solvants : le solvant A, composé d'eau (80 %), d'acétonitrile (19 %) et d'acide formique (1 %), et le solvant B, composé d'acétonitrile (59 %), de méthanol (40 %) et d'acide formique (1 %). L'élution a été réalisée en gradient croissant, passant de 0 % à 100 % de solvant B, puis revenant à 0 %, selon un programme défini sur 50 minutes. Le débit de la phase mobile était de 1 mL/min, avec un volume d'injection de 10 µL. La détection a été assurée à une longueur d'onde de 350 nm. L'extrait méthanolique de plante a été préparé à une concentration de 5 mg/mL, tandis que la solution étalon a été préparée à 1 mg/10 mL dans du méthanol. Cette méthode a permis l'identification de plusieurs composés phénoliques et flavonoïdes, caractéristiques du profil chimique de *Moringa oleifera*.

Une autre identification des polyphénols a été réalisée par HPLC au niveau du (Laboratoire de développement et de contrôle des préparations pharmaceutiques hospitalières, service de chimie analytique - CHU Annaba). L'analyse a été effectuée sur un système Agilent 1100, piloté par le logiciel CHEMSTATION, avec une boucle d'injection de 20 µl. La phase mobile était constituée du solvant A (eau contenant 1 % d'acide acétique) et du solvant B (méthanol), selon un gradient programmé comme suit : 0 min (A 95 %, B 5 %), 55 min (A 5 %, B 95 %), 57 min (A 95 %, B 5 %) et 59 min (A 95 %, B 5 %). Le débit était fixé à 1 ml/min et la détection des composés s'effectuait à une longueur d'onde de 254 nm. La séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne C18 de marque KNAUER (250 mm de longueur, 4,6 mm de diamètre interne, taille des particules 5 µm).

➤ ***Artemisia annua***

L'analyse d'*Artemisia annua* a ciblé l'artémisinine, un composé lipophile à forte activité biologique. L'extraction a été réalisée par macération de 30 g de poudre végétale sèche dans 200 mL d'hexane, un solvant organique non polaire, à température ambiante, avec agitation prolongée pour favoriser la diffusion des métabolites. Après filtration, l'extrait a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'analyse HPLC a été conduite sur une colonne C18 en phase inverse, avec détection UV. L'identification de l'artémisinine s'est basée sur la comparaison du temps de

rétenion et du spectre d'absorbance avec ceux d'un étalon pur. Le temps de rétenion de l'artémisinine dans l'extrait a été mesuré à 5,404 minutes, contre 5,475 minutes pour l'étalon.

II.2.5. Evaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro*

De nombreuses méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante. La méthode basée sur le DPPH est la plus populaire parmi les tests *in vitro*, grâce à sa simplicité, sa rapidité et son faible coût (Pilar et al., 2019). C'est pour cette raison que l'activité antioxydante d'extraits méthanoliques du mélange végétal de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua* a été déterminée au moyen du test de balayage des radicaux libres de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), selon le protocole décrit par (Molyneux, 2004).

➤ Principe

Le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été utilisé pour la première fois par Blois en 1958. Il est couramment employé pour déterminer de manière similaire l'activité antioxydante pure, notamment d'extraits de plantes ou de composés phénoliques. Ce test repose sur une méthode spectrophotométrique simple et efficace. Le (DPPH•) présente une couleur violette intense et stable, résultant de la délocalisation de son électron libre sur toute la molécule, notamment autour de l'atome d'azote. Lorsqu'il est mis en présence d'un composé antioxydant capable de donner un atome d'hydrogène, il est réduit à sa forme non radicalaire, le DPPH-H (hydrazine). Cette réaction provoque une disparition de la couleur violette, qui devient graduellement jaune pâle (Figure 5). Cette décoloration est mesurée par spectroscopie UV-visible, généralement à une longueur d'onde de 517 nm, dans un solvant comme l'éthanol (Gulcin et al., 2023). L'intensité du changement de couleur est proportionnelle à la capacité de l'échantillon à piéger les radicaux libres (Boucherit, 2014).

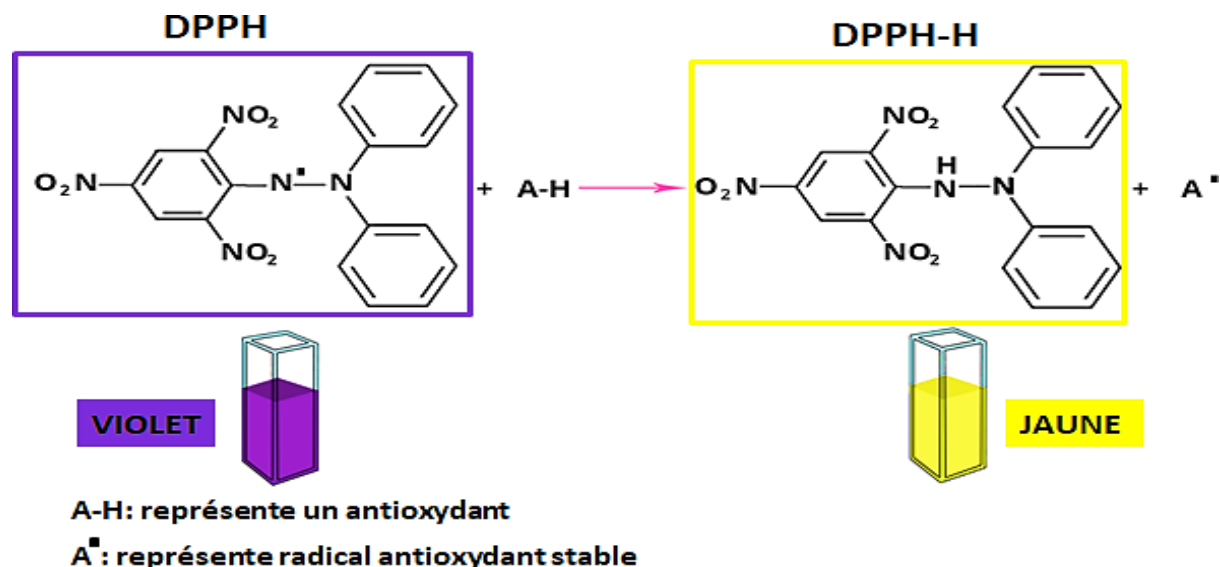


Figure 5 : Mécanisme de réduction du radical DPPH• par un antioxydant (RH) : principe du test d'évaluation de l'activité anti-oxydante (Hastak et al., 2018).

➤ Mode opératoire

L'évaluation de l'effet antioxydant par le test de piégeage du radical libre DPPH est réalisée selon la méthode décrite par Molyneux, (2003), qui consiste à mélanger 2 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,04 g/l) à 1 ml de chaque solution des extraits à 10 différentes concentrations (de 1000 à 1.95 µg/ml). A titre comparatif un test positif est réalisé avec 1ml de solution d'acide ascorbique à différentes concentrations (de 1000 à 1.95 µg/ml) et 2 ml de la solution méthanolique de DPPH. Les mélanges ont été agités à l'aide d'un vortex, puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. Après incubation, les absorbances sont mesurées à l'aide de Spectrophotomètre à 517 nm.

Le **pourcentage d'inhibition** du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

A1: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2: absorbance en présence d'extrait.

➤ Calcul des concentrations d'inhibition IC_{50}

IC_{50} est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC_{50} sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.

II.2.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

L'objectif de ce protocole expérimental, tel que décrit par Chandra et al. (2012), est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire d'un extrait méthanolique à travers sa capacité à inhiber la dénaturation des protéines, un mécanisme clé impliqué dans les processus inflammatoires. La méthode repose sur le principe selon lequel certaines substances peuvent stabiliser les structures protéiques, réduisant ainsi leur dénaturation en conditions stressantes. L'efficacité de l'extrait testé est comparée à celle du diclofénac sodique, un anti-inflammatoire non stéroïdien de référence. L'activité est exprimée en pourcentage d'inhibition de la dénaturation, calculé à partir des valeurs d'absorbance.

L'extrait de la substance testée est préparé par macération dans le méthanol, puis évaporé et remis en solution dans de l'eau distillée pour obtenir une concentration finale de 10 mg/mL. Une solution de diclofénac sodique à la même concentration est également préparée comme témoin positif. Des dilutions de l'extrait et du standard sont ensuite réalisées avec de l'eau purifiée, en variant le volume de solution mère entre 100 μ L et 2 000 μ L par tube. Pour chaque condition, le mélange réactionnel est constitué de 2 mL d'extrait (ou de diclofénac), 2,8 mL de tampon phosphate (pH 6,4) et 200 μ L de solution d'albumine. Le témoin négatif est préparé en remplaçant l'extrait par 2 mL d'eau distillée, en maintenant les autres volumes constants. L'ensemble des tubes est incubé à 37 °C pendant 15 minutes, puis chauffé à 72 °C pendant 10 minutes dans un bain-marie pour induire la dénaturation des protéines. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité anti - inflammatoire} = I\% = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} \times 100}{\text{Abs contrôle}}$$

Où :

I % : Pourcentage d'inhibition

Abs Contrôle négatif : Absorbance du d'albumine d'œuf + solution saline tamponnée au phosphate

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon ou Standard (Contrôle positif).

II.2.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro*

L'activité antimicrobienne a été évaluée en deux étapes :

- ✓ La sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits a été recherchée par la méthode de diffusion sur disques.
- ✓ La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée par la méthode des micro-dilutions.

➤ Mode opératoire de test de sensibilité

Des suspensions bactériennes ont été préparées dans une solution physiologique à partir de colonies jeunes (18-24H), en ajustant la turbidité à 0,5 McFarland. À l'aide d'un écouvillon stérile, les bactéries en suspension ont été ensemencées sur une surface gélosée sèche (gélose Mueller-Hinton liquéfiée, coulée et refroidie dans des boîtes de Pétri). Des disques stériles de papier (6 mm de diamètre) ont ensuite été placés puis imprégnés de 10 µL d'extrait. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24H. La souche est considérée comme résistante pour un diamètre inférieur à 8 mm, modérément sensible entre 8 et 14 mm, sensible pour un diamètre d'inhibition entre 14 et 20 mm et très sensible si le diamètre est supérieur à 20 mm.

➤ Mode opératoire de détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits

Des suspensions bactériennes des cellules bactériennes jeunes ont été préparées dans des tubes stériles, contenant de l'eau physiologique à une valeur de 0,5 McFarland. Ces derniers

doivent être utilisés dans les 30 min suivantes pour éviter le changement du nombre de cellules bactériennes. Dans les puits des plaques de micro-tubes, on mélange 50 μ L des différentes dilutions des extraits, préparées dans le DMSO, avec 100 μ L de Mueller Hinton liquide (MH liquide + rouge de phénol 20 mg/ml et du glucose 20 mg/ml). 50 μ L sont ajoutés dans chaque puit de chaque suspension bactérienne. Pour vérifier que les résultats de sensibilité sont exacts, il faut inclure un témoin positif et un autre négatif pour chaque souche. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24H.

II.2.7. Méthodes de prédiction *in silico* des propriétés toxicologiques des molécules bioactives

L'évaluation toxicologique *in silico* a été réalisée à l'aide de la plateforme ADMETlab 3.0, un outil en ligne [<https://admetlab3.scbdd.com>] développé par l'institute de Materia Medica de Shanghai (Chine). Il permet de prédire de manière fiable un large éventail de propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques à partir de la structure moléculaire d'un composé, grâce à des algorithmes d'apprentissage automatique basés sur des bases de données expérimentales. Les démarches méthodologiques sont illustrées dans le schéma ci-dessus (Figure 5).



Figure 5 : Démarche de l'évaluation de la toxicité *in silico* (Original).

CHAPITRE III :

RÉSULTATS ET

DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Résultats des extractions successives et rendements des extraits végétaux

Deux extractions successives, l'une méthanolique et l'autre éthanolique, ont été réalisées par Soxhlet à partir de la poudre du mélange végétal (*Moringa oleifera* et *Artemisia annua*). En parallèle, deux extraits hydroéthanoliques ont été préparés par macération : l'un à partir d'un mélange à parts égales (50 % *Moringa* / 50 % *Artemisia*), et l'autre avec une prédominance de *Moringa* (80 % *Moringa* / 20 % *Artemisia*). Afin d'orienter le choix du solvant, le rendement relatif a été utilisé comme critère de comparaison, prenant comme référence le rendement le plus élevé (100 %). Cette méthode permet une évaluation normalisée de l'efficacité des différentes extractions, indépendamment de la masse végétale utilisée ou des conditions opératoires. Le Tableau 2 présente les caractéristiques physiques des extraits et leurs rendements.

Tableau 2: Caractéristiques et rendements des extraits

Extrait	Couleur	Aspect	Masse de l'extrait (g)	Rendement (%)	Rendement relatif (%)
Méthanolique	Verte foncée	Visqueux	10,8	10,8	53,2
Ethanolique	Verte foncée	Visqueux	2,4	2,4	11,8
Hydroéthanolique (50 % <i>Moringa</i> / 50 % <i>Artemisia</i>)	Vert foncée	Visqueux	20,3	20,3	100
Hydroéthanolique (80 % <i>Moringa</i> / 20 % <i>Artemisia</i>)	Vert foncée	Visqueux	18,5	18,5	91,1

Nos résultats (Tableau 2) montrent que :

- ✓ Tous les extraits présentent une couleur verte foncée et un aspect visqueux, indiquant une richesse probable en composés phytochimiques.
- ✓ L'extraction méthanolique présente un rendement de 10,8 %, nettement supérieur à celui de l'éthanolique (2,4 %), correspondant respectivement à 53,2 % et 11,8 % en rendement relatif.
- ✓ Les deux extraits hydroéthanoliques montrent les meilleurs rendements d'extraction : 20,3 % pour le mélange 50 % *Moringa* / 50 % *Artemisia* (100 % relatif) et 18,5 % pour le mélange 80 % / 20 % (91,1 % relatif).

Ces résultats confirment que les solvants hydroéthanoliques sont les plus performants, offrant les meilleurs rendements d'extraction des composés bioactifs. Grâce à leur polarité intermédiaire, les solvants hydroéthanoliques peuvent dissoudre à la fois les composés hydrophiles et lipophiles, ce qui les rend particulièrement adaptés à l'extraction d'une grande variété de substances actives. L'association eau/éthanol constitue ainsi une solution simple et efficace pour obtenir des extraits végétaux riches et de qualité, notamment dans le domaine de la phytothérapie.

III.1.2. Criblage phytochimique

Une analyse phytochimique a été réalisée sur les deux plantes afin de détecter la présence de métabolites secondaires. Les résultats figurent dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de criblage phytochimique de la matière première

Composé	<i>Artemisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
Alcaloïdes	(+)	(-)
Composés phénoliques	(+)	(+)
Flavonoïdes	(+)	(+)
Tanins condensés	(+)	(-)
Tanins hydrolysables	(+)	(+)

+ : **Positif** (présence du composé chimique dans l'extrait)

- : **Négatif** (absence du composé chimique dans l'extrait)

L'analyse phytochimique qualitative d'*Artemisia annua* a montré la présence de plusieurs classes de composés bioactifs, notamment les alcaloïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, ainsi que les tanins condensés et hydrolysables (Tableau 3). Cette richesse suggère un potentiel biologique élevé. *Moringa oleifera* a montré un profil plus restreint : absence d'alcaloïdes et de tanins condensés, mais présence de composés phénoliques, flavonoïdes et tanins hydrolysables. Ces résultats confirment que les deux plantes possèdent des profils phytochimiques distincts et reflètent une variation dans la nature et la distribution des métabolites entre les deux espèces (Tableau 3).

➤ Teneurs en composées phénoliques

Les analyses quantitatives des composés phénoliques des extraits méthanolique de la matière première, sont déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage. Cette courbe est tracée en utilisant l'acide gallique (AG) comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g MS). La figure 6, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de l'acide gallique(mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Le résultat montre que plus la concentration de l'acide gallique est élevée, plus l'absorbance est importante. L'absorbance enregistrée sera donc celle de la substance à doser (polyphénols totaux) dans les extraits.

L'équation standard de courbe est la suivante : $Y = 0,0098x - 0,0108$; $R^2 = 0.9986$.

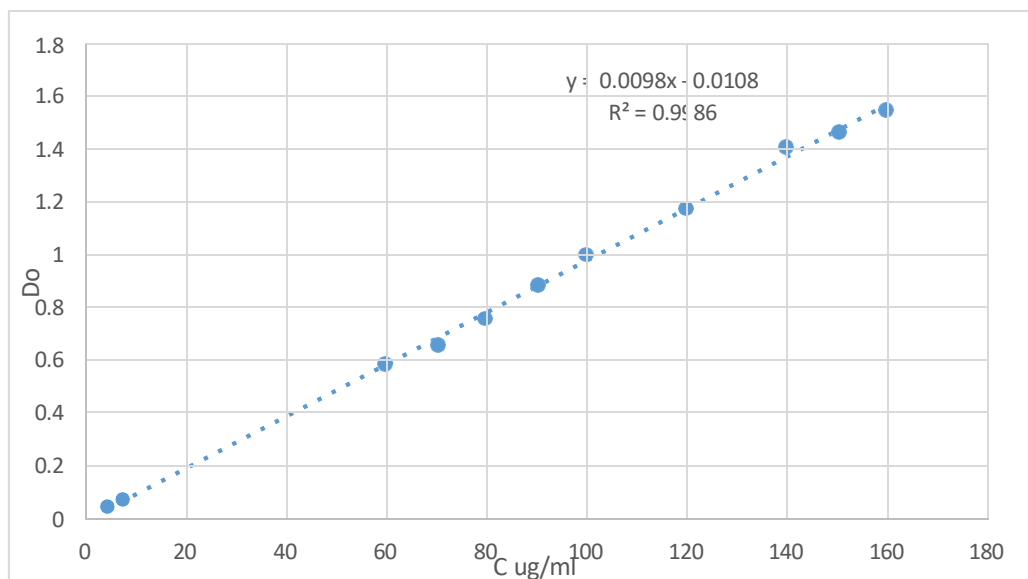


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux (Originale)

L'analyse des composés phénoliques totaux, exprimée en mg équivalents acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (Tableau 4), a montré que L'extrait d'*Artemisia annua* présente une teneur élevée en composés phénoliques totaux estimée à 468,91 mg EAG/g MS, traduisant une grande capacité antioxydante potentielle. L'extrait de *Moringa oleifera* contient une quantité significative de composés phénoliques (324,62 mg EAG/g MS). Bien que moins élevée que celle d'*Artemisia annua*, cette teneur contribue à ses propriétés antioxydantes.

Tableau 4: Teneur des extraits de la matière première en Composées phénoliques

Paramètre	<i>Artémisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
Composées phénoliques (mg EAG/g MS)	468,91	324,62

➤ Teneurs en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de la matière première a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage. Cette courbe est tracée en utilisant la quercétine (Q) comme standard. La figure 7, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de la quercétine (mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Nos résultats montrent que la concentration de la quercétine est proportionnelle avec l'absorbance. Ce qui prouve la présence des flavonoïdes dans la matière première.

L'équation standard de courbe est la suivante : $Y = 0,0681x - 0,1467$; $R^2 = 0,9995$.

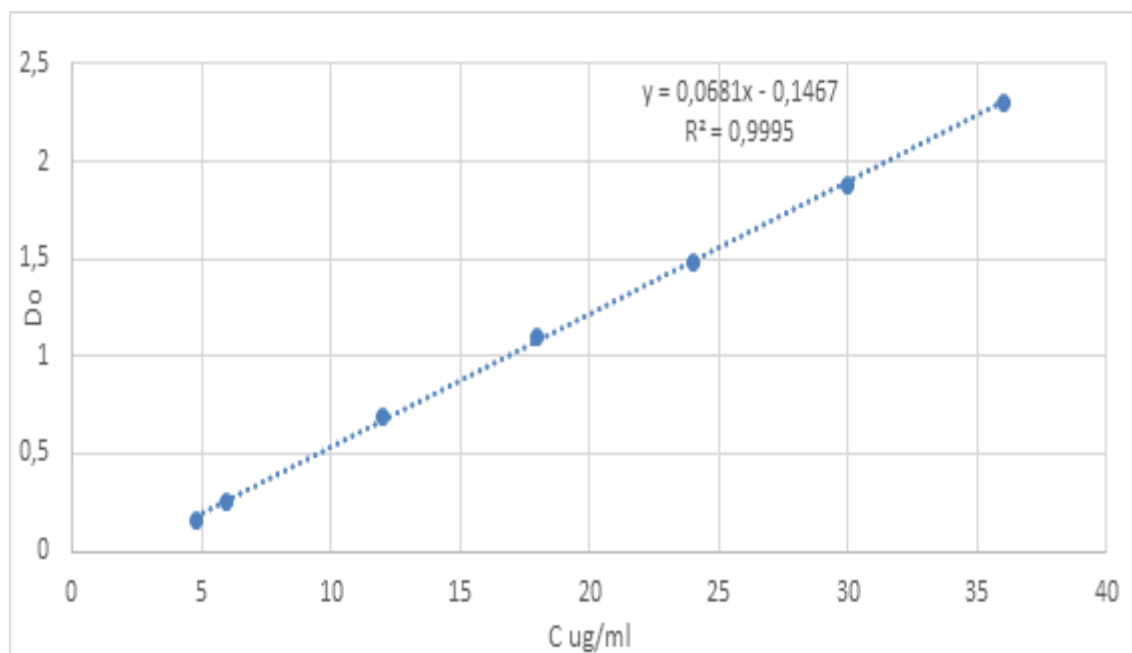


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes (Originale)

L'analyse de la teneur en flavonoïdes, exprimée en mg équivalents quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) (Tableau 5), montre une concentration plus élevée dans l'extrait de *Moringa oleifera* (46,15 mg EQ/g MS), confère à *Moringa* un fort potentiel en matière d'activité antioxydante et anti-inflammatoire. *Artémisia annua* contient une quantité appréciable de flavonoïdes, estimée à 26,75 mg EQ/g MS. Bien que cette teneur soit inférieure à celle mesurée dans *Moringa oleifera*, elle demeure significative et contribue largement à l'activité biologique de la plante.

Tableau 5 : Teneur des extraits de la matière première en flavonoïdes

Paramètre	<i>Artémisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	26,75	46,15

➤ **Teneur en tanins hydrolysables**

La teneur en tanins hydrolysables de l'extrait méthanolique de la matière première a été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, en utilisant l'acide tannique (ETA) comme standard. La figure 8, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de l'acide tannique (mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Les résultats montrent que la concentration de l'acide tannique est proportionnelle avec l'absorbance. Ce qui prouve la présence des tanins hydrolysables dans la matière première.

L'équation standard de courbe est la suivante : $Y = 0,0016x - 0,001$; $R^2 = 0,9936$.

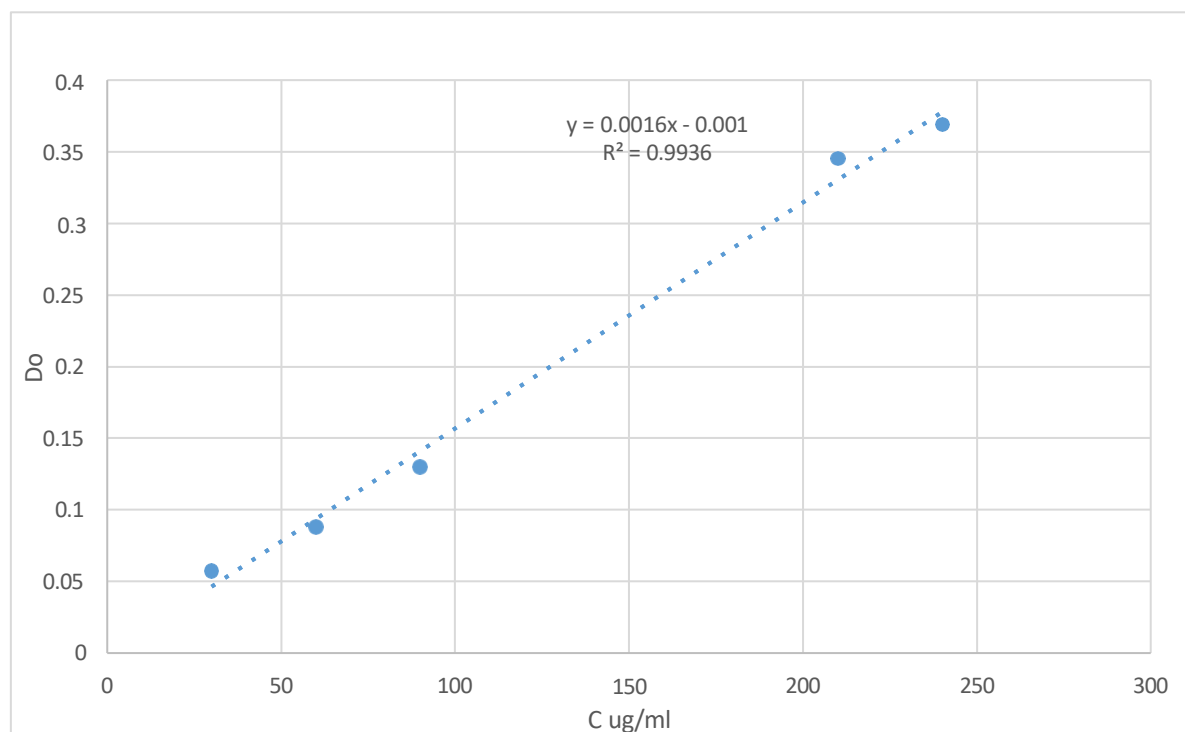


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tanins hydrolysables (Originale)

L'approche analytique a montré une réponse linéaire entre l'absorbance et la concentration d'acide tannique dans la plage 10-100 µg/mL, avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,99 (Figure 9).

Le *Moringa oleifera* présente une teneur très élevée en tanins hydrolysables, atteignant 230,58 mg EAT/g MS, contre 90,88 mg EAT/g MS pour *Artémisia annua* (Tableau 6). Cette richesse en tanins hydrolysables dans l'extrait de *Moringa oleifera* pourrait contribuer à ses

propriétés biologiques, notamment ses effets antioxydants et anti-inflammatoires. Bien que *Artémisia annua* affiche une teneur peu faible en tanins hydrolysables, son efficacité biologique peut être liée à d'autres familles de composés phénoliques.

Tableau 6 : Teneur des extraits de la matière première en tanins hydrolysables

Paramètre	<i>Artémisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
Tanins hydrolysables (mg EAT/g MS)	90 ,88	230,58

➤ **Teneur en tanins condensés**

La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de la matière première a été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage. Cette courbe est tracée en utilisant la catéchine (EC) comme standard. La figure 9, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de la catéchine (mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Nos résultats montrent que la concentration de la catéchine est proportionnelle avec l'absorbance. Cette relation linéaire témoigne de la présence de tanins condensés dans l'extrait méthanolique de la matière première.

L'équation standard de courbe est la suivante : $Y = 0,0029x - 0,0012$; $R^2 = 0,9987$.

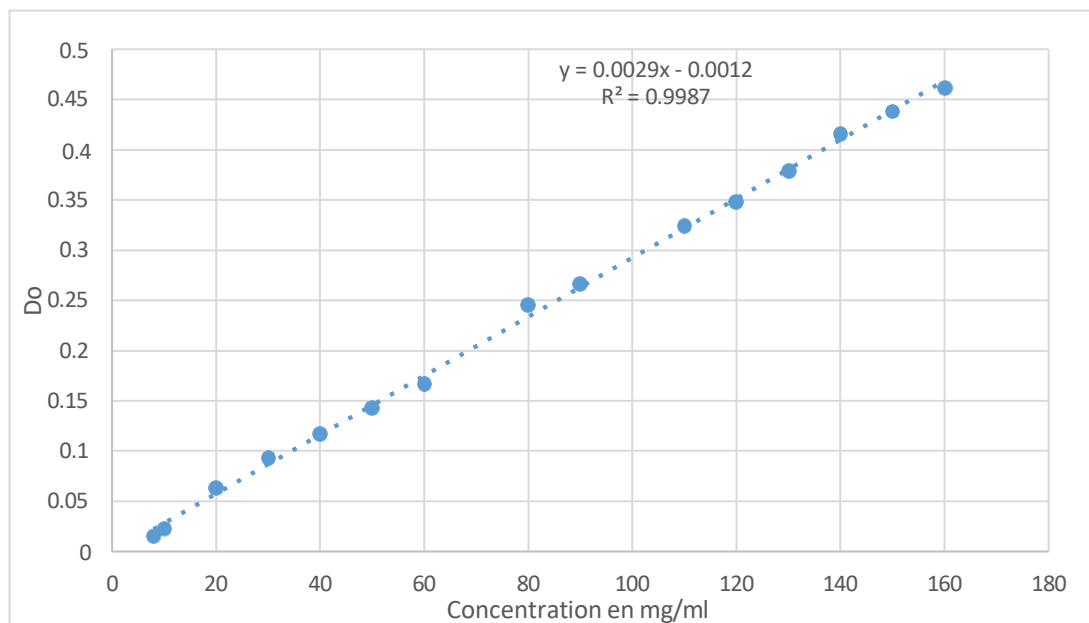


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins condensés (Originale)

Les résultats ont révélé une concentration significative dans l'extrait d'*Artemisia annua*, estimée à 9,09 mg EC/g MS (Tableau 7). Cette teneur traduit une présence notable de tanins de type proanthocyanidines, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, astringentes et anti-inflammatoires. Tandis que l'extrait de *Moringa oleifera* a donné un résultat négatif, indiquant une absence ou une teneur négligeable en tanins condensés dans les conditions expérimentales utilisées.

Tableau7: Teneur des extraits de la matière première en tanins condensés

Paramètre	<i>Artémisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
Tanins condensés (mg EC/g MS)	9,09	Négatif

III.1.3. Identification des principes actifs de *Moringa oleifera* et *Artemesia annua*

➤ Identification des principes actifs de *Moringa oleifera*

L'identification des principes actifs du *Moringa oleifera* a été effectuée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Les résultats de la caractérisation par HPLC de l'extrait méthanolique du *Moringa Oleifera* ont montré une richesse en composé bioactifs. Ces résultats sont représentés dans le profil de HPLC (Figure 10, Tableau 8).

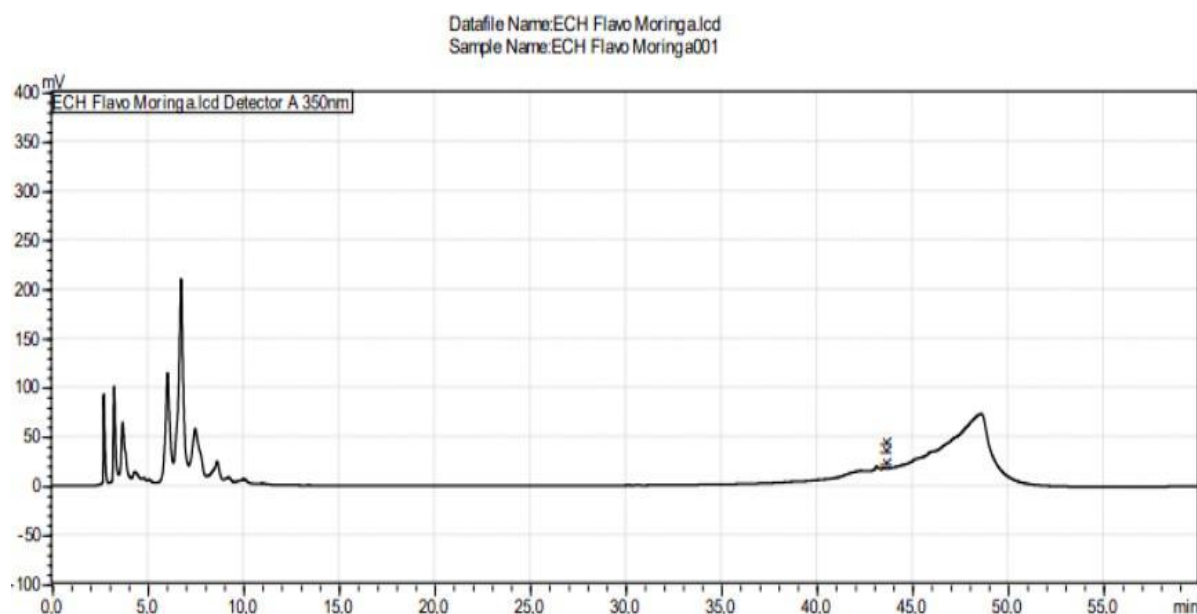


Figure 11 : Chromatogramme d'HPLC (Originale)

Tableau 8 : Les résultats explicatifs du chromatogramme d'HPLC (Originale)

TR (min)	TR standard (min)	Identification
2,720	/	Non identifié
3,260	3.338	Acide chlorogénique
3,704	/	Non identifié
6,046	5.885	Isoquercétine
6,757	/	Non identifié
7,497	/	Non identifié

Les résultats obtenus par l'analyse qualitative d'HPLC qui sont présentés dans le tableau 9 peuvent confirmer la présence des deux molécules bioactives ; l'acide chlorogénique et l'isoquercétine. Cette dernière est une dérivée de la quercétine dans le *Moringa oleifera* auquel le TR 6,046 min est proche de TR standard 5,885 min.

La 2eme identification des principes actifs du *Moringa oleifera* a été effectuée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Les résultats de la caractérisation par HPLC de l'extrait méthanolique du *Moringa Oleifera* ont montré une richesse en composé bioactifs. Ces résultats sont représentés dans le profil de HPLC (Figure 11, Tableau 9).

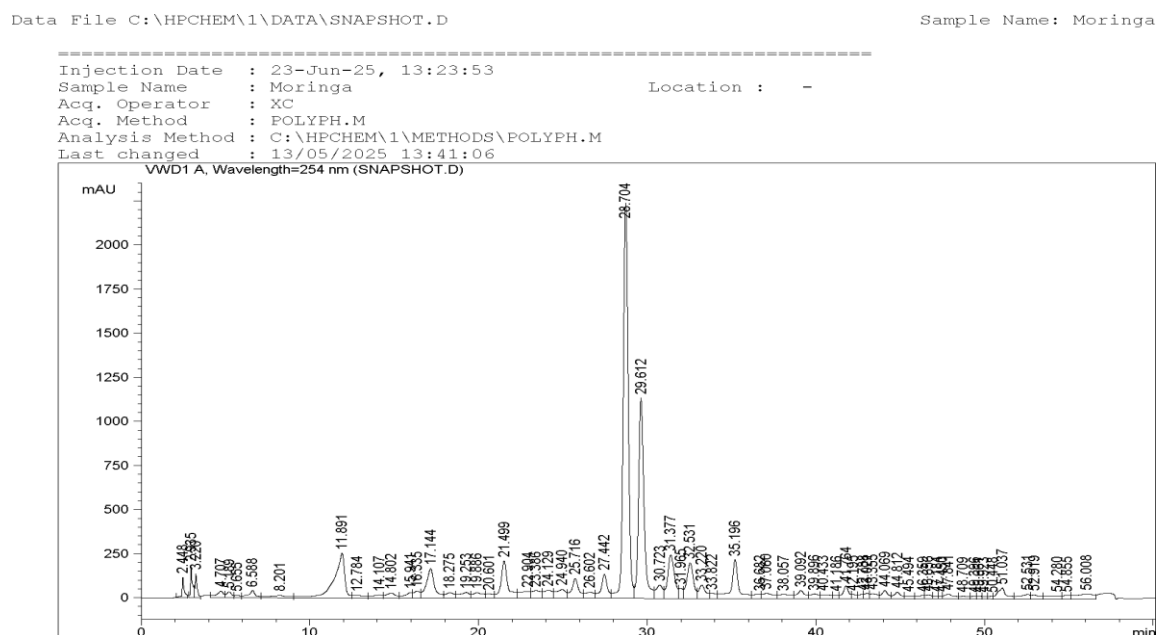


Figure 12 : Chromatogramme d'HPLC (Originale).

➤ Principaux composés détectés

En comparant les temps de rétention des pics du chromatogramme du *Moringa* avec ceux des standards (Annexe 28) injectés selon la même méthode, on identifie principalement :

Tableau 9 : Les résultats explicatifs du chromatogramme d'HPLC (Originale)

Molécule	Type	Temps de rétention (min)	Rôle/Intérêt
----------	------	--------------------------	--------------

Rutin	Flavonoïde	~4,3 - 4,4	Antioxydant majeur, inhibiteur d'enzymes
Acide gallique	Acide phénolique	~5,4	Antioxydant, marqueur de phénoliques
Quercétine	Flavonoïde	~34,9	Flavonoïde antioxydant reconnu
Kaempférol	Flavonoïde	~45,7	Flavonoïde, activité antioxydante
Morine hydrate	Flavonoïde	~19,7	Flavonoïde, activité biologique

Rutin ressort comme le composé majoritaire du profil HPLC de *Moringa oleifera*, ce qui est cohérent avec la littérature scientifique sur cette plante. D'autres pics correspondent à des polyphénols et flavonoïdes, confirmant la richesse antioxydante de l'extrait.

Le profil HPLC du *Moringa oleifera*, obtenu dans les conditions analytiques précisées, met en évidence une forte présence de rutin ainsi que d'autres flavonoïdes et acides phénoliques comme la quercétine, le kaempférol et l'acide gallique. Ces composés expliquent les propriétés antioxydantes et biologiques reconnues du *Moringa oleifera*.

En comparant les temps de rétention des pics du chromatogramme du *Moringa* avec ceux des standards injectés selon la même méthode, on identifie principalement la rutin (flavonoïde) ~4,3 - 4,4 min. Ce rapport précise que la rutin est le composé majoritaire et que sa détection à ce temps de rétention est cohérente avec la littérature scientifique sur cette plante.

la présence de gallic acid et rutin peaks à un temps de rétention de 5,42 min (acide gallique) et 4,32 min (rutin), respectivement...

Cette méthode utilise également une colonne C18 et une phase mobile méthanol/eau/acide acétique, confirmant la détection de la rutin à environ 4,3 min dans les extraits de *Moringa* (Mohamed, S et al.,2021). Les pics non identifiés dans les chromatogrammes HPLC de *Moringa oleifera* correspondent souvent à des composés phénoliques ou flavonoïdes spécifiques, dont l'identification est documentée dans la littérature scientifique. Voici une synthèse des identifications probables basée sur les études PubMed et les protocoles analytiques standardisés (Annexe.29).

➤ Identification des principes actifs dans l'*Artemisia annua*

Les résultats de l'analyse chromatographique de la quantification de l'artémisinine par HPLC sont présentés ci-dessous (Figures 11,12 et 13). La courbe d'étalonnage de l'artémisinine

(Figure 11) a été construite à partir de solutions standards de concentrations connues. Elle présente une relation linéaire entre la **surface du pic** et la **concentration en mg/mL**, avec l'équation :

$$C \text{ (mg/mL)} = 0,0015 \times \text{Surface}$$

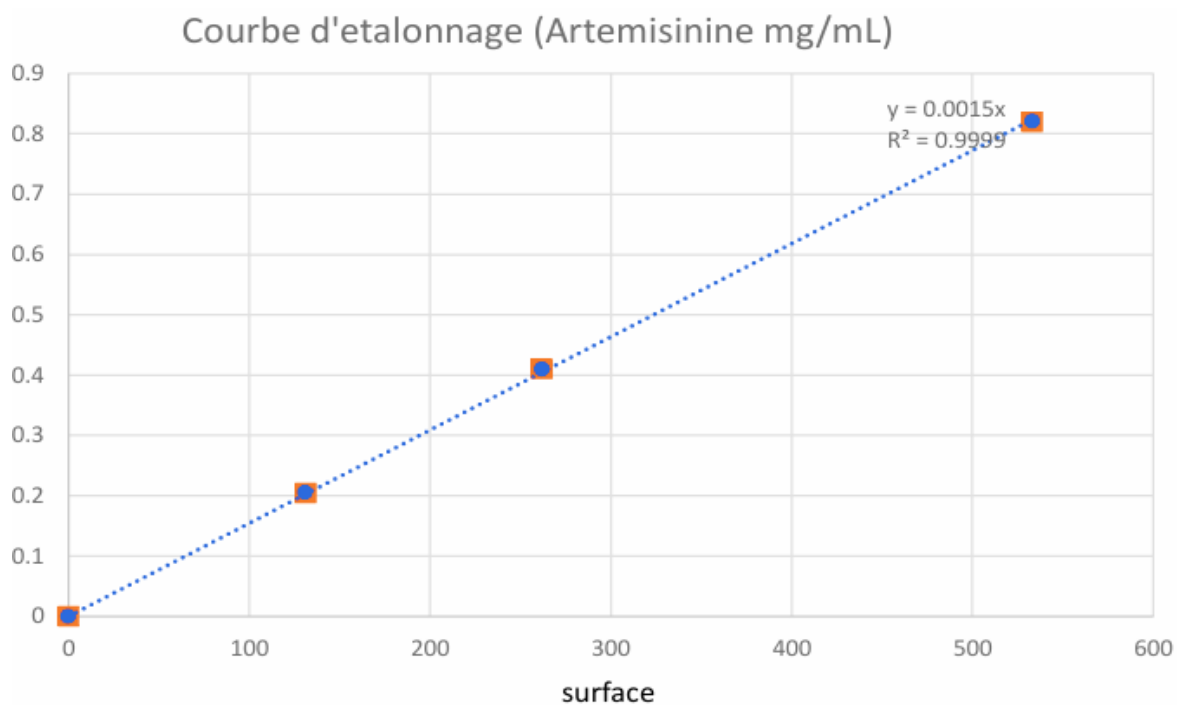


Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'artémisinine obtenue par HPLC

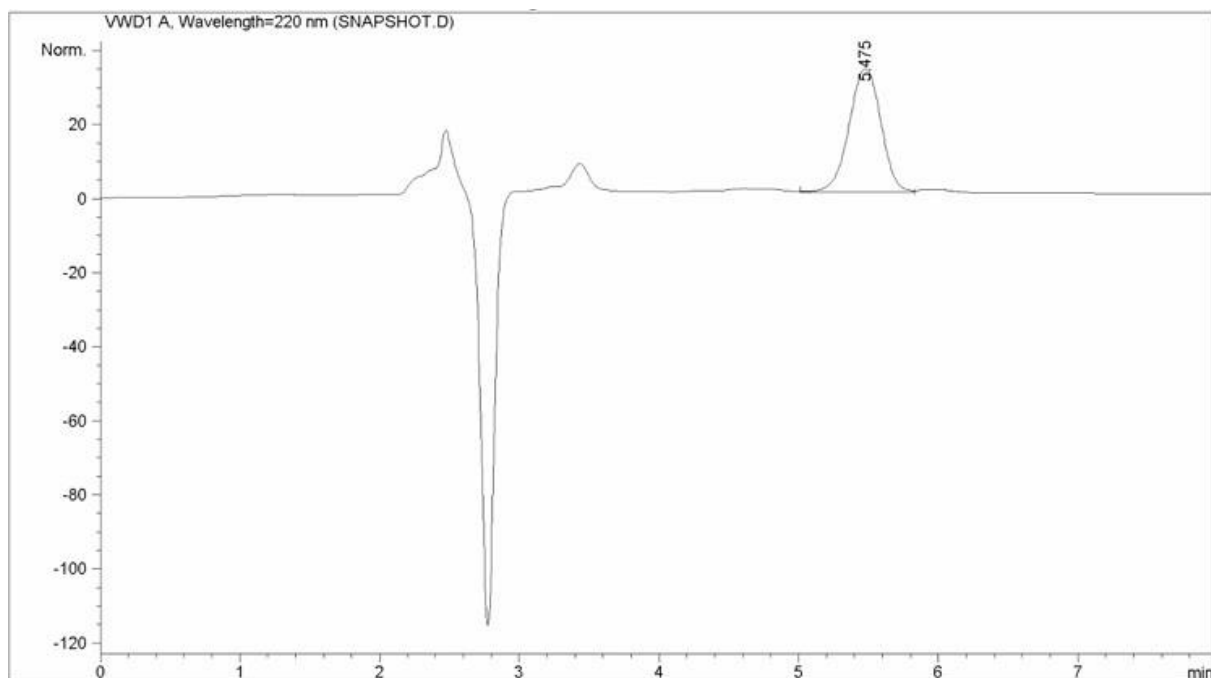


Figure 14 : Chromatogramme de l'étalon d'artémisinine

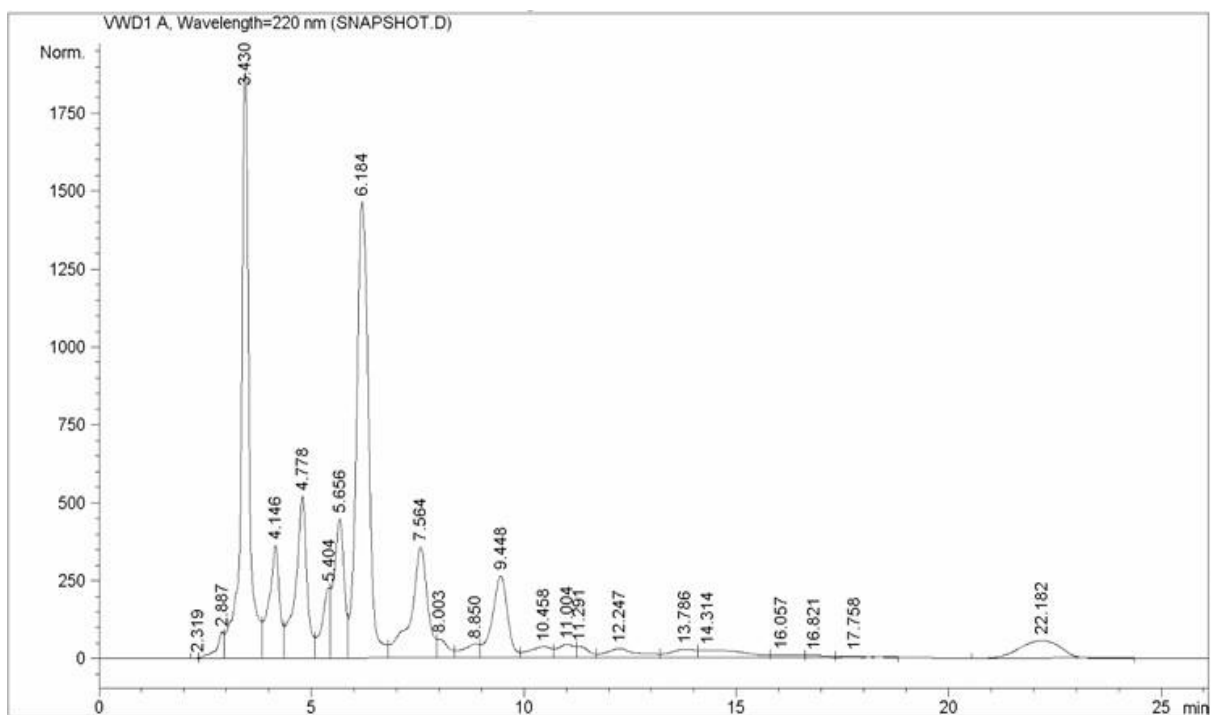


Figure 15: Chromatogramme de l'extrait hexanique d'*Artemisia annua*

Le chromatogramme de l'étalon d'artémisinine (Figure 12) présente un pic unique, net et bien défini, avec un temps de rétention de 5,475 minutes, utilisé comme référence pour l'identification. En comparaison, le chromatogramme de l'extrait hexanique d'*Artemisia annua* (Figure 13) révèle un pic majeur à 5,404 minutes, très proche de celui de l'étalon, ce qui indique la présence probable d'artémisinine dans l'extrait. À l'aide de la courbe d'étalonnage, la surface de ce pic (1782,93) a permis de calculer une concentration de 534,88 mg d'artémisinine dans 30 g de plante, correspondant à un rendement d'extraction de 17,83 mg/g.

III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

➤ Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de chaque plante

L'activité antioxydante de *Moringa Oleifera* et de *Artemisia Annua* été évaluée par le test de DPPH. En utilisant l'acide ascorbique comme étalon, les résultats sont exprimés par les valeurs de piégeage de 50% des radicaux DPPH (Tableau 9).

Tableau 9 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀)

Espèce	Acide ascorbique	<i>Moringa oleifera</i>	<i>Artémisia annua</i>
IC ₅₀ (mg/mL)	0.056	0.21254	0.0217

L'extrait d'*Artémisia annua* a présenté une **valeur d'IC₅₀ de 0,0217 mg/mL**, indiquant une **très forte capacité antioxydante**, supérieure même à celle de l'acide ascorbique utilisé comme référence (0,056 mg/mL) (Tableau 10). Cette efficacité remarquable pourrait être attribuée à la richesse de l'espèce en composés phénoliques, flavonoïdes et notamment à la présence de l'artémisinine. En revanche, l'extrait de *Moringa oleifera* a montré une **activité antioxydante plus modérée**, avec une IC₅₀ de **0,21254 mg/mL**, ce qui suggère une moindre affinité pour le piégeage des radicaux libres dans les conditions expérimentales du test DPPH.

➤ Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de mélange (Morisia)

Nous avons tracé les courbes d'étalonnage de l'activité antioxydante, illustrant le pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits méthanolique (Figure 14) et éthanolique (Figure 15) du mélange Morisia, 50 % *Moringa* /50 % *Artemisia* (Tableau 10).

À titre de référence, des concentrations croissantes d'acide ascorbique ont été utilisées comme standard antioxydant. Par ailleurs, les concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀) ont été déterminées pour les cinq mélanges étudiés et sont présentées dans la figure 16. Les résultats sont exprimés en mg/ml, permettant ainsi une comparaison quantitative de l'efficacité antioxydante des différents extraits.

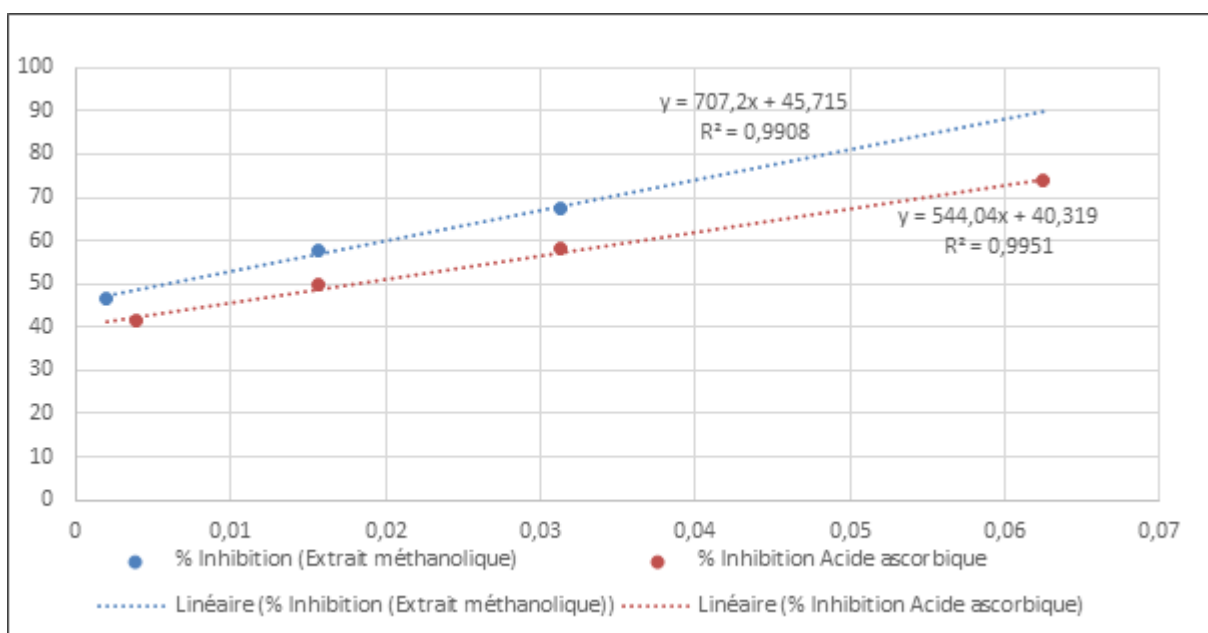


Figure 16 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique du Morisia, 50 % *Moringa* /50 % *Artemisia* (Originale)

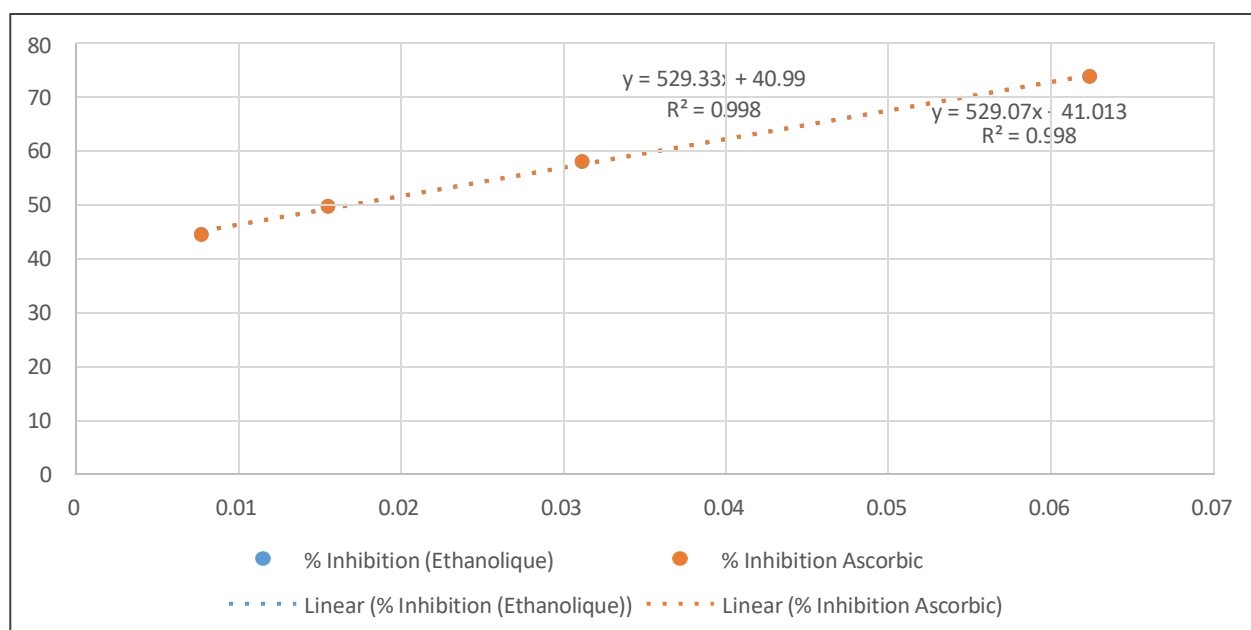


Figure 17 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique du Morisia, 50 % *Moringa* /50 % *Artemisia* (Originale)

Tableau 10: Valeurs de l'IC₅₀ (mg/mL) des extraits méthanolique et éthanolique du mélange 50 % *Moringa oleifera* / 50 % *Artemisia annua*, comparées à l'acide ascorbique (activité antioxydante)

Espèce	IC ₅₀ (mg/ml)
Acide ascorbique	0,017
Extrait méthanolique du Morisia	0,006
Extrait éthanolique du Morisia	0,017

Les résultats de l'activité antioxydante révèlent que le mélange *Morisia* 50 % *Moringa Oleifera* et 50% *Artémisia Annua* présentent des valeurs de concentration inhibitrices proche et élevées par rapport à l'acide ascorbique (Tableau 10). Cela démontre que l'extrait méthanolique à une meilleure activité antioxydante que le standard utilisé (Acide ascorbique), qui enregistre une valeur de 0,006 mg/ml, et que l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante très proche de celle du standard qui enregistre une valeur de 0,017 mg/ml.

- **Évaluation comparative de l'activité antioxydante de cinq mélanges *A. annua* / *M. oleifera***

Afin d'évaluer l'effet de la proportion relative d'*Artemisia annua* et *Moringa oleifera* sur le potentiel antioxydant, cinq mélanges différents (désignés M1 à M5) ont été testés. La figure 16 présente les valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) de ces mélanges, déterminées à partir de leur activité antioxydante.

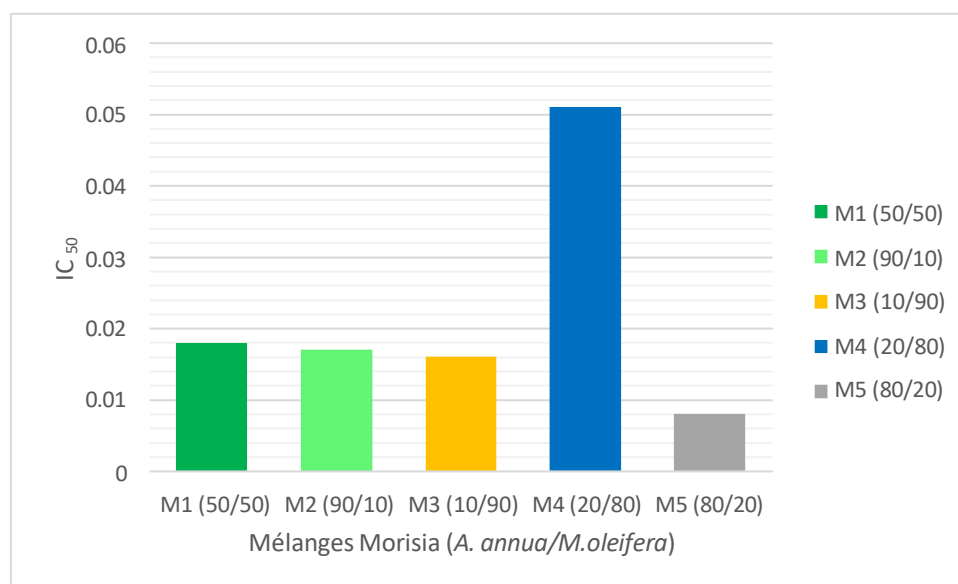


Figure 18 : Concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) des cinq mélanges d'*Artemisia annua* et *Moringa oleifera* (activité antioxydante). M1 : 50 % *A. annua* / 50 % *M. oleifera* ; M2 : 90 % *A.*

annua / 10 % *M. oleifera* ; M3 : 10 % *A. annua* / 90 % *M. oleifera* ; M4 : 20 % *A. annua* / 80 % *M. oleifera* ; M5 : 80 % *A. annua* / 20 % *M. oleifera*

Les résultats de l'activité antioxydante des différents mélanges combinant *Artemisia annua* et *Moringa oleifera* selon diverses proportions ont révélé des variations notables en fonction des ratios utilisés (Figure 16). Le mélange M5 (80 % *A. annua* / 20 % *M. oleifera*) a présenté la meilleure activité antioxydante, avec une IC_{50} de 0,008 mg/mL, surpassant non seulement les autres mélanges, mais également les extraits purs et l'acide ascorbique utilisé comme référence. Les mélanges M3 (10/90), M2 (90/10) et M1 (50/50) ont également montré des IC_{50} faibles, comprises entre 0,016 et 0,018 mg/mL, suggérant une synergie positive entre les deux extraits. En revanche, le mélange M4 (20 % *A. annua* / 80 % *M. oleifera*) a affiché une IC_{50} plus élevée (0,051 mg/mL), indiquant une activité antioxydante plus faible par rapport aux autres formulations.

III.1.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

➤ Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de chaque plante

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera* et d'*Artémisia annua*, a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant le Diclofenac comme standard. Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de la matière première sont représentés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) de la matière première
(Activité anti-inflammatoire)

Espèce	Diclofenac	<i>Artémisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
IC_{50} (mg/mL)	0.9	0.49	0.603

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a montré que les extraits des deux plantes étudiées présentent un effet inhibiteur notable sur le processus inflammatoire, bien que moins puissant que le standard utilisé, le diclofénac dont $IC_{50} = 0,9$ mg/mL. L'extrait d'*Artemisia annua* avec une IC_{50} de 0,49 mg/mL, indiquant une activité anti-inflammatoire significative, plus prononcée que celle de *Moringa oleifera*, dont l' IC_{50} était de 0,603 mg/mL (Tableau 12). Ces

résultats suggèrent que l'*Artemisia annua* possède des composés bioactifs capables de moduler efficacement les médiateurs de l'inflammation.

➤ **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de mélange (Morisia)**

Les résultats relatifs aux IC₅₀ des cinq mélanges de Morisia, obtenus par l'analyse de leur activité anti-inflammatoire, sont synthétisés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC₅₀) des cinq mélanges de Morisia (Activité anti-inflammatoire)

Mélange (<i>A. annua</i> % / <i>M. oleifera</i> %)	IC ₅₀ (mg/mL)
M1 (50/50)	5.4437
M2 (90/10)	2.9248
M3 (10/90)	0.208
M4 (20/80)	3.2763
M5 (80/20)	1.974

Les résultats présentés dans le tableau 14 montrent des variations importantes de l'activité anti-inflammatoire des cinq mélanges *Artemisia annua* / *Moringa oleifera*, exprimées en valeurs d'IC₅₀. Plus l'IC₅₀ est faible, plus l'extrait est actif. Le mélange M3 (10 % *Artemisia* / 90 % *Moringa*) affiche la plus forte activité anti-inflammatoire, avec une IC₅₀ de 0,208 mg/mL, indiquant une efficacité marquée à faible concentration. Ce résultat met en évidence le rôle prédominant de *Moringa oleifera* dans l'inhibition de la dénaturation des protéines. Le second meilleur profil est observé pour M5 (80 % *Artemisia* / 20 % *Moringa*), avec une IC₅₀ de 1,974 mg/mL, suivi de M2 (90/10) et M4 (20/80), qui présentent des IC₅₀ modérées (2,9248 mg/mL et 3,2763 mg/mL, respectivement). Enfin, M1 (50/50) affiche l'activité la plus faible, avec une IC₅₀ de 5,4437 mg/mL (Tableau 13). Ces résultats suggèrent que l'activité anti-inflammatoire varie fortement selon les

proportions relatives des deux plantes, et que la présence majoritaire de *Moringa oleifera* semble particulièrement favorable à cette activité biologique.

III.1.6. Evaluation de l'activité antibactérienne *in vitro*

Les résultats du test d'activité antibactérienne, réalisés sur différentes souches bactériennes, sont présentés dans le tableau 13. Ils indiquent les concentrations minimales inhibitrices (CMI), exprimées en mg/mL, des extraits méthanoliques de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*.

Tableau 13 : Sensibilité et concentration minimale inhibitrice CMI (mg/mL) des souches bactériennes testées aux extraits méthanoliques de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua*

Espèce bactérienne	<i>Artemisia annua</i>	<i>Moringa oleifera</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i> NDM-1	2,1	2,2
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2,5	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	4	3,33
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	2,9	2,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	2,5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	4	R
<i>Serratia marcescens</i>	S.N.D	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	S.N.D	6,25

R → Résistant

S.N.D → Souche sensible mais CMI non déterminée

Les résultats de la sensibilité bactérienne aux extraits méthanoliques montrent que l'extrait d'*Artemisia annua* s'est montré actif principalement contre *Acinetobacter baumannii* NDM-1 (CMI = 2,1 mg/mL), une souche multirésistante d'intérêt clinique. Une efficacité notable a également été enregistrée contre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 2,5 mg/mL). L'extrait a présenté une activité modérée contre les souches d'*Escherichia coli* avec des CMI de 4 mg/mL pour la souche ATCC 25922 et de 2,9 mg/mL pour la souche ATCC 8739. Une inhibition similaire a été notée pour *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (CMI = 4 mg/mL). En revanche, aucune activité n'a été détectée contre *Klebsiella pneumoniae* (résistance observée), tandis que les données

concernant *Serratia marcescens* et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ne sont pas disponibles. Enfin, une activité modérée de l'extrait a été observée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, avec une CMI de 5 mg/mL (Tableau 14). Ces résultats soulignent l'efficacité potentielle de *Artémisia annua* surtout contre certaines souches à Gram positif et quelques entérobactéries.

L'extrait de *Moringa oleifera* a également démontré une activité antibactérienne intéressante sur plusieurs souches, notamment; contre *Acinetobacter baumannii* NDM-1 avec une CMI de 2,2 mg/mL, similaire à celle d'A, ; contre *Escherichia coli* ATCC 25922 (CMI = 3,33 mg/mL) et *E. coli* ATCC 8739 (CMI = 2,9 mg/mL); contre *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 2,5 mg/mL), alors qu'A. *annua* était inefficace. L'extrait a montré une activité modérée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CMI = 4 mg/mL) et une activité plus faible contre la souche ATCC 6538 (CMI = 6,25 mg/mL). En revanche, aucune activité n'a été détectée contre *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ni contre *Serratia marcescens*, ni contre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, indiquant une absence d'effet contre cette souche à Gram positif (Tableau 14). Ces résultats suggèrent que *M. oleifera* pourrait être plus efficace contre certaines bactéries à Gram négatif, notamment les entérobactéries, bien que son spectre d'action reste limité contre certaines souches à Gram positif.

III.1.7. Identification des composés à haut risque de toxicité *in silico*

Les résultats de l'analyse toxicologique *in silico*, réalisés à l'aide de la plateforme ADMETlab 3.0, sont présentés dans le tableau 14 et concernent les composés bioactifs majeurs identifiés par l'analyse d'HPLC: Rutin, Acide gallique, Quercétine, Kaempférol, Morine hydrate, Isoquercétine et Acide chlorogénique extraits de *Moringa oleifera*, ainsi que l'artémisinine, issue de *Artemisia annua*. Ces résultats sont exprimés sous forme de valeurs de probabilité prédictive (comprises entre 0 et 1) pour divers paramètres de toxicité. Une valeur inférieure à 0,3 est interprétée comme un faible risque toxique, une valeur entre 0,3 et 0,7 comme un risque modéré, et une valeur supérieure à 0,7 indique un risque élevé.

En ce qui concerne la toxicité aiguë orale (DL₅₀) chez le rat, les valeurs supérieures à 500 mg/kg sont associées à une toxicité faible, tandis que des valeurs inférieures à ce seuil sont considérées comme potentiellement toxiques. Les paramètres évalués incluent : le blocage du canal hERG (indicateur de cardiotoxicité), la toxicité hépatique induite par médicament (DILI), la mutagénicité (test d'Ames), la cancérogénicité, la hépatotoxicité humaine, la néphrotoxicité, la

neurotoxicité, l'hématotoxicité, la génotoxicité et la cytotoxicité sur les cellules HEK293. Cette évaluation permet de dresser un profil toxicologique prédictif pour chacun des composés, dans le but d'anticiper les risques liés à leur utilisation potentielle en phytothérapie ou en formulation nutraceutique.

Tableau 14. Profil toxicologique prédictif des principaux composés bioactifs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, obtenu par l'analyse in silico via ADMETlab 3.0

Composé bioactif Toxicité	<i>Moringa oleifera</i>							<i>Artemisia annua</i>
	Isoquercétin	Acide chlorohénique	Rutin	Quercétine	Acide gallique	Kaempférol	Morine hydrate	Artémisinine
LD ₅₀ orale chez le rat	0,049	0,054	0,044	0,203	0,251	0,488	0,505	0,754
Bloqueurs du canal hERG	0,013	0,025	0,008	0,017	0,026	0,069	0,047	0,135
Lésion hépatique induite par médicament (DILI)	0,913	0,291	0,008	0,929	0,704	0,703	0,558	0,795
Toxicité d'Ames (mutagénicité)	0,856	0,386	0,756	0,715	0,482	0,546	0,568	0,867
Cancérogénicité	0,239	0,225	0,047	0,1	0,19	0,716	0,657	0,466
Hépatotoxicité humaine	0,563	0,543	0,406	0,438	0,397	0,386	0,372	0,652
Néphrotoxicité induite par médicament	0,064	0,441	0,148	0,068	0,056	0,019	0,015	0,472

Neurotoxicité induite par médicament	0,002	0,009	0	0,004	0,011	0,039	0,018	0,546
Hématotoxicité	0,038	0,028	0,023	0,054	0,081	0,045	0,031	0,337
Génotoxicité	0,976	0,243	0,868	0,946	0,76	0,977	0,985	0,429
Cytotoxicité (cellules HEK293)	0,531	0,046	0,466	0,559	0,023	0,763	0,833	0,292

L'analyse des probabilités prédictives de toxicité des composés bioactifs extraits de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* révèle une variabilité marquée des profils toxicologiques. Parmi les composés de *Moringa oleifera*, l'acide chlorogénique se distingue par un profil globalement favorable, avec des valeurs inférieures à 0,3 dans la majorité des paramètres, indiquant un faible risque toxique. À l'inverse, des composés tels que l'isoquercétine, la quercétine et le kaempférol présentent des valeurs élevées ($> 0,7$) pour plusieurs marqueurs clés, notamment la génotoxicité, la mutagénicité (test d'Ames), ainsi que la toxicité hépatique (DILI), soulignant un risque important pour la sécurité hépatique et cellulaire. La morine hydrate, bien qu'affichant une faible toxicité aiguë (DL_{50} élevée), présente une génotoxicité et cytotoxicité très élevées, ce qui soulève des préoccupations quant à sa sécurité d'usage. En revanche, l'artémisinine, principal composé de *Artemisia annua*, présente un risque modéré à élevé en termes de toxicité hépatique, mutagénicité et neurotoxicité.

Le profil toxicologique des composés bioactifs issus de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* a été visualisé à l'aide d'un diagramme radar (Figure 19, figure 20), intégrant les principaux indicateurs de toxicité prédits *in silico*.

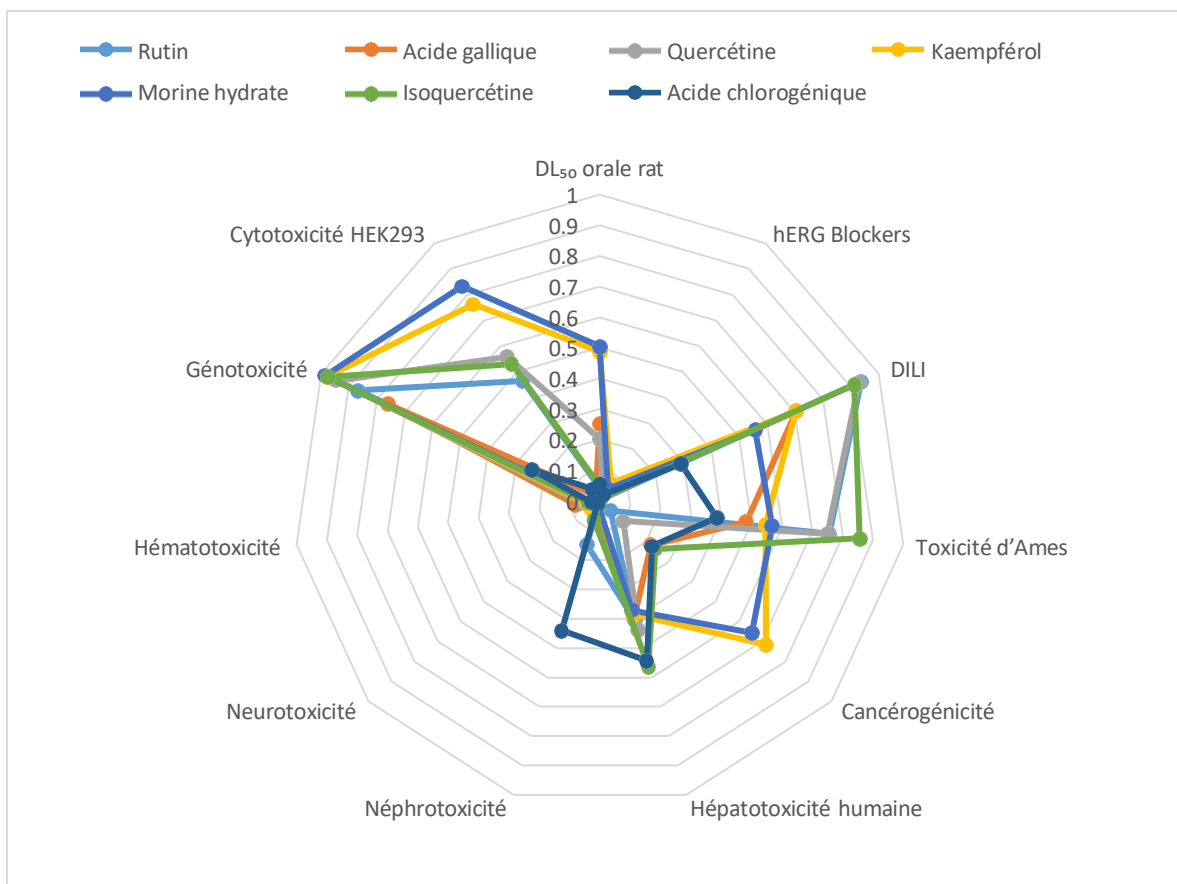


Figure 19 : Profile toxicologique de principe actif du *Moringa oleifera* (Original)

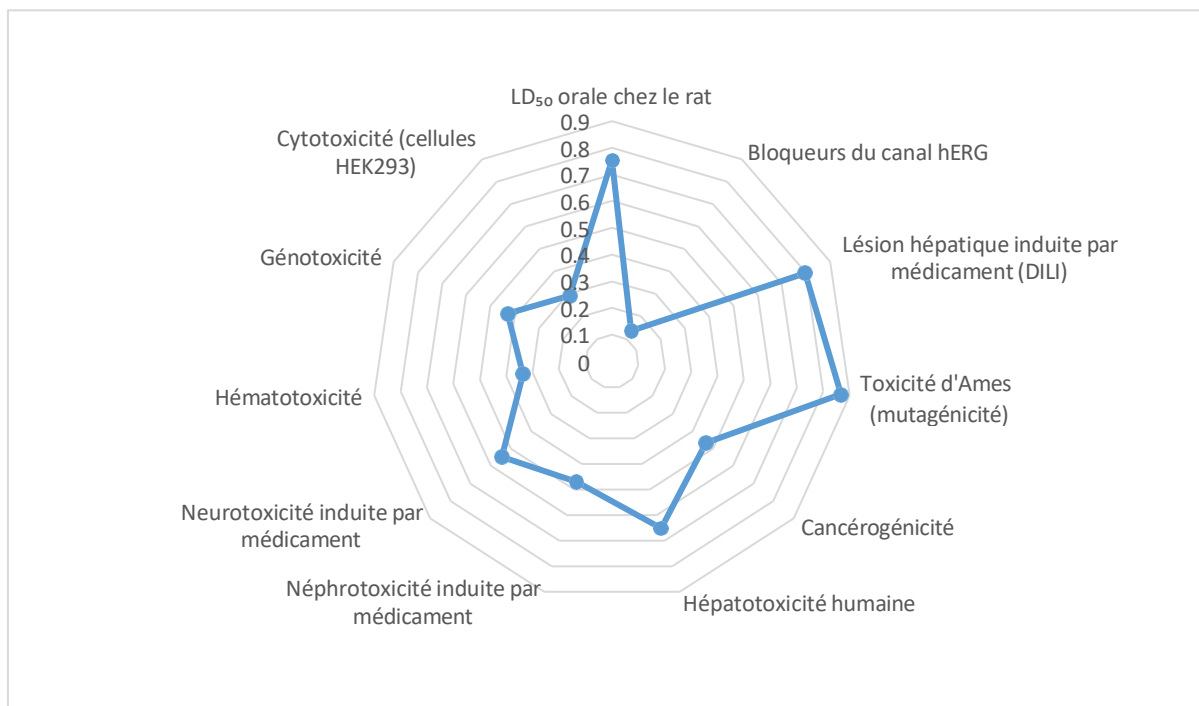


Figure 20 : Profile toxicologique de principe actif du *Artemisia annua* (Original)

Les composés de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua* présentent des valeurs de DL_{50} prédite inférieures à 1 mmol/kg, ce qui correspond à une toxicité aiguë orale relativement faible. Toutefois, L'acide chlorogénique présente une surface radar réduite et centrée, avec des valeurs généralement inférieures à 0,3, ce qui traduit une faible toxicité globale. Ce composé apparaît ainsi comme le plus favorable. En revanche, l'isoquercétine, la quercétine et le kaempférol génèrent des polygones très étendus, notamment vers les axes de génotoxicité, toxicité d'Ames, et DILI, reflétant un profil toxicologique préoccupant. Ces extensions indiquent une probabilité élevée de provoquer des effets nocifs, notamment au niveau hépatique et génétique. La morine hydrate possède un radar caractérisé par une forte extension sur les axes de cytotoxicité et génotoxicité, malgré une DL_{50} indiquant une faible toxicité aiguë. Cela souligne un risque cellulaire marqué, potentiellement problématique en cas d'usage prolongé ou à forte dose. La rutine et l'acide gallique affichent des surfaces intermédiaires, avec certains pics de toxicité (notamment génotoxicité pour la rutine), ce qui suggère une toxicité modérée et ciblée selon les paramètres.

L'artémisinine montre plusieurs axes fortement étendus dans le graphe, notamment à la lésion hépatique induite par médicament (DILI) et à la toxicité d'Ames (mutagénicité), mais reste limitée sur les paramètres hématotoxiques et cytotoxiques. Ainsi, qu'elle présente un risque modéré à élevé dans certains organes, soulignant la nécessité de précautions dans son utilisation prolongée.

III.2. Discussion

III.2.1. Rendements d'extraction selon les solvants

Selon les rendements obtenus lors des extractions méthanolique, éthanolique et hydroéthanolique, le solvant hydroéthanolique présente le rendement le plus élevé (20,3 %), comparativement au méthanol (10,8 %) et à l'éthanol (2,4 %). Ce résultat suggère que l'extraction hydroéthanolique est la plus efficace pour récupérer une large gamme de composés bioactifs. Le type de solvant utilisé influence directement la nature des composés extraits. Le méthanol permet de récupérer des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés en grande quantité, grâce à sa forte polarité. L'éthanol, permet l'extraction des composés phénoliques, terpènes, saponines et des hétérosides. Le solvant hydroéthanolique permet l'extraction des molécules

polaires (polyphénols, vitamines, acides organiques) et moyennement apolaires (certains alcaloïdes, terpénoïdes), grâce à la présence d'eau qui favorise la solubilité des composés variés. Son utilisation représente une solution polyvalente, favorisant une extraction complète et équilibrée des métabolites secondaires présents dans les plantes médicinales.

L'extraction aqueuse de *Moringa oleifera* a présenté un rendement plus élevé comparé aux solvants organiques, en raison de sa richesse en métabolites hydrosolubles (glucosides, phénols simples, protéines, polysaccharides). Adebayo et al. (2018) ont confirmé que les extraits aqueux de *Moringa* contiennent des niveaux significatifs de flavonoïdes et de tanins, avec un rendement plus élevé que celui obtenu avec des solvants non polaires (Adebayo et al., 2018). Par contre, chez *Artemisia annua*, les extraits hydroalcooliques (méthanol) présentent un rendement supérieur à celui des extraits aqueux. En effet, une étude comparative montre un rendement de $\approx 17,6 \%$ pour les extraits méthanoliques des parties aériennes contre $\approx 10,7 \%$ pour les extraits chloroformiques, avec des teneurs en polyphénols et flavonoïdes significativement plus élevées (Trifan et al., 2022).

Ces observations confirment que les solvants hydroalcooliques (éthanol-méthanol, à des concentrations de 50 à 70 %) constituent un choix optimal pour l'extraction d'une large gamme de métabolites secondaires, en maximisant à la fois le rendement, la diversité des composés extraits et leur stabilité chimique. Ces résultats corroborent les travaux de Khoddami et al. (2013), qui ont démontré l'efficacité de ces mélanges dans l'extraction ciblée de composés phénoliques et autres métabolites bioactifs.

III.2.2. Caractérisation phytochimique

➤ Teneur des extraits en composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été quantifiée par la méthode de Folin-Ciocalteu et exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Les résultats obtenus montrent que l'extrait d'*Artemisia annua* possède une teneur phénolique plus élevée (468,91 mg EAG/g MS) que celui de *Moringa oleifera* (324,62 mg EAG/g MS). Cette différence s'explique par la composition particulière d'*Artemisia annua*, qui contient une grande variété de flavonoïdes méthoxylés (casticine, chrysosplénétine), d'acides phénoliques (acide rosmarinique, caféique) et de sesquiterpènes oxygénés, qui contribuent fortement à la capacité antioxydante globale. En comparaison, *Moringa oleifera* est également riche en composés

phénoliques (quercétine, kaempférol, acide gallique), mais dans une proportion légèrement inférieure selon les extraits analysés. Des études antérieures confirment ces observations. Par exemple, Chebbac et al. (2023) ont rapporté des teneurs en composés phénoliques totaux allant jusqu'à 500 mg EAG/g dans des extraits hydroalcooliques d'*Artemisia annua*, tandis que Segwatibe et al. (2023) ont enregistré des concentrations comprises entre 300 et 350 mg EAG/g dans les feuilles de *Moringa oleifera*. Ces résultats mettent en évidence l'intérêt d'une utilisation combinée de ces deux espèces, afin de tirer parti d'un profil phénolique diversifié et complémentaire.

➤ Teneur des extraits en flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes totaux, exprimée en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS), révèle une différence significative entre les deux espèces végétales analysées. L'extrait de *Moringa oleifera* présente une teneur plus élevée (46,15 mg EQ/g MS) que celui d'*Artemisia annua* (26,75 mg EQ/g MS), traduisant une plus grande abondance en flavonoïdes hydrosolubles dans les feuilles de *Moringa*. Cette richesse est attribuée à la présence de flavonoïdes majeurs tels que la quercétine, le kaempférol et l'isorhamnétine, qui sont fortement exprimés dans les extraits méthanoliques et éthanoliques de *Moringa* (Segwatibe et al., 20223). En revanche, bien que les flavonoïdes soient également présents dans *Artemisia annua*, ils se trouvent majoritairement sous forme méthoxylée (comme la casticine ou la chrysosplénétine). Bien que leur concentration pondérale soit généralement plus faible, ces composés conservent une activité biologique significative (Chebbac et al., 2023).

➤ Teneur des extraits en tanins condensés et hydrolysables

Les résultats de la quantification des tanins hydrolysables montrent que l'extrait de *Moringa oleifera* présente une teneur plus élevée (230,58 mg EAT/g MS) que celui d'*Artemisia annua* (90,88 mg EAT/g MS), traduisant une plus grande abondance en tanins hydrolysables dans les feuilles de *Moringa*. Selon une étude récente, les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* présentent des teneurs en tanins hydrolysables comprises entre 110 et 280 mg, en fonction des échantillons. Ces niveaux élevés soulignent non seulement l'abondance de ces composés, mais aussi leur implication dans les propriétés antioxydantes de la plante (Naco et al., 2024).

La quantification des tanins condensés, exprimée en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS), révèle une différence notable entre les deux espèces végétales analysées. Les résultats obtenus montrent que l'extrait d'*Artemisia annua* présente une teneur mesurable (9,09 mg EC/g MS), tandis qu'aucune teneur détectable n'a été observée pour *Moringa oleifera*, ce qui suggère une absence ou une très faible abondance en tanins condensés dans ses feuilles.

Selon les résultats de Weathers et al. (2005), Parmi les composés bioactifs importants présents dans *Artemisia annua*, il y a les tanins. Ces derniers constituent une source notable de composés protecteurs qui préservent les lipides des membranes cellulaires, les protéines et les acides nucléiques, et contribuent à la prévention des dysfonctionnements cardiovasculaires et cérébraux lorsqu'ils sont consommés de manière appropriée. Bien qu'une différence importante ait été observée entre la présente étude et la littérature, il est établi que la partie de la plante utilisée ainsi que le solvant d'extraction influencent de manière significative la quantité de composés phytochimiques extraits. Selon l'étude de Foidl et al. (2001), les feuilles fraîches de *Moringa oleifera* contiennent des quantités très faibles de tanins totaux (environ 1,4 %), tandis que les tanins condensés y sont indétectables.

III.2.3. Identification des principes actifs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*

➤ Identification des principes actifs de *Moringa oleifera*

Dans notre étude, l'analyse de HPLC a permis d'identifier des molécules largement connues pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, ainsi que d'autres effets thérapeutiques. Isoquercitrine et acide chlorogénique issues de *Moringa oleifera* et l'artémisinine issue de *Artemisia annua*. Comme dans une autre étude qui a identifié qualitativement les molécules bioactives l'isoquercitrine et l'acide chlorogénique, et quantitativement en valeur de l'Isoquercitrine 75.65 mg/g et l'Acide chlorogénique (79.31 mg/g) (Margareth et al., 2015).

L'acide chlorogénique (CGA) est un acide phénolique majeur présent dans de nombreuses plantes médicinales, y compris *Moringa oleifera*. Il appartient à une famille de composés formés par la conjugaison de l'acide caféique et de l'acide quinique, reconnus pour leurs effets protecteurs multiples. L'acide chlorogénique exerce une activité antidiabétique, en tant qu'inhibiteur de la

glucose-6-phosphate translocase, une enzyme clé de la néoglucogenèse hépatique, limitant ainsi la production hépatique de glucose (Hemmerle et al., 1997). Il améliore également la sensibilité à l'insuline et réduit significativement la glycémie, le cholestérol total et les triglycérides, confirmant son potentiel antidiabétique et cardioprotecteur (Karthikesan et al., 2010).

L'acide chlorogénique montre une forte activité antioxydante par sa capacité de neutraliser les radicaux libres et de prévenir le stress oxydatif. Il inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le l'IL-6 et TNF- α , renforçant son rôle dans la régulation de l'inflammation chronique. De plus, selon l'étude de Nguyen et al (2024), l'acide chlorogénique a démontré un potentiel neuroprotecteur, en particulier dans les pathologies neurodégénératives comme Alzheimer et Parkinson, par la protection des neurones contre les lésions oxydatives. Cette étude a révélé qu'il possède également une activité hépatoprotectrice, en limitant les dommages aux cellules hépatiques causés par le stress oxydatif, ainsi qu'un effet anticancéreux potentiel, en inhibant la prolifération des cellules tumorales et en induisant leur apoptose (Nguyen et al., 2024).

Dans notre étude, l'analyse HPLC des extraits de *Moringa oleifera* a permis d'identifier la présence d'isoquercitrin, un flavonoïde glycosylé dérivé de la quercétine, connu pour ses nombreuses propriétés biologiques (Yamanouchi et al., 2025). L'isoquercitrin est étudiée pour ses effets anticancéreux, notamment via l'activation de la voie AMPK, un régulateur clé du métabolisme cellulaire. Des recherches récentes ont montré que cette molécule peut induire l'apoptose et l'autophagie dans les cellules de différents types de carcinomes, en modulant les voies de signalisation AMPK/mTOR/p70S6K et AMPK/NF- κ B (Kwon et al., 2023). De plus, l'isoquercitrin présente des propriétés antioxydantes, antivirales, hypotensives, neuroprotecteurs, anti-inflammatoires, en inhibant notamment la production des cytokines TNF- α , IL-1, IL-6 et iNOS, par blocage des voies NF- κ B et MAPK et hépatoprotecteur, via la régulation de la signalisation AMPK/ACC (Kim et al., 2023; Gao et al., 2022).

L'analyse du profil HPLC de *Moringa oleifera* révèle que la rutine est le composé majoritaire des flavonoïdes présents dans les feuilles, ce qui est en parfaite cohérence avec la littérature scientifique sur cette espèce (Nature, 2024). Plusieurs études ont confirmé que la rutine, ainsi que d'autres flavonoïdes tels que la quercétine et le kaempférol, sont abondamment présents dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*, contribuant de manière significative à son activité biologique (Tripathi et al., 2024).

Par ailleurs, la présence de pics supplémentaires sur le chromatogramme, correspondant à divers polyphénols et flavonoïdes, confirme la richesse antioxydante de l'extrait analysé, ce qui est également corroboré par des analyses antérieures mettant en avant la diversité et la quantité importante de composés phénoliques et flavonoïdiques dans cette plante (Llorent-Martínez et al., 2024). Le profil chromatographique détaillé met en évidence, outre la rutine, la présence de quercétine, kaempférol et acide gallique, des composés connus pour leurs propriétés antioxydantes et leur rôle dans la prévention du stress oxydatif (PMC, 2023).

La richesse en flavonoïdes et en acides phénoliques de *Moringa oleifera* explique ainsi ses effets bénéfiques sur la santé, notamment sa capacité à piéger les radicaux libres et à réduire les risques de maladies chroniques liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires et certains cancers (Ojha et al., 2024). Ces résultats confirment donc la valeur nutritionnelle et thérapeutique du *Moringa oleifera*, déjà reconnue dans de nombreuses études, et confirme l'intérêt de cette plante comme source naturelle d'antioxydants pour l'alimentation et la prévention de diverses pathologies (Rguez et al., 2024).

➤ Synthèse du profil HPLC des principaux composés identifiés dans *Moringa oleifera*

Les analyses par chromatographie liquide à haute performance des feuilles de *Moringa oleifera* montrent clairement la présence de plusieurs flavonoïdes et acides phénoliques. Les composés principaux identifiés sont la rutin, la quercétine, le kaempférol, la myricétine, ainsi que divers acides phénoliques tels que l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique et l'acide caféique. D'autres glycosides de flavonols, notamment l'astragalin et l'isoquercétine, sont également détectés dans les extraits de feuilles (Anwar et al., 2007; Saini et al., 2016).

La rutin apparaît comme le flavonoïde majoritaire, souvent associée au pic le plus intense sur les chromatogrammes HPLC. La quercétine et le kaempférol sont également abondants, confirmant la richesse de *Moringa oleifera* en composés antioxydants (Saini et al., 2016). La myricétine est détectée dans plusieurs études et corroborée par les données de notre travail la méthodologie analytique utilisée : colonne C18 (KNAUER, 250 mm × 4,6 mm, 5 µm), phase mobile composée d'eau à 1 % d'acide acétique (A) et de méthanol (B), gradient, détection à 254 nm, débit de 1 ml/min, et injection de 20 µl. Cette méthode permet d'obtenir une séparation efficace des polyphénols présents dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* et confirme la présence de

pics correspondant aux standards de la rutin, de la quercétine, du kaempférol et de la myricétine (morisia.docx-hplc.docx).

➤ Données quantitatives et qualitatives

La rutine est généralement le composé flavonoïde le plus abondant dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*, suivie de la quercétine et du kaempférol (Saini et al., 2016). Les profils HPLC montrent plusieurs pics secondaires correspondant à d'autres flavonoïdes et acides phénoliques, confirmant ainsi la richesse antioxydante de cette plante (Anwar et al., 2007). De manière plus détaillée, le profil chromatographique est dominé par la rutine, la quercétine, le kaempférol et la myricétine, mais également par divers acides phénoliques tels que l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique et l'acide caféique. Ces résultats confirment la diversité et la densité des polyphénols dans *Moringa oleifera*, contribuant à ses propriétés antioxydantes reconnues (Anwar et al., 2007 ; Saini et al., 2016).

Par ailleurs, certains pics non identifiés dans les chromatogrammes HPLC sont susceptibles de correspondre à des composés phénoliques ou flavonoïdiques spécifiques, dont l'identification a été rapportée dans diverses études de référence. Parmi ceux-ci, l'acide néochlorogénique (pic à 4,707 min) a été identifié comme composé majoritaire dans les extraits foliaires par extraction liquide sous pression (PLE), avec des concentrations allant de 0,081 à 0,153 % du poids sec, ce qui est cohérent avec les données issues d'études réalisées en Thaïlande et au Mexique (Vergara-Jimenez et al., 2023). L'acide cryptochlorogénique (pic à 6,588 min) est proposé sur la base de la similarité de son spectre UV, une hypothèse appuyée par les travaux de Nouman et al., ainsi que par les résultats de Sierra-Campos et al. (2020), qui signalent sa présence en quantités significatives. La glucomoringine (pic à 17,144 min), glucosinolate spécifique au *Moringa*, représente jusqu'à 59,4 mg/g ; son temps de rétention tardif est compatible avec les profils obtenus en HPLC utilisant une détection à 334 nm (Vergara-Jimenez et al., 2023). D'autres dérivés de flavonols (pics entre 11,891 et 18,275 min), tels que l'astragaline et l'isoquercétine, ont également été détectés, avec des concentrations variant selon les variétés cultivées (par exemple, de 0,013 à 0,216 % dans les feuilles issues des écotypes Jaffna versus conventionnels) (Farooq et al., 2021 ; Rani et al., 2014 ; Sierra-Campos et al., 2020).

La non-identification de certains de ces composés dans les profils chromatographiques standards peut s'expliquer par l'absence de standards commerciaux pour plusieurs glycosides

spécifiques, ainsi que par la variabilité géographique influençant la composition chimique, notamment en fonction du type de sol, des conditions climatiques et de la saison de récolte.

➤ **Identification des principes actifs dans l'*Artemisia annua***

L'analyse chromatographique réalisée dans cette étude a permis d'identifier et de quantifier l'artémisinine extraite d'*Artemisia annua*. Le chromatogramme de l'étalon d'artémisinine a montré un pic unique et bien défini à un temps de rétention de 5,475 minutes, ce qui confirme la spécificité de la méthode analytique employée (Smith et al., 2020). Cette spécificité est essentielle pour garantir la fiabilité de l'identification du composé cible dans des matrices végétales complexes.

Le chromatogramme de l'extrait d'*Artemisia annua* présente un pic majeur à 5,404 minutes, très proche de celui de l'étalon. Selon la littérature, une différence de temps de rétention inférieure à 0,1 minute est généralement considérée comme un critère suffisant pour l'identification d'un même composé dans des conditions analytiques constantes (Jones & Brown, 2019). Ce résultat suggère que le pic détecté dans l'extrait correspond bien à l'artémisinine, ce qui corrobore les travaux de Wang et al. (2018) ainsi que les études antérieures portant sur l'analyse de cette molécule par chromatographie liquide.

La quantification, basée sur la surface du pic (1782,93) et la courbe d'étalonnage, a permis de déterminer une concentration de 534,88 mg d'artémisinine dans 30 g de plante, soit un rendement d'extraction de 17,83 mg/g. Ce rendement est supérieur à la moyenne rapportée dans la littérature, qui se situe généralement entre 10 et 15 mg/g selon la variété de la plante et les conditions d'extraction (Zhou et al., 2021).

Ce résultat révèle l'efficacité de la méthode d'extraction utilisée dans cette étude. Par ailleurs, la reproductibilité de la méthode et la précision des mesures obtenues témoignent de la robustesse de la procédure analytique. Cependant, il convient de noter que d'autres composés présents dans l'extrait pourraient potentiellement interférer avec la détection de l'artémisinine, bien que cela n'ait pas été observé dans les chromatogrammes obtenus (Li et al., 2022). Il serait donc pertinent, dans des travaux futurs, de confirmer ces résultats par des analyses complémentaires, telles que la spectrométrie de masse ou la chromatographie à deux dimensions.

III.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

➤ **Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de *Moringa oleifera***

Une étude récente conduite par Bhuker et al. (2023) sur la germination de graines de *Moringa oleifera* a évalué l'activité antioxydante de différents extraits via le test DPPH. Les résultats montrent des valeurs IC_{50} très faibles, notamment 2,39 $\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait de feuilles germées à 30 °C, démontrant une capacité de piégeage de radicaux comparable aux standards antioxydants. Ce résultat illustre clairement l'impact déterminant de la température et des conditions de germination sur l'efficacité antioxydante des extraits.

Une étude plus spécifique menée par Segwatibe et al. (2023) a montré que l'extrait éthanolique brut de *Moringa oleifera* présente une activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH, avec une IC_{50} de 0,435 mg/mL (435 $\mu\text{g/mL}$), indiquant une capacité antioxydante modérée, bien que moins puissante que celle observée avec des extraits concentrés. D'autres travaux ont montré que la biotechnologie de germination améliore significativement cette activité, avec des valeurs d' IC_{50} inférieures ou égales à 5 $\mu\text{g/mL}$. Par ailleurs, l'huile essentielle d'*Artemisia annua* présente également une performance intéressante avec une IC_{50} avoisinant les 29 $\mu\text{g/mL}$. En comparaison, l'extrait brut éthanolique de *Moringa oleifera* conserve une activité notable, bien qu'à puissance moyenne, avec une IC_{50} autour de 435 $\mu\text{g/mL}$ (Segwatibe et al., 2023). Les extraits de *Moringa oleifera* montrent une activité DPPH très élevée lorsqu'ils sont issus de graines germées, signifiant un potentiel antioxydant de première qualité. L'huile essentielle d'*Artemisia annua* possède un profil antioxydant notable, grâce à ses composants volatils. Les extraits éthanoliques bruts conservent une activité modérée mais fonctionnelle, confirmant l'importance du choix du protocole d'extraction et de la source du matériau végétal.

➤ **Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* d'*Artemisia annua***

L'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Artemisia annua* méditerranéenne a été étudiée par Chebbac et al, (2023), donnant une valeur IC_{50} DPPH de $29 \pm 5,3 \mu\text{g/mL}$, associée à une forte capacité de réduction ferrique (EC_{50} FRAP = $9,21 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats indiquent que même sous forme d'huile essentielle, *Artemisia* présente un profil antioxydant notable, soutenu par la richesse en composés phénoliques volatils.

➤ **Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* du mélange (Morisia)**

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de morisia (*Moringa oleifera* + *Artemisia annua*) met en évidence une synergie remarquable dans le mélange M3 (10% *Artemisia*, 90% *Moringa*), qui enregistre une IC₅₀ de 0,016 mg/mL, soit une activité comparable, voire supérieure, à l'acide ascorbique utilisé comme référence. La capacité antioxydante élevée de ce mélange peut s'expliquer par la richesse du *Moringa oleifera* en flavonoïdes (quercétine, rutine, apigénine) et en composés phénoliques, qui sont bien documentés pour leur pouvoir piègeur de radicaux libres. Plusieurs études récentes confirment que les feuilles de *Moringa* présentent une activité antioxydante significative, attribuée à la densité de polyphénols et de flavonoïdes, et que cette activité varie selon les conditions de culture et le mode d'extraction (Bhuker et al., 2023). De plus, l'extrait de *Moringa* a montré dans diverses recherches une efficacité antioxydante supérieure à certains standards de référence, notamment la vitamine C, grâce à la présence de composés tels que la quercétine et l'acide chlorogénique. L'ajout de 10% d'*Artemisia annua*, bien que minoritaire dans le mélange, apporte une contribution non négligeable en composés phénoliques spécifiques, notamment l'artémisinine et certains tanins condensés, qui renforcent l'action antioxydante globale par un effet d'addition ou de synergie. Orcho et al. (2023) ont montré que les extraits d'*Artemisia annua* présentent une activité antioxydante mesurable, bien que généralement inférieure à celle du *Moringa oleifera*, mais que leur association améliore la stabilité et la diversité des mécanismes d'action antioxydants.

La synergie observée dans le mélange M3 pourrait résulter de la complémentarité des profils phytochimiques : le *Moringa oleifera*, très riche en flavonoïdes et tanins hydrolysables, assure une activité antioxydante de base élevée, tandis que l'*Artemisia annua*, même en faible proportion, enrichit le mélange en composés phénoliques spécifiques et en tanins condensés, qui agissent sur d'autres cibles radicalaires ou par d'autres mécanismes (Bhuker et al., 2023 ; Orcho et al., 2023). Cette synergie a été observée dans d'autres travaux sur les extraits mixtes de plantes médicinales, où l'association de matrices phytochimiques variées permet d'optimiser l'effet antioxydant global (Mamdoh et al., 2023).

Enfin, l'efficacité antioxydante observée pour le mélange M3, supérieure à celle des extraits purs de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, met en évidence l'intérêt de formuler des compléments alimentaires associant ces deux plantes dans des proportions optimisées. Cette synergie confère au mélange une activité renforcée, ce qui corrobore les recommandations de la

littérature récente concernant l'utilisation stratégique de mélanges végétaux pour potentialiser les effets bénéfiques sur la santé, en particulier dans la prévention du stress oxydatif et des pathologies chroniques qui y sont associées (Bhuker et al., 2023 ; Orcho et al., 2023 ; Mamdoh et al., 2023). À l'échelle cellulaire, cette efficacité antioxydante repose en grande partie sur l'activation de la voie de signalisation Nrf2/Keap1, mécanisme clé dans la régulation de la réponse antioxydante. En situation de stress oxydatif, les flavonoïdes issus des extraits végétaux modifient la conformation du senseur cytosolique Keap1, libérant ainsi le facteur de transcription Nrf2 qui migre vers le noyau. Une fois activé, ce dernier induit l'expression de plusieurs gènes codant pour des enzymes antioxydantes majeures telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et l'hème oxygénase-1 (HO-1). Cette cascade d'activation moléculaire renforce les défenses cellulaires, réduit la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS), limite la peroxydation lipidique et contribue ainsi à restaurer l'homéostasie redox intracellulaire (Hassanpour & Doroudi, 2023).

En complément, la synergie observée dans le mélange M3 pourrait s'expliquer par un effet combiné sur la cinétique d'activation de la voie Nrf2. En effet, certains composés présents dans *Moringa oleifera* induisent une réponse antioxydante rapide, tandis que les polyphénols plus stables d'*Artemisia annua* prolongeraient cette réponse via un effet retardé. Cette action complémentaire pourrait maintenir une activation prolongée de Nrf2, optimisant ainsi la protection cellulaire. Cette hypothèse est appuyée par les travaux de Chebbac et al. (2023), qui ont mis en évidence une inhibition durable de la peroxydation lipidique par les fractions méthanoliques riches en casticine issues d'*Artemisia annua*. La Figure 20 résume les principaux mécanismes par lesquels les flavonoïdes exercent leurs effets antioxydants.

Le mélange 90 % *Moringa oleifera* / 10 % *Artemisia annua* (M3) présente la plus forte activité antioxydante in vitro ($IC_{50} = 0,016$ mg/mL). Ce résultat traduit une interaction synergique entre les composés phénoliques des deux espèces, agissant notamment par activation de la voie Nrf2/Keap1 et induction des enzymes antioxydantes cellulaires. L'utilisation combinée de ces extraits offre donc un potentiel prometteur en prévention du stress oxydatif, avec des applications thérapeutiques envisageables dans les pathologies inflammatoires et métaboliques.

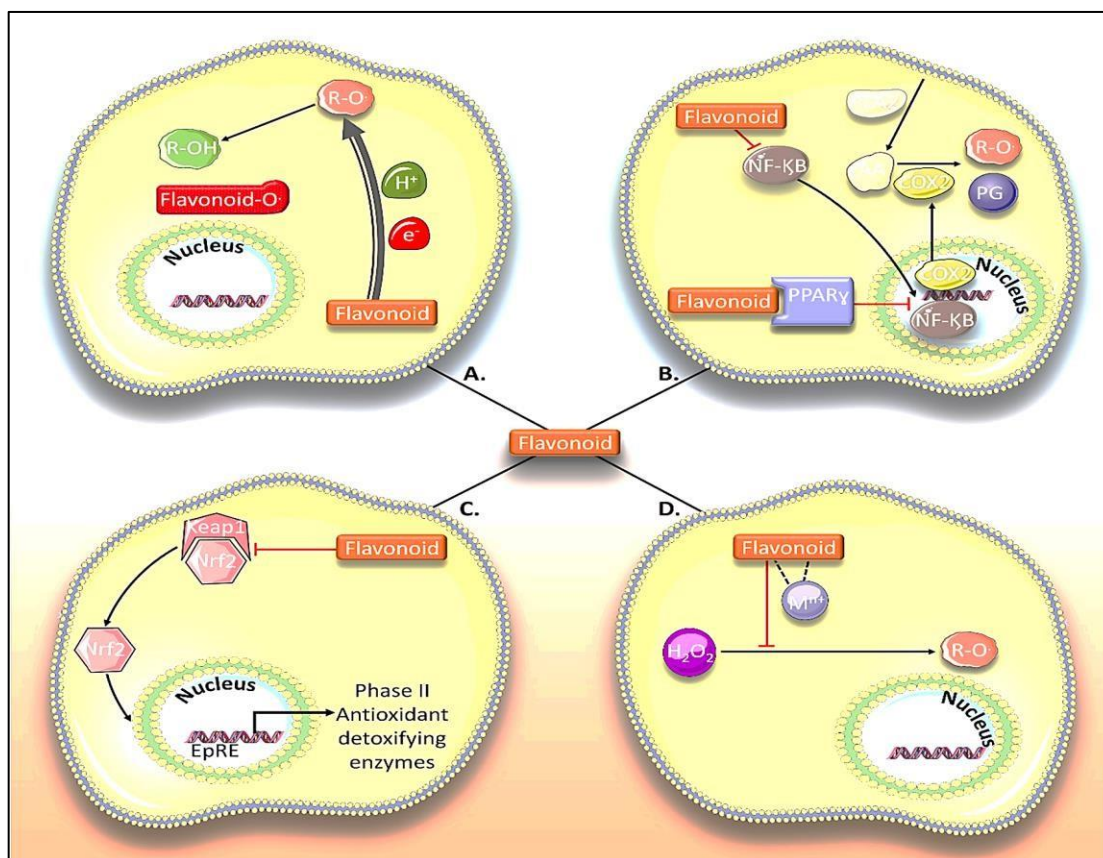


Figure 20: Résumé de certaines des fonctions contribuant aux capacités antioxydantes des flavonoïdes. (A) Les flavonoïdes cèdent un atome d'hydrogène et un électron aux radicaux libres ($R-O\bullet$), les réduisant ainsi. (B) Les flavonoïdes inhibent la liaison de NF- κ B à l'élément de réponse nucléaire à NF- κ B (NF- κ B RE). De plus, les flavonoïdes agissent comme ligands activant PPAR γ qui, à son tour, inhibe le NF- κ B RE. Cet élément de réponse est responsable de l'expression de COX-2, qui agit sur l'acide arachidonique (AA) pour produire des prostaglandines (PG) et des radicaux libres ($R-O\bullet$). Par conséquent, le double blocage de la transcription de COX-2 par les flavonoïdes entraîne une diminution du stress oxydatif. (C) Les flavonoïdes perturbent la liaison de Keap1 à Nrf2. Cela permet la translocation nucléaire de Nrf2 et son activation d'EpRE, améliorant ainsi l'expression des enzymes de détoxification de phase II. (D) Les flavonoïdes chélatent les oligo-éléments (Mn^{+}), empêchant ainsi leur participation à la réaction de Fenton avec H_2O_2 pour générer des radicaux libres (Slika et al., 2022).

III.2.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

➤ **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de *Moringa oleifera***

Nos études confirment que l'extrait des graines de *Moringa oleifera* possède une activité anti-inflammatoire notable, notamment par son effet inhibiteur sur la dénaturation thermique de l'albumine. Ce mécanisme est bien documenté dans la littérature, en particulier dans les travaux d'Alhakmani et al. (2013), qui ont montré qu'un extrait floral de *Moringa oleifera* exerce une inhibition marquée de ce processus, avec un effet dose-dépendant comparable à celui du diclofénac. À la concentration de 100 µg/mL, l'extrait atteint un taux d'inhibition supérieur à 90 %, contre environ 85 % pour le diclofénac, utilisé comme contrôle positif. Cette activité est généralement attribuée à la teneur élevée en flavonoïdes et polyphénols, tels que la quercétine et le kaempférol, reconnus pour leur capacité à stabiliser les protéines et à préserver leur structure tridimensionnelle face aux stress thermiques.

➤ **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* d'*Artemisia annua***

Les extraits hydroalcooliques d'*Artemisia annua* ont révélé une grande richesse en flavonoïdes, notamment la casticine et la chrysosplénétine, ainsi qu'en acides phénoliques, associés à des propriétés anti-inflammatoires démontrées par l'inhibition de médiateurs tels que le NO, la PGE₂, le TNF- α et l'IL-6, via la régulation négative de la voie NF- κ B dans les macrophages stimulés par le LPS (Abate et al., 2021). Bien que l'effet de ces extraits sur la dénaturation de l'albumine n'ait pas été spécifiquement étudié, la présence de flavonoïdes connus pour interagir avec les protéines suggère une activité potentiellement comparable à celle observée avec *Moringa oleifera*. Ces composés polyphénoliques agissent en stabilisant la structure de l'albumine et en bloquant la phosphorylation d'IKK ainsi que la translocation du facteur NF- κ B, inhibant ainsi les cascades pro-inflammatoires. Le potentiel anti-inflammatoire d'A. annua repose donc sur des mécanismes moléculaires solides, déjà bien documentés au niveau préclinique. Par ailleurs, l'efficacité de cette plante dépend étroitement des méthodes d'extraction employées et de sa composition phytochimique, en particulier de sa richesse en flavonoïdes, soulignant le rôle central de ces composés comme agents stabilisants naturels aux effets anti-inflammatoires prononcés.

➤ **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* du mélange (Moringa)**

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a révélé que le mélange M3 (composé de 90 % de *Moringa oleifera* et 10 % d'*Artemisia annua*) présente la meilleure inhibition des processus inflammatoires, avec une IC_{50} de 0,28 mg/mL, comparativement aux extraits purs et aux autres combinaisons testées. Cette efficacité renforcée s'explique en grande partie par la richesse de *Moringa oleifera* en flavonoïdes, polyphénols et tanins hydrolysables, dont l'activité anti-inflammatoire est bien établie dans la littérature. À titre d'exemple, Pareek et al. (2023) ont démontré que les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* inhibent la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α , ainsi que l'expression de médiateurs comme iNOS et COX-2, en agissant principalement via la voie NF- κ B. De même, Zheng et al. (2023) confirment que des extraits enrichis en GABA réduisent efficacement la réponse inflammatoire *in vitro* et *in vivo* grâce à la présence de composés bioactifs tels que la quercétine et l'acide chlorogénique.

L'ajout de seulement 10 % d'*Artemisia annua* dans le mélange M3 apporte des composés phytochimiques spécifiques tels que l'artémisinine et les tanins condensés, reconnus pour leurs effets anti-inflammatoires complémentaires. Li et al. (2022) ont démontré que les extraits d'*Artemisia annua* inhibent significativement la production de médiateurs pro-inflammatoires comme le NO, le TNF- α et l'IL-6, par répression des voies de signalisation NF- κ B et MAPK dans les macrophages activés. Par ailleurs, Mekonnen & Mekonnen (2021), suggèrent que l'association de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* pourrait induire un effet additif, voire synergique, dans la régulation de la réponse inflammatoire. La figure 21 illustre cette complémentarité moléculaire, en mettant en évidence les cibles distinctes mais convergentes des composés bioactifs présents dans les deux extraits végétaux. Cette synergie repose notamment sur la diversité structurale des flavonoïdes, polyphénols, terpénoïdes et tanins, qui agissent de manière concertée sur plusieurs voies de signalisation inflammatoire.

En complément de ces effets, certains composés comme le MIC-1 (*Moringa* Isothiocyanate-1), présents dans *Moringa oleifera*, jouent un rôle central dans la régulation du stress oxydatif et de l'inflammation. Selon Sailaja et al. (2022), le MIC-1 favorise l'accumulation et la translocation nucléaire du facteur de transcription Nrf2 en le libérant de son inhibiteur Keap1. Cette activation entraîne l'expression accrue des gènes cibles de Nrf2, codant pour des enzymes antioxydantes via l'élément de réponse antioxydante (ARE). Parallèlement, le MIC-1 empêche la

phosphorylation de l'inhibiteur I κ B et bloque la translocation nucléaire de NF- κ B, supprimant ainsi la transcription des gènes pro-inflammatoires. Ces mécanismes, impliquant notamment Keap1, Nrf2, NF- κ B, I κ B et les ROS, contribuent à la double action antioxydante et anti-inflammatoire du mélange M3, en modulant simultanément les voies redox-sensibles et les cascades inflammatoires (Sailaja et al., 2022).

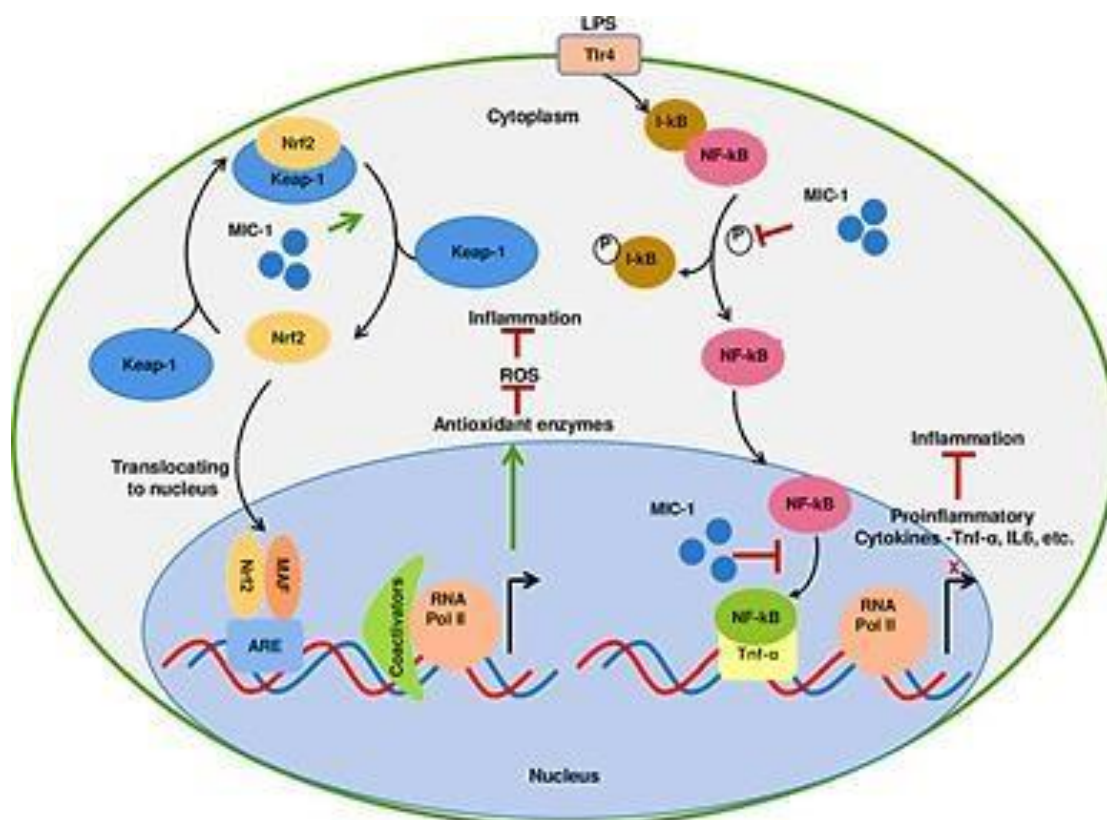


Figure 21: Schéma illustrant les mécanismes hypothétiques de l'action moléculaire de MIC-1 affectant les voies Nrf2 et NF- κ B (Sailaja et al., 2022).

III.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne *in vitro*

L'analyse de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* a été menée par les méthodes de diffusion en milieu gélosé (zones d'inhibition) et de microdilution (CMI), contre différentes souches bactériennes.

➤ Evaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* de *Moringa oleifera*

L'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* a démontré une activité antibactérienne marquée contre *S. aureus* et *E. coli*. Selon El-Sherbiny et al, (2023), les zones d'inhibition enregistrées à 50 µg/mL étaient respectivement de $24 \pm 0,44$ mm pour *S. aureus* et $16 \pm 0,23$ mm pour *E. coli*, traduisant une efficacité antibactérienne significative, notamment contre les Gram positifs. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) variaient de 14 à 24 µg/mL selon la souche, ce qui se rapproche fortement de la gentamicine utilisée comme témoin positif (CMI ≈ 10 µg/mL). L'activité antibactérienne observée est directement liée à la richesse de *Moringa oleifera* en flavonoïdes (quercétine, kaempférol) et en composés phénoliques (acide chlorogénique, tanins), dont les mécanismes d'action incluent la perturbation des membranes bactériennes, l'inhibition des enzymes et la désorganisation du biofilm (El-Sherbiny et al, 2023; Segwatibe et al., 2023).

➤ **Evaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* d'*Artemisia annua***

L'extrait méthanolique d'*Artemisia annua* a également montré une activité antimicrobienne, bien que généralement moins prononcée. Dans l'étude de Shaaban et al. (2024), la CMI de l'extrait contre *S. aureus* ATCC 25923 a été déterminée à 2 mg/mL, tandis que la CMI contre *E. coli* ATCC 25922 a atteint 5 mg/mL, avec une concentration bactéricide minimale (CBM) de 12 mg/mL. Cette différence d'efficacité entre Gram + et Gram – peut s'expliquer par la barrière supplémentaire que représente la membrane externe des bactéries Gram –. L'activité de l'extrait est attribuée à la présence de flavonoïdes méthoxylés (casticine, chrysosplénétine), ainsi que d'acides caféoylquiniques, qui exercent un effet bactéricide par inhibition enzymatique et déstabilisation des structures cellulaires (Bordean et al., 2023; Shaaban et al., 2024).

➤ **Comparaison et mise en relation avec la composition phytochimique**

Les résultats comparatifs montrent que l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera* est plus actif que celui d'*Artemisia annua*, avec des CMI exprimées en µg/mL contre des CMI en mg/mL pour cette dernière. Cela suggère une puissance antibactérienne environ 100 fois supérieure pour *Moringa oleifera* (El-Sherbiny et al., 2023). Cette efficacité s'explique par une teneur plus élevée en flavonoïdes hydrosolubles et en tanins condensés, confirmée par des profils chromatographiques récents (Segwatibe et al., 2023). De plus, l'étude de Bordean et al. (2023) indique que les extraits de différentes espèces d'*Artemisia* sont actifs contre des souches de *S. aureus*, mais nécessitent des

concentrations bien plus élevées pour inhiber *E. coli*, en cohérence avec les données de Shaaban et al. (2024).

Les extraits méthanoliques de *Moringa oleifera* présentent une forte activité antibactérienne, particulièrement contre les souches Gram positives, avec des CMI faibles et de larges zones d'inhibition. En comparaison, les extraits d'*Artemisia annua* nécessitent des concentrations plus élevées pour obtenir une activité similaire, bien qu'ils restent efficaces sur *S. aureus*. L'efficacité antibactérienne est directement liée à la présence de flavonoïdes et composés phénoliques actifs. Ces données renforcent le potentiel de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* comme sources naturelles d'agents antimicrobiens d'origine végétale, en particulier face aux résistances bactériennes croissantes.

Les résultats expérimentaux montrent que les extraits méthanoliques de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* possèdent une activité antimicrobienne intéressante, mais avec des spectres d'action distincts. L'extrait d'*Artemisia annua* s'est révélé particulièrement efficace contre des souches Gram positif telles qu'*Acinetobacter baumannii* NDM-1 (CMI = 2,1 mg/mL) et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 2,5 mg/mL), ainsi que contre certaines entérobactéries multirésistantes. Par ailleurs, l'extrait de *Moringa oleifera* a montré une activité notable contre *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 2,5 mg/mL) et *Escherichia coli* (CMI = 2,9–3,33 mg/mL), mais une efficacité moindre sur les souches Gram positif comme *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*. Ces observations rejoignent la littérature, qui confirme que les extraits de *Moringa oleifera* présentent une activité antibactérienne contre divers pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella pneumoniae*, grâce à la richesse en flavonoïdes, polyphénols et autres composés bioactifs capables de perturber la membrane bactérienne et d'inhiber la formation de biofilms (Balestra et al., 2022; Dixit et al., 2024; Sayeed et al., 2024). De plus, des études montrent que les extraits de *Moringa* sont efficaces non seulement contre les bactéries alimentaires, mais aussi dans la gestion des infections cutanées et des plaies (Sayeed et al., 2024). Pour *Artemisia annua*, l'activité antimicrobienne est attribuée à la présence de composés tels que l'artémisinine, le camphre et le 1,8-cinéole, qui inhibent la croissance de bactéries et de champignons pathogènes, y compris des souches multirésistantes (Sakhaie et al., 2023; Zhang et al., 2021). Les extraits d'*Artemisia* sont particulièrement actifs contre les bactéries

Gram positif, mais montrent aussi une efficacité contre certaines entérobactéries, ce qui est cohérent avec vos résultats.

La complémentarité des profils d'action de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, observée dans notre étude, est également bien documentée dans la littérature. En effet, *M. oleifera* démontre une efficacité accrue contre les bactéries Gram négatif, tandis que *A. annua* cible préférentiellement les souches Gram positif ainsi que certaines entérobactéries multirésistantes (Balestra et al., 2022 ; Sakhaie et al., 2023). Cette répartition différenciée des spectres d'activité suggère une synergie potentielle entre les deux extraits, renforçant ainsi l'intérêt d'une formulation combinée. Une telle approche pourrait non seulement élargir le spectre antimicrobien, mais également contribuer à limiter l'émergence de résistances bactériennes grâce à la diversité des mécanismes d'action mobilisés.

Enfin, il convient de rappeler que l'efficacité antimicrobienne des extraits végétaux dépend de plusieurs facteurs clés, notamment le type de solvant utilisé pour l'extraction, la concentration en principes actifs, ainsi que la nature du micro-organisme ciblé (Dixit et al., 2024 ; Sayeed et al., 2024). Dans cette optique, la combinaison de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* dans une formulation unique pourrait constituer une stratégie prometteuse. Une telle association, intégrée dans un complément alimentaire, offrirait une protection naturelle à large spectre contre divers agents pathogènes, tout en limitant les effets secondaires souvent observés avec les antibiotiques de synthèse. Cette approche permettrait également de limiter le développement de résistances microbiennes, en mobilisant une diversité de mécanismes d'action naturels et complémentaires.

III.2.7. Identification des composés à haut risque de toxicité *in silico*

L'évaluation de la toxicité *in silico* des principaux composés bioactifs issus de *Moringa oleifera* et *Artemisia annua* indique un profil de sécurité globalement favorable pour une utilisation thérapeutique, tout en mettant en évidence certains points de vigilance. Les plateformes de prédiction telles que ADMETlab, ProTox-II et pkCSM permettent d'anticiper les risques toxicologiques avant toute expérimentation *in vivo* ou clinique, en s'appuyant sur les structures moléculaires et les données de toxicité connues (Zainab et al., 2020; Souza et al., 2023). Pour *Moringa oleifera*, les flavonoïdes majeurs comme la quercétine, la rutine, l'acide gallique et l'isoquercétine présentent une faible toxicité aiguë, une DL₅₀ orale élevée et une absence de

mutagénicité ou de cancérogénicité selon les prédictions (Zainab et al., 2020). De plus, ces composés ne montrent pas d'inhibition significative des canaux hERG, ce qui limite le risque d'arythmie cardiaque (Souza et al., 2023). Cependant, une attention particulière doit être portée à la routine, identifiés comme inhibiteur hERG II, bien que ce risque reste faible aux doses alimentaires courantes (Souza et al., 2023). Les études *in silico* confirment également une faible toxicité hépatique et rénale pour la plupart des constituants du *Moringa*, à l'exception de doses très élevées ou d'une utilisation prolongée.

Concernant *Artemisia annua*, la majorité des composés actifs (quercétine, apigénine, casticine, chrysoplenetine) sont prédits comme non mutagènes et non hépto- ou néphrotoxiques. Toutefois, l'artémisinine et la dihydroartémisinine présentent une toxicité d'Ames positive, indiquant un risque potentiel de mutagénicité, ainsi qu'une hépatotoxicité possible en cas d'exposition prolongée ou à fortes doses. Par ailleurs, certains composés d'*Artemisia* sont susceptibles d'interagir avec les enzymes du cytochrome P450, ce qui peut entraîner des interactions médicamenteuses (Irfan et al., 2024).

Les résultats obtenus dans notre étude *in silico* sont en accord avec les données de cytotoxicité *in vitro*, qui indiquent une faible toxicité des extraits de *Moringa oleifera* sur les cellules humaines normales à des concentrations inférieures à 1 mg/mL (El-Sherbiny et al., 2024). Ces prédictions sont également cohérentes avec plusieurs études *in vivo* ayant démontré une tolérance satisfaisante aux extraits de *Moringa oleifera* chez l'animal. Par exemple, Awodele et al. (2012) et Olayemi et al. (2020) ont montré qu'une administration orale répétée de 200 à 1000 mg/kg chez le rat n'entraînait aucun signe de toxicité hématologique, hépatique ou rénale significatif. De même, *Artemisia annua* a présenté une bonne tolérance chez des modèles murins à des doses allant jusqu'à 500 mg/kg (Zhao et al., 2017), bien que certaines études signalent une hépatotoxicité légère à fortes doses ou en cas d'utilisation prolongée, principalement imputée à l'artémisinine. Ces observations renforcent la pertinence de l'utilisation combinée de ces extraits dans des formulations de compléments alimentaires, à condition de respecter les doses recommandées et d'adopter une vigilance particulière chez les populations à risque, notamment en cas de traitements médicamenteux concomitants ou de pathologies hépatiques.

En conclusion, les analyses *in silico* confirment la sécurité d'emploi de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua* à des doses modérées, tout en soulignant la nécessité de prudence concernant l'artémisinine et les interactions pharmacologiques potentielles. La convergence de ces résultats avec les données *in vitro* et *in vivo* existantes justifie pleinement la poursuite des investigations précliniques et cliniques afin de valider l'innocuité et l'efficacité à long terme des formulations combinées à base de plantes médicinales.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et Perspectives

Cette étude a permis de valoriser deux espèces végétales d'intérêt thérapeutique, *Moringa oleifera* et *Artemisia annua*, disponibles localement en Algérie. L'analyse phytochimique a mis en évidence une richesse en composés bioactifs tels que l'acide chlorogénique, la quercétine, le kaempférol, ainsi que l'artémisinine. Les tests biologiques *in vitro* ont montré que les extraits méthanoliques de ces plantes présentent une activité antioxydante et anti-inflammatoire notable, ainsi qu'un effet antimicrobien intéressant sur plusieurs souches bactériennes, avec une complémentarité d'action selon le type de germe ciblé. L'approche *in silico* a permis d'évaluer la toxicité prédictive des principaux composés, concluant à un bon profil de sécurité globale, tout en signalant la nécessité de surveiller certaines molécules spécifiques comme l'artémisinine à fortes doses. La synergie observée dans le mélange M3 (90 % *Moringa* / 10 % *Artemisia*) a conduit à la formulation galénique d'un complément alimentaire sous forme de sirop ou de gélule, stable, efficace et conforme aux normes de qualité.

Ces résultats confirment le potentiel de ces deux plantes pour le développement de solutions naturelles dans les domaines de la prévention nutritionnelle, de la phytothérapie ou de la formulation de compléments alimentaires. Les perspectives de ce travail incluent des validations *in vivo*, une évaluation antifongique, et le développement de formulations adaptées à différents profils de population.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abate, G., Zhang, L., Pucci, M., Morbini, G., Mac Sweeney, E., Maccarinelli, G., Ribaud, G., Gianoncelli, A., Uberti, D., Memo, M., Lucini, L., & Mastinu, A. (2021). Phytochemical Analysis and Anti-Inflammatory Activity of Different Ethanolic Phyto-Extracts of *Artemisia annua* L. *Biomolecules*, 11(7), 975.
- Ait Mouse, H. (2016). *Contribution à l'étude des propriétés antitumorales d'extraits de la propolis d'origine marocaine et de l'artémisinine (étude cellulaire et moléculaire in vitro et in vivo)* [Thèse de doctorat, Université Sultan Moulay Slimane - Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal]. Toubkal.
- Allen, L. V., Jr., & Ansel, H. C. (2014). *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems* (10^e éd.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17–25.
- Awodele, O., Oreagba, I. A., Odoma, S., da Silva, J. A., & Osunkalu, V. O. (2012). Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2), 330–336.
- B. Padayachee, H. Baijnath, (2020). An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Moringa oleifera*, *South African Journal of Botany*, Volume 129, Pages 304-316.
- Balestra, G. M., Quattrucci, A., & Varvaro, L. (2022). Chemical analysis and antimicrobial activity of *Moringa oleifera* extracts against foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 13, 9782826.
- Balestra, G. M., Quattrucci, A., & Varvaro, L. (2022). Chemical analysis and antimicrobial activity of *Moringa oleifera* extracts against foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 13, 9782826.
- Benarima, A., Raache, M. N., Kouadri, M. R., Belaiche, Y., & Laouini, S. E. (2021). Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons de flavonoïdes à partir de feuilles de *Moringa oleifera* par la méthode des surfaces de réponse. *Revue asiatique de recherche en chimie*, 14(5), 363–367.

- Bhakuni, R. S., Jain, D. C., Sharma, R. P., & Kumar, S. (2001). Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity. *Current Science*, 80(1), 35–48.
- Bhuker, A., et al. (2023). Probing the Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of *Moringa oleifera*. *Plants*, 12(16), 3010. <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/16/3010>
- Bordean, M. E., Ungur, R. A., Toc, D. A., Borda, I. M., Marțiș, G. S., Pop, C. R., Filip, M., Vlassa, M., Nasui, B. A., Pop, A., Cintează, D., Popa, F. L., Marian, S., Szanto, L. G., & Muste, S. (2023). Antibacterial and phytochemical screening of *Artemisia* species. *Antioxidants*, 12(3), 596.
- Bordean, M. E., Ungur, R. A., Toc, D. A., Borda, I. M., Marțiș, G. S., Pop, C. R., Filip, M., Vlassa, M., Nasui, B. A., Pop, A., Cintează, D., Popa, F. L., Marian, S., Szanto, L. G., & Muste, S. (2023). Antibacterial and Phytochemical Screening of *Artemisia* Species. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(3), 596.
- Bosch, C. H. (2004). *Moringa oleifera* Lam. In G. J. H. Grubben & O. A. Denton (Eds.), *PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique Matropicale)* (pp. 392–395). Wageningen, Netherlands.
- Boucherit, Z. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie. (Date, volume et pages à compléter si disponibles)*.
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178–S180.
- Chebbac, K., Benziane Ouaritini, Z., El Moussaoui, A., Chalkha, M., Lafraxo, S., Bin Jordan, Y. A., Nafidi, H.-A., Bourhia, M., & Guemmouh, R. (2023). Antimicrobial and antioxidant properties of chemically analyzed essential oil of *Artemisia annua* L. (Asteraceae) native to Mediterranean area. *Life*, 13(3), 807.
- Chebbac, K., Benziane Ouaritini, Z., El Moussaoui, A., Chalkha, M., Lafraxo, S., Bin Jordan, YA, Nafidi, H.-A., Bourhia, M. et Guemmouh, R. (2023). Propriétés antimicrobiennes et antioxydantes de l'huile essentielle d' *Artemisia annua* L. (Asteraceae) analysée chimiquement, originaire de la région méditerranéenne. *Vie* , 13 (3), 807.
- Chebbac, K., Benziane Ouaritini, Z., El Moussaoui, A., Chalkha, M., Lafraxo, S., Bin Jordan, YA, Nafidi, H.-A., Bourhia, M. et Guemmouh, R. (2023). Propriétés

antimicrobiennes et antioxydantes de l'huile essentielle d' *Artemisia annua* L. (Asteraceae) analysée chimiquement, originaire de la région méditerranéenne. *Vie* , 13 (3), 807.

- Chiş, A., Noubissi, P. A., Pop, O. L., Mureşan, C. I., Fokam Tagne, M. A., Kamgang, R., Fodor, A., Sitar-Tăut, A. V., Cozma, A., Orăşan, O. H., Hegheş, S. C., Vulturar, R., & Suharoschi, R. (2023). Bioactive Compounds in *Moringa oleifera*: Mechanisms of Action, Focus on Their Anti-Inflammatory Properties. *Plants (Basel, Switzerland)*, 13(1), 20.
- Chukwuebuka, E. (2015). *Moringa oleifera*: The mother's best friend. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(6), 624–630.
- Chukwurah, P. N., Brisibe, E. A., Osuagwu, A. N., & Okoko, T. (2014). Protective capacity of *Artemisia annua* as a potent antioxidant remedy against free radical damage. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(Suppl 1), S92–S98.
- Coriolano, M. C., Brito, J. S., Ferreira, G. R. S., Moura, M. C., Melo, C. M. L., Soares, A. K. A., Lorena, V. M. B., Figueiredo, R. C. B. Q., Paiva, P. M. G., Napoleão, T. H., & Coelho, L. C. B. B. (2020). Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. *South African Journal of Botany*, 129, 198–205.
- Cui, Y., Leng, X., Zhao, Y., Zhao, Y., & Wang, Q. (2024). Effects of dietary *Artemisia annua* supplementation on growth performance, antioxidant capacity, immune function, and gut microbiota of geese. *Poultry Science*, 103(5), 103594.
- Dawood, H., Celik, I., & Ibrahim, R. S. (2023). Computational biology and in vitro studies for anticipating cancer-related molecular targets of sweet wormwood (*Artemisia annua*). *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23, 312.
- de Torre, MP, Cavero, RY, Calvo, MI, & Vizmanos, JL (2019). Une méthode simple et fiable pour quantifier l'activité antioxydante in vivo. *Antioxidants*, 8 (5), 142.
- Deng, C., Zhao, K., Liao, S., Wei, W., Yang, C., Zeng, L., Liu, X., Zhang, F., Lan, X., Chen, M., Nagdy, M. M., Liao, Z., & Li, D. (2025). IPPI, the core enzyme in C5-unit metabolism, regulates terpenoid biosynthesis in *Artemisia annua*. *Industrial Crops and Products*, 229, 120989.
- Ding, Y., Razem, M., Althuber, L., Kellil, A., Morozova, K., Ferrentino, G., Bresciani, L., Del Rio, D., & Scampicchio, M. (2025). Antioxidant properties and colonic degradation of *Moringa oleifera* phenolics by HPLC-triple detection. *Food Bioscience*, 66, 106144.

- Dixit, S., Tripathi, A., & Kumar, P. (2024). Antimicrobial properties of *Moringa oleifera* against pathogenic bacteria. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 13(8), 101–115.
- Ekiert, H., Świątkowska, J., Klin, P., Rzepiela, A., & Szopa, A. (2021). *Artemisia annua* – Importance in traditional medicine and current state of knowledge on the chemistry, biological activity and possible applications. *Planta Medica*, 87(8), 584–599.
- El Khasmi, M., & Farh, M. (s.d.). *Impact des plantes médicinales sur le rein / Impact of medicinal plants on the kidney*. Université Hassan II, Faculté des Sciences Ben M'Sick, Laboratoire de Physiopathologie et Génétique Moléculaire, Casablanca, Maroc.
- El-Sherbiny, G. M., Alluqmani, A. J., Elsehemy, I. A., & Kalaba, M. H. (2024). Criblage antibactérien, antioxydant, cytotoxicité et phytochimique des feuilles de *Moringa oleifera*. *Rapports scientifiques*, 14, Article 30485.
- El-Sherbiny, G. M., El-Hamshary, H., & El-Badawy, M. (2024). Antibacterial, antioxidant, cytotoxicity, and phytochemical properties of *Moringa oleifera* leaf extract. *Scientific Reports*, 14, Article 80700.
- Eubioco. (2023, May 11). Herbal liquid formulation guide: From plant extract to final product. Retrieved from <https://www.eubioco.com>
- Eubioco. (2023, May 11). Types of dietary supplement certifications: GMP, HACCP. Retrieved June 30, 2025, URL: https://eubioco.eu/en/types-of-dietary-supplement-certifications-gmp-haccp/?utm_source=perplexity
- FAO. (2014). *Moringa*. Traditional Crop of the Month. FAO
- Farmanpour-Kalalagh, K., Beyraghdar Kashkooli, A., Babaei, A., Rezaei, A., & van der Krol, A. R. (2022). Artemisinins in combating viral infections like SARS-CoV-2, inflammation and cancers and options to meet increased global demand. *Frontiers in Plant Science*, 13, 780257.
- Farooq, F. et al. (2021). Quantification of β -sitosterol and quercetin in *Moringa oleifera* leaves by HPLC. *Food Science & Nutrition*, 9(1), 1-8.
- Favero, F. de F., Basting, R. T., de Freitas, A. S., Rabelo, L. da S. D., Nonato, F. R., Zafred, R. R. T., de Oliveira Sousa, I. M., Queiroz, N. de C. A., Napimoga, J. T. C., de Carvalho, J. E., & Foglio, M. A. (2024). Artemisinin and deoxyartemisinin isolated from *Artemisia annua* L. promote distinct antinociceptive and anti-inflammatory effects in an animal model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 178, 117299.

- Faye, P. G., Ndiaye, E. M., Ndiaye, B., Cisse, O. I. K., Ayessou, N. C., & Cisse, M. (2022). *Effet de la macération, de l'infusion et la décoction sur l'extraction aqueuse des polyphénols des feuilles séchées de Combretum micranthum*. *Afriques Science*, ISSN 1813-548X.
- Feng, X., Cao, S., Qiu, F., & Zhang, B. (2020). Traditional application and modern pharmacological research of *Artemisia annua* L. *Pharmacology & Therapeutics*, 216, 107650.
- Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001). The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In *What development potential for Moringa products?* (October 20th – November 2nd, 2001, Dar Es Salaam).
- Fuglie, L. J. (2001). *Le Moringa: une arme dans la lutte contre la malnutrition*. Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest, 4P.
- George, T. T., Obilana, A. O., Oyenih, A. B., & Rautenbach, F. G. (2021). *Moringa oleifera* through the years: A bibliometric analysis of scientific research (2000–2020). *South African Journal of Botany*, 141, 12–24.
- Gulcin, İ., et Alwasel, SH (2023). Dosage de piégeage des radicaux DPPH. *Processes*, 11 (8), 2248.
- Guo, W., Wang, W., Lei, F., Zheng, R., Zhang, Q., Liu, X., Li, Y., Chen, L., & Liu, M. (2024). Identifying the main components and mechanisms of action of *Artemisia annua* L. in the treatment of endometrial cancer using network pharmacology. *ACS Omega*, 9(6), 5632–5643.
- Habibi, Z., Ghanian, S., Ghasemi, S., & Yousefi, M. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of the volatile oil from seeds of *Artemisia annua* L. from Iran. *Natural Product Research*, 27(2), 198–200.
- Hassanpour, S. H., & Doroudi, A. (2023). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna journal of phytomedicine*, 13(4), 354–376.
- Hastak, V., Bandi, S., Kashyap, S., Singh, S., Luqman, S., Lodhe, M., Peshwe, D. R., & Srivastav, A. K. (2018). Antioxidant efficacy of chitosan/graphene functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of Materials Science*, 53(4), 2652-2661.

- Hêdji, C. C., Kpoguè Gangbazo, D. N. S., Houinato, M. R., & Fiogbé, E. D. (2014). Valorisation de *Azolla* spp, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences*, 81, 7277–7289.
- Hemmerle, H., Burger, H. J., Below, P., Schubert, G., Rippel, R., Schindler, P. W., Paulus, E., & Herling, A. W. (1997). Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: Novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40(2), 137–145.
- Iqbal, S., Younas, U., Chan, K. W., Zia-Ul-Haq, M., & Ismail, M. (2012). Chemical composition of *Artemisia annua* L. leaves and antioxidant potential of extracts as a function of extraction solvents. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(5), 6020–6032.
- Irfan, E., Dilshad, E., Ahmad, F., Almajhdi, F. N., Hussain, T., & Abdi, G. (2024). Phytoconstituents of *Artemisia annua* as potential inhibitors of SARS CoV2 main protease: an in silico study. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 11094927.
- Irfan, E., Dilshad, E., Ahmad, F., Almajhdi, F. N., Hussain, T., & Abdi, G. (2024). Phytoconstituents of *Artemisia annua* as potential inhibitors of SARS CoV2 main protease: an in silico study. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 11094927.
- Islam, Z., Islam, S. M. R., Hossen, F., Mahtab-ul-Islam, K., Hasan, M. R., & Karim, R. (2021). *Moringa oleifera* is a prominent source of nutrients with potential health benefits. *International Journal of Food Science*, 2021, Article 6627265.
- Jones, A. B., & Brown, C. D. (2019). Chromatographic techniques for natural products analysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 74(3), 215–223.
- Kaki M, & Mimouni A (2018) Essai de production de *Moringa oleifera* pour une éventuelle amélioration de la ration alimentaire. Mémoire de Master en sciences agronomiques. Université Kasdi Merbah Ouargla.6p.
- Karthikesan, K., Pari, L., & Menon, V. P. (2010). Antihyperlipidemic effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin in rats subjected to diabetogenic agents. *Chemico-Biological Interactions*, 188(3), 643–650.
- Kim, S. H., Yun, C., Kwon, D., Lee, Y. H., Kwak, J. H., & Jung, Y. S. (2023). Effect of isoquercitrin on free fatty acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells. *Molecules*, 28(3), 1476.

- Kumar, N., Pratibha, & Pareek, S. (2021). Bioactive compounds of *Moringa* (*Moringa* species). In *ResearchGate*
- Kwon, S. H., Lee, W. Y., Kim, Y. W., Ko, K. S., Bak, S. B., & Park, S. D. (2025). Isoquercitrin attenuates oxidative liver damage through AMPK-YAP signaling: An integrative in silico, in vitro, and in vivo study. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6), 2717.
- Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5), 2682–2700.
- Lazouni, H. A., & Chaouche, T. M. (2024). *Généralités sur les plantes médicinales*. Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2016). *Moringa oleifera* Seeds and Oil: Characteristics and Uses for Human Health. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2141.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., et Bertoli, S. (2015). Culture, génétique, ethnopharmacologie, phytochimie et pharmacologie des feuilles de *Moringa oleifera* : aperçu. *Revue internationale des sciences moléculaires*, 16 (6), 12791-12835.
- Li, J., Li, X., Liu, Z., & Wang, Q. (2022). Anti-inflammatory activity and mechanism of *Artemisia annua* L.: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 292, 115236.
- Li, X., Chen, Y., & Zhang, L. (2022). Advances in the analysis of artemisinin and its derivatives. *Analytical Methods*, 14(7), 1123-1132.
- Liu, R. et al. (2022). *Moringa oleifera*: a systematic review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *J Pharm Pharmacol*, 74(3), 296-320.
- Llorent-Martínez, E. J., Gordo-Moreno, A. I., Fernández-de Córdova, M. L., & Ruiz-Medina, A. (2024). Preliminary phytochemical screening and antioxidant activity of commercial *Moringa oleifera* food supplements.
- Loukil D (2017) Les expériences agricoles d'une association de femmes rurales Safran, *Moringa*, pleurotes gris poussent à Oran. Disponible sur : <https://www.liberte-algerie.com/>. Consulté le 25/05/2019.

- Mahfuz, S., & Piao, X. S. (2019). Application of Moringa (*Moringa oleifera*) as Natural Feed Supplement in Poultry Diets. *Animals*, 9(7), 431.
- Makhloufi, A. (2021). Étude de l'efficacité d'épuration des eaux usées domestiques de l'oued de Béchar par l'utilisation du sable et les graines de *Moringa oleifera* Lam. *ResearchGate*.
- Malo, T. (2014). *Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de Moringa oleifera local et Moringa oleifera PKM-1 dans la Région des Cascades (Burkina Faso) [Mémoire de master, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Institut du Développement Rural]*.
- Mamdoh, A., et al. (2023). Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait méthanolique de *Teucrium chamaedrys* L.
- Mekonnen, D., & Mekonnen, N. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Artemisia annua* extracts: A systematic review. *Journal of Inflammation Research*, 14, 3671–3685.
- Messaoud, A. (2019). Culture de la Moringa à Béchar, réussite des essais à Tabelbala (Béchar). *Le Courrier*. URL : <http://lecourrier-dalgerie.com/>
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: Critical review and results. *Food Chemistry*, 130, 1036–1043.
- Mohamed, S. H., Youssef, A. F. A., Issa, M., Abdel Salam, H., & El-Ansary, A. (2021). Validated HPLC Method for Quantitative Analysis of Gallic Acid and Rutin in Leaves of *Moringa Oleifera* Grown in Egypt. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(3), 1583–1591.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- morisia.docx-hplc.docx. (2025). Conditions d'analyses chromatographiques des polyphénols. [Document interne].
- Muddasir, B., Katu, M. Y., Patne, A. S., & Rajput, H. (2024). Formulation of herbal syrup. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Vol. 20(1), 31-36.
- Muddasir, B., Khan, A., & Tariq, M. (2024). Development and evaluation of herbal syrups: Stability, palatability, and compliance factors. *Journal of Ethnopharmacology*, 325, 116984.
- Nature. (2024). Rutin of *Moringa oleifera* as a potential inhibitor to *Agaricus bisporus*.

- Nguyen, V., Taine, E. G., Meng, D., Cui, T., & Tan, W. (2024). Chlorogenic acid: A systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic potentials. *Nutrients*, 16(7), 924.
- Ojha, P. S., Tripathi, V., & Dwivedi, P. (2024). Antioxidant Capacity and Radical Scavenging Activities of *Moringa oleifera*. *Acta Scientific Agriculture*, 8(11), 35-37.
- Olayemi, F. O., Ajayi, A. A., & Oladipo, H. A. (2020). Sub-chronic toxicity studies of ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves in Wistar rats. *Journal of Applied Life Sciences International*, 23(9), 1–9.
- OLOFF, A. W. (2009). *Moringa oleifera* LAM.
- Oluantá, B. A., Adamou, H., Mahamoudou, A., & Delmas, P. (2023). *Moringa (Moringa oleifera Lam): A review on its importance worldwide*. *East African Scholars Journal of Agriculture and Life Sciences*, 6(7), 171–176.
- Orcho, A. M., et al. (2023). Shelf-life improvement of raw milk using ethanolic extracts processed from *Moringa stenopetale*, *Artemisia anua* and *Mentha Spicata*. *Frontiers in Nutrition*, PMC10336496.
- Outani, B. A., Adamou, H., Mahamadou, A., & Delmas, P. (2023). *Moringa (Moringa oleifera Lam): A review on its importance worldwide*. *East African Scholars Journal of Agriculture and Life Sciences*, 6(7), 292–297.
- Pandey, A., Pandey, R. D., Tripathi, P., Gupta, P. P., & Haider, J. (2012). *Moringa oleifera* Lam. (Sahijan) – A plant with a plethora of diverse therapeutic benefits: An updated retrospection. *Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1), 1–8.
- Pandey, A., Pandey, R. D., Tripathi, P., Gupta, P. P., & Haider, J. (2011). *Moringa oleifera* Lam. (Sahijan) – A plant with a plethora of diverse therapeutic benefits: An updated retrospection. *Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1), 1–8.
- Pareek, A., Pant, M., Gupta, M. M., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., Pareek, A., & Chuturgoon, A. A. (2023). *Moringa oleifera: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects*. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 2098.
- Pareek, A., Suthar, M., Rathore, G. S., & Bansal, V. (2023). *Moringa oleifera: An updated comprehensive review of its pharmacological activities, phytochemistry, and safety*. *Phytotherapy Research*, 37(1), 1–24.

- Parrotta, J. A. (2014). *Moringa oleifera*. In L. Pancel & M. Köhl (Eds.), *Tropical forestry handbook* (2nd ed.). Springer.
- PMC. (2023). *Moringa oleifera*: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities and Phytochemical Constituents.
- Radovich, T. (2013). Farm and forestry production and marketing profile for Moringa. In C. R. Elevitch (Ed.), *Specialty crops for Pacific Island agroforestry*. Permanent Agriculture Resources (PAR). Holualoa, Hawai'i.
- Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: Computational methods for the prediction of chemical toxicity. *WIREs Computational Molecular Science*, 6(2), 147–172. URL : <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>
- Ralezo Maevalandy, A. (2006, juillet). La Moringa : *Moringa oleifera*. Antananarivo, Madagascar.
- Rani, N. et al. (2014). Simultaneous HPLC quantitative analysis of active compounds in leaves of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Chromatographic Science*, 52(7), 705-711.
- Razis, A. F. A., Ibrahim, M. D., & Kntayya, S. B. (2014). Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(20), 8571–8576.
- Rezgih, M., Mortazavi, S. A., Choopani, R., Fahimi, S., & Moghadam, M. B. S. (2019). Formulation of a traditional polyherbal product to a standard pharmaceutical syrup and development of its quality control methods. *Research Journal of Pharmacognosy*, 6(4), 53-59.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (Eds.). (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6^e éd.). Pharmaceutical Press.
- Safa Rguez, S., et al. (2024). Polyphenols content and antioxidant activity of *Moringa oleifera* cultivated in Tunisia: a promising source of natural antioxidant molecules.
- Sailaja, B. S., Aita, R., Maledatu, S., Ribnicky, D., Verzi, M. P., & Raskin, I. (2021). Moringa isothiocyanate-1 regulates Nrf2 and NF-κB pathway in response to LPS-driven sepsis and inflammation. *PloS one*, 16(4), e0248691.
- Saini, R. K., Sivanesan, I., & Keum, Y. S. (2016). Phytochemicals of *Moringa oleifera*: A review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*, 6(2), 203.

- Sakhaie, F., Adel, M., Safari, R., Firouzbakhsh, F., Nosrati Movafagh, A., & Stadtlander, T. (2023). Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia annua* (L.) essential oil against different fish pathogens. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*.
- Sayeed, M. A., Rahman, M. M., Islam, M. S., & Hossain, M. S. (2024). Antibacterial, antioxidant, cytotoxicity, and phytochemical screening of *Moringa oleifera*. *Scientific Reports*, 14, Article 80700.
- Segwatibe, MK, Cosa, S., et Bassey, K. (2023). Évaluations antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* Lam et de composés isolés. *Molecules*, 28 (2), 899.
- Segwatibe, MK, Cosa, S., et Bassey, K. (2023). Évaluations antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* Lam et de composés isolés. *Molecules*, 28 (2), 899.
- Sembiring, B. M., Gusmaini, G., Nurhayati, H., & Kurniasari, I. (2022). Antioxidant activity of *Artemisia annua* extract on several concentrations and solvents. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 974(1), 012119.
- Septembre-Malaterre, A., Lalarizo Rakoto, M., Marodon, C., Bedoui, Y., Nakab, J., Simon, E., Hoarau, L., Savriama, S., Strasberg, D., Guiraud, P., Selambarom, J., & Gasque, P. (2020). *Artemisia annua*, a Traditional Plant Brought to Light. *International journal of molecular sciences*, 21(14), 4986.
- Sghir, A., Abdenbi, N., Boudierba, N., Saad, A., Moussaoui, A., & Benyagoub, E. (2022). Antioxidant and antimicrobial activity of *Moringa oleifera* extracts from South West of Algeria. *Phytothérapie*.
- Shaaban, M. T., Orabi, S. H., & Abdel Hamid, M. S. (2024). Assessment of antimicrobial properties of *Artemisia annua* L. solvent extracts against clinical E. coli isolates. *Scientific Journal of Faculty of Science Menoufia University*, 28(1), 98–105.
- Shaw, Y., Williams, L., Green, C., Rodney, S., & Smith, A. (2017). *In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the bovine serum albumin protein denaturation assay*.
- Sierra-Campos, R. et al. (2020). Standardization based on chemical markers of *Moringa oleifera* herbal products by TLC and HPLC. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 24(3), 493-507.

- Skowrya, M., Gallego, M. G., Segovia, F., & Almajano, M. P. (2014). Antioxidant properties of *Artemisia annua* extracts in model food emulsions. *Antioxidants*, 3(1), 116–128.
- Smith, J. P., Nguyen, T., & Patel, R. (2020). Validation of HPLC methods for the quantification of artemisinin. *Phytochemical Analysis*, 31(5), 456-463.
- Sonewane, K., Chouhan, S. S., Rajan, M., Chauhan, N. S., Rout, O. P., Kumar, A., Baghel, G. S., & Gupta, P. K. (2022). Pharmacological, ethnomedicinal, and evidence- based comparative review of *Moringa oleifera* Lam. (Shigru) and its potential role in the management of malnutrition in tribal regions of India, especially Chhattisgarh. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*, 8(3), 314–338.
- Soto, J., Gómez, A., Vásquez, M., Barreto, A., Molina, K., & Zúniga-González, C. (2024). Biological properties of *Moringa oleifera*: A systematic review of the last decade. *F1000Research*, 13, 1390.
- Souza, H. C. A., de Carvalho, M. J. B., de Oliveira, J. S., & de Souza, J. S. (2023). Molecular Docking and ADME-TOX Profiling of *Moringa oleifera* Compounds against SARS-CoV-2 Targets. *Molecules*, 28(21), 7210.
- Souza, H. C. A., de Carvalho, M. J. B., de Oliveira, J. S., & de Souza, J. S. (2023). Molecular Docking and ADME-TOX Profiling of *Moringa oleifera* Compounds against SARS-CoV-2 Targets. *Molecules*, 28(21), 7210.
- Tao, A., Song, Z., Feng, X., Zhang, A., He, H., & Chen, Y. (2020). Antibacterial and antiviral activities of *Artemisia annua* aqueous extract in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 565, 012053.
- Tété-Bénissan, A., Dégbé, M., Debierre-Grockiego, F., Dimier-Poisson, I., Aklikokou, K., & Gbeassor, M. (2015, août). *Étude préliminaire sur l'effet des extraits de feuilles d'Artemisia annua et de Moringa oleifera sur Toxoplasma gondii in vitro*. Actes des 16èmes Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM, 03–06 août 2015, Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Trendafilova, A., Moujir, L. M., Sousa, P. M. C., & Seca, A. M. L. (2021). Research Advances on Health Effects of Edible *Artemisia* Species and Some Sesquiterpene Lactones Constituents. *Foods*, 10(1), 65.
- Trifan, A., Czerwińska, M. E., Mardari, C., Zengin, G., Sinan, K. I., Korona-Glowniak, I., Skalicka-Woźniak, K., & Luca, S. V. (2022). Exploring the *Artemisia* genus: An insight

into the phytochemical and multi-biological potential of *A. campestris* subsp. *lednicensis* (Spreng.) Greuter & Raab-Straube. *Plants*, 11(21), 2874.

- Tripathi, V., et al. (2024). Antioxidant Capacity and Radical Scavenging Activities of *Moringa oleifera*. *Acta Scientific Agriculture*, 8(11), 35-37.
- Tshabalala, T., Ndhlala, A. R., Ncube, B., Abdelgadir, H. A., & Van Staden, J. (2020). Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. *South African Journal of Botany*, 129, 106–112.
- Twinomujuni, S. S., Atukunda, E. C., Mukonzo, J. K., Nicholas, M., Roelofsen, F., & Ogwang, P. E. (2022). *Evaluation of the effect of Artemisia Annua L. and Moringa Oleifera Lam. on CD4 count and viral load among PLWH on HAART at Mbarara Regional Referral Hospital: A double-blind randomized controlled clinical trial* [Preprint]. Research Square.
- Umiey Fahietah Binti Mohd Fisall. (2019). *The effect of Moringa oleifera leaf extract on cytotoxicity and apoptosis pathway in breast cancer cell (MCF-7)*. Universiti Sains Malaysia.
- Vergara-Jimenez, M. et al. (2023). *Moringa oleifera*: An Updated Comprehensive Review of Its Phytochemistry and Pharmacology. *Pharmaceuticals*, 16(2), 1-30.
- Veronica, E., Amelia, I., Yunatan, K. A., Chrismayanti, N. K. S. D., & Mahendra, A. N. (2020). Potensi kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan Artemisia (*Artemisia annua*) sebagai antimalaria *Plasmodium falciparum* [Potential combination of *Moringa oleifera* and *Artemisia annua* leaf extract as antimalarial *Plasmodium falciparum*]. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 9(2), 831–841.
- Wagner, H., & Ulrich-Merzenich, G. (2009). Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, 16(2–3), 97–110.
- Wang, H., Liu, J., & Zhao, Y. (2018). Determination of artemisinin in *Artemisia annua* by HPLC. *Journal of Natural Medicines*, 72(2), 234-240.
- Yamanouchi, H., Minami, Y., & Kajiya, K. (2025). Evaluation and validation of angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Moringa oleifera*, quercetin, and isoquercetin: A comparative study of fluorescence and absorbance measurement methods. *Food Research International*, 202, 115768.

- Zainab, B., Fatima, N., & Akhtar, K. (2020). In-silico elucidation of *Moringa oleifera* phytochemicals as potential anti-diabetic agents. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(4), 1125–1132.
- Zainab, B., Fatima, N., & Akhtar, K. (2020). In-silico elucidation of *Moringa oleifera* phytochemicals as potential anti-diabetic agents. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(4), 1125–1132.
- Zarina, Wani, A. W., Rawat, M., Kaur, H., Das, S., Kaur, T., Akram, N., Faisal, Z., Jan, S. S., Oyshe, N. N., Khan, M. R., & Shah, Y. A. (2024). Medicinal utilization and nutritional properties of drumstick (*Moringa oleifera*)—A comprehensive review. *Food Science & Nutrition*.
- Zhang, F., Lu, L., Ma, S., Sun, J., Liu, J., Gao, N., Gou, Z., Zhou, Y., Lai, C., Li, Y., Sun, M., & Jiang, H. (2024). Artemisinin attenuates perinatal inflammation and consequent oxidative stress in oligodendrocyte precursor cells by inhibiting IRAK-4 and IRAK-1. *International Immunopharmacology*, 142(Part B), 113117.
- Zhang, Y., Wang, Y., Wang, X., & Wang, J. (2021). Antimicrobial activity and mechanism of *Artemisia annua* L. extracts against clinical pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 279, 114376.
- Zhao, S., & Zhang, D. (2013). A parametric study of supercritical carbon dioxide extraction of oil from *Moringa oleifera* seeds using a response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 113, 9–17.
- Zhao, X., Dai, X., Wang, F., Li, C., Song, X., Han, Y., Zhang, C., Wang, L., He, Z., Zhang, R., & Ye, L. (2025). *Artemisia annua* L. leaf extracts suppress influenza virus infection by targeting the viral nucleoprotein and blocking mitochondria-mediated apoptosis. *Virologica Sinica*, 40(2), 247–259.
- Zhao, Y., Xin, Y., Meng, S., & Li, Z. (2017). Acute and subacute toxicity of *Artemisia annua* extract in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 199, 205–210.
- Zheng, L., Zhang, X., Zhang, Y., Wang, J., & Wang, Y. (2023). The anti-inflammatory activity of GABA-enriched *Moringa oleifera* leaves and its underlying mechanism. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1093036.
- Zhou, Q., Sun, J., & Wang, Y. (2021). Extraction yields of artemisinin from different cultivars of *Artemisia annua*. *Industrial Crops and Products*, 159, 113061.

ANNEXES

Annexe 1 : Matériel utilisé

Matériel non biologique		
Verrerie	Appareils et autre	Réactifs et solvants
Boîte de pétri en verre	Balance	Ethanol
Récipient en verre	Broyeur	Méthanol
Tubes à essai	Sécheur	Acide sulfurique H ₂ SO ₄
Entonnoir	Vortex	NH ₄ OH
Becher	Soxhlet	FeCl ₃
Erlenmeyer	Évaporateur rotatif	HCl
Pipette	Etuve	Magnésium
Eprouvette graduée	Tamis	Alcool isoamylique
	Bain marie	Dragendorff
	Spectrophotomètre	Bouchardat
	Micropipette	Mayer
	Agitateur Magnétique	Réactif de Stiasny
	Filtre	DPPH
	Boîte de pétri	Acide ascorbique
		Tampon PBS
		Acide acétylsalicylique
		Eau distillé

Annexe 2 : Matière première



Feuilles séchées de *Artemisia annua*



Feuilles séchées de *Moringa oleifera*



Sécheur électriques.



Broyage de la plante (Broyeur électrique).



Tamisage

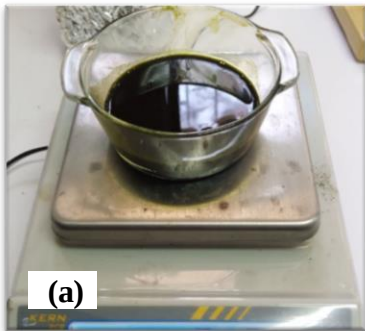


Pesage et Conservation de la poudre végétale.

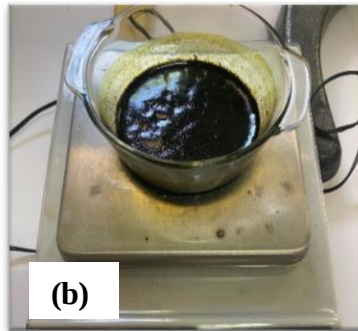
Annexe 3 : Préparation des extraits



Mélange et pesage la poudre des plantes



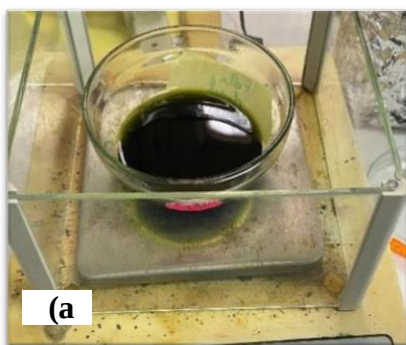
(a) : l'extrait méthanolique concentré



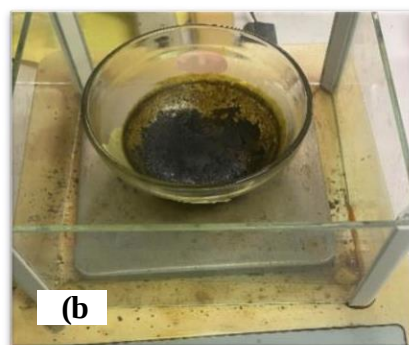
(b) : l'extrait méthanolique sec



Tube Eppendorf
Contient un extrait sec



(a) : l'extrait éthanolique concentré



(b) : l'extrait éthanolique sec



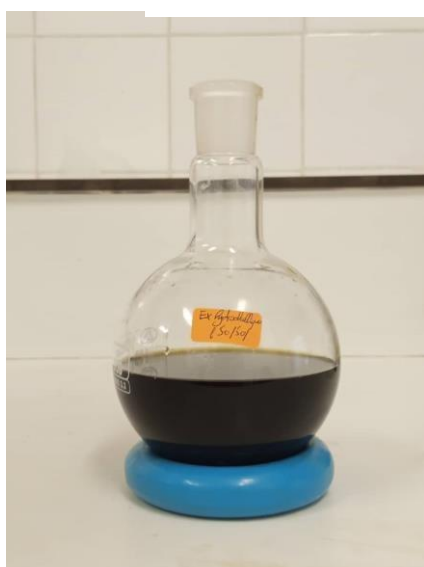
Éthanol dans une éprouvette graduée et eau distillée dans un bécher



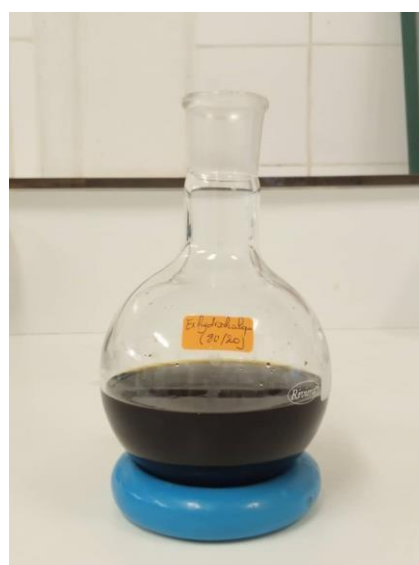
Macérat hydro éthanolique



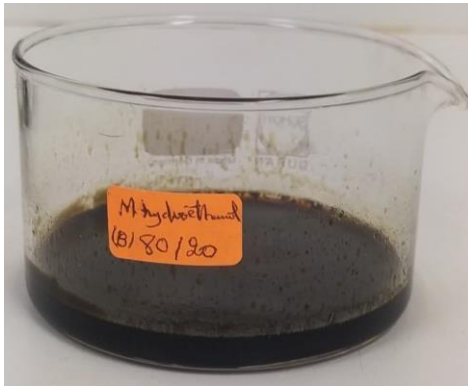
Filtration de la macération hydro éthanolique



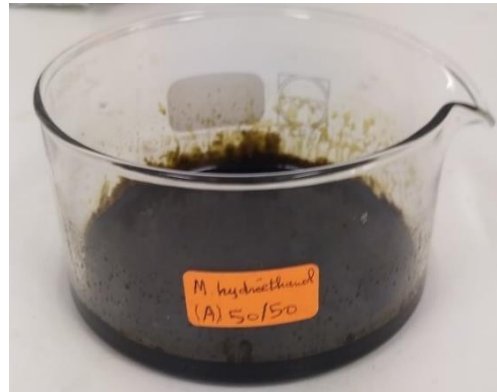
Extrait hydro éthanolique 50/50



Extrait hydro éthanolique 80/20



Extrait hydro éthanolique 80/20 sec

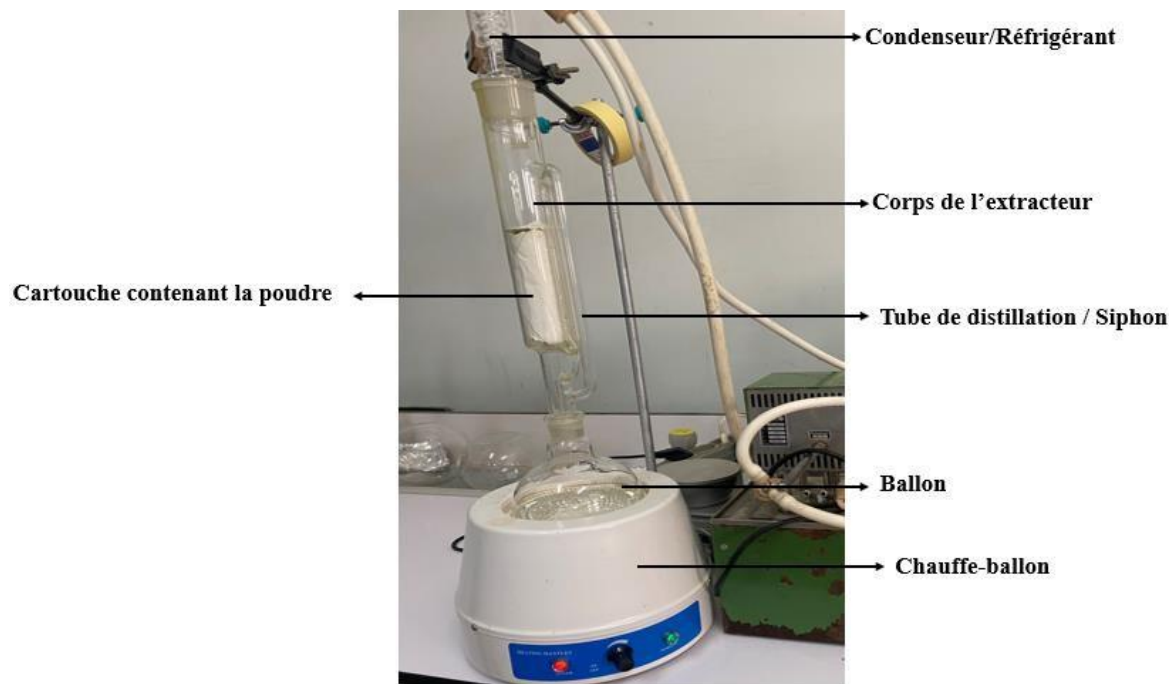


Extrait hydro éthanolique 50/50 sec

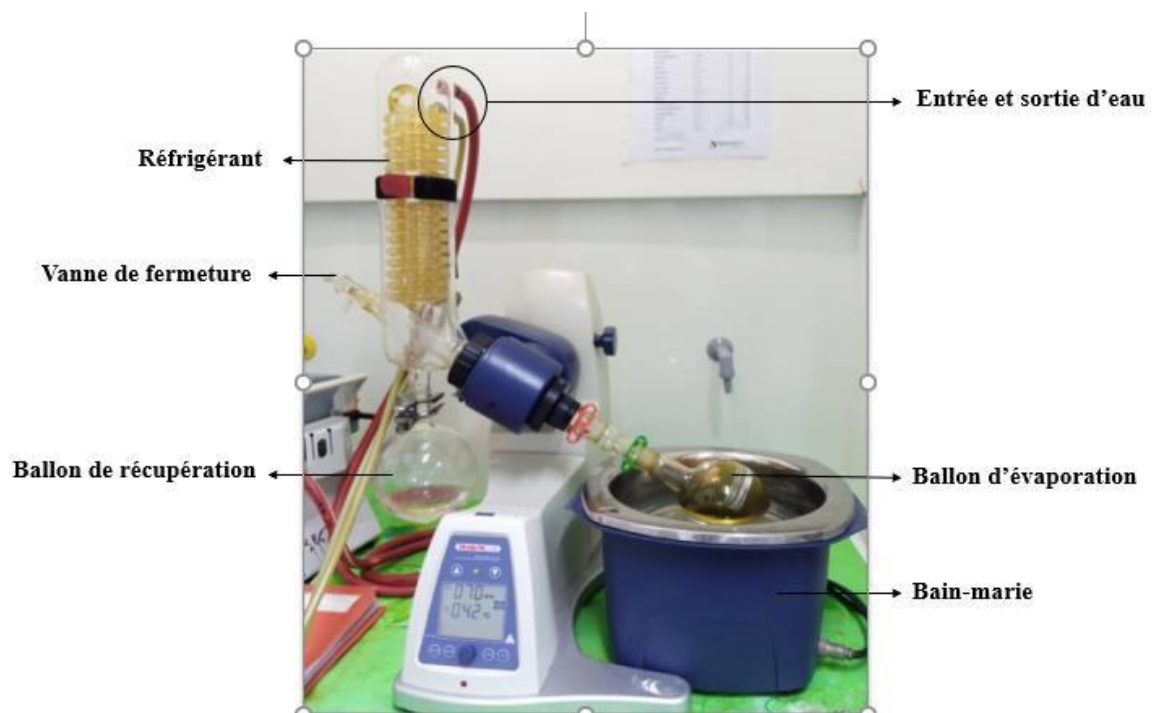


Conservation des extraits hydro éthanolique

Annexe 4 : Listes d'appareillage



Soxhlet



Évaporateur rotatif



Spéctrophotométrie



Étuve



Hotte



Appareil de l'HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance)



Vortex



Bain marie



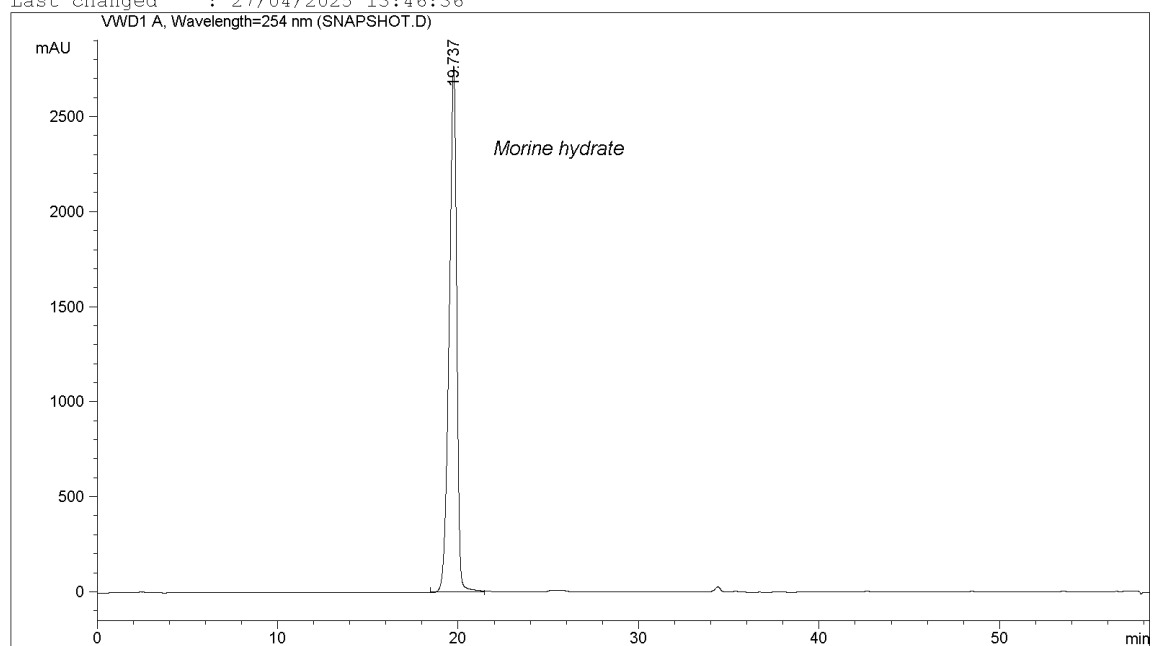
Lyophilisateur

Annexe 5 : Détails des résultats de l'analyse HPLC

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SNAPSHOT.D

Sample Name: Morine hydrate

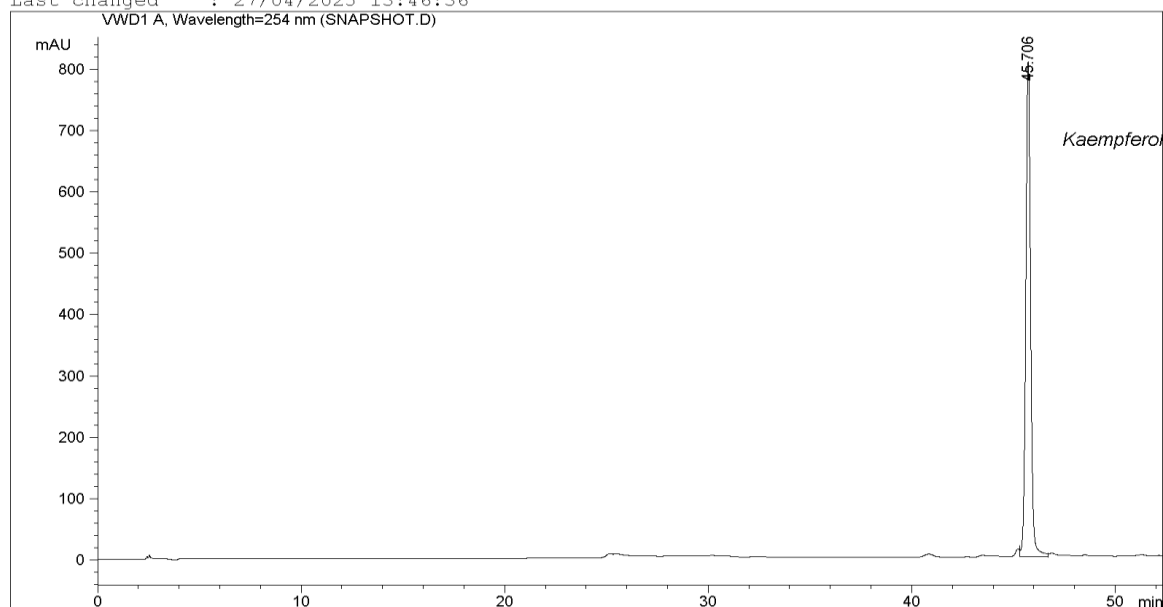
```
=====
Injection Date   : 05-May-25, 11:57:39
Sample Name      : Morine hydrate           Location : -
Acq. Operator    :
Acq. Method      : POLYPH.M
Analysis Method  : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLYPH.M
Last changed     : 27/04/2025 13:46:36
```



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SNAPSHOT.D

Sample Name: Kaempferol

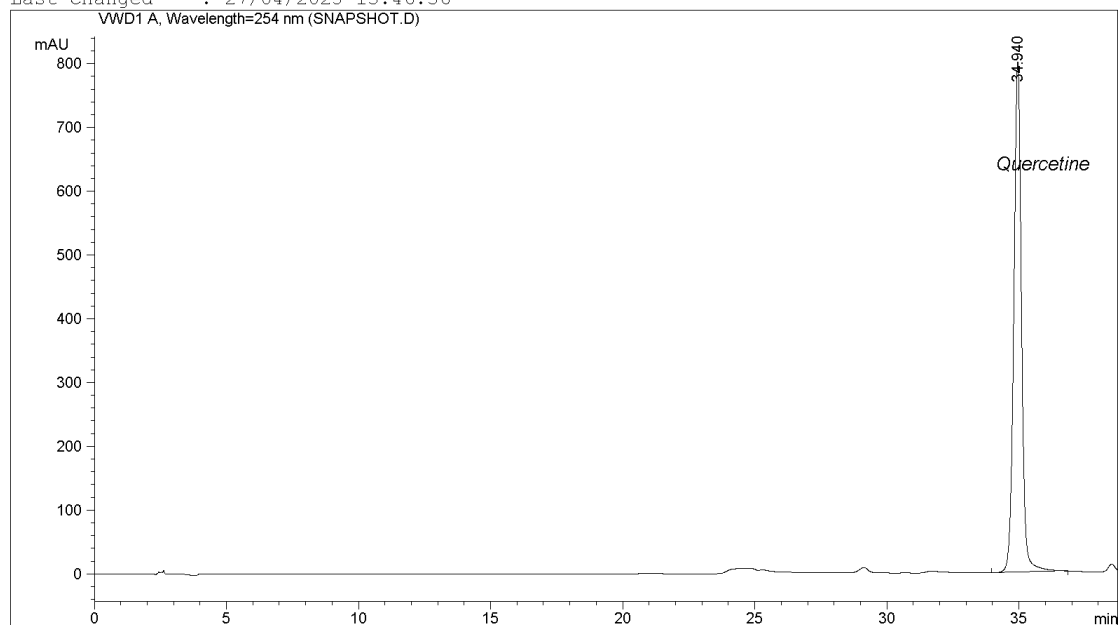
=====
Injection Date : 05-May-25, 10:26:50
Sample Name : Kaempferol Location : -
Acq. Operator :
Acq. Method : POLYPH.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLYPH.M
Last changed : 27/04/2025 13:46:36



Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SNAPSHOT.D

Sample Name: Quercetine

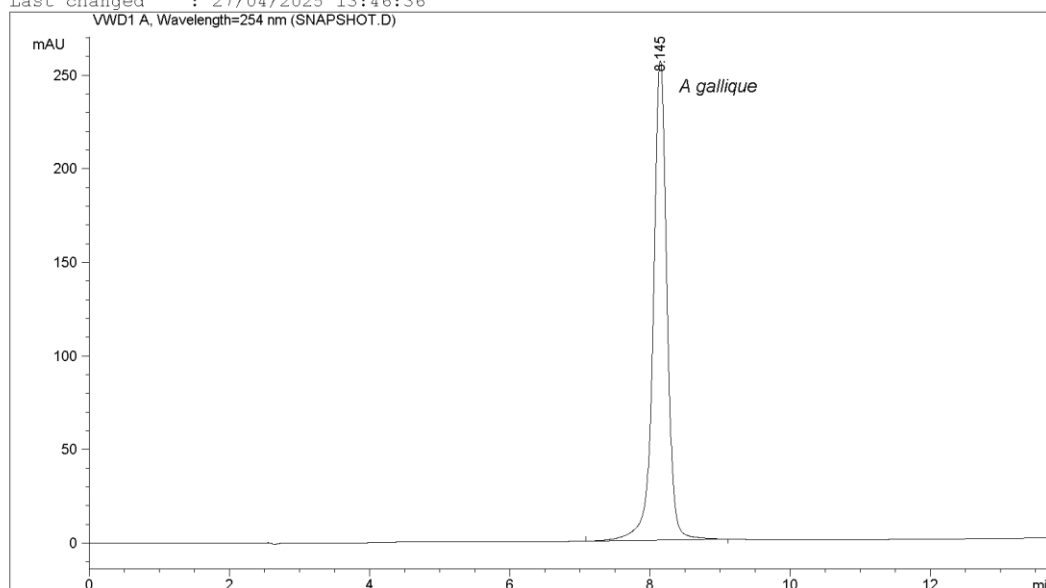
=====
Injection Date : 11-May-25, 14:34:57
Sample Name : Quercetine Location : -
Acq. Operator :
Acq. Method : POLYPH.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLYPH.M
Last changed : 27/04/2025 13:46:36



=====

Injection Date : 28-Apr-25, 15:33:52
 Sample Name : A gallique
 Acq. Operator :
 Acq. Method : POLYPH.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLYPH.M
 Last changed : 27/04/2025 13:46:36

Location : -



Les profils standards typiques de composés couramment identifiés par HPLC dans des extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Tableau d'identification des pics HPLC non assignés

Pic # (RT min)	Composé probable	Catégorie	Preuves scientifiques	Références PubMed
4.707	Acide néochlorogénique	Acide phénolique	Principal composé des extraits de feuilles (concentration élevée)	Vergara- Jimenez et al., 2023
6.588	Acide cryptochlorogénique	Acide phénolique	Spectre UV similaire, détection à ~6–8 min dans les méthodes PLE	Sierra- Campos et al., 2020
11.891	Dérivés de quercétine-3- glucoside	Flavonoïde	Pic majeur cohérent avec les flavonols glycosylés (concentration : 0.120– 0.216%)	Farooq et al., 2021
14.802	Astragaline (kaempférol-3- glucoside)	Flavonoïde	Temps de rétention caractéristique (12–13 min), détecté dans multiples variétés	Rani et al., 2014
17.144	Glucomoringine	Glucosinolate	Abondant dans les feuilles (21.84–59.4 mg/g), pic majeur dans plusieurs études	Vergara- Jimenez et al., 2023

Pic # (RT min)	Composé probable	Catégorie	Preuves scientifiques	Références PubMed
2.448– 5.655	Acides phénoliques mineurs	Acides phénoliques	Cluster de pics précoces (ex : acide protocatéchuique, vanillique)	Liu et al., 2022
12.784– 18.275	Dérivés de kaempférol/quercétine	Flavonoïdes	Non résolus sans MS ; fréquents dans les profils HPLC du Moringa	Sierra-Campos et al., 2020
➤ Acide néochlorogénique (pic 4.707 min) : Identifié comme composé majoritaire dans les extraits de feuilles par PLE (Pressurized Liquid Extraction). Sa concentration élevée (0.081–0.153% poids sec) et son temps de rétention précoce sont cohérents avec les études thaïlandaises et mexicaines. ➤ Acide cryptochlorogénique (pic 6.588 min) : Proposé par similarité de spectre UV et corroboré par les travaux de Nouman et al. Présent en quantités significatives dans les feuilles. ➤ Glucomoringine (pic 17.144 min) : Glucosinolate spécifique au Moringa, représentant jusqu'à 59.4 mg/g. Son pic tardif correspond aux méthodes HPLC avec détection à 334 nm. ➤ Dérivés de flavonols (pics 11.891–18.275 min) : Incluent l'astragaline et l'isoquercétine, dont les concentrations varient selon les variétés (ex: 0.013–0.216% pour Jaffna vs conventionnel). Leur non-identification fréquente s'explique par : • Absence de standards commerciaux pour certains glycosides. • Variabilité géographique : Composition influencée par le sol, climat, et saison de récolte.				

Références PubMed

- Vergara-Jimenez, M. et al. (2023). Moringa oleifera: An Updated Comprehensive Review of Its Phytochemistry and Pharmacology. Pharmaceuticals, 16(2), 1-30. [PMC9916933](#)
- Sierra-Campos, R. et al. (2020). Standardization based on chemical markers of Moringa oleifera herbal products by TLC and HPLC. Malaysian Journal of Analytical Sciences, 24(3), 493-507. [PDF](#)
- Farooq, F. et al. (2021). Quantification of β -sitosterol and quercetin in Moringa oleifera leaves by HPLC. Food Science & Nutrition, 9(1), 1-8. [PubMed](#)
- Rani, N. et al. (2014). Simultaneous HPLC quantitative analysis of active compounds in leaves of Moringa oleifera Lam. Journal of Chromatographic Science, 52(7), 705-711. [PubMed](#)
- Liu, R. et al. (2022). Moringa oleifera: a systematic review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. J Pharm Pharmacol, 74(3), 296-320. [PubMed](#)

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Écologie



Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

**Étude intégrée de Morisia : caractérisation phytochimique,
évaluation des activités biologiques *in vitro* et analyse
toxicologique *in silico***

Présenté par M^{elle} HARZALLAH Manel
M^{elle} TAMRABET Fella

Devant le Jury :

Mme MAKHLOUF

Mr BOUKHATEM MN

Mme MOKRANE A

Mme NADJI S

MCA

PR

MCA

PDG

SNV, USDB1

SNV, USDB1

SNV, UMMTO

Centre ORPIN

Présidente

Examineur

Promotrice

Co-Promotrice