

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Thème

**Screening phytochimique et caractérisation
par chromatographie sur couche mince
CCM des extraits des feuilles de *Moringa
oleifera***

Présenté par

Présenté par

- REZGUI MOHAMED AYMENE
- CHENTOUF YACINE

Devant les membres de jury

Président : Dr.NEBBACH.S MCA université de Mostaganem

Examineur : Dr. TAHRI M MCB université de Mostaganem

Encadreur. Dr.BOUABDELLI. F MCA université de Mostaganem

Co.Encadreur : Dr.BOUZENED. MCA université de Mostaganem

Année Universitaire : 2019/2020

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant qui nous a donné le pouvoir, le courage et la patience pour élaborer ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement :

Notre encadreur Mme Bouabdeli .F Nous sommes sans voix face à sa disponibilité, sa gentillesse, son soutien et le fait qu'elle nous ait fait profiter de son expérience et prodiguer de précieux conseils. Nos vifs remerciements à Bouznad L co- encadreur

Je remercie vivement Mr Nebbache d'avoir accepté de présider le jury, pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Nos remerciements vont également à Mr Tahri M pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

Merci également à toute le personnel exerçant au laboratoire de SNV : biochimie et microbiologie en l'occurrence: Mme Saadia, Me Betaher .M, Mme Hafida .

Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble du corps enseignant, depuis l'école primaire aux études supérieures pour toutes les connaissances qu'ils nous ont transmises.

L'ensemble des enseignants qui ont participé de près ou de loin dans notre formation

A la fin, nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à tous ceux qui ont manifesté leur soutien de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.

Merci à Tous...

Dédicace

Avant toute chose « Al Hamdoulilah », je remercie Allah, le tout puissant pour nous avoir donnée la force et la patience afin de pouvoir réaliser ce travail.

On souhaite exprimer nos remerciements les plus sincères et notre reconnaissance intégrale:

À **nos mères**, et **nos pères** qui ont été avec leur tendresse, leur suivi et leur sacrifice, la source de notre motivations et de notre persévérance; on prie le Dieu qu'il vous accorde la miséricorde et vous offre le paradis;

À madame « Bouabdelli Fatma » encadreur pour avoir réalisé ce travail et pour ses orientations et ces précieux conseils.

À nos amis (es) surtout de notre promotion de Master « Salah Eddine, Assia Ouagab, Benaicha Azzedine. AMINE, Karim, Djelali, Bghoussi Habib »

Et Baya Oueld El Bey qui nous a soutenue jusqu'au fin.

On doit, par ailleurs, présenter nos remerciements à toutes les personnes qui sont très chères à nos cœurs : A toute la famille « Mounir, Aymen, Bouaalam, Abdelkader, et REZGUI Rania »

Liste des abréviations

MO : Moringa oleifera

OMS : L'Organisation mondiale de la santé

U.V : Ultra Violet

LDL: Low density lipoprotein

HDL: High density lipoprotein

VLDL: very low density lipoprotein

PCB : les polychlorobiphényles

HCL : Le chlorure d'hydrogène

FeCl₃ : Le chlorure ferrique

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

EAM : Extraction assistée par macération

CCM : La chromatographie en couche mince

R_f : Rapport frontal

mg/ml : Milligramme par millilitre

Mm : Millimètre

Mn : Minute

Liste des tableaux

Tableau01 : Classification du Moringa Oleifera.....	12
Tableau 02 : Exigences environnementales du Moringa	15
Tableau03 : La valeur médicinale des différentes parties de Moringa Oleifera.....	18
Tableau04 : Résultats des tests phytochimiques effectués sur des feuilles et racines de <i>M. oleifera</i> Lam.....	31
Tableau 05 : représente les résultats obtenus de la CCM.....	35

Liste des figures

Figure01: les principales classes de composés phénoliques.....	6
Figure02 : Squelette de base des flavonoïdes.....	7
Figure 03. Quelques exemples des flavonoïdes	8
Figure04 : Arbre de Moringa Oleifera frais	12
Figure05 : Feuilles de Moringa Oleifera.....	13
Figure06 et 07 : Folioles de Moringa Oleifera.....	14
Figure08 : Fruits de Moringa Oleifera.....	14
Figure09 : Graines de Moringa Oleifera.....	16
Figure10 : feuille de moringa Oleifera.....	23
Figure11: Extraction Méthanolique.....	24
Figure 12 : caractérisation des alcaloïdes et flavonoïdes sur CCM.....	28
Figure13 : Résultats d'extraction méthanolique.....	30
Figure 14 : Mise en évidence des métabolites secondaires.....	31
Figure 15 : plaque CCM après séchage.....	33
Figure 16: étude de séparation des principes actifs.....	34

Remerciements
Dédicaces
Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

Table des matières

Résumé

Introduction	1
Chapitre I : introduction à la phytothérapie	3
1. Définition	3
2. Métabolites secondaires	4
2.1. Aperçu historique.....	4
2.2. Définition.....	4
3. Les polyphénols.....	5
3.1. Biosynthèse des polyphénols.....	7
4. Les flavonoïdes.....	7
4.1. Structure des flavonoïdes.....	7
4.2. Classification des flavonoïdes.....	8
5. Les Alcaloïdes.....	9
5.1. Structure des alcaloïdes.....	9
5.2. Classification des alcaloïdes.....	9
5.2.1. Les alcaloïdes vrais.....	9
5.2.2. Les pseudo-alcaloïdes.....	9
5.2.3. Les proto-alcaloïdes.....	10
5.3. Rôle des alcaloïdes.....	10
Chapitre II : L'intérêt biologique de la plante Moringa Oleifera	12
1. Généralités.....	12

2. classification.....	12
3. Description botanique.....	13
3.1. Ecologie.....	15
3.1.1. Conditions écologiques.....	15
4. Biologie.....	15
5. Composition chimique.....	15
6. Intérêt médicinal.....	16
6.1. Maladies cardiovasculaires.....	16
6.2. Protecteur cérébral.....	17
6.3. Activités anti tumorales et anticancéreuses.....	17
6.4. Les feuilles de moringa sont hypoglycémiantes.....	17
6.5. Intérêt industrielle.....	17
6.5.1. Moringa et cosmétique.....	17
6.6. Assainissement des eaux usées et purification de l'eau.....	19
Chapitre III : Matériels et méthodes	21
1. Généralités.....	21
2. Objectif.....	21
3. Matériels et méthodes	21
3.1. Matériels de laboratoire.....	21
3.2. Réactifs chimiques et solvants.....	22

3.3. Matériel végétal.....	23
3.3.1. Utilisation traditionnelle.....	23
4. Méthode.....	24
4.1. Extraction assistée par macération (EAM).....	24
4.1.1. Principe.....	24
4.1.2. Mode d'opération.....	24
4.2. Screening phytochimique.....	25
4.3. Test des anthocyanes.....	25
4.4. Test des tanins.	25
4.5. Test des flavonoïdes.....	25
4.6. Test des alcaloïdes.....	25
4.7. Test des saponines.....	25
5. La chromatographie en couche mince (CCM)	26
5.1. Principe.....	26
5.2. Mode opératoire.....	27
5.2.1. Préparation de la cuve	27
5.2.2. Les Plaques de CCM.....	27
5.2.3. Dépôt du mélange et de l'authentique.....	27
5.2.4. Elution.....	27
5.2.5. Révélation.....	28

Chapitre IV : Résultats et discussion.....	31
1. Résultats d'extraction.....	31
2. Résultats du Criblage « Screening » phytochimique.....	32
3. Résultat de séparation des Flavonoides et des Alcaloides par chromatographie sur couche mince.....	34
Conclusion générale	39
Références bibliographiques	41

Résumé

Le *Moringa Oleifera* est considéré comme l'un des arbres les plus utiles au monde, car presque toutes les parties de l'arbre *Moringa* peuvent être utilisées à des fins alimentaires, médicamenteuses et industrielles.

Dans le but de connaître les activités biologiques des plantes médicinales utilisées traditionnellement par la population, notre travail a porté sur l'étude des extraits bruts des feuilles de *Moringa Oleifera* par la méthode d'infusion et de macération méthanolique.

Le criblage phytochimique a mis en évidence une richesse de substances bioactives. La caractérisation des alcaloïdes et des flavonoïdes sur plaques de CCM a révélé un nombre important de spots, ce qui indique une richesse importante de composés de ces métabolites secondaires

Mots clé : *Moringa Oleifera*; screening phytochimique ; CCM.

Abstract

Moringa Oleifera is considered to be one of the most useful trees in the world, as almost any part of the Moringa tree can be used for food, medicine and industrial purposes.

With the aim of knowing the biological activities of medicinal plants traditionally used by the population, our work focused on the study of raw extracts of Moringa Oleifera leaves by the method of infusion and methanolic maceration.

The phytochemical screening revealed a wealth of bioactive substances. The characterization of alkaloids and flavonoids on TLC plaques revealed a large number of spots, indicating a significant richness of compounds of these secondary metabolists

Keywords: Moringa Oleifera; phytochemical screening; CCM.

ملخص

-تعتبر Moringa Oleifera واحدة من أكثر الأشجار فائدة في العالم.

حيث يمكن استخدام أي جزء من شجرة مورينغا في الغذاء والدواء والصناعة

بهدف معرفة الأنشطة البيولوجية للنباتات الطبية المستخدمة تقليديا من قبل السكان ، ركز عملنا على دراسة المستخلصات الخام لأوراق المورينغا أوليفيرا عن طريق طريقة التسريب والتنعيم الميثانولي.

بحيث كشف الفحص الكيميائي النباتي عن ثروة من المواد النشطة بيولوجيا كما كشف توصيف القلويدات والفلافونويدات عن وجود عدد كبير من البقع ، مما يشير إلى ثراء كبير لمركبات هذه المستقلبات الثانوية. TLC على لويحات

الكلمات المفتاحية: المورينجا أوليفيرا ؛ الفحص الكيميائي النباتي.

Introduction

Introduction

Introduction :

Le *Moringa oleifera* (MO) est une espèce de la famille des Moringacées qui a des valeurs médicinales et nutritionnelles [1]. Il est riche en nombre de nutriments importants et de composés actifs, y compris les protéines digestibles, les acides aminés, les acides gras insaturés, en particulier les acides linoléique, oléique et palmitique, les vitamines A, le complexe B (B1, B3, B6 et B7), C, D, E et K, calcium, fer, glucosinolates, isothiocyanates, polyphénols et antioxydants [2].

L'isolement et l'identification des flavonoïdes, des glycosides, des tanins, des alcaloïdes, des saponines et d'autres phytochimiques d'origine végétale ont été utiles pour contrôler diverses réponses inflammatoires et allergiques [3].

Les flavonoïdes tels que la quercétine, la rutine, l'apigénine et le kaempférol sont des contributeurs connus dans la prévention des infections [4].

Moringa oleifera Lam est un arbre résistant à la sécheresse qui appartient à la famille des Moringacées. Elle est largement utilisée traditionnellement pour son efficacité contre un large éventail de maladies et de troubles, notamment les infections.

Nous avons entamés trois chapitres, la partie de synthèse bibliographique regroupe deux chapitres :

- * Le premier chapitre : comprend l'importance des substances naturelles dans le traitement de plusieurs maladies et la présentation de la plante étudiée.

- * Le deuxième chapitre : concerne les métabolites secondaires.

- La partie expérimentale présente les méthodes utilisées et les résultats obtenus, de screening phytochimique.

Le présent travail est réalisé au niveau des deux laboratoires de biologie (microbiologie, biochimie), de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université L'ITA, Mostaganem.

Chapitre I :
Introduction à
la Phytothérapie

1. Définition

La **phytothérapie** désigne le traitement fondé sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels. Ce mot vient du grec « *phytos* » qui signifie plante et « *therapeuo* » qui signifie soigner. C'est l'une des formes de traitement les plus anciennes qui continue à jouer un rôle important en Afrique et en Asie par l'usage de plantes médicinales [5].

Les plantes médicinales sont la synthèse des expériences thérapeutiques de générations de médecins praticiens des systèmes de médecine indigènes depuis plus de centaines d'années, tandis que les nutraceutiques sont des aliments améliorés sur le plan nutritionnel ou médicinal avec des bienfaits pour la santé d'origine récente et commercialisés dans les pays développés. Les plantes médicinales sont également très demandées dans le monde développé pour les soins de santé primaires en raison de leur efficacité, de leur sécurité et de leurs effets secondaires moindres. Ils proposent également des thérapies pour les troubles liés à l'âge comme la perte de mémoire, l'ostéoporose, les troubles immunitaires, etc. pour lesquels aucun médicament moderne n'est disponible.

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a récemment défini la médecine traditionnelle (y compris les médicaments à base de plantes) comme pratiques thérapeutiques qui existent, souvent pour des centaines d'années, avant le développement et la diffusion des médicaments et sont encore en usage aujourd'hui [6]. La médecine traditionnelle est la synthèse de l'expérience thérapeutique de générations de praticiens médecins des systèmes de médecine indigènes. Les préparations traditionnelles comprennent des plantes médicinales, des minéraux, des matières organiques, etc. Les médicaments à base de plantes ne constituent que les médicaments traditionnels qui utilisent principalement des préparations à base de plantes médicinales à des fins thérapeutiques. Les premières preuves enregistrées de leur utilisation en indien, chinois, Les textes égyptiens, grecs, romains et syriens remontent à environ 5000 ans. Les textes indiens classiques incluent Rigveda, Athurveda, Charak Samhita et Sushruta Samhita. Les médicaments à base de plantes / médicaments traditionnels ont donc été dérivés des riches traditions des civilisations anciennes et du patrimoine scientifique. Il s'agit d'un terme d'origine récente (1979) qui comprend des aliments améliorés sur le plan nutritionnel ou médicinal et bénéfiques pour la santé [7].

2. Métabolites secondaires

2.1. Aperçu historique

Du nombre prodigieux de composés de carbone, beaucoup sont des matériaux produits par des organismes vivants. Ils sont appelés «produits naturels» et, de manière significative, sont responsables de la dénomination de la discipline de chimie organique. Les produits naturels constituent un très grand et diversifié groupe de composés difficiles à caractériser. Un sous-groupe de l'ensemble comprend ce que la modernité des biologistes appelle «métabolites secondaires». Donc : Quels sont les métabolites secondaires? D'où vient le terme «métabolite secondaire»?

2.2. Définition

Métabolite général (d'où métabolisme général). Un intermédiaire ou produit métabolique, présent dans la plupart des systèmes vivants, essentiel à la croissance et la vie, et bio synthétisé par un nombre limité de biochimiques voies. Métabolite secondaire (d'où métabolisme secondaire). Un métabolique intermédiaire ou produit, trouvé comme produit de différenciation dans des groupes taxonomiques, non essentiels à la croissance et à la vie des producteurs et bio synthétisé à partir d'un ou plusieurs métabolites généraux par une plus grande variété de voies que celle disponible dans le métabolisme général.

Le terme «métabolite secondaire», a été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme des molécules organiques complexes synthétisées à partir de métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes [8]. Ces métabolites secondaires, ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal [9].

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches pour leur intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti- inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires.

Ces métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes : les composés phénoliques, les terpènes, et les alcaloïdes.

3. Les polyphénols

Le terme de polyphénols ou composés phénoliques remplace l'ancien terme de tanin végétal. Ce sont des composés synthétisés par les végétaux où l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) [10]

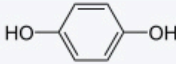
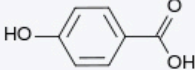
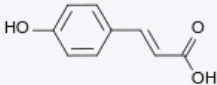
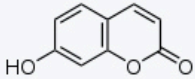
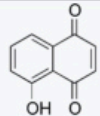
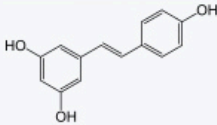
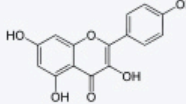
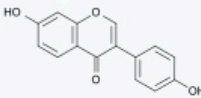
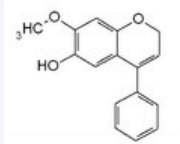
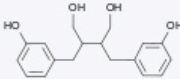
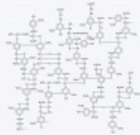
En effet, les composés phénoliques constituent le groupe le plus largement distribué chez les végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues [11]. Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans l'alimentation. Leur apport alimentaire total pourrait atteindre 1 g / j, ce qui est beaucoup supérieur à celui de toutes les autres classes de composés phytochimiques et antioxydants alimentaires. Pour la perspective, c'est 10 fois plus que l'apport de vitamine C et 100 fois plus élevé que les apports de vitamine E et de caroténoïdes (1, 2). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits [12].

Ils sont concentrés dans la vacuole où ils se trouvent sous formes simples et solubles ou polymérisées plus ou moins solubles (tanins). Par contre, les formes insolubles (lignines) sont directement associées à la paroi. Différents facteurs (lumière, rayonnement U.V., température, hormones, agents pathogènes ...etc.) sont fortement impliqués dans la régulation de l'expression du métabolisme phénolique, se traduisant par des différences qualitatives et quantitatives considérables entre les espèces, les organes et les stades physiologiques [13].

Les diverses classes des composés phénoliques sont: les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins [14].

Chapitre I : introduction à la phytothérapie

Figure01: les principales classes de composés phénoliques.

Composés phénoliques				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure	Origine
C ₆	Phénols simples	hydroquinone		Busserole
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	acide parahydroxybenzoïque		Épices, fraises
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	acide paracoumarique		Tomates, ail
	Coumarines	ombelliférone		Carottes, coriandre
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	juglon		Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbénoides	trans-resvératrol		Raisin
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes <i>lato sensu</i>	kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	daïdzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	dalphinol		<i>Dalbergia sissoo</i> , petits fruits rouge
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	entérodiol		Bactéries intestinales, lin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines			Bois, fruits à noyau
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	procyanidine		Raisins, kaki

le tableau dans cette figure s'inspire de Macheix et al. dans Sarni-Manchado et Cheynier (2006), ainsi que de Bruneton (1999).

a. Biosynthèse des polyphénols :

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies [15]:

- La voie de shikimate (l'acide shikimique) :

Cette voie conduit à la formation du précurseur des phénols par désamination de la phénylalanine. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques qui peuvent accéder aux principales classes des composés phénoliques avec quelques transformations.

- La voie de l'acétate :

Conduit à des poly-²-cétoester de longueur variable « les polyacétates » menant, par cyclisation à des composés polycycliques tels que les isocoumarines ou les quinones.

4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux ; ils se trouvent dissous dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes [16]. Selon les espèces, ils se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermiques [17].

4.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) [18].

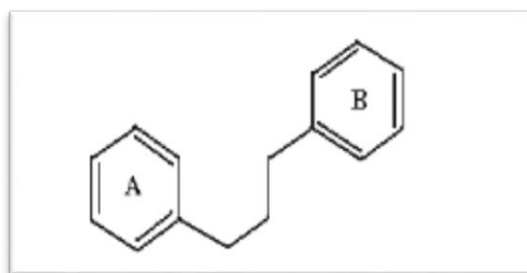
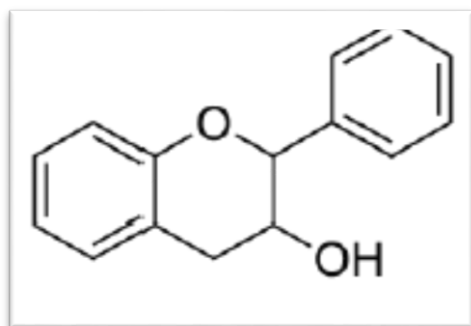


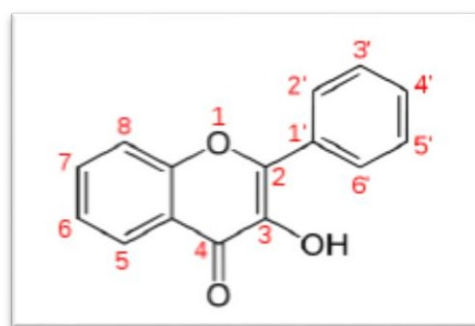
Figure02 : Squelette de base des flavonoïdes (Dean, 1963).

4.2. Classification des flavonoïdes

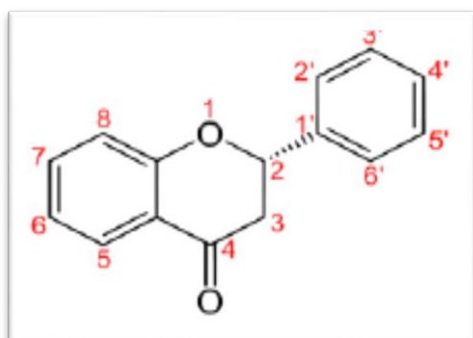
La famille des flavonoïdes se divise en différentes classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanes [19]. Quelques exemples de ces flavonoïdes sont représentés dans la figure 03.



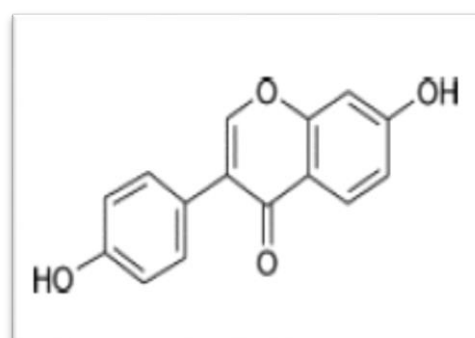
Flavanols



Flavonols



Flavones



Anthocyanes

Figure 03. Quelques exemples des flavonoïdes (Gnu, 2007)

5. Les Alcaloïdes

Le terme d'alcaloïdes a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases [20].

La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910 : « Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doués de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose » [21]. En général les alcaloïdes ne se concentrent pas dans une seule partie de la plante, ils se présentent avec des concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Cette même concentration se diffère selon la période de récolte. Plus précisément, ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques; assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graine, etc. et rarement dans les tissus morts. Au niveau cellulaire, la synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique et le stockage dans les vacuoles [22].

5.1. Structure des alcaloïdes

La plupart des alcaloïdes dérivent des acides aminés tels que le tryptophane, L'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés

5.2. Classification des alcaloïdes

Les alcaloïdes se divisent en trois classes :

5.2.1. Les alcaloïdes vrais

L'azote est inclus dans l'hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes [23].

5.2.2. Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés [24].

5.2.3. Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes dérivent d'acides aminés, mais l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique [24].

5.3. Rôle des alcaloïdes

A forte dose, la plupart des alcaloïdes sont très toxiques. À faible dose, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique. En effet, les alcaloïdes ou des extraits qui en renferment ont été utilisés depuis la préhistoire comme médicaments relaxants musculaires, analgésique et tranquillisants [25]. Chez les plantes synthétisantes, les alcaloïdes régulent la croissance et le métabolisme, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives aux plantes, et les protègent contre les rayons ultraviolets comme ils ont des effets contre les herbivores.

Chapitre II :
L'intérêt
biologique de la
plante Moringa
Oleifera

1. Généralités :

Il n'existe pas moins de treize espèces de moringa. La plus consommée, pour ses multiples vertus, est le *Moringa oleifera*, d'origine indienne. La médecine ayurvédique le mentionnait d'ailleurs dans ses traités dès le II^e siècle avant J.-C. Il était alors utilisé pour traiter près de 300 maladies ! Les Egyptiens, les Grecs et les Romains de l'Antiquité y avaient également recours, mais cet usage s'est malheureusement perdu depuis...

Or dans le moringa, tout est bon ! Feuilles, fruits, graines, racines et écorce possèdent un intérêt nutritionnel, thérapeutique ou encore cosmétique [26].

Moringa appartient à une famille monogénérique dont on connaît 14 espèces. Neuf D'entre elles sont africaines, deux malgaches, deux indiennes et une en Arabie Séoudite. Les espèces les plus courantes sont: *Moringa oleifera*, *M stenopetala*, *M. conxanensis*, *M Drouhardii*, *M Longituba* et *M Peregrina*. « Moringa » vient de *muringa* en malayalam une langue indienne. La plupart des langues s'utilisent un dérivé phonétique de ce mot pour désigner la plante. *Moringa oleifera* est un arbre connu sous diverses appellations. En Afrique francophone, le nom le plus général est *nébéday*, nom vraisemblablement dérivé de l'anglais "never die" (immortel), en référence à sa capacité de résistance à la sécheresse, à son aptitude à se propager rapidement à partir de semis ou de boutures et à se régénérer même après des coupes très sévères [27].

2. classification :

Règne	<i>plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
division	<i>Magnoliophyta</i>
classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Capparales</i>
famille	<i>Moringaceae</i>
genre	<i>Moringa</i>

Tableau01 : Classification du *Moringa Oleifera*

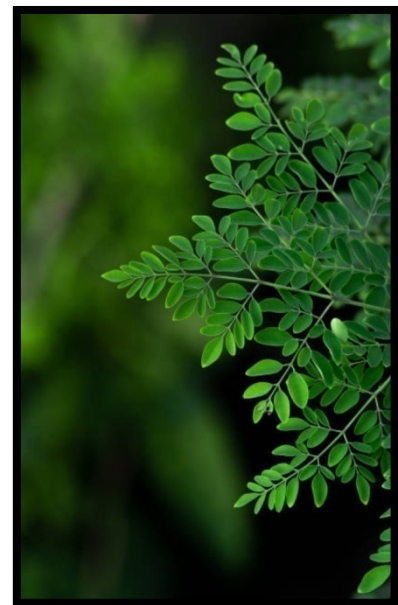


Figure04 : Arbre de *Moringa Oleifera* frais (11 mai 2020, par Homesh Nasre)

3. Description botanique :

Moringa oleifera est une plante qui a l'aspect d'un Arbuste dont la hauteur peut atteindre 4 à 5m . Le diamètre du tronc varie entre 20 et 40 cm selon (Foidl et al, 2001). Le tronc est généralement droit, mais il est parfois très peu développé. En général, il se ramifie lorsque la hauteur atteint 1,5 à 2m. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol [28].

Les feuilles (Photo 5) (Foidl et al, 2001). Sont alternes, tripennées à la base et bipennées au Sommet. Elles mesurent 20 à 70 cm de long avec un long pétiole et 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposées, plus une terminale; les folioles (Photo 6 et 7) sont ovales et longues de 1 à 2 cm. Les fruits sont en forme de gousses allongées à trois valves, déhiscents et mesurant 20 à 60 cm de long. Les gousses sont situées au sommet des branches (Photo 7) et chacune renferme environ 12 à 35 graines [28].



Figure 05 : Feuilles de *Moringa Oleifera* (7 janvier 2020 par Homesh Nasre)



Figure06 et 07 : Folioles de Moringa Oleifera (13Décembre2016 par Boonchuay1970) à gauche et folioles de Moringa Oleifera (8Aout 2019 par Sorsillo)



Figure08 : Fruits de Moringa Oleifera (7Novembre2013 par Justhavealook)

Chapitre II : L'intérêt biologique de la plante Moringa.oleifera

3.1.écologie

Le Moringa oleifera se plaît en milieu aride ou semi-aride mais il peut se trouver aussi dans les zones très arides comme le Sahara et peut s'adapter aux différents types de sols.

3.1.1. Conditions écologiques

Les exigences environnementales du Moringa sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau 02: Exigences environnementales du Moringa (Moringanews, 2006)

Paramètres	Valeur/Fourchettes
Climat	Tropical ou sub-tropical
Altitude	0-2000 mètres
Température	25-35°C
Pluviométrie	irrigation nécessaire pour la production de feuilles pluviométrie < 800 mm
Type de sol	Limoneux, sableux ou sablo-limoneux
Ph du sol	Légèrement acide à légèrement alcalin (pH: 5 à 9)

4. Biologie :

Le Moringa peut se planter par semis, en repiquage ou en plein champ ou encore par Boutures. Le semis se fait à mi- ombre, en situation pas trop chaude après un trempage des graines dans l'eau pendant 24 heures. Le taux moyen de germination est de 70% avec une durée de germination comprise entre 4 à 10 jours. La croissance de l'arbre, la floraison et la production de fruits sont influencées par L'écartement entre les pieds et le mode de récolte des feuilles.

5. Composition chimique :

Les feuilles, surtout, constituent un véritable trésor pour notre organisme. La poudre de feuille séchée peut quant à elle s'utiliser comme complément alimentaire ou simplement saupoudrée sur les aliments. Les feuilles sont les sources exceptionnelles de vitamines A et C, elles sont également pleines de vitamines B et l'une des meilleures sources végétales

en minéraux. Leur teneur en calcium est très élevée : à poids égal, elles en contiennent 17 fois plus que le lait !

Poursuivons les comparaisons : les feuilles de moringa comptent 15 fois plus de potassium que les bananes, 25 fois plus de fer que les épinards, 9 fois plus de protéines que le yaourt, et très peu de phosphore et de lipides.

6. Intérêt médicinal :

De nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées à *Moringa oleifera* utilisé en médecine Traditionnelle pour le traitement de maladies inflammatoires, infectieuses, parasitaires, Tumorales et prévention contre les dommages oxydatifs [29]

Des études sur l'utilisation des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* ont confirmé les Propriétés hypoglycémiantes chez des patients atteints de diabète de type II et d'autres maladies cardiovasculaires [30].

6.1.Maladies cardiovasculaires :

Les graines du moringa produisent une huile naturellement riche en bons acides gras. Tout d'abord, citons l'acide oléique, de la famille de l'oméga 9, connu pour être présent en abondance dans l'huile d'olive (55 % à 80 % de sa composition). C'est grâce à cet acide oléique que le régime méditerranéen permet aux populations qui le suivent d'être moins sujettes aux maladies cardiovasculaires, notamment en faisant descendre le mauvais cholestérol (LDL) et monter le bon (HDL).



Figure09 : Graines de Moringa Oleifera (7Février2020 par Luis Echevri Urrea)

6.2. Protecteur cérébral :

Feuilles du moringa. En plus de leurs propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes avérées, la poudre de feuilles séchées participerait également au bon fonctionnement du cerveau, améliorant sensiblement la mémoire et les fonctions cognitives chez les patients atteints par la maladie d'Alzheimer ou d'ischémie cérébrale. Les études phytothérapeutiques se concentrent actuellement sur ces potentialités neuroprotectrices.

6.3. Activités anti tumorales et anticancéreuses :

Makonnen *et al.* (1997) ont trouvé que les feuilles de Moringa étaient une source potentielle d'activité anti tumorale. Les extraits de graines se sont également révélés efficaces sur les enzymes hépatiques métabolisant des carcinogènes.

6.4. Les feuilles de moringa sont hypoglycémiantes :

Les feuilles de moringa sont traditionnellement utilisées dans le traitement du diabète de type 2. Or, des chercheurs ont montré que, prises en infusion, elles avaient effectivement des propriétés hypoglycémiantes chez le rat et l'homme. Cette activité est attribuée aux composés phénoliques contenus dans la plante (flavonoïdes, acides phénoliques et tanins). Dans l'étude, les chercheurs ont fait infuser des feuilles séchées de moringa pendant 35 minutes dans de l'eau chaude. L'effet est ensuite rapide, se manifestant au bout d'une demi-heure. À prendre de préférence à la fin du repas [31].

6.5. Intérêt industrielle

6.5.1. Moringa et cosmétique

L'huile dense en nutriments nourrit et protège la peau, surtout dans les cas de dessèchement. Elle permet aussi de mieux cicatriser, d'apaiser les desquamations et les démangeaisons, de prévenir le vieillissement et l'apparition des rides, ainsi que des vergetures.

Sa spécificité, liée à la présence des oméga 7, est probablement son activité sur la sécheresse des muqueuses (oculaire, buccale, vaginale, nasale..) qu'elle permet de réhydrater en profondeur, propriété utile en période de ménopause ou de post-ménopause. Ces vertus expliquent pourquoi l'huile de moringa est de plus en plus utilisée à des fins cosmétiques.

Chapitre II : L'intérêt biologique de la plante Moringa.oleifera

De nombreux composés bioactifs ont été signalés dans différentes parties du Moringa (Amaglo et al., 2010). De même, diverses parties de cette plante ont une haute valeur médicinale comme mentionné dans (Tableau 03)

Tableau03 : La valeur médicinale des différentes parties de Moringa Oleifera

Plant parts	Medicinal uses	References
Root	Antilithic, rubefacient, laxative, carminative, anti-inflammatory, cardiac, circulatory tonic; used to treat rheumatism, articular pains, backache, kidney pain and constipation. Juice from the root bark relieve earaches, toothache and has anti-tubercular activity	Padmarao et al., 1996 , Dahot, 1988 , Ruckmani et al., 1998 , Anwar et al., 2007
Leaf	Purgative, applied as poultice to sores, rubbed on the temples for Headaches; used for piles, fevers, sore throat, bronchitis, eye and ear infections, scurvy and catarrh; leaf juice is believed to control glucose levels, reduces glandular swelling	Morton, 1991 , Fuglie, 2001 , Makonnen et al., 1997 , Dahot, 1988 , Anwar et al., 2007
Stem bark	Rubefacient, vesicant, cure eye diseases, prevents enlargement of the spleen, tuberculosis, tumors and to heal ulcers.	Siddhuraju and Becker, 2003 , Anwar et al., 2007
Gum	Used for dental caries, astringent and rubefacient; relieve headaches, fevers, intestinal complaints, dysentery, asthma, abortifacient, used to treat syphilis and rheumatism	Fuglie, 2001 , Anwar et al., 2007
Flower	Stimulant, aphrodisiac, cure inflammations, hysteria, tumors, spleen enlargement; lowers VLDL, LDL cholesterol.	Siddhuraju and Becker, 2003 , Mehta et al., 2003 , Anwar et al., 2007
Seed	Seed extract decreases lipid peroxide in liver	Faizi et al., 1998 , Lalas and Tsaknis, 2002

Parties végétales Utilisations médicinales Références.

Racine Antilithique, rubéfiant, laxatif, carminatif, anti-inflammatoire, cardiaque, tonique circulatoire; utilisé pour traiter les rhumatismes, les douleurs articulaires, les maux de dos, les douleurs rénales et la constipation. Le jus de l'écorce de racine soulage les maux d'oreille, les maux de dents et a une activité antituberculeuse [32].

Leaf Purgative, appliqué comme cataplasme sur les plaies, frotté sur les tempes pour les maux de tête; utilisé pour les piles, les fièvres, les maux de gorge, la bronchite, les infections des yeux et des oreilles, le scorbut et le catarrhe; le jus de feuilles est censé contrôler les niveaux de glucose, réduit l'enflure glandulaire [33].

Chapitre II : L'intérêt biologique de la plante Moringa.oleifera

Écorce de tige Rubéfiaient, vésicant, guérit les maladies oculaires, prévient l'élargissement de la rate, la tuberculose, les tumeurs et pour guérir les ulcères [34].

Gomme utilisée pour les caries dentaires, astringentes et rubéfiantes; soulager les maux de tête, les fièvres, les troubles intestinaux, la dysenterie, l'asthme, les abortifs, utilisés pour traiter la syphilis et les rhumatismes [35].

Stimulant de fleurs, aphrodisiaque, guérir les inflammations, l'hystérie, les tumeurs, l'élargissement de la rate; abaisse le VLDL, le cholestérol LDL [36].

L'extrait de graine diminue le peroxyde lipidique dans le foie [37].

6.6.Assainissement des eaux usées et purification de l'eau

Il suffirait ainsi de déverser dans les eaux sales des graines de moringa pour que celles-ci absorbent, par floculation, les PCB, des molécules aussi toxiques que difficiles à extirper de l'organisme. Ces graines auraient le même effet sur les métaux lourds et les pesticides. Il suffirait ensuite de draguer les graines et de les brûler pour nettoyer nos fleuves !

Les graines de Moringa oleifera sont utilisées pour traiter l'eau, grâce à sa richesse en polyélectrolytes cationiques actifs utilisés comme polypeptides naturels non toxiques qui neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des Particules minérales et organiques [38].

Chapitre III :
Matériels et
Méthodes

Chapitre III : Matériels et Méthodes

1. Généralités

Moringa oleifera Lam. (Famille des Moringacées), est une espèce végétale bien connue largement distribuée dans le monde entier. L'arbre de *Moringa* est également appelé «arbre miracle» [39], d'une importance socio-économique substantielle. elle a des composants nutritionnels extrêmes, des applications pharmacologiques et industrielles importantes. Notre travail consiste à l'évaluer l'activité antibactérienne et caractériser les principes actifs existant dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* Lam, provient de la région de Ghardaia,

2. Objectif

Dans cette partie, l'extrait de la plante (*Moringa oleifera*) est utilisé comme modèle expérimental en étudiant trois tests :

- Screening phytochimique permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques.
- Séparation des flavonoïdes et alcaloïdes par chromatographie sur couche mince.

3. Matériels et méthodes

Le screening phytochimique a été réalisé au niveau du laboratoire 2 de chimie, université Abdelhamid Ibn Badis ex ITA Mostaganem.

L'extraction des flavonoïdes a été réalisée au niveau du Laboratoire de chimie 2 à la faculté de Biologie, Université Abdelhamid Ibn Badis ex ITA Mostaganem.

L'étude de l'effet antimicrobien des extraits aqueux, flavoniques et a été réalisée au niveau du laboratoire De Microbiologie 3 Université Abdelhamid Ibn Badis ex ITA Mostaganem.

3.1. Matériels de laboratoire

- Spectrophotométrie;
- Bain ultrasonique;
- Etuve;
- Rotavapeur de type Buchi R-200;
- Balance de précision;

Chapitre III : Matériels et Méthodes

- Agitateur;
- Mortier;
- Autoclave;
- Plaque chauffante;
- Micropipette;
- Papier Filtre;
- Bec Benzène;
- Ans de platine;
- Ecouvillon stérile;
- Tube à essai;
- Pince stérilisée;
- Disques vide stériles;
- Réfrigérateur;
- Boîtes de pétrie;
- Entonnoire.

3.2.Réactifs chimiques et solvants

Dans cette étude nous avons utilisé: Méthanol comme solvant et les réactifs chimiques:

HCL; FeCl₃ ; Mayer; dragendroff ; diméthyle sulfoxyde (DMSO); l'eau physiologique; eau distillée ; Fehling.

3.3.Matériel végétal

Chapitre III : Matériels et Méthodes

L'étude a porté sur les feuilles de *M. oleifera* Lam récoltés de la région de Ghardaia durant le mois de Mars 2018.



Figure10 : feuille de moringa à gauche et
feuille de Moringa séché à droite

3.3.1. Utilisation traditionnelle

Les feuilles traitent l'asthme, l'hyperglycémie, la dyslipidémie, la grippe, les brûlures d'estomac, la syphilis, le paludisme, la pneumonie, la diarrhée, les maux de tête, les maladies de la peau, la bronchite, les yeux et l'oreille [40].

4. Méthode

4.1. Extraction assistée par macération (EAM)

4.1.1. Principe

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles [41].

4.1.2. Mode d'opération

La macération consiste à émerger 20g de poudre de dans 200 ml de méthanol pendant 24 heure à température ambiante, Ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapor type Buchi R200, à une température de 55°C . L'extrait obtenu a été conservé au 4°C jusqu'à l'utilisation [42].



Figure11: Extraction Méthanolique

4.2. Screening phytochimique :

Ce test est qualitatif, il est effectué soit sur le broyat, soit sur un infusé. Il constitue la première étape dans la recherche des molécules à activités thérapeutiques, et basé sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation.

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (les alcaloïdes, flavonoïdes.....etc) dans nos extraits plantes. Le matériel végétal pulvérisé est épuisé successivement par macération dans des solvants de polarité croissante (éthanol, méthanol, eau).

4.3. Test des anthocyanes

A 2 ml de l'infusé, on a ajouté quelques gouttes d'ammoniaque ½. L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

4.4. Test des tanins.

Huit gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique à 1 % sont ajoutées à 1 ml de l'extrait. Après quelques minutes d'incubation à température ambiante, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (**Hadduchi et al., 2014**).

4.5. Test des flavonoïdes

1ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques gouttes de FeCl₃ ajoutés à 1 ml de l'extrait. La coloration rose-rouge ou jaune, après trois minutes d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes (**Hadduchi et al. , 2014**).

4.6. Test des alcaloïdes

A 2 ml d'infusé, on a ajouté 2 ml d'acide sulfurique (10%). Après 2 mn d'agitation nous avons filtré. Au filtrat, on a ajouté 2 gouttes du réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité rouge orangé indique la présence des alcaloïdes.

4.7. Test des saponines :

A 2 ml de l'infusé, on a ajouté 1 ml d'eau distillée, la solution est fortement agitée. Le mélange est laissé pendant 20 mn et la teneur en saponosides est estimée en mesurant la hauteur de la mousse : (**Vigor et al. , 2011**).

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

Mousse de plus de 2 cm = test fortement positif

Mousse de 1 à 2 cm = test positif (Trease et Evans, 1987).

5. La chromatographie en couche mince (CCM)

La chromatographie en couche mince (CCM) est une technique chromatographique en lit ouvert qui est généralement réalisée sur une fine couche de phase stationnaire enduite sur une plaque de verre. Il est couramment utilisé dans de nombreux laboratoires de l'industrie chimique / pharmaceutique et des industries connexes, à la fois pour des travaux qualitatifs et semi-quantitatifs. Des analyses quantitatives, bien entendu, peuvent également être effectuées. Certains laboratoires trouvent cette technique extrêmement utile et affirment qu'une très bonne précision peut être obtenue, même à des niveaux d'analyse très bas. ~ Cependant, des mesures élaborées doivent être prises pour assurer la précision [43].

5.1.Principe

Le mélange est fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire.

Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

Pulvérisation d'un réactif caractéristique

Par immersion dans un bain de permanganate de potassium

Par pulvérisation de vapeur de diiode

Par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence

Chapitre III : Matériels et Méthodes

5.2.Mode opératoire

Les opérations décrites dans ce paragraphe sont valables pour toutes les CCM

5.2.1. Préparation de la cuve :

L'atmosphère de la cuve doit être saturée en vapeur d'éluant. Ceci impose d'avoir une cuve bien fermée et préparée un certain temps à l'avance.

Le niveau de l'éluant au fond de la cuve doit être de 5 à 8 mm.

5.2.2. Les Plaques de CCM :

La couche d'adsorbant est fragile, éviter de mettre les doigts sur les plaques. Repérer à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts. Pour cela, tracer un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 2 cm. Les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 1cm du bord de la plaque et espacés de 1cm.

5.2.3. Dépôt du mélange et de l'authentique (ou des authentiques) :

Les solutions avec lesquelles on va réaliser les dépôts doivent être des solutions diluées.

Pour effectuer les dépôts, on utilise généralement des tubes capillaires en verre ou des « piques à apéritif » dont le bout a été écrasé.

Il faut déposer la solution pendant une durée très brève afin d'éviter l'étalement du dépôt.

Ne pas trop appuyer, pour ne pas détériorer la couche d'adsorbant.

5.2.4. Elution :

Disposer la plaque dans la cuve, le dépôt doit être au-dessus du niveau de l'éluant.

Éviter de déplacer la cuve ou de la faire vibrer pendant l'élution.

Quand le front de l'éluant arrive à 1 cm du bord supérieur, retirer doucement la plaque, marquer au crayon le niveau atteint par le front de l'éluant (hauteur H).

Sécher la plaque à l'air ou éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

5.2.5. Révélation :

Si les constituants sont colorés, ils sont directement visibles sur la plaque.

La révélation aux UV permet de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, elle nécessite l'emploi de plaques particulières comportant un révélateur UV.

Les autres méthodes de révélation sont des méthodes chimiques : on met la plaque en contact avec un réactif plus ou moins spécifique de certaines fonctions, qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler. (MnO_4^- , I_2 , etc...)

Mesurer les hauteurs h de migration des différentes tâches et calculer les rapports frontaux

$R_f = \frac{h}{H}$. Identifier la (les) substance(s) par rapport au(x) authentique(s).

R_f : retarding factor ou rapport frontal $R_f = d_i/d_s$

d_i : distance parcourue par le composé (mesuré au centre de la

tache) d_s : distance parcourue par le front du solvant

Les révélateurs utilisés réactif dragendrof pour la mise en évidence des alcaloïdes et FeCl_3 pour la mise en évidence des flavonoïdes.

Les plaques ont été placées dans la cuve chromatographiques préalablement saturées pour leur migration. A la fin de la migration, les plaques ont été retirées de la chambre chromatographique, puis séchées à l'aide d'un séchoir pendant 10min.

Après le séchage des plaques on a fait une pulvérisation de dragendrof \Rightarrow La coloration orange indique la présence des alcaloïdes.

Pour d'autre plaque on a fait une pulvérisation de $\text{FeCl}_3 \Rightarrow$ La coloration bleu indique la présence des flavonoïdes.

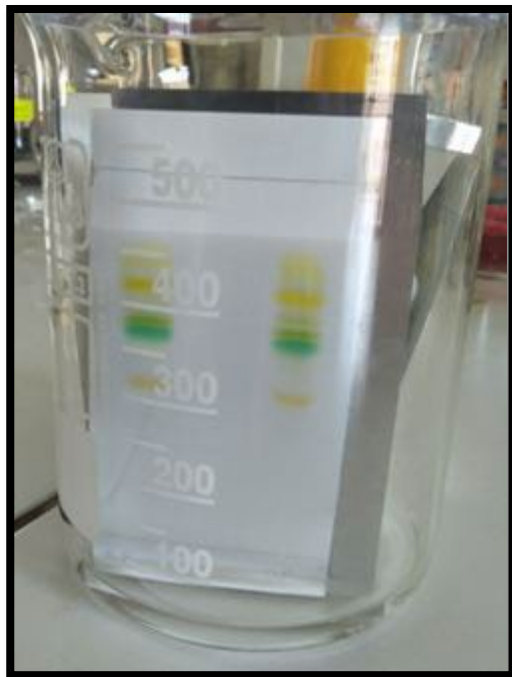


Figure 12 : caractérisation des alcaloïdes et flavonoïdes sur CCM

Chapitre IV :
Résultats et
discussions

1. Résultats d'extraction :

Après macération d'un gramme de poudre de la plante dans 10ml de méthanol pendant 24h et après deux jours d'évaporation à sec la quantité récupérée de flavonoïde est 400mg

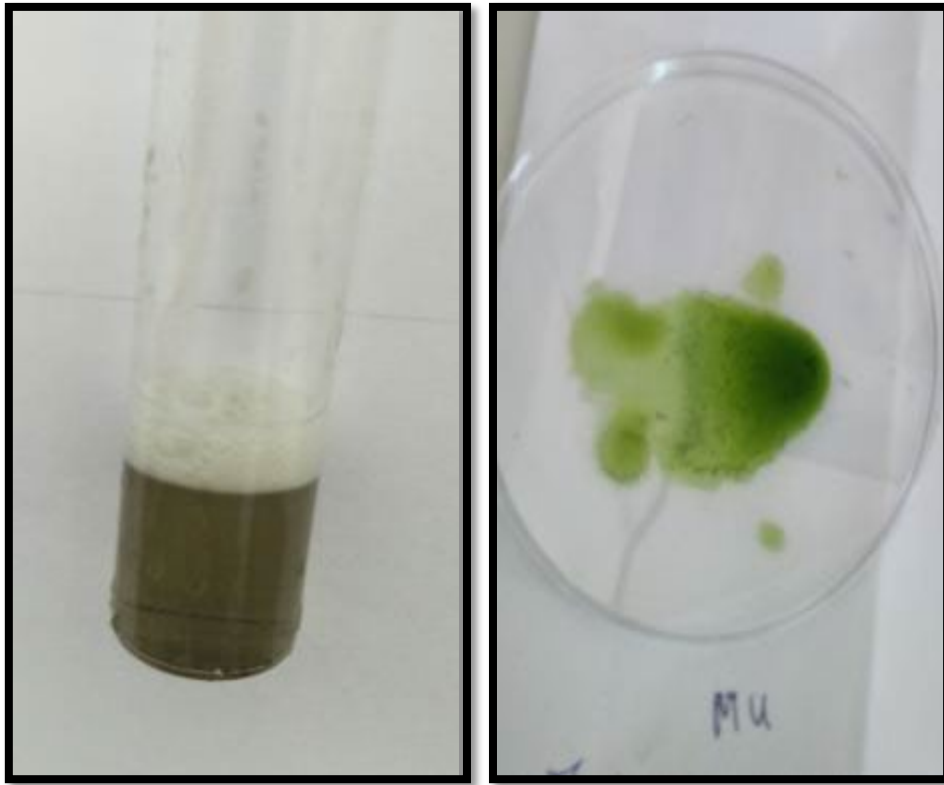


Figure13 : Résultats d'extraction méthanolique

2. Résultats du Criblage « Screening » phytochimique :

Les résultats du screening phytochimique sont reportés dans le tableau 1 :

Tableau04 : Résultats des tests phytochimiques effectués sur des feuilles et racines de *M. oleifera* Lam.

Organes	Feuilles	Racines
Métabolites II		
Anthocyanes	+	+
Tanins	+	+
Tanins catéchiques	+	+
Tanins galliques	+	+
Flavonoïdes	+	+
Alcaloïdes	+	+
Glucosides	+	+
Mucilage	+	+
Saponines	-	-

+ : Présence - : Absence

TEM : témoin
S : saponosides
ANT : Antociens
TER : terpène
T : Tanins

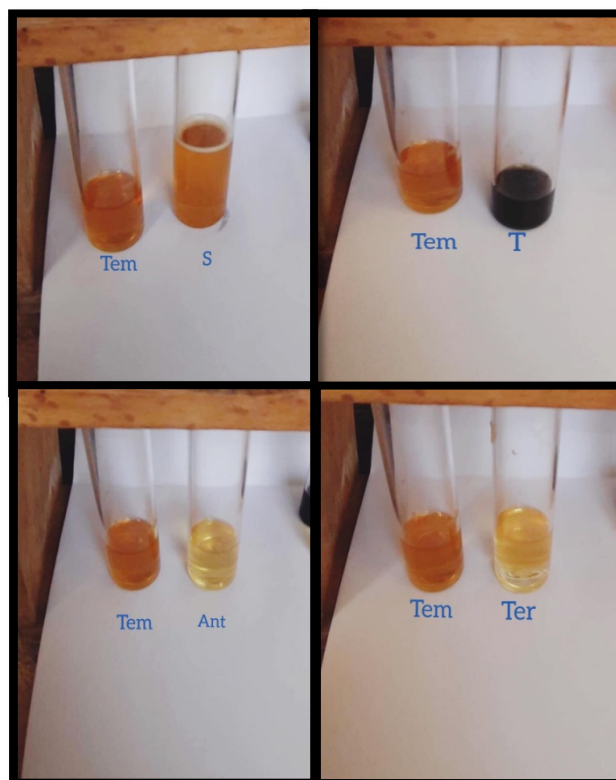


Figure 14 : Mise en évidence des métabolites secondaires

- Le tableau 1 montre que :

Le screening phytochimique des feuilles et des racines de *M oleifera* Lam nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, glucosides, mucilage, saponines, anthocyanes) et l'absence des saponines.

La mise en évidence de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur [44].

La présence des flavonoides dans les feuilles et d'alcaloides dans les racines de *M oleifera* Lam à été également mise en évidences par [45]., respectivement au Bénin et dans la région d'Uganda

Cette analyse phytochimique a permis de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. En effet, le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (Mohammedi, 2013).

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (Ouedraogo, 2001), justifient l'utilisation multiple de *M.oleifera* Lam en thérapeutiqueet, de l'autre côté, pour se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu en zones arides (Rira, 2006). En effet, Les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (Ribéreaugayon et Reynaud, 1968), protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présents dans les sols. Plusieurs effets pharmacologique sont attribués aux flavonoïdes notamment dans la protection des aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (Makhloufi, 2010).

Les tanins, sont connus pour donner un goût amer aux plantes notamment l'écorce ou aux feuilles et les rendent ainsi impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Eberhard et al., 2005). Ils sont également produits en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs: déficience en éléments nutritifs, sécheresse, températures élevées et l'intensité lumineuse (Rira, 2006).

Aux alcaloïdes, diverses activités biologiques leur sont attribuées (Milcent et Chau, 2003). A faibles doses, ils sont d'anesthésiques locaux, analgésique, antibiotiques, antiparasitaires, antipaludique, anti-tumoraux et amoebicides (Chenni, 2010).

3. Résultat de séparation des Flavonoïdes et des Alcaloïdes par chromatographie sur couche mince :

Lorsque la plaque CCM est séchée, les spots apparaîtront sous forme des taches de couleurs jaune



Figure 15 : plaque CCM après séchage.

Chapitre IV : Résultats et discussions

Les plaques CCM sont pulvérisées avec le réactif de $FeCl_3$ après la migration des extraits, nous avons observé des taches bleu noir qui indiquent la présence des flavonoïdes dans ces extraits. La pulvérisation par le réactif dragendroff la coloration orange nous indique la présence des alcaloïdes.

Les résultats sont généralement exprimé sous la formation d'un facteur de rétention (Rf) est définie comme suit : **$Rf = di/ds$** .

Les résultats sont généralement exprimés sous la forme d'un facteur de rétention. Le facteur de rétention (Rf) est défini comme suit : Distance parcourue par extrait depuis l'origine / Distance parcourue par le front du solvant depuis l'origine.

Les résultats de chromatographie sur couche mince sont mentionnés sur la figure suivante :



Figure 16: étude de séparation des principes actifs (alcaloïdes et flavonoïdes).

Calcul de Rf : Le tableau suivant représente les résultats

Rf : (retarding factor ou rapport frontal)

di : distance parcourue par le composé

ds : 8cm distance parcourue par le front du solvant

Tableau 05 : représente les résultats obtenus de la CCM

	<i>Moringa Oleifera</i>			
	ds (cm)	di (cm)	couleur	Rf
Avant révélateur Fecl3	8	d1 =4	Jaune orange	0.5
		d 2=5	Vert pistache	0.63
		d3=5.5	Vert jaune	0.69
		d4=5.8	Vert clair	0.73
		d5= 6.3	Jaune	0.79
		d6=7	Jaune clair	0.88
Après révélateur Fecl3	8	d1 =4	Orange clair	0.5
		d 2=5	Vert	0.63
		d3=5.5	Vert jaune	0.69
		d4=5.8	Trace vert	0.73
		d5= 6.3	fonce	0.79
		d6=7	orange	0.88
Après révélateur dragendroff	8	d1 =4	Marron clair	0.5
		d 2=5	Vert foncé	0.63
		d3=5.5	Vert clair	0.69
		d4=5.8	Bleu violacé	0.73
		d5= 6.3	Bleu clair	0.79
		d6=7		0.88

La migration des substances dépend essentiellement de leur polarité : les flavonones , les flavonols ,méthoxy-flavanes ont les valeurs les plus élevées de RF (0.5-0.75).(Bandyukova et shinkarenko,1973 ;in zeghad,2009 ;in Allal,2013).

Selon le tableau (05), on remarque que les fractions du chromatogramme obtenu présentent des diminutions et augmentations de valeur du RF. Le RF de la phase aqueuse très élevé (5 spots) il est riche en flavonoïdes (0.5et 0.75) approximation sont flavonone , flavonol , méthoxyflavane, et donne un résultat optimale (majoritaire) par rapport les autres fractions, Selon (Bandyukova et Shinkarenko(1973), est donc la plante étudiée possède une richesse en flavonoïdes.

Chapitre IV : Résultats et discussions

Une étude sur l'extrait méthanolique de l'ortie est en accord avec nos résultats pour quelques composants chimiques. Cette étude réalisée en Chine a montré la présence de huit constituants chimiques identifiés (**Ramzan, 2014**).

*Conclusion
générale*

Conclusion Générale

D'après l'enquête ethnopharmacologie effectuée par plusieurs chercheurs sur les plantes médicinales, *Moringa Oleifera* reste parmi les moins utilisés dans la médecine alternative Algérienne. Pour cela l'objectif assigné à cette étude est de valoriser cette espèce en évaluant sa composante phytochimique et son intérêt dans plusieurs vertus thérapeutiques

- ✚ Dans un premier volet de ce travail, nous avons procédé à l'extraction des molécules bioactives par la méthode d'extraction méthanolique et par infusion ainsi que la révélation du criblage phytochimique du Moringa récolté de la région de Ghardia
- ✚ Dans un deuxième volet, L'analyse du criblage phytochimique a mis en évidence une richesse en molécules bioactives notamment les flavonoïdes, les terpénoïdes, les tanins, les stérols et ainsi que les polyphénols. Les alcaloïdes et les flavonoïdes ont été caractérisés respectivement par les réactifs, Gragendrof et FeCl₃ sur plaque CCM. L'analyse du chromatogramme a révélé une richesse de composés en alcaloïdes et en flavonoïdes correspondant à un nombre important de spots après révélation.

Cette étude avait pour but de valoriser le Moringa, et donner des résultats satisfaisants pour pouvoir l'utiliser à des couts réduits par des méthodes simples (décoction, infusion, macération,....etc.).

En perspective, il serait fort intéressant d'approfondir les études par une expérience In vivo et de s'en assurer de l'innocuité totale chez un modèle animal de choix, à même capable de vérifier les autres propriétés biologiques des autres types d'extraits à savoir les extraits par les solvants organiques. Il serait, également, très instructif d'explorer la composition chimique de l'extrait et de tester l'effet isolé et synergique des différents constituants des différents extraits de cette espèce végétale.

[1]: **H. Walaa, M. Faten, I. Aida, A. Hafiza, K. Wagdy, A. Nagwa**, Safety and fertility enhancing role of Moringa oleifera leaves aqueous extracts in New Zealand rabbit bucks Int J Pharm, 6 (1) (2016), pp. 156-168

[2]: **R. Bennett, F. Mellon, N. Foidl, J. Pratt, M.S. Du pont, L. Perkins, P.A. Kroon**, Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multipurpose trees Moringa oleifera L. and Moringa stenopetala LJ Agric Food Chem, 51 (12) (2003), pp. 3546-3553

[3]: **J.Y. Lee, et al.** Anti-asthmatic effects of phenylpropanoid glycosides from Clerodendron trichotomum leaves and Rumex gmelini herbes in conscious guinea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin Phytomedicine, 18 (2–3) (2011), pp. 134-142

[4]: **J. Wang, et al.** Investigation of the anti-asthmatic activity of Oridonin on a mouse model of asthma Molecular medicine reports, 14 (3) (2016), pp. 2000-2006

[5]: **Simon Singh et Edzard Ernst**, *Médecines douces : info ou intox ?*, Cassini, 5 juin 2014 (ISBN 9782842252083, lire en ligne [archive]), p. 229 et 253.

[6]: **Gansser, A.**, Geology of the Himalayas, Interscience, New York, 1964, p. 289.

[7]: **Avouac, J.-P., Meng, L., Wei, S., Wang, T. & Ampuero, J.-P.** Lower edge of locked Main Himalayan Thrust unzipped by the 2015 Gorkha earthquake. *Nature Geosci.* **8**, 708–711 (2015).

[8]: **Lutge et al., 2002**, Modular Design of a Novel Chimeric Protein with Combined Thrombin Inhibitory Activity and Plasminogen-Activating Potential, <https://doi.org/10.1006/mgme.2001.3292>

[9]: **Cuendet, M. (1999)**. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : «Fagraea blumei» (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : «Bartsia alpina» (Scrophulariaceae), «Loiseleuria procumbens» (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.

[10]: **Bruneton J, 1993**. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et documentation. Ed. Lavoisier, Paris, 915 p.

- [11]: **Lugasi et al., 2003.** Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages <https://doi.org/10.1002/food.200390031>
- [12]: **Ribéreau-Gayon P (1968)** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris 254 pp
- [13]: **Macheix, J. J., Fleuriet, A. and Billot, J. 1990.** *Fruit Phenolics* CRC Press. [[Google Scholar](#)]
- [14]: Harborne, 1980 ; Glombitza, 1985 ; Goodwin, 1988 ; Porter, 1989 ; Boros, 2010.
- [15] : **Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed. Tec & Doc. Paris. France. 1288 p.
- [16]: **Guignard J.L., 1996.** Abrégé de biochimie végétale , Ed . Masson, Paris, 160 p.
- [17] : **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Tec & Doc, Editions médicales internationales. 3ème Edition. p.1120
- [18]: **W- Erdman et al., 2007,** *The Journal of Nutrition*, Volume 137, Issue 3, March 2007, Pages 718S–737S, <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.718S>
- [19]: **Medic et al., 2004,** Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids, <https://hrcak.srce.hr/102728>
- [20]: **Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed. Tec & Doc. Paris. France. 1288 p.
- [21]: **Zenk et Juenger, 2007,** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds, *Phytochemistry* 68(22-24):2757-72, DOI: [10.1016/j.phytochem.2007.07.009](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.009)
- [22]: **Krief, 2003,** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.
- [23]: **Guignard, J.L. 1998.** Abrégé de botanique. Masson Ed. Paris, 212p.
- [24]: **Badiaga, 2011,** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali
- [25]: **Hopkins. William G, 2003.** Physiologie végétale de bock université 2ème édition. : 276- 268.

[26] : plantes-et-sante.fr/articles/plantes-medicinales/2356-le-moringa-couteau-suisse-therapeutique

[27]. **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. Disponible sur <http://www.moringanews.org>.

[28] : **Foidl N., Makkar H.P.S. et Becker K., 2001**, Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie, 39p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>

[29] : **Kumbhare MR., Guleha V., et Sivakumar T. 2012**. Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 144-150.

[30]. **Jaiswal D., Rai P. K., Kumar A., Mehta Sh., et Watal G. 2009**. Effect of *Moringa oleifera* lam. Leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 123 (3): 392-396.

[31] : Publié dans Food and Nutrition Sciences, 2016.

[32] : **Padmarao P, Acharya BM, Dennis TJ. 1996**. Pharmacognostic study on stem bark of *Moringa oleifera* Lam. *Bulletin of Medico-Ethno-Botanical Research* 17: 141–151.

[33] : **Morton, 1991, Fuglie, 2001, Makonnen et al., 1997, Dahot, 1988, Anwar et al., 2007**

[34]: **Siddhuraju P, Becker K. 2003**. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). *J Agric Food Chem* 15: 2144–2155.

[35] : Anwar F, Ashraf M, Bhanger MI. 2005. Interprovenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. *J Am Oil Chem Soc* 82: 45– 51

[36] : Siddhuraju et Becker, 2003, Mehta et al., 2003, Anwar et al., 2007

[37] : Faizi et al., 1998, Lalas et Tsaknis, 2002

[38] : Foidl N., Makkar H.P.S, et Becker K, 2001. Potentiel de *moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie

[39]: Fahey, J.W. (2005) *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. *Trees for Life Journal*, December, 1(5).

[40]: Gopalakrishnan L., Kruthi D. et Devarai S. K., 2016 - *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness* 5: 49–56.

[41]: LEYBROS et FREMEAUX, 1990, Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques, Corpus ID: 123633641

[42] : REBAYA et al ., 2015, Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae), *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, DOI: 10.7324/JAPS.2015.50110.

[43]: 8 Thin-layer chromatography. (2003). *Chromatography and Separation Science*, 113–131. doi:10.1016/s0149-6395(03)80026-0

[44] : Kanoun, 2011. « Kanoun », *Encyclopédie berbère* [En ligne], 27 | 2005, document K27, mis en ligne le 01 juin 2011, consulté le 25 septembre 2020. URL : <http://journals.openedition.org/encyclopedieberbere/1315> ;DOI :<https://doi.org/10.4000/encyclopedieberbere.1315>

[45] : Siddhuraju et Becker (2003) et Kasolo et al.(2010)