

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 الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie et Ecologie Végétale

قسم البيولوجيا و ايكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie de la reproduction

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne chez l'espèce (*Moringa oleifera* Lam.)

Présenté par : Houfani Ikram

Le 25/06/2022

Kihal Nahla

Jury d'évaluation :

Encadreur : BOUCHOUKH Imane MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examineur 1 : CHIBANI Salih MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examineur 2 : DJEROUNI Aissa MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1

**Année universitaire
2021 - 2022**

REMERCIEMENTS

Nous commençons par remercier le tout puissant ''ALLAH'' de nous avoir guidées pour effectuer ce modeste travail.

*Nous remercions vivement **Dr BOUCHOUKH, I.** Maitre de conférences « B » à l'université Mentouri Constantine 1 pour avoir accepté de nous encadrer et porter son aide à l'enrichissement et la réalisation de ce travail, qu'elle trouve ici toute notre gratitude.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Dr CHIBANI, S.** Maitre de conférences « A » à l'université Mentouri 1, pour ce qu'il nous a transmis de son savoir et pour son aide à la contribution de notre travail.*

*Nous remercions **Dr DJEROUNI, A.** Maitre de conférences «B » à l'université Frères Mentouri Constantine 1, d'avoir accepté d'évaluer notre modeste travail et d'être parmi le jury.*

Nos vifs remerciements vont aussi aux chercheurs du centre de recherche en science pharmaceutique (CRSP) chacun par son nom à leur tête le

Pr DJEKOUN, A. Pr LOUAAR, I. Dr LABED, A. Dr BARHOUCI, B.

Qu'ils trouvent ici nos sincères remerciements et reconnaissance pour l'accueil et l'aide sans limite portées à notre égard.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Nahla.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Noureddine.

À mes chère sœurs Chaima, Imene, Ikram, Malak, et mon cher frère Younes, qui n'ont pas cessés de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À ma grand-mère, mes petits neveux, mes petites nièces, mes oncles et mes tantes. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

À l'âme de ma grand-mère et mes grand-père, puisse dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour vos âmes.

À ma collaboratrice du mémoire Haoufani Ikram, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.

À tous les amis, Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

À mes enseignants, pour le savoir qu'ils m'ont transmis.

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

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible, merci d'être toujours là pour moi.

Nahla.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A vous MAMAN, qui m'a appris que la persévérance finit par être récompensé; Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. A celle qui m'a élevé, illuminé mon chemin et m'a aidé par ses prières et des supplications.

A vous PAPA, Au meilleur papa du monde, l'homme qui s'est sacrifié pour me voir réussir dans ma vie, et pour me rendre heureuse. qui m'a toujours fait confiance afin de donner le meilleur de moi-même ; Dieu tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.

A mon frère et mes sœurs qui ont été un soutien le long de mon parcours pour me voir réussir.

A mes beaux-frères ; à mes oncles et tantes.

A mes neveux et nièces, pour leurs amours innocents.

A ma collaboratrice du mémoire Kihal Nahla, pour sa compréhension de supporter les obstacles que nous avons rencontrés le long de notre travail.

A mes amis Mechatí Rayane, Bougheddad Amína, yahyaoui ilhem et Nafir Bouchra au nom de notre sincère et fidèle amitié.

A tous nos professeurs qui nous ont enseigné et à tous ceux qui nous sont chers.

Ikram

Résumé

La présente étude porte sur la mise en évidence de la présence des métabolites secondaires, principalement des polyphénols, dans l'extrait hydro-méthanolique des feuilles du *Moringa oleifera* Lam. une espèce médicinale utilisée en phytothérapie traditionnelle. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par la méthode de macération.

Un criblage phytochimique nous a permis d'affirmer la richesse de la plante *Moringa oleifera* Lam. en composés phénoliques, alcaloïdes, stéroïdes et coumarines, Le criblage a été complété par une analyse chromatographique (CCM) qui a révélé la présence de plusieurs molécules à différents rapports frontaux.

L'évaluation du pouvoir antibactérien de notre extrait est effectué sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae* , *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*). On a évalué également le pouvoir antifongique contre deux souches fongiques (*Rhodoturella*. Sp., *Candida albicans*).

Les résultats montrent que cette plante possède une importante activité antibactérienne et antifongique avec différents diamètres d'inhibition.

Mots clés : *Moringa oleifera* Lam., Polyphénols, CCM, activité antibactérienne, activité antifongique.

الملخص

تركز هذه الدراسة على الكشف عن وجود مستقلبات ثانوية ، وخاصة البوليفينول ، في مستخلص الميثانول المائي لأوراق المورينجا أوليفيرا لام. نوع طبي يستخدم في طب الأعشاب التقليدي. تم استخراج المركبات الفينولية بطريقة النقع.

سمح لنا الفحص الكيميائي النباتي بتأكيد ثراء نبات المورينجا أوليفيرا لام. في المركبات القلوية الفينولية والمنشطات والكومارين ، تم استكمال الفحص بالتحليل الكروماتوغرافي (CCM) الذي كشف عن وجود العديد من الجزيئات ذات النسب الأمامية المختلفة.

يتم تقييم القوة المضادة للبكتيريا لمستخرجنا على أربع سلالات بكتيرية (الإشريكية القولونية ، الكلبسيلا الرئوية ، المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية). فعالية مضادة للفطريات ضد سلالتين فطريتين (رودوتوريلا. Sp، المبيضات البيضاء).

تظهر النتائج أن هذا النبات له نشاط كبير مضاد للبكتيريا والفطريات بأقطار تثبيط مختلفة.

الكلمات المفتاحية: المورينجا أوليفيرا لام، البوليفينول، CCM، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات.

Summary

The present study focuses on the presence of polyphenols, alkaloids, steroids and coumarins in the hydro-methanolic extract of moringa oleifera Lam leaf powder. a medicinal species used in traditional herbal medicine. The extraction of phenolic compounds was carried out by the maceration method. A phytochemical screening allowed us to affirm the richness of the Moringa oleifera Lam plant. in phenolic compounds, and was supplemented by a chromatographic analysis (CCM) which revealed the presence of several molecules at different frontal ratios.

The test to highlight the antibacterial power of our extract is carried out on four bacterial strains (Escherichia coli, klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa). Antifungal potency against two fungal strains (Rhodoturella. Sp, Candida albicans). The results show that this plant has significant antibacterial and antifungal activity with different inhibition diameters.

Keywords : *Moringa oleifera* Lam., Polyphenols, CCM, antibacterial activity, antifungal activity.

Table des matieres

Résumé

Table des matieres

Liste des abreviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation de l'espèce étudiée

I.1	Généralités sur <i>Moringa oleifera</i> Lamarck :	5
I.1.1	Historique:	5
I.1.2	Répartition géographique et habitat	5
I.1.3	Systematique et nomenclature	6
I.1.3.1	Position systematique de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	7
I.1.3.2	Les différentes espèces de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	7
I.1.3.3	Dénomination	8
I.1.4	Description botanique	9
I.1.5	Composition chimique et valeurs nutritionnelles des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	13
I.1.5.1	Composition nutritionnelle de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	13
I.1.5.2	Compositon chimique des feuilles de <i>M. Oleifera</i> Lam.	15
I.1.6	Quelques Utilisation de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	15
I.1.7	Importance socio-économique :	18
I.2	Activités biologique de <i>Moringa</i>	18
I.2.1	Activité hépatoprotectrice	18
I.2.2	Propriétés antibactériennes	19

I.2.3 Propriétés anti-inflammatoires et antalgiques.....	19
I.2.4 Propriétés antifongiques.....	20
I.2.5 Activité antidiabétique.....	20
I.2.6 Activité immuno-modulatrice.....	20
I.2.7 Activités anti tumorales et anticancéreuses :	21
I.2.8 Propriétés anti-hypertensives.....	21
I.2.9 Propriétés anti-hyper-glycémiques.....	22
I.2.10 Effets antispasmodique, antiulcéreux et hépatoprotecteur.....	22

Chapitre II : Métabolisme secondaire

II.1 La Phytothérapie et les Plantes médicinales :	24
II.1.1 La phytothérapie	24
II.1.2 Les plantes médicinales	25
II.2 Généralités	25
II.3 Les polyphénols.....	27
II.3.1 Définition	27
II.3.2 Biosynthèse des composés phénoliques :	28
II.3.3 Classification des polyphénols.....	29
II.3.3.1 Les acides phénoliques.....	30
II.3.3.2 Les flavonoïdes (C6-C3-C6).....	31
II.3.3.2.1 Définition.....	31
II.3.3.2.2 Structure et classification.....	31
II.3.3.3 Les tannins.....	36
II.3.3.3.1 Définition.....	36
II.3.3.3.2 Classification	36
II.3.3.4 Les coumarines :	37
II.3.3.5 Les quinones :	38
II.3.3.6 Stilbènes	39
II.3.3.7 Lignanes (C6-C3) ₂ et lignines (C6-C3) _n	39
II.4 Les Terpènes Et Terpénoïdes	40
II.4.1 Définition	40

II.4.2 Classification.....	41
II.4.3 Stérols	41
II.4.4 Saponines	42
II.5 Les alcaloïdes	43
II.5.1 Définition	43
II.5.2 Classification.....	43

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1. Matériel végétal	47
I.2. Etude phytochimique :	47
I.2.1. Extraction des composés phénoliques :	47
I.2.1.1. Macération	47
I.2.1.2. Concentration à sec de l'extrait.....	48
I.3. Détermination du rendement d'extraction	49
I.4 Les criblages de métabolites secondaires	49
I.4.1 Criblage des flavonoïdes	50
I.4.2 Criblage des anthocyanes	50
I.4.3 Criblage des tanins	50
I.4.4 Criblages des stérols et triterpènes	51
I.4.5 Criblages des quinones et anthraquinones	51
I.4.6 Criblage des saponosides	52
I.4.7 Criblage des alcaloïdes.....	52
I.5 Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	52
I.5.1 Définition	53
I.5.2 Principe.....	53
I.5.3 Mode opératoire	53
I.6 Etude de L'activité antibactérienne:.....	56
I.6.1 Principe :	56
I.6.2 Les souches bactériennes testées.....	56
I.6.3 L'évaluation de l'activité antibactérienne	58
I.6.3.1 Méthode utilisée :	58

I.7 Etude de L'activité antifongique :	59
I.7.1 Objectif :.....	59
I.7 .2 Les souches fongiques testées	60
I.7.3 Méthode utilisée :	61
 Chapitre II : Résultats et discussion	
II.1 Rendement d'extraction	63
II.2 Screening phytochimique	63
II.3 Chromatographie analytique sur couche mince C.C.M.....	63
II.4 Activité antibactérienne.....	69
II.5 Activité antifongique	72
Conclusion générale.....	74
Références bibliographique	77

Liste des abreviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

Bi(NO₃)₃ : Nitrate de bismuth

C : Carbone

C.C.M : Chromatographie sur Couche Mince

C₄H₆O₃ : Anhydride Acétique

C₆H₃N₃O₇ : Acide picrique

CH₃COOH : Acide Acétique

CHCL₃ : Chloroforme

cm = Centimètre

FeCL₃ : Chlorure de Fer

G : Gramme

GO : Gynécologie et Obstétrique

h : Heure

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

HCL : Acide Chlorhydrique

HgCL₂ : chlorure mercurique

HGE : Hépto-gastro-entérologie

HHDP : Hexahydroxydiphenic acid

KL : Iodure de potassium

KOH : Hydroxyde de Potassium

l : Litre

LDL : Lipoprotéines de base de densité

Liste des abréviations

M. oleifera lam : Moringa oleifera Lamarck

Mal.Inf : Maladies infectieuses

mg /ml : Milligramme / millilitre

Mg : Magnésium

mg : Milligramme

min : Minute

mL : Millilitre

mm : millimètre

Mo-CBP3 : MoringaoleiferaChitin-Binding Protein

NaOH : Hydroxyde de Sodium

nm = Nanomètre

OH : Groupe Hydroxyles

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ORL : Oto-rhino-laryngologie

R : Rendement

Rf : Rapport frontal

UV : Ultra-violet

λ : lambda

μ l : Microlitre

Liste des figures

Figure 1 Répartition de <i>M. Oleifera</i> Lam. dans le monde	6
Figure 2 Arbre mature de <i>M. Oleifera</i> Lam.	10
Figure 3 Tronc d'un arbre adulte de <i>M. Oleifera</i> Lam.	10
Figure 4 Les feuilles de <i>M. Oleifera</i> Lam.	11
Figure 5 Fleurs de <i>M. Oleifera</i> Lam.	11
Figure 6 Gousses fraîches et Gousses mûres de <i>M. Oleifera</i> Lam.	12
Figure 7 Graines de <i>M. Oleifera</i> Lam.	12
Figure 8 Détail de la cime en fleurs. Branches en fleurs et en fruits	13
Figure 9 Utilisation de la Poudre et les feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	16
Figure 10 Utilisation des graines de <i>M. Oleifera</i> Lam. dans la purification d l'eau.....	17
Figure 11 Catégories de maladie.....	22
Figure 12 Les Grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques	29
Figure 13 Classification des polyphénols	30
Figure 14 Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.....	30
Figure 15 Structure chimique d'hydroxycinnamique acide.....	31
Figure 16 Structure de base des flavonoïdes.....	32
Figure 17 Structure de base des anthocyanes.....	33
Figure 18 Structures chimiques de flavan-3-ols	33
Figure 19 Structures chimiques des flavonols	34
Figure 20 Générale structure de flavones.	34
Figure 21 Structure de base des flavanones	35
Figure 22 Structure et numérotation du squelette des isoflavones.....	35
Figure 23 Structure chimique d'hydrolysable tanins : gallotannin (1), ellagitannin (2), gallic acid (3), hexahydroxydiphenic acid (HHDP) (4)	37
Figure 24 Structure de base des tanins condensés	37
Figure 25 Structure chimique des coumarines.....	38
Figure 26 Structure des quinones.....	38
Figure 27 Structure chimique des stilbènes	39
Figure 28 Structure chimique de lignanes	40
Figure 29 Structure chimique de lignine.....	40
Figure 30 Structures moléculaires des terpènes.....	41
Figure 31 Structure basic de stérols	42
Figure 32 Structure chimique de saponine.....	42
Figure 33 Classes et exemples d'alcaloïdes	44

Figure 34 la poudre des feuilles du <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	47
Figure 35 Protocole de macération	48
Figure 36 Evaporateur à sec de l'extrait.	49
Figure 37 L'extrait obtenu à partir de l'extraction par méthanol 70% après séchage à sec.	49
Figure 38 la chromatographie sur couche mince	54
Figure 39 Aspect morphologique de <i>Candida Albicans</i>	60
Figure 40 Pesée de l'extrait.....	63
Figure 41 photographie de résultat de criblage des flavonoïdes.	65
Figure 42 ographie de résultat de criblage des anthocyanes.	65
Figure 43 photographie de résultat de criblage des tanins.	66
Figure 44 photographie de résultat des criblages des stérols, stéroïdes et tritérpène.	66
Figure 45 photographie de résultat de criblage des quinones et anthraquinones.	67
Figure 46 photographie de résultat de criblage des alcaloïdes.....	67
Figure 47 photographie de chromatogramme sous lampe UV 365 et 245 nm.	69
Figure 48 Activité antibactérienne d'extrait hydrométhanolique de la poudre des feuilles du <i>Moringa oleifera</i> Lam. sur les souches bactériennes testées. .	70
Figure 49 Activité antifongique d'extrait hydrométhanolique de la poudre des feuilles du <i>Moringa oleifera</i> Lam. sur les souches fongiques testées.	72

Liste des tableaux

Tableau 1 la systématique du <i>M. Oleifera</i> Lam.....	7
Tableau 2 les treize espèces de Moringa	8
Tableau 3 Quelques noms vernaculaires du <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	9
Tableau 4 Valeur nutritionnelle moyenne de 100 grammes de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam fraîches	14
Tableau 5 les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM	54
Tableau 6 La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes ..	55
Tableau 7 Echelle de sensibilité des germes.....	59
Tableau 8 Résultats de l'étude des métabolites secondaires de la plante <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	64
Tableau 9 Comportement chromatographique de l'extrait méthanolique de <i>Moringa oleifera</i> Lam. sur plaque de silice dans le système solvant (toluène et d'acétate d'éthyle) (34/14)	68
Tableau 10 Diamètre de la zone d'inhibition des extraits hydrométhanoliques de <i>Moringa oleifera</i> Lam. en fonction des concentrations	70
Tableau 11 Zone d'inhibition en (mm) des souches fongiques avec l'extrait végétal de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	73

Introduction générale

Introduction

Dans les dernières décennies, une augmentation de l'utilisation de composés d'origine naturelle est observée, justifiant l'accroissement de la production de certaines plantes aromatiques et médicinales. Les plantes médicinales ont été utilisées depuis l'antiquité pour leurs valeurs médicinales ainsi que pour influencer la saveur des aliments. De nos jours, les extraits et les poudres sèches d'échantillons de plantes médicinales et aromatiques sont utilisés pour le développement d'une médecine alternative (**Baydar et al., 2004**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle. La plupart des plantes sont utilisées empiriquement et sans validation scientifique de leur efficacité et sécurité (**Moutinho, 2013**).

Pour évaluer le pouvoir thérapeutique et même nutritionnelle et économique de ces plantes, des tests biologiques et des tests de criblage phytochimique sont réalisés (**Lehout et Laib, 2015**). Dans ce cadre plusieurs études ont été effectuées et en cours de réalisation pour valoriser des plantes médicinales, déjà connues, non connues ou qui nouvellement apparaissent, faisant un grand succès au niveau mondiale, continentale ou nationale, c'est le cas de la plante *M. oleifera* Lam. qui est utilisée pour ses différentes propriétés et pour la qualité de son huile.

Le Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) est un arbre fruitier qui pousse à l'état sauvage au nord ouest de l'Inde, au Pakistan et en Afrique (**Armelle et broin, 2010**). Les différentes parties du *M. oleifera* Lam. telles : l'écorce, les feuilles, les fleurs, les fruits et l'huile extraite des graines offrent une diversité d'usages à des fins nutritionnelles, thérapeutiques et cosmétiques. Ces différentes parties contiennent un profil de minéraux importants et sont une bonne source de protéines, vitamines, bêta-carotène, acides aminés et divers phénols. L'usine de Moringa fournit une combinaison riche et rare de zéatine, quercétine, bêta-sitostérol, acide chlorogénique et kaempferol (**George, 2015**).

La pénétration et utilisation massif du *M. oleifera* Lam. par les différentes catégories de la population algérienne nous a incités de travailler là-dessus. Aussi il convient de noter qu'il n'existe que de très peu de travaux qui sont menus sur le Moringa cultivé en Algérie.

L'objectif de notre étude est d'évaluer la richesse des feuilles de l'espèce *Moringa oleifera* Lam. en métabolites secondaire en réalisant:

- Une extraction des composés phénoliques.
- Un criblage phytochimique des principales familles de molécules bioactives.
- Une séparation chromatographique sur couche mince.
- Des tests de l'activité antibactérienne et antifongique.

Notre mémoire est divisé en deux parties: La première représente la synthèse bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres, dont le premier comporte des données générales sur le *Moringa oleifera* lamarck. le deuxième sur les métabolites secondaires.

La partie pratique est subdivisée en deux chapitres, le premier présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail (Extraction, macération, méthodes chromatographiques, Screening phytochimique et l'activité antibactérienne et antifongique). Le deuxième chapitre discute les résultats obtenus dans cette étude, et Enfin une conclusion qui tire les principaux résultats de notre étude.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Présentation de l'espèce étudiée

Chapitre I : Présentation de l'espèce étudiée

I.1 Généralités sur *Moringa oleifera* Lamarck :

Moringa oleifera Lam. (Moringaceae) aussi appelé « l'arbre de la vie » (Alhakmani *et al.*, 2013). *M. Oleifera* Lam. est connu mondialement pour ses intérêts nutritionnels et médicinaux, ainsi que ses applications industrielles . Presque toutes les parties de l'arbre ont un intérêt nutritionnel. *M. Oleifera* Lam. peut être un arbrisseau ou un arbre de 7 à 8 mètres de haut (Besse, 1996).

I.1.1 Historique:

L'histoire de *Moringa Oleifera* remonte à 150 avant Jésus Christ, des preuves historiques indiquent que les rois et les reines antiques ont utilisé, les feuilles et les fruits de *Moringa Oleifera* dans leur régime alimentaire pour maintenir la vigilance mentale et une peau saine (Fahey, 2015).

I.1.2 Répartition géographique et habitat

Moringa oleifera Lam. est une espèce originaire des régions d'Agra et d'Oudh, au nord-est de l'Inde, au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya (Rajangam *et al.*, 2002). Aujourd'hui, il se retrouve sur trois continents et dans plus de cinquante pays tropicaux et subtropicaux, à saison sèche marquée, voir en zone aride : l'Afrique, l'Arabie, le Sud-est asiatique, les îles du pacifique , l'Amérique du sud. Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20ème siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes (Foidl *et al.*, 2001). Des essais d'introduction de *M. oleifera* Lam. en Algérie ont été réalisés à titre expérimental à partir de semences en provenance de Dar el Salem (Tanzanie), en raison de ses nombreuses applications qui lui ont valu le surnom de « l'arbre à multiples usages » ou « arbre miracle » pour certains. *M. Oleifera* Lam. Favorise les habitats avec des climats tropicaux et subtropicaux où la pluviométrie peut aller de 250mm à 2000mm et une altitude allant de 0 à 2000m. Les températures optimales pour son épanouissement varient entre 25 et 35°C.



Figure 1 Répartition de *M. Oleifera* Lam. dans le monde (Koul et Chase, 2015).

I.1.3 Systématique et nomenclature

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

Le *Moringa oleifera* Lam. a un synonyme : *Moringa pterygosperma* Gaernt (**Mémento, 2002**)

I.1.3.1 Position systématique de *Moringa oleifera* Lam.

Tableau 1 la systématique du *M. Oleifera* Lam. (Imohiosen et al., 2014).

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

I.1.3.2 Les différentes espèces de *Moringa oleifera* Lam.

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

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

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

I.1.3.3 Dénomination

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

Tableau 3 Quelques noms vernaculaires du *Moringa oliefera* Lam.

Nom vernaculaire
West Indian tree, Drumstick Tree , ou encore Never die tree en référence à sa résistance à la sécheresse (Hêdji et al., 2014).
Ben ailé, Moringa ailé, morungue (Foidl et al., 2001).
Shagara Al Ruwag, Habbah Ghaliah, Rawag (Yongabi et al., 2012 ; Yusoff, 2016).
Shajnah pour rappeler la forme du fruit qui ressemble à une baguette (Pousset, 1999).

I.1.4 Description botanique

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

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

Le houppier est peu touffu en dépit d'un réseau de branches assez important ceci pouvant s'expliquer par des feuilles composées et relativement espacées les unes des autres. Son feuillage est donc très léger (**Besse, 1996**) et gracile (**Memento, 2002**). En rangs serrés, il peut, néanmoins, servir de brise-vent. Les branches servent à l'érection de clôtures et de haies vives.

Le bois *Moringa Oleifera* Lam. est mou, très tendre et souvent attaqué par les termites (**Séverin, 2002 ; Besse, 1996**). Le bois de *M. Oleifera* Lam. donne un très mauvais charbon (**Séverin, 2002**).

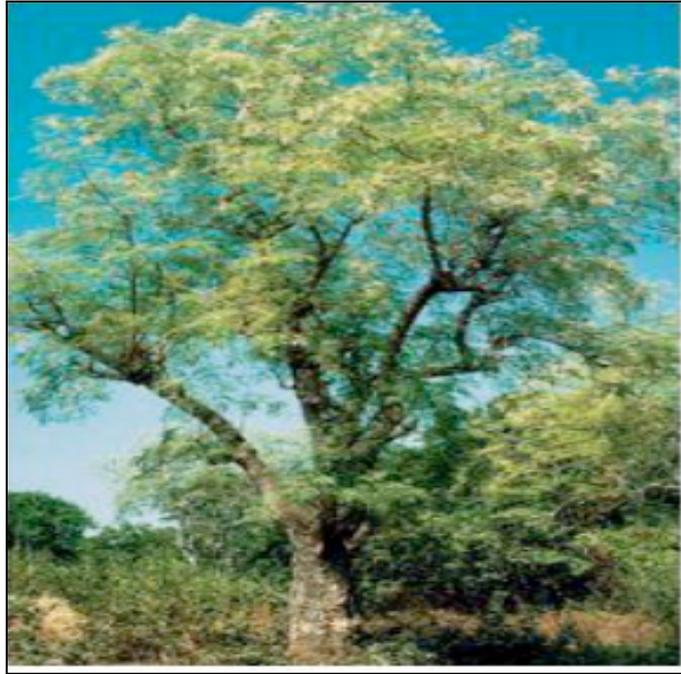


Figure 2 Arbre mature de *M. Oleifera* Lam. (Rolloff et al., 2009).



Figure 3 Tronc d'un arbre adulte de *M. Oleifera* Lam. (Parrotta, 2009).

- **Les racines**

Le système racinaire est de structure tubulaire, il est formé d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 m de profondeur lui offrant ainsi une grande résistance à la sécheresse (Rosa, 1993).

- **Les feuilles**

Les feuilles sont tripennées de 30 à 70 cm de long. Les folioles sont ovées ou obovées (Besse, 1996). Les feuilles comptent 2 à 6 paires de pinnules

comprenant chacune 2 à 5 paires de pinnules secondaires, divisées elles-mêmes en 1 à 2 paires de foliolules plus une foliole terminale plus grande que les autres (**Mémento, 2002**).



Figure 4 Les feuilles de *M. Oleifera* Lam. (**Louni, 2009**).

- **Les fleurs**

Les fleurs mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Il se caractérise généralement par leur abondance et leur odeur agréable. Elles sont blanches ou de couleur crème, avec des points jaunes à la base (**Hédji et al., 2014**). Les sépales, au nombre de cinq, sont symétriques. Les cinq pétales sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur, et entourent cinq étamines (**Foidl et al., 2001**).



Figure 5 Fleurs de *M. Oleifera* Lam. (**Site1**).

- **Les fruits et les graines**

Les fruits de *M. Oleifera* Lam. sont en forme de gousses allongées à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long et de 2 cm de diamètre, ils sont initialement vert clair, minces et tendres, devenant finalement marron et ferme à maturité, et contenant de nombreuses graines (Muhl *et al.*, 2011).

Les graines, dont chacune est munie latéralement de trois ailes, sont rondes, noires, empilées sur trois rangées centrales. Elles ont un diamètre de 10 à 12 mm (Besse, 1996). Le poids moyen d'une graine est de 0,3g dont 25% sont représentés par la coque. La production annuelle par arbre est de 15 000 à 25 000 graines (Makkar et Becker, 1997).



Figure 6 Gousses fraîches et Gousses mûres de *M. Oleifera* Lam.(Site2).



Figure 7 Graines de *M. Oleifera* Lam.(Site2).

- **Les branches :**

Les branches de *Moringa Oleifera* Lam. poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol (**Kholif, 2018**).



Figure 8 Détail de la cime en fleurs. Branches en fleurs et en fruits (**Site2**).

I.1.5 Composition chimique et valeurs nutritionnelles des feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

I.1.5.1 Composition nutritionnelle de *Moringa oleifera* Lam.

Dans son livre **Survival and Subsistence in the Tropics** Frank Martin écrit : « Parmi les légumes à feuilles, il y en a un qui se distingue tout particulièrement, c'est l'arbre de moringa. Ses feuilles sont une source exceptionnelle de vitamine A et, lorsque consommées crues, de vitamine C. Elles sont une bonne source de vitamine B et une des meilleures sources végétales de minéraux. Leur teneur en calcium est très élevée pour une plante et leur teneur en phosphore faible, comme il se doit. Leur teneur en fer est très bonne (aux Philippines, on recommanderait cette feuille aux personnes souffrant d'anémie).

Elles sont une excellente source de protéines et contiennent très peu de gras et de glucides. Ainsi, ces feuilles sont un des meilleurs aliments végétaux qui soit. » Dans son livre **Edible Leaves of the Tropics**, le même auteur ajoute que les feuilles de moringa sont une source incomparable de méthionine et de cystine, des acides aminés sulfureux souvent déficients dans les régimes alimentaires.

Tableau 4 Valeur nutritionnelle moyenne de 100 grammes de feuilles de *Moringa oleifera* Lam. Fraîches (Broin, 2005)

Composition globale	
Calories (kcal)	300
Protéines (g)	25
Glucides (g)	40
Lipides (g)	8
Minéraux (g)	12
Fibres (g)	15
Teneur en eau	75%
Minéraux (mg)	
Calcium	2100
Cuivre	1
Fer	27
Potassium	1300
Magnésium	405
Phosphore	310
Manganèse	8
Soufre	740
Sélénium	2,6
Zinc	2,6
Sodium	100
Vitamines	
Vitamine C (mg)	850
Vitamine A (UI)	14300

Acides aminés (mg)	
Arginine	1600
Histidine	530
Isoleucine	1140
Leucine	2050
Lysine	1200
Méthionine	370
Phénylalanine	1400
Thréonine	1080
Tryptophane	580
Valine	1400
Acide aspartique	1670
Acide glutamique	2470
Sérine	840
Glycine	960
Alanine	1260
Proline	1230
Tyrosine	910
Cystéine	360
Acides gras	
C 16: 0	530
C 18: 0	70
C 18: 1	60
C 18 : 2	170
C 18: 3	1140

I.1.5.2 Composition chimique des feuilles de *M. Oleifera* Lam.

Les feuilles de *Moringa oleifera* Lam. contiennent aussi des alcaloïdes, flavonoïdes et des composés phénoliques entre 0,67% et 3,4 % des phénols totaux et de 0,5% à 1,4% en tanins, les tanins condensés sont absents ou sous forme de traces. Les teneurs en saponines varient entre 5 et 6,4 %. (**Makkar et Becker, 1996 ; Richter *et al.*, 2003 ; Siddhuraju et Becker, 2003 ; Tchiégang et Kitikil, 2004**).

I.1.6 Quelques Utilisations de *Moringa oleifera* Lam.

Moringa oleifera Lam., arbre tropical est passé en une décennie, du statut de plante marginale à celui de nouvelle ressource alimentaire et économique permettant ainsi une utilisation multiple de cette plante (**Atakpama *et al.*, 2014**).

- **Médecine traditionnelle**

Les nombreuses applications médicinales du Moringa lui ont valu le nom d'«arbre à miracles ». Toutes les parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle (**Garima *et al.*, 2011**).

L'utilisation de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. a montré son efficacité à prévenir la malnutrition chez les enfants (**Ndong *et al.*, 2007**) et même chez les sujets atteints du VIH (**Tete–Benissan *et al.*, 2012**), celle-ci constitue un complément alimentaire tout en se positionnant comme un produit tonifiant, fortifiant et stimulant du système immunitaire.

Les feuilles sont reconnues pour traiter le diabète et pour contrôler la tension artérielle. Elles présenteraient un effet antibactérien, anti-inflammatoire et aussi antifongique (**Anwar *et al.*, 2007**). Elles sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires et infectieuses. Elles interviennent aussi en cas de désordres gastro-intestinaux, cardiovasculaires et hépatorénaux. Les feuilles de *Moringa oleifera* Lam. interviennent dans la régulation des problèmes thyroïdiens et ont des activités tumorales et radio-protectrices. Elles sont utilisées pour apaiser la souffrance des diabétiques et des obèses et le P-carotène des feuilles du Moringa a démontré plus d'efficacité sur l'organisme que la vitamine A synthétique (**Fakurazi *et al.*, 2008 ; Ngong *et al.*, 2007 ; Nambiar , 2001**).

- **Alimentation et nutrition humaine**

Moringa oleifera Lam. est un légume exceptionnellement nutritif. Il est facile à cultiver et à entretenir, il fournit des aliments nutritifs, en particulier aux communautés pauvres, tout au long de l'année, plutôt que d'être saisonnier comme le sont la plupart des légumes (**Ravindra et al., 2016**).

Les feuilles, les fruits, les jeunes tiges, les racines et les fleurs sont consommables et se consomment partout dans le monde. Les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (**Broin, 2005**) et même associées aux épices comme le piment. Elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade selon (**Foidl et al., 2001**).



Figure 9 Utilisation de la Poudre et les feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (**Site1**)

- **Industrie**

Grâce à ses propriétés, l'huile de *Moringa oleifera* Lam. est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine (**William et al., 2012**), comme l'horlogerie (pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante). Elle est également intéressante dans l'industrie cosmétique et de parfums (**Foidl et al., 2001**). Le bois de *Moringa* constitue aussi une excellente pâte à papier (**Price, 2007**).

- **Apiculture**

Moringa oleifera Lam. est une Plante mellifère, les fleurs sont riches en nectar, ce qui constitue une source constante pour les abeilles tout au long de l'année. Le miel produit est pur, avec un goût merveilleux et un arôme distinctif qui attire les consommateurs (**Malo, 2014**)

- **Cosmétiques et produits de beauté**

Selon (Foidl *et al.*, 2001), l'huile de *M. Oleifera* Lam. est utilisée dans l'industrie des cosmétiques et des parfums pour stabiliser les odeurs en raison de sa qualité supérieure. La teneur en acide gras libres varie de 0,5 à 3%

- **Purification d'eau**

Selon (Foidl *et al.*, 2001), la poudre des graines de *M. Oleifera* Lam. constitue un floculant naturel qui peut clarifier les eaux troubles, dissipant de ce fait 99% des matières colloïdales. Il a démontré également que ce mélange de graines constitue un coagulant de premier ordre pour le traitement de l'eau des rivières possédant un haut niveau de matériel solide en suspension.



Figure 10 Utilisation des graines de *M. Oleifera* Lam. dans la purification d'eau (Site2).

- **Accélérateurs de croissance végétale**

L'extrait à l'éthanol à 80% obtenu à partir des feuilles de *M. Oleifera* Lam. contient des facteurs de croissance (hormones de type cytokinine). Cet extrait peut être utilisé en aspersion sur les feuilles pour accélérer la croissance des jeunes plantes. Cette phytohormone augmente aussi la robustesse des plantes et leur résistance aux maladies. Par ce traitement, les fruits sont plus abondants et plus gros, ce qui augmente le rendement des arbres lors de la récolte. L'utilisation de cet extrait permet d'augmenter globalement les rendements de 20 à 35% (Foidl *et al.*, 2001).

I.1.7 Importance socio-économique :

Moringa Oleifera Lam. est l'un des arbres tropicaux les plus utiles. Il se propage relativement facilement, aussi bien de manière végétative que sexuée, et il est peu exigeant en eau et matières minérales. Ainsi, sa production et son entretien sont aisés. L'introduction de cette plante au sein d'une ferme dans un environnement riche en biodiversité peut être bénéfique à la fois pour l'exploitant et pour l'écosystème environnant. Presque toutes les parties de la plante ont des intérêts nutritionnels d'où l'importance socioéconomique dans la région agro-écologique (Patel *et al.*, 2010).

I.2 Activités biologique de Moringa

Les 13 espèces *M. Oleifera* Lam. ont chacune des propriétés médicinales assez intéressantes. L'espèce *M. Oleifera* Lam. est la plus étudiée, notamment en Asie, en Afrique et en Amérique pour ses multiples attributs. Les chercheurs reconnaissent à la plante entière la présence de propriétés bactéricides et elle est utilisée aussi bien en pharmacopée qu'en médecine moderne. Le jus de la racine détruit des tumeurs et guérit des ulcères. Il a été également rapporté que les organes de *M. Oleifera* Lam. possèdent des activités anti-inflammatoires, antalgiques, antifongiques, antidiabétique et hépatoprotectrice (Anwar *et al.*, 2007).

I.2.1 Activité hépatoprotectrice

Les extraits aqueux et alcooliques de fleurs de *M. Oleifera* Lam. ont également montré un effet hépatoprotecteur significatif, qui peut être dû à la présence du flavonoïde bien connu ayant une activité hépatoprotectrice (Anwar *et al.*, 2007). La racine de *M. Oleifera* Lam. contient 6,33% d'extrait d'éther, 5,02% de protéines brutes, 76,65% d'extraits sans azote, 4,97% de cendres et 6,93% d'humidité et elle est riche en arginine et en lysine alors qu'elle est faible en thiamine, riboflavine et histidine (Igwilo *et al.*, 2014).

Diverses études ont signalé que les extraits éthanoliques des graines et des feuilles de *M. Oleifera* Lam. possèdent une action hépatoprotectrice. En effet, (Pari et Kumar, 2002) ont évalué l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique des feuilles de *M. Oleifera* Lam. sur les lésions hépatiques induites par les médicaments antituberculeux comme l'isoniazide, la rifampicine et la pyrazinamide chez les rats. Ainsi, l'administration par voie orale de l'extrait a montré une importante action protectrice rendue évidente par

son effet sur les niveaux de l'alanine aminotransférase, de l'aspartate aminotransférase, de la phosphatase alcaline et la bilirubine dans le sérum, aussi sur les niveaux de lipides et de peroxydation des lipides dans le foie. Cette observation a été complétée par un examen histopathologique du foie. Les extraits de racine et de la fleur ont également montré une activité anti hépatotoxique (**Ruckmani et al., 1998**). L'extrait de graines de *M. Oleifera* Lam. exerce aussi un effet hépatoprotecteur.

I.2.2 Propriétés antibactériennes

Les graines de *M. Oleifera* Lam. peuvent fournir une thérapie alternative pour les maladies causées par des bactéries multirésistantes. Une étude réalisée par (**Costa et al., 2017**), visait à évaluer la bioactivité in vitro des extraits des graines de *M. Oleifera* Lam. contre des vibrions isolés de la crevette marine *Litopenaeus vannamei*.

Les bactéries du genre *Vibrio* sont omniprésentes dans le milieu marin et font partie du microbiote des invertébrés marins (**Costa et al., 2017**).

Certaines espèces sont reconnues comme des pathogènes humains présentant un profil antimicrobien virulent et multirésistant, souvent associés à des maladies telles que le choléra et la gastro-entérite aiguë. Les extraits de graines de *M. Oleifera* Lam. sont bioactifs contre 92% des souches. Les niveaux de concentration minimale inhibitrice (CMI) les plus efficaces des extraits contre un pourcentage élevé de souches ont été estimées à 32 µg mL⁻¹. Les substances vibriocides (la niazirine et la niazimicine) ont été identifiées et isolées (**Costa et al., 2017**).

I.2.3 Propriétés anti-inflammatoires et antalgiques

Les graines de *M. Oleifera* Lam. ont été décrites comme possédant des propriétés anti-inflammatoires, les composés phytochimiques dérivés des graines associés à ces bioactivités comprennent les glucosinolates (GL), isothiocyanates (ITC), nitriles, carbamates et thiocarbamates. Les GLs (glucosinolates) stockés dans les graines, subissent une conversion enzymatique par l'enzyme myrosinase (une β-thioglycosidase), formant des ITC, ces ITC sont connus pour leurs effets anti-inflammatoires, (**Jaja-Chimedza et al., 2017**).

I.2.4 Propriétés antifongiques

M.oleifera-Chiting Bending Protein 3(Mo-CBP3), est une protéine antifongique produite par *M. Oleifera* Lam. qui a été étudiée comme un candidat potentiel pour le développement de cultures transgéniques, cette protéine (Mo-CBP3) liant la chitine inhibe la germination et la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes (**James et Zikankuba, 2017**). La Mo-CBP3 est hautement thermostable et résistante aux changements de pH, de nature glycoprotéique, qui inhibe la germination et la croissance fongique de *Fusarium solani* et d'autres champignons, et peut donc être utile dans le développement de nouveaux médicaments antifongiques ou de cultures transgéniques résistantes aux champignons phytopathogènes (**Batista et al., 2014 ; Freire et al., 2015**). Egalement la CBP supplémentaire, appelée Mo-CBP2 c'est une autre protéine qui à la capacité d'augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire et à induire la production endogène d'espèces réactives de l'oxygène chez *C. albicans* , présentait une activité antifongique contre les espèces de *Candida* (**Neto et al., 2017**).

I.2.5 Activité antidiabétique

Les chercheurs ont mené des études visant à tester l'effet stimulateur de poudre de graines de *Moringa* sur le diabète de type I et à traiter la néphropathie diabétique des rats mâles diabétiques induits par la streptozotocine (**Al-Malki et El Rabey, 2015**).

Le traitement des rats diabétiques avec 50 ou 100 mg de poudre de *Moringa* par kg de poids corporel, améliore les niveaux de tous les paramètres approchant les valeurs témoins négatives et rétabli l'histologie normale du rein et du pancréas par rapport au groupe témoin diabétique positif non traité qui a montré une augmentation du peroxyde de lipide et de l'IL-6, et aussi a révélé que les immunoglobulines (IgA, IgG), la glycémie à jeun et l'hémoglobine glycosylée (HbA1c) ont également augmenté à la suite du diabète chez les rats (**Al-Malki et El Rabey, 2015**).

I.2.6 Activité immuno-modulatrice

L'action immuno-modulatrice de l'extrait méthanolique de *M. Oleifera* Lam. a été étudiée dans un modèle expérimental de l'immunité. Les tests d'adhésion des neutrophiles, la neutropénie induite par la cyclophosphamide et le dosage de la clairance du carbone ont été utilisés pour étudier l'immunité cellulaire.

L'immunité humorale a été testée par le test de létalité chez les souris, l'estimation des niveaux d'immunoglobulines dans le sérum et le dosage indirect de l'hémagglutination chez les animaux. L'étude a montré que *M. Oleifera* Lam. stimule à la fois le système immunitaire à médiation cellulaire que celui à médiation humorale à des doses inférieures (Sudha *et al.*, 2010).

I.2.7 Activités anti tumorales et anticancéreuses :

Makonnen *et al.* (1997) ont trouvé que les feuilles de *M. Oleifera* Lam. étaient une source Potentielle d'activité anti tumorale. Les extraits de graines se sont également révélés efficaces Sur les enzymes hépatiques métabolisant des carcinogènes. Une étude réalisée par (Abd-Rabou *et al.*, 2016), visait à explorer les impacts anticancéreux de la nano-micelle de l'huile de graine de *M. Oleifera* Lam. (Mon) en étudiant si elle favorise la mort cellulaire médiée par l'apoptose mitochondriale sur différentes lignées cellulaires cancéreuses in vitro. L'étude a montré que Mon a déclenché la cytotoxicité du cancer colorectal par un dysfonctionnement et l'apoptose mitochondriale, tout en épargnant les cellules normales avec un effet cytotoxique minime. Cette étude a conclu que la nanomicelle de l'huile de graines de *M. Oleifera* Lam. peut fournir une nouvelle approche thérapeutique pour les cancers colorectaux et mammaires via l'apoptose mitochondriale, tout en épargnant les cellules normales (Al-Asmari *et al.*, 2015; Abd-Rabou *et al.*, 2016; Adebayo *et al.*, 2017 ; Kou *et al.*, 2018).

I.2.8 Propriétés anti-hypertensives

D'après les enquêtés, des patients hypertendus traités par la décoction des feuilles fraîches de *M. Oleifera* Lam. ou la poudre ou les graines ont eu une normalisation progressive de leur tension artérielle. (Faizi *et al.*, 1994) ont antérieurement démontré le potentiel anti-hypertensif de l'huile de *M. Oleifera* Lam. chez des rats. (Chumark *et al.*, 2007 et Jaiswal *et al.*, 2009) ont examiné le potentiel thérapeutique des feuilles sur la dyslipidémie chez des lapins. Ces études ont permis de valider l'utilisation des feuilles dans la prévention des maladies cardio vasculaires. Dans la même optique, (Nambiar *et al.*, 2010) ont prouvé son potentiel anti-dyslipidémique chez les humains hyperlipidémiques.

I.2.9 Propriétés anti-hyper-glycémiques

L'utilisation de *M. Oleifera* Lam. en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète est confirmée par plusieurs études. Ces études ont confirmées les propriétés hypoglycémiantes des extraits de feuilles sur des rats (Ghasi *et al.*, 2000 ; Kumari, 2010) et chez des patients atteints de diabète de type II (Kumari, 2010; Giridhari *et al.*, 2011). Par ailleurs l'action hypoglycémiante chez les patients diabétiques de type II suite à une consommation des feuilles sur une période de 40 jours est rapportée par l'étude de (Kumari, 2010).

I.2.10 Effets antispasmodique, antiulcéreux et hépatoprotecteur

La fraction méthanolique de l'extrait des feuilles de *M. Oleifera* Lam. montre une activité antiulcéreuse et un effet hépatoprotecteur chez des rats (Pal *et al.*, 1995). Les racines de *M. Oleifera* Lam. possèdent aussi une activité hépatoprotectrice. Les extraits aqueux et éthanoliques des fleurs de *M. Oleifera* Lam. ont présenté une activité hépatoprotectrice significative (Ruckmani *et al.*, 1998).

- Les catégories de maladies dans lesquelles on utilise le plus souvent *M. Oleifera* Lam. sont les maladies infectieuses (18,18%), viennent ensuite les infections digestives (11,36%) (CAMES, 2014)

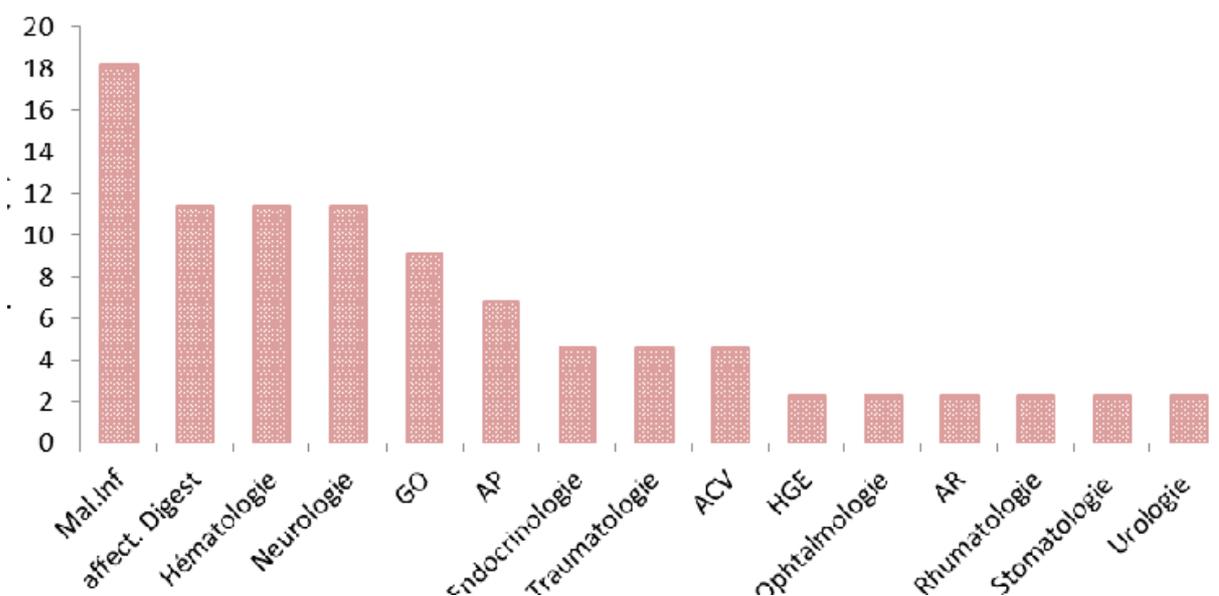


Figure 11 Catégories de maladie (Site 3)

Chapitre II : Métabolisme secondaire

Chapitre II : Métabolisme Secondaire

II.1 La Phytothérapie et les Plantes médicinales :

II.1.1 La phytothérapie

De tout temps, l'Homme a puisé dans la nature les éléments nécessaires à sa subsistance, quelque soit par ailleurs le degré d'évolution de la société à laquelle il appartient. Entouré de milliers d'espèces végétales, l'Homme n'a d'abord cherché à connaître celles-ci que par rapport à lui : comestibles, remèdes, toxiques, etc. Ainsi, il apparaît bien que la connaissance des plantes, l'expérience des soins médicaux constituaient au même titre que le savoir nutritionnel, une science de nécessité. Une science patiemment élaborée au fil de générations entières d'Hommes, en vagues interrompues, une science de survie dans la lutte incessante des forces vivantes **(Bellakhdar, 2006)**.

La phytothérapie puise ses racines dans les origines les plus anciennes de l'art de guérir. Retracer les différentes étapes de l'histoire de la pharmacie permet d'apprécier la place des plantes médicinales dans la construction de la thérapeutique. Conjointement aux nouveaux acquis de l'humanité, les deux disciplines se sont progressivement développées. Les progrès techniques ont finalement conduit à une utilisation de la plante médicinale en tant que matière première pour la production de médicaments. Ces derniers sont néanmoins coûteux, et l'usage traditionnel de la plante médicinale persiste dans la thérapeutique populaire, au travers des guérisseurs et des vendeurs de simples **(Sophia, 2015)**.

Depuis deux décennies environ, chaque année, des milliers de plantes utilisées localement par les tradipraticiens arrivent de toutes les régions de monde pour être analysées et testées dans les laboratoires des universités et des grandes sociétés pharmaceutiques **(Bellakhdar, 2006)**.

Actuellement, on a recensé à travers le monde plus de 20000 plantes médicinales et aromatiques utilisées dans les différents pays **(Hmamouchi, 1999)**.

Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins **(Hans, 2007)**. Selon OMS (Organisation Mondiale de la Santé) plus de 80% de la population mondiale, surtout dans

les pays sous-développés, ont recours au traitement traditionnel pour faire face aux problèmes de la santé et de soins primaires (**Farnsworth, 1994**).

II.1.2 Les plantes médicinales

Une plante médicinale est définie comme une drogue végétale au sens de la Pharmacopée européenne .

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine (**Dutertre, 2011**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle (MTR) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires et secondaires ou de la synergie entre les différentes composées présents (**Sanago, 2006**).

Aujourd'hui, elles sont la base de la phytothérapie et l'homéopathie. Il existerait plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter (**Jean-Michel, 2012**).

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

Elles continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante de système sanitaire moderne (**Boumediou et Addoun, 2017**).

II.2 Généralités

Les plantes produisent divers composés organiques, dont la grande majorité ne semble pas participer directement à leurs croissance et développement. Ces substances traditionnellement appelées métabolites secondaires, sont souvent distribuées différemment parmi des groupes taxonomiques limités dans le règne végétal (**Hanson, 2003**). Ils sont responsable des activités biologiques des plantes médicinales (**Croteau et al., 2000; Hanson, 2003**).

Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes, etc... Ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux **(Bourgaud, 2013)**.

Les métabolites secondaires sont produit à différents endroits de la cellule et emmagasinés surtout dans les vacuoles .Il sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre. En outre, leur concentration dans la plante varie souvent dans de grandes proportions au cours d'une période de 24 heures **(Raven et al., 2003)**.

Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc...) et abiotiques (UV, température, etc...). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes), mais a été relativement peu exploité pour ce qui concerne le développement de variétés résistantes **(Djermane, 2013)**.

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale. Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs sur les 30 dernières années, tel que le Taxotère ou la Vinorelbine, utilisés dans le traitement de certains cancers **(Bourgaud, 2013)**.

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité **(Hartmann, 2007)**. Ils sont classés en plusieurs composants chimiques dont les plus répandus sont : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes **(Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006)**.

II.3 Les polyphénols

II.3.1 Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun: la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

Les polyphénols sont les antioxydants les plus présents dans la nature et aussi dans nos assiettes. Ils permettent aux plantes de se défendre contre les phénomènes d'oxydation, certaines agressions extérieures et contre le pourrissement (**Menat, 2006**).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) à des proportions variables. Les plus représentés sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tanins (**Lugasi *et al.*, 2003**).

Les composés phénoliques font l'objet de nombreuses recherches en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussés en raison de leurs diverses propriétés et rôles biologiques :

Chez les végétaux :

Les composés phénoliques participent à deux principaux processus de l'activité des plantes : la photosynthèse et la respiration. De plus, ils interviennent dans d'autres processus tels que : la croissance, la germination, la morphogénèse des tiges et dans le processus de lignification (**Merghem, 2009**). Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes, lutte contre les prédateurs... (**Moheb *et al.*, 2011**).

Chez l'homme :

Les polyphénols présents dans les aliments consommés, sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines de faible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire et de stabiliser les cellules immunitaires (**Martin et Andrantsitohaina, 2002**). Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, anti- agrégants

plaquettaires, anti-inflammatoires, anti-allergènes, anti-thrombotiques et antitumoraux (**Hanhineva, 2010**).

II.3.2 Biosynthèse des composés phénoliques :

La biosynthèse des phénols naturels des plantes est principalement issue de deux voies : la voie du shikimate et la voie de l'acétate malonate (**Chavez, 1996**).

- La voie du shikimate ou de l'acide shikimique, qui est aussi responsable de la biosynthèse des acides aminés, conduit à la formation des acides benzoïques, acétophénones, lignanes, lignines et coumarines. La biosynthèse de ces composés a lieu après désamination de deux acides aminés précurseurs : phénylalanine et tyrosine (**Bruneton, 1993**). Cette désamination donne des acides hydroxycinamiques dont les esters CoA, qui sont à leur tour à l'origine de ces composés phénoliques cités ci-dessus (**Macheix, 1996**).
- La voie d'acétate malonate consiste à réaliser un ensemble de noyaux aromatiques par cyclisation de chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétates. Ceci ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl-CoA en Malonyl-CoA (**Merghem, 2009**). Cette voie utilise comme précurseur l'acide acétique activé sous forme d'acétyl~S-coenzyme A. Le couplage des unités acétates conduit à la formation des poly-3-cétoesters qui, après cyclisation, donnent naissance aux composés mono ou polycycliques. Les flavonoïdes sont issus de cette voie (**Birch et Donovan, 1953**).

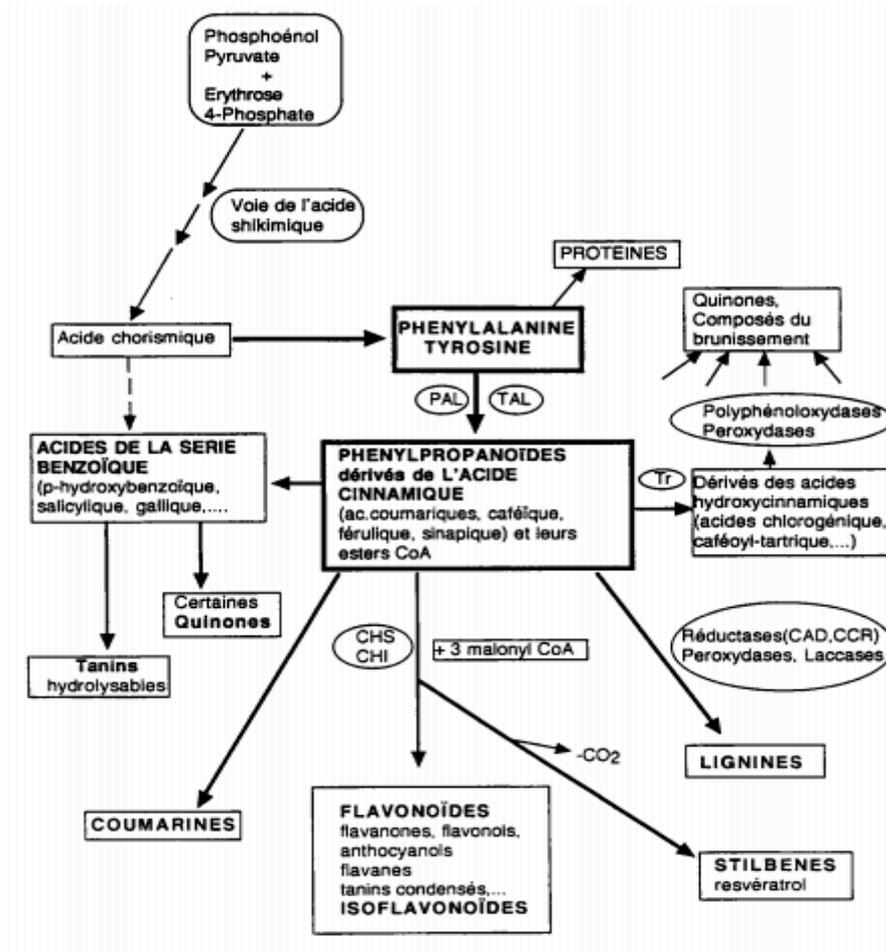


Figure 12 Les Grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques (Site4).

II.3.3 Classification des polyphénols

Les composés phénoliques (ou polyphénols) représentent un groupe de métabolites secondaires complexe comportant plusieurs familles: dérivés des acides benzoïque et cinnamique, flavonols, flavones, isoflavanones, flavanes, flavanones, chalcones, aurones et stilbène. Certains sont des précurseurs de polymères pariétaux, comme la lignine et la subérine. D'autres sont des polymères intracellulaires tels que les tanins condensés et les tanins hydrolysables (Regnault-Roger *et al.*, 2008).

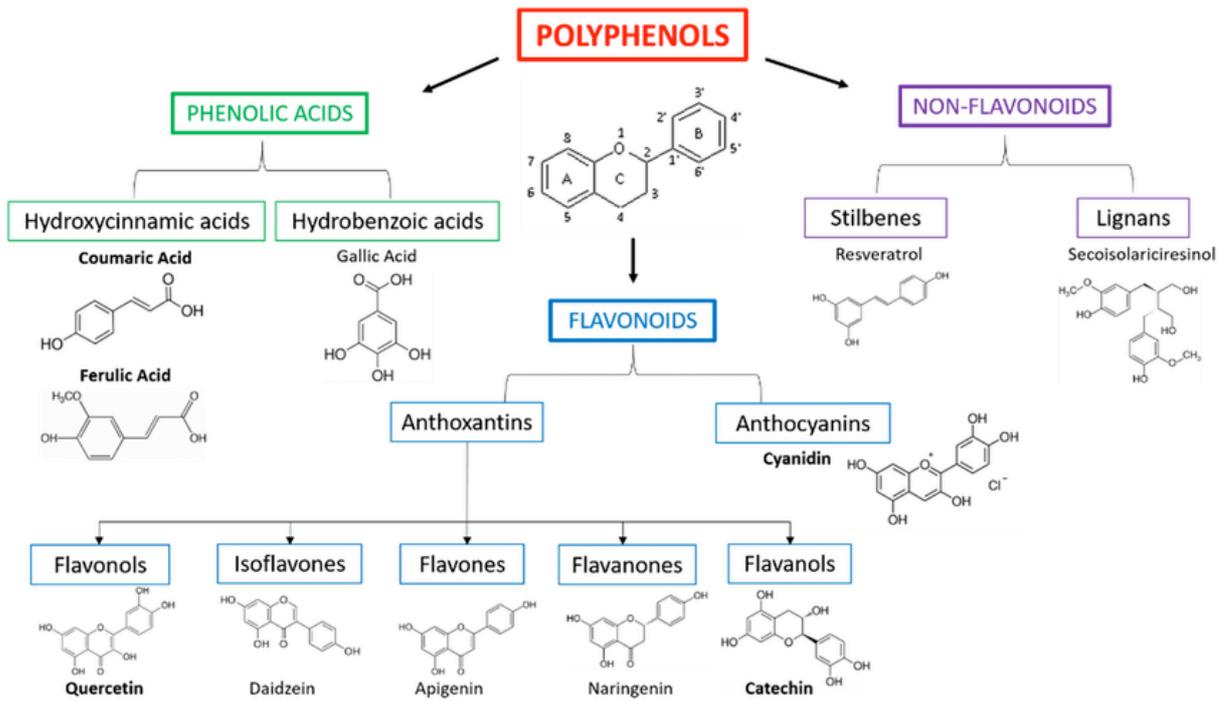


Figure 13 Classification des polyphénols (Site4).

II.3.3.1 Les acides phénoliques

Trois catégories de corps entrent dans ce groupe: les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines (Charnay et Tourmeau, 2006).

- Les acides benzoïques :

Les acides benzoïques sont les plus connus, ils sont très répandus dans le règne végétal (Charnay et Tourmeau, 2006).

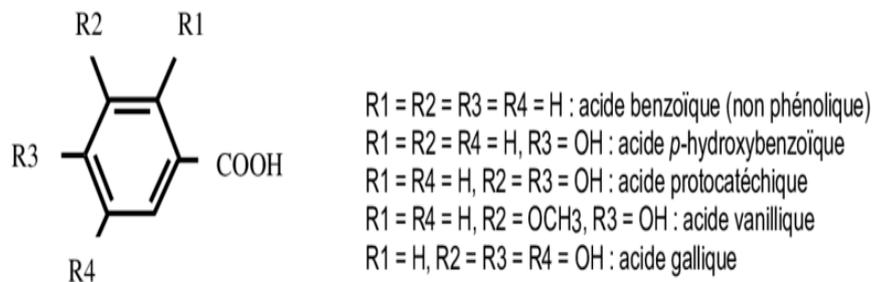


Figure 14 Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Site4).

- Les acides cinnamiques :

Les acides cinnamiques sont très répandus dans les végétaux, On signale en particulier: l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide 3, 4, 5 trihydroxycinnamique (**Charnay et Tourmeau, 2006**).

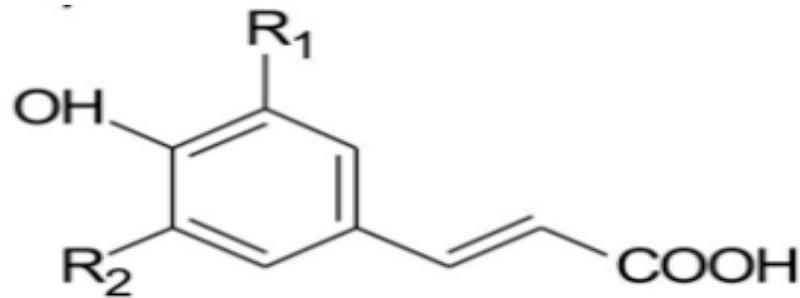


Figure 15 Structure chimique d'hydroxycinnamique acide (**site4**).

II.3.3.2 Les flavonoïdes (C6-C3-C6)

II.3.3.2.1 Définition

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires ; Ils constituent des pigments responsables des colorations jaunes, oranges et rouges de différents organes végétaux.

Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1% des fruits frais) et les légumes, des boissons telles que le vin rouge (les raisins), le thé, le café et la bière (l'orge), en contiennent également des quantités importantes. Ils sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales (**Derbel et Ghedire, 2005**).

II.3.3.2.2 Structure et classification

Les flavonoïdes sont constitués de cycles benzoïques présentant plusieurs groupements hydroxyles et sont pour cette raison également nommés polyphénols (**Descheemaeker et Provoost, 1999**).

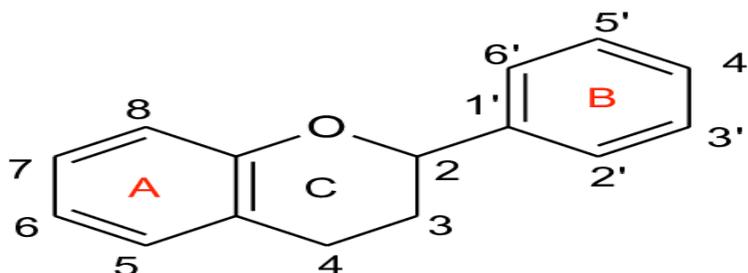


Figure 16 Structure de base des flavonoïdes (site4).

Les flavonoïdes dérivent de la flavone. Les structures des flavonoïdes sont constituées de deux anneaux de benzène séparés par une unité de propane. Ils sont généralement hydrosolubles. On les trouve généralement dans les plantes sous forme glycosylées. Les différentes classes dans le groupe se distinguent par des anneaux hétérocycliques contenant de l'oxygène et des groupes hydroxyles. Il s'agit notamment des chalcones, des flavones, des flavonols, des flavanones, des anthocyanines et des isoflavones (Williams et Grayer, 2004).

- **Anthocyanes**

Les anthocyanes sont des hétérosides oxygénés dont l'aglycone est appelé anthocyanidine. Les anthocyanes sont des sous classes des flavonoïdes au sens large dont la structure de base est l'ion flavylum. Ils sont des pigments naturels des feuilles, fruits et pétales. Ils sont impliqués dans la protection des plantes contre la lumière excessive par l'ombrage des cellules de la mésophile foliaire et ont également un rôle important dans l'attraction des insectes pollinisateurs (Crozier *et al.*, 2008).

Ils constituent un défi pour les biochimistes en raison de leurs importantes variations structurales et de la complexité de leurs biosynthèse (Harborne, 2013; Harborne et Williams, 2000).

Les anthocyanes sont connues pour leurs activités anti-inflammatoire, antioxydant (Szymanowska *et al.*, 2015) et cardioprotective (Zhang *et al.*, 2017).

Figure 17 Structure de base des anthocyanes (site4).

- **Flavan-3 ols**

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatechine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines. De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines (épicatechine gallate, épigalocatechine, épigalocatechine gallate) (Chira *et al.*, 2008).

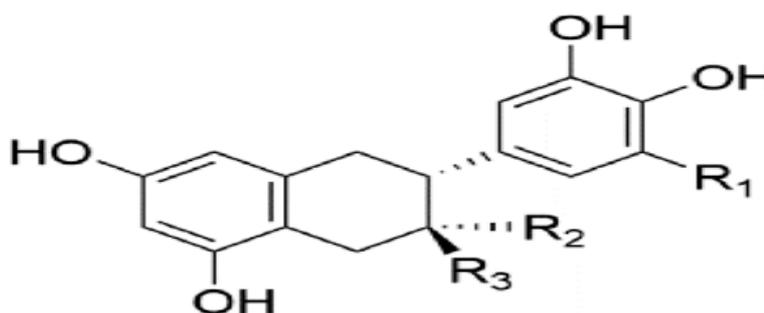


Figure 18 Structures chimiques de flavan-3-ols (site4).

- **Flavonols**

Les flavonols sont des sous-groupes de flavonoïdes possédant un hydroxyle phénolique en C3 et une fonction carbonyle en C4, Ils sont dispersés dans tout le règne végétal, à l'exception des champignons et des algues. La répartition et les variations structurales des flavonols sont très vastes (Fabre *et al.*, 2001; Mollavali *et al.*, 2016).

Les flavonols tels que la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol sont le plus souvent sous forme de O-glycosides (Strack *et al.*, 1992).

La liaison glycosidique se produit le plus souvent en position 3 du cycle C, mais des substitutions peuvent également se produire en positions 5, 7, 4', 3' et 5' du cycle carbone. (Crozier *et al.*, 1997).

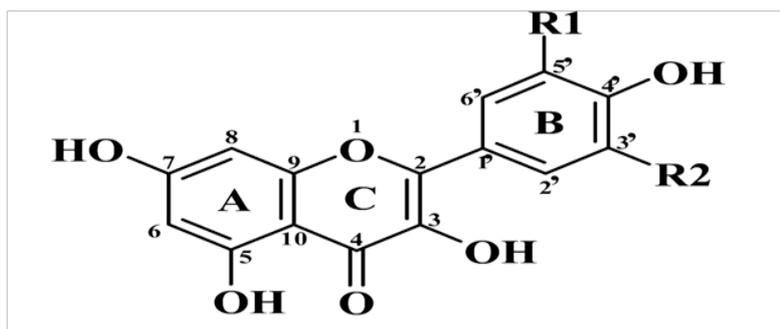


Figure 19 Structures chimiques des flavonols (site4).

- **Flavones**

Les flavones sont des sous familles des flavonoïdes dont la structure est basée sur la présence de la fonction carbonyle en C4, Ils ont une structure semblable à celle des flavonols sans le groupement hydroxyle en C3. Les flavones ont des propriétés antitumorales (Cabrera *et al.*, 2007).

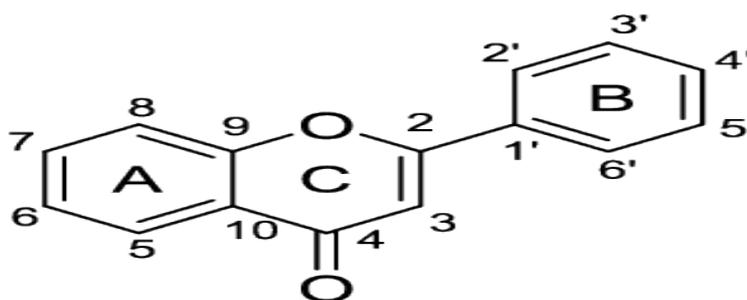


Figure 20 Générale structure de flavones (site4).

- **Flavanones**

Les flavanones sont une sous famille de flavonoïdes qui ont une structure similaire à celle des flavones mais sans la double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C (Lee *et al.*, 2004 ; Zhishen *et al.*, 1999). C'est la classe qui a plus grand nombre de composés dans la catégorie des « flavonoïdes mineurs ».

Les flavanones sont très réactives et peuvent subir des réactions d'hydroxylation, de glycosylation et d'O-méthylation. Les flavanones sont des composants alimentaires présents dans les agrumes. La flavanone glycosylée la plus courante est l'hespérétine-7-O-rutinoside (hespéridine) qui se trouve dans les écorces d'agrumes (Crozier *et al.*, 2008).

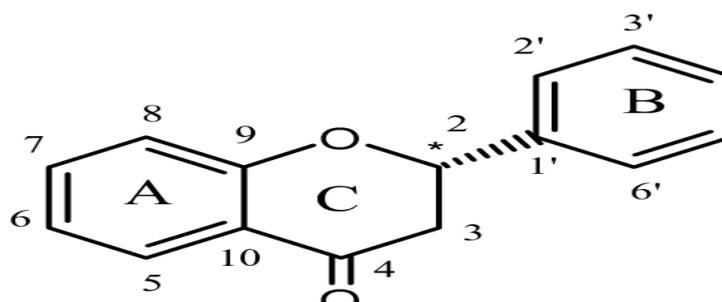


Figure 21 Structure de base des flavanones (site4).

- **Isoflavonoïdes**

Les isoflavonoïdes sont des isomères des flavonoïdes. Elles sont caractérisées par le fait que le cycle B est attaché au cycle C en position 3 plutôt qu'en position C2 (Crozier *et al.*, 2008).

Les isoflavonoïdes possèdent un squelette flavanoïde réarrangé (fig. 22). Une variété de modifications structurales de ce squelette conduit à une grande classe de composés qui comprend les isoflavones, les isoflavanones et la roténone. Les isoflavonoïdes sont des composés spécifiques de la famille des Fabacées (Crout et Geissman, 1969).

Ces composés présentent des activités œstrogénique, insecticide et antifongique (Cornwell, 2004), en plus d'une activité antifongique (Rivera-Vargas *et al.*, 1993). Cependant certains isoflavonoïdes sont des poisons puissants.

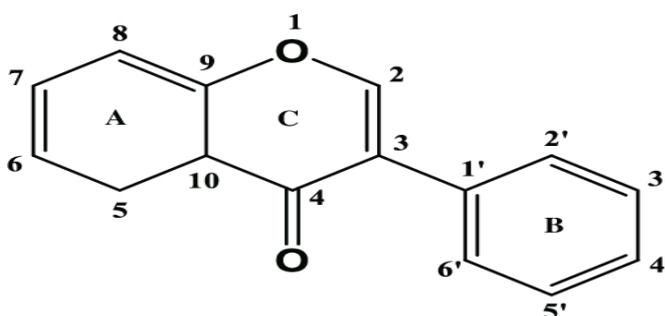


Figure 22 Structure et numérotation du squelette des isoflavones (site4).

II.3.3.3 Les tannins

II.3.3.3.1 Définition

Ce sont des composés phénoliques hydrosolubles, capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter (**Silanikove *et al.*, 2001**).

C'est une classe nommée, le groupe des substances phénoliques polymériques, qui ont une masse moléculaire dans l'intervalle de 500 et 3000, ou ils présentent en parallèle des réactions ordinaires des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Haslam, 1996 ; Cowan, 1999**).

Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (**Scalbert, 1991**).

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

II.3.3.3.2 Classification

Deux groupes de tannins différents sont distingués par leur structure et par leur source biogénétique:

- **Les tanins hydrolysables :**

Sont des dérivés de l'acide gallique ; ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est généralement le D-glucose, l'acide phénol et soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (**Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999**).

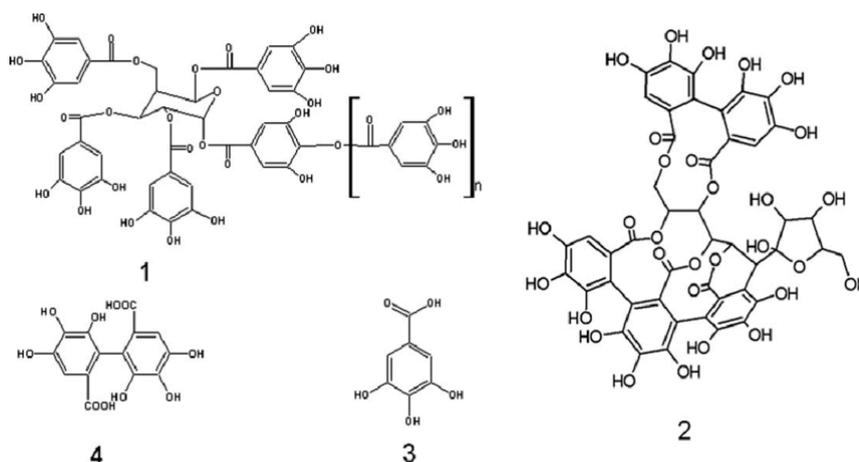


Figure 23 Structure chimique d'hydrolysable tanins : gallotannin (1), ellagitannin (2), gallic acid (3), hexahydroxydiphenic acid (HHDP) (4) (site4).

- **Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols :**

Sont différentes des tannins hydrolysables à cause de l'absence de sucre dans leur molécule de même leur structure est voisine avec celle des flavonoïdes. C'est des polymères flavaniques dans leurs constitutions : unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ne sont que des cas isolés ou identifiés dans tous les végétaux groupes, Gymnospermes et Fougères (**Bruneton, 1999**).

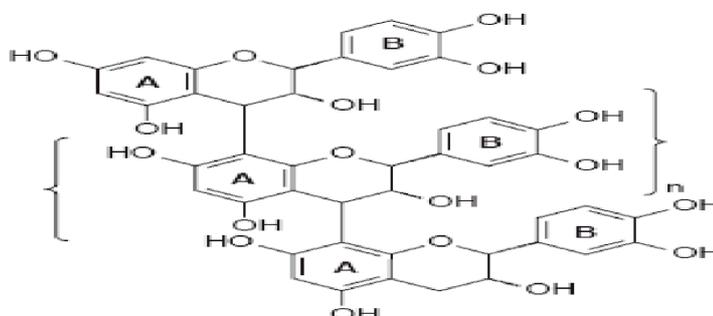


Figure 24 Structure de base des tanins condensés (site4).

II.3.3.4 Les coumarines :

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranone-2 (Fig. 24). Certaines familles d'Angiospermes élaborent des structures très variées : Fabaceae, Asteraceae et surtout Apiaceae et Rutaceae chez lesquelles sont rencontrées les plus complexes (**Brennton, 1993**).

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**). Ils sont connus par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives; ils sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez et Estevez, 1997**), se sont des toniques veineux aux propriétés anticoagulantes (au niveau du coeur) (**Lucienne, 2010**).

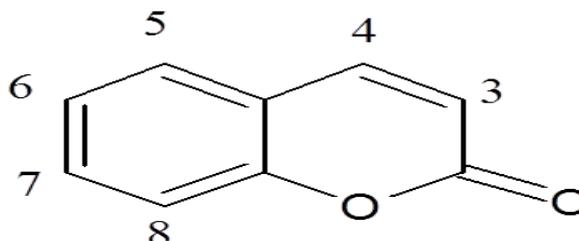


Figure 25 Structure chimique des coumarines (**site4**).

II.3.3.5 Les quinones :

Les quinones: ou la benzoquinone ($C_6H_4O_2$), C'est l'un des deux isomères de la cyclohexadienedione. L'orthobenzoquinone est la 1,2-dione, alors que la parabenzoquinone est la 1,4-dione. Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

Elles assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les être vivants, en particulier le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes (**Macheix et al., 2005**).

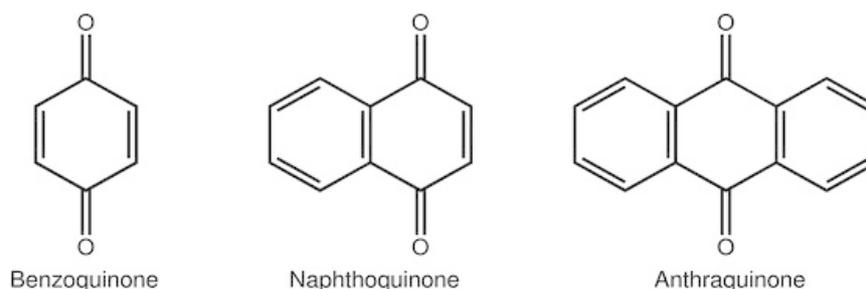


Figure 26 Structure des quinones (**site4**).

II.3.3.6 Stilbènes

Les stilbènes, de structure commune en C₆-C₂-C₆, avec les deux carbones du milieu possédant une double liaison. Ils sont des phytoaléxines, produites par les plantes en réponse à une attaque par des agents pathogènes fongiques, bactériens ou viraux. Le resvératrol est le stilbène le plus courant. Il se présente sur deux isomère cis et trans dans les tissus végétaux principalement sous forme de trans-resvératrol-3-O-glucoside, connu sous le nom de piceide ou polydatine. Une famille de polymères de resvératrol (les viniférines) existe également. Les principales sources de stilbènes sont les raisins, le vin, le soja et les produits de l'arachide. Le trans-resvératrol et son glucoside se retrouvent dans des quantités particulièrement élevées dans la plante d'Itadori (*Polygonum cuspidatum*), également connue sous le nom de Knotweed japonais (Burns *et al.*, 2002).

En Asie, la racine d'Itadori est séchée et infusée pour produire un thé. Elle est utilisée pendant des siècles au Japon et en Chine comme remède traditionnel pour de nombreuses maladies, y compris les maladies cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux (Kimura *et al.*, 1985). En effet, le trans-resvératrol peut inhiber l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) au stade initial de la pathogenèse de l'athérosclérose (Soleas *et al.*, 1997).

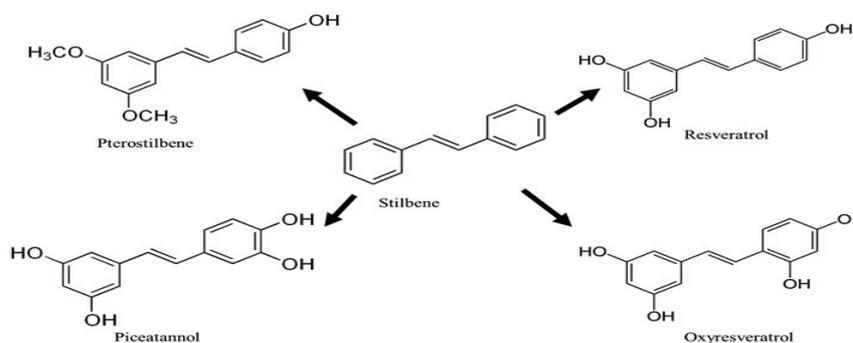


Figure 27 Structure chimique des stilbènes (site4).

II.3.3.7 Lignanes (C₆-C₃)₂ et lignines (C₆-C₃)_n

Les lignanes répondent à une présentation structurale de type (C₆-C₃)₂, résultant de la condensation de deux unités de phénylpropanes (C₆-C₃) liés par le carbone 8 (dimère de phénylpropanoïdes) (Sainvitu *et al.*, 2012).

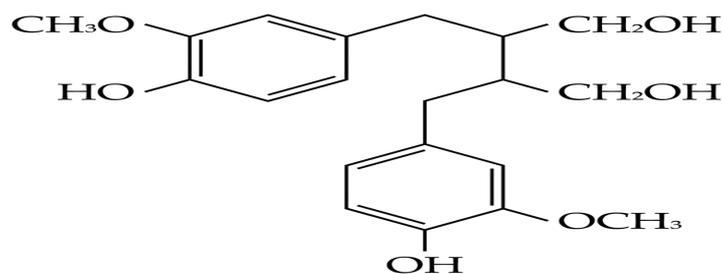


Figure 28 Structure chimique de lignanes (site4).

La lignine est un polymère fortement ramifiée d'une structure de type (C6-C3)_n formée par une polymérisation oxydative de trois alcools phénylpropéniques qui sont les alcools pcoumarique, coniférique et sinapique (Sakagami *et al.*, 2005). La lignine est considérée comme le second polymère le plus abondant après la cellulose, la figure 30 montre la structure d'une lignine (Scalbert et Williamson, 2000).

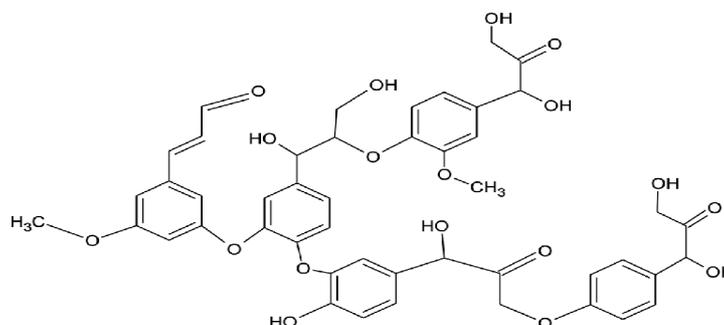


Figure 29 Structure chimique de lignine (site4).

II.4 Les Terpènes Et Terpénoïdes

II.4.1 Définition

Les terpènes, ou isoprénoïdes, sont l'une des classes les plus diverses de métabolites secondaires. Leur squelette carboné est constitué d'unités isopréniques reliées, c'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles. (Briemann *et al.*, 2006).

Ils sont des arômes et des parfums, des antibiotiques, des hormones végétales et animales, des lipides membranaires, des attracteurs d'insectes, des anti alimentaires et des médiateurs des processus essentiels de transport d'électrons (Crozier *et al.*, 2008).

II.4.2 Classification

les terpènes peuvent être classés en hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40).

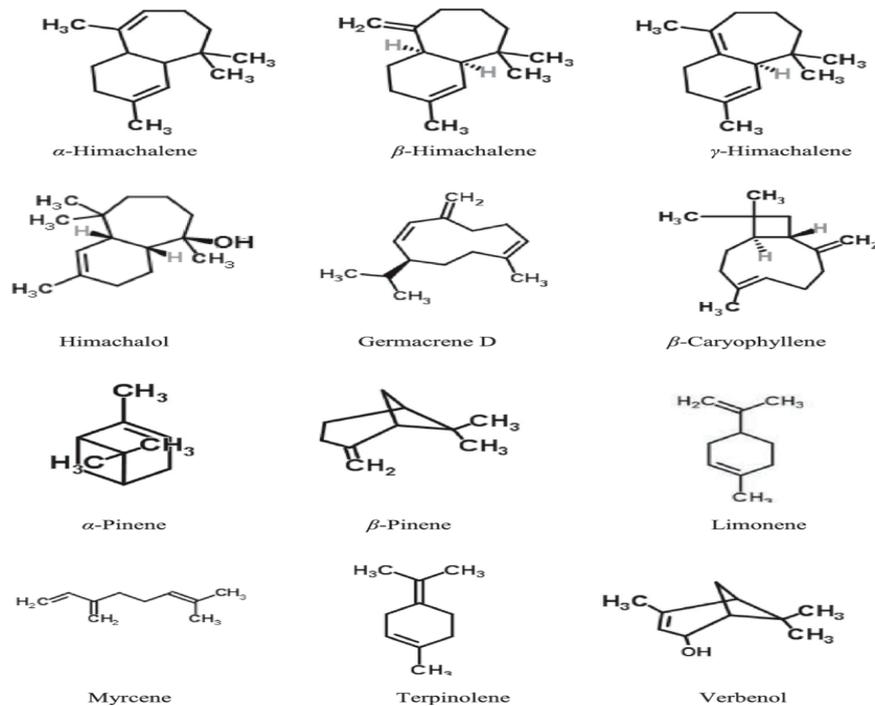


Figure 30 Structures moléculaires des terpènes (site4).

II.4.3 Stérols

Un stérol est un lipide possédant un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle. Pratiquement tous les stéroïdes végétaux sont hydroxylés en C-3 et sont en fait des stérols. Dans le règne animal, les stéroïdes ont une importance profonde comme hormones, coenzymes et provitamines. Cependant, le rôle des phytostérols est moins bien compris. Il est prouvé que certains des phytostérols sont efficaces contre les maladies cardiovasculaires (Kris-Etherton *et al.*, 2002).

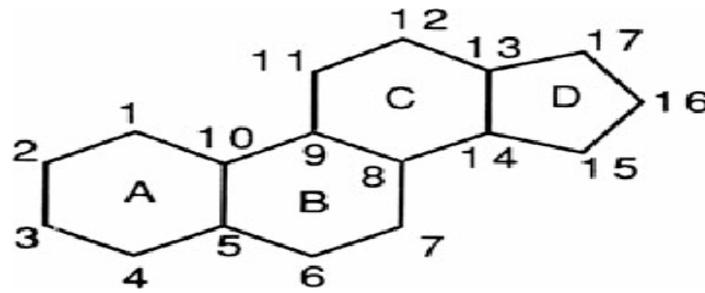


Figure 31 Structure basic de stérols (site4).

II.4.4 Saponines

Les saponines sont constituées de six unités d'isoprène et sont également dérivées du squalène. Les saponines sont des glycosides triterpéniques de poids moléculaire élevé, contenant un glycoside attaché à un stérol ou à d'autres triterpènes. Ils sont largement distribués dans les plantes et se composent de deux parties : la glycone (sucre) et l'aglycone ou le génine (triterpène) (Woitke *et al.*, 1970).

Typiquement, ils ont des propriétés détergentes, forment facilement des mousses dans l'eau. Ils ont également un goût amer et sont piscicides (toxiques pour les poissons). Beaucoup de plantes contenant des saponines ont été historiquement utilisées comme savons. Il s'agit notamment des savons de racine de *Chlorogalum pomeridianum*, d'écorce de *Quillaja saponaria*, de baie *Sapindus saponaria* et de noix de *Sapindus mukurossi* (Hostettmann et Marston, 2005, 1995).

Les aglycones peuvent être de la classe des alcaloïdes triterpènes ou des stéroïdes. Les saponines peuvent être mono- ou polydesmodiques, selon le nombre de fragments de sucre attachés. De nombreuses cyclases enzymatiques impliqués dans leur biosynthèse ont été récemment déterminés (Haralampidis *et al.*, 2002).

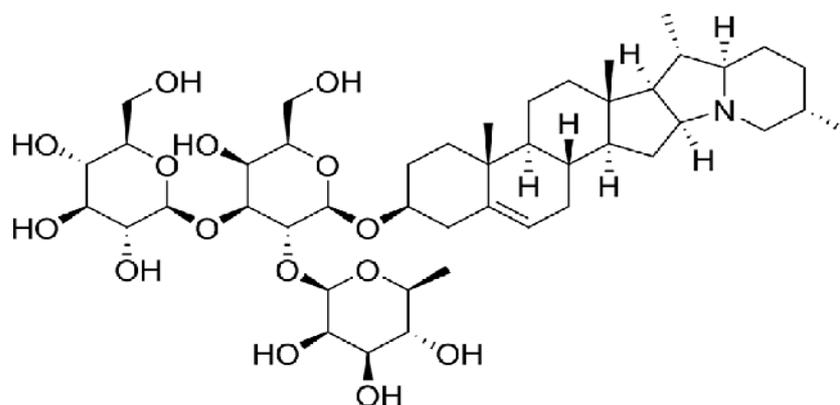


Figure 32 Structure chimique de saponine (site4).

II.5 Les alcaloïdes

II.5.1 Définition

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés à faibles poids moléculaires, contenant de l'azote dérivés principalement d'acides aminés et trouvés dans environ 20% des espèces végétales (**Roberts, 2013**). Ce sont des bases contenant de l'azote qui forment des sels avec des acides. Cette capacité à former des sels et à complexer des ions métalliques a aidé leur séparation et leur détection à l'époque avant la chromatographie (**Hanson, 2003**).

Les alcaloïdes jouent un rôle défensif dans la plante contre les herbivores et les agents pathogènes. En raison de leurs activités biologiques puissantes, bon nombre d'alcaloïdes connus ont été exploités comme produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et poisons (**Wink, 1998**).

Les alcaloïdes sont généralement regroupés sur la base du système cyclique présent. Plusieurs systèmes cycliques communs, tels que les systèmes indolizidine, quinolozidine (**Michael, 2003a, 2003b**), quinoléine, quinazoline et acridones (**Michael, 2004a, 2004b**) ont été étudiées, (**Herbert, 2003**).

Beaucoup d'alcaloïdes dérivent directement des acides aminés aromatiques, de la phénylalanine, de la tyrosine et du tryptophane. Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine etc...). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne) (**Kansole, 2009**).

II.5.2 Classification

On distingue :

Les pseudo-alcaloïdes: Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale: exemple la coniine.

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

Les alcaloïdes vrais que l'on classe suivant de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle; biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés; possèdent une activité pharmacologique marquée (Merghem, 2009).

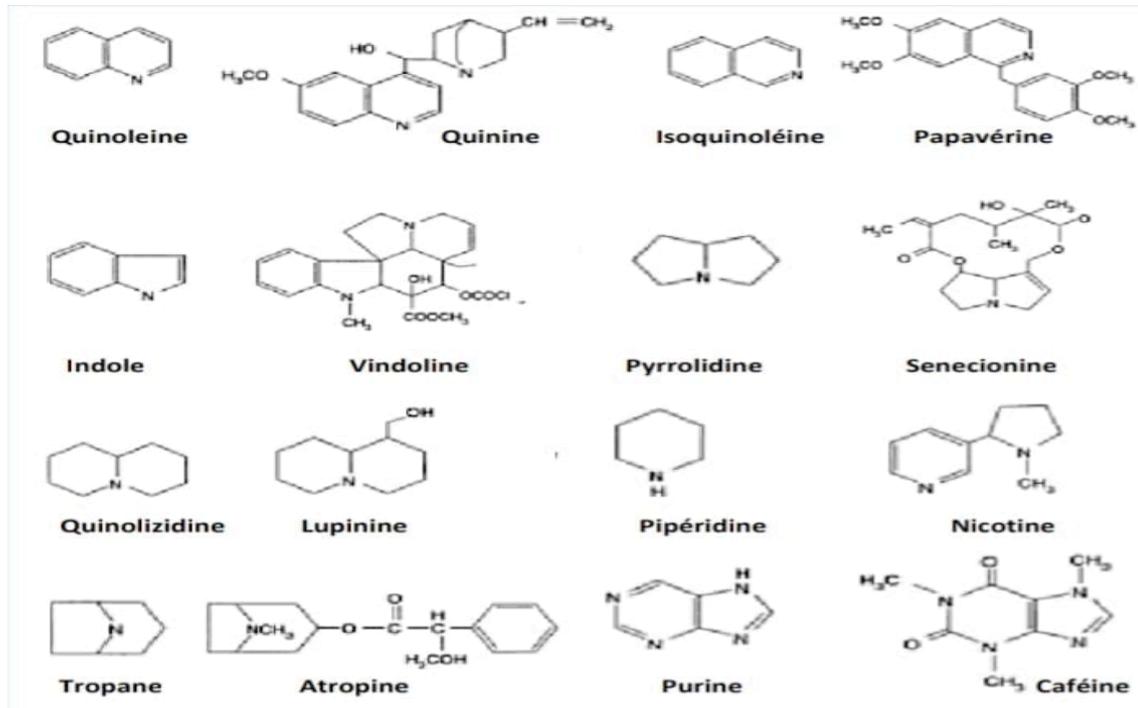


Figure 33 Classes et exemples d'alcaloïdes (site4).

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I. Matériels et Méthodes

I.1 Matériel végétal

Notre matériel végétal utilisé au cours de ce travail a été acheté sous forme de poudre sur lequel on a mentionné (échantillon des feuilles du moringa proviennent du Sahara algérien wilaya de Oued Souf ; Ferme Noryas MORINGA ; les feuilles ont été récoltées en 2021).



Figure 34 la poudre des feuilles du *Moringa oleifera* Lam. (site5)

I.2 Etude phytochimique :

I.2.1 .Extraction des composés phénoliques :

L'intégralité de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie du centre de recherche en sciences pharmaceutiques de Constantine (CRSP).

L'extraction des composés phénoliques est réalisé avec du Méthanol/Eau distillée (70/30) comme solvant d'extraction.

I.2.1.1 Macération

Principe :

La macération est une technique d'extraction solide-liquide qui permet d'extraire les substances chimiques du matériel végétal par solvant, à température ambiante, sous agitation magnétique ou mécanique.

Mode d'opération :

La macération consiste à émerger 100 g de poudre végétale dans 400 ml de méthanol pendant 48h à température ambiante, Ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre (la poudre végétale a été extraite trois fois sous agitation magnétique) .



Figure 35 Protocole de macération

I.2.1.2 Concentration à sec de l'extrait

Le filtrat est séché sous pression réduite à (40°C) à Evaporation rotative (Rota-vapeur), cet appareil permet d'éliminer rapidement un solvant volatil par évaporation. Le principe est basé sur l'abaissement du point d'ébullition avec la pression.

L'extrait obtenu a été conservé jusqu'à l'utilisation.

L'évaporateur rotatif est typiquement un appareil de laboratoire.

Il est constitué de différentes parties :

- Un bain-marie d'eau afin de chauffer la solution à concentrer
- Un ballon dont la forme est adapté.
- Un réfrigérant qui condense les gaz
- Un ballon réceptacle dans lequel les gaz condensés sont recueillis.
- Un dispositif qui fait tourner le ballon suivant son axe de symétrie afin de permettre une homogénéisation du milieu et une évaporation tranquille.

L'extrait résulte de cette manipulation est utilisé pour la CCM, les criblages, l'activité antibactérienne, l'activité antifongique.



Figure 36 Evaporateur à sec de l'extrait.



Figure 37 L'extrait obtenu à partir de l'extraction par méthanol 70% après séchage à sec.

I.3 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse des polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R\ (\%): 100\ M_{ext}/M_{éch}}$$

R: est le rendement en % ;

M_{ext}: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{éch}: est la masse sèche de l'échantillon de la plante en g.

I.4 Les criblages de métabolites secondaires

Cette partie du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie Appliquée de l' Université Constantine 1.

Le criblage phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des familles chimiques essentiellement tel que les composés phénoliques, les hétérosides notamment les saponosides, les composés azotés en particulier les alcaloïdes, les isoprénoïdes qui renferment les stéroïdes dans la plante étudié.

Ils sont basés sur :

- Réaction de coloration et de précipitation
- Examen sous la lumière ultraviolette.

I.4.1 Criblage des flavonoïdes

Le criblage des flavonoïdes se réalise a partir de l'extrait hydro-méthanolique de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. On utilise deux tubes (test de wilstater).

- Tube 1 : témoin
- Tube 2 : pour le test, on ajoute 0.5 ml d'extrait méthanoïque et 0.5 ml de HCL concentré plus 4 copeaux de Mg.

L'apparition de Coloration rouge indique la présence des flavonoïdes.

I.4.2 Criblage des anthocyanes

Le criblage des anthocyanes se réalise a partir de l'extrait hydro-métanolique On utilise 3 tubes à essai.

- Tube 1 : témoin
- Tube 2 : on ajoute 1ml d'extrait hydro-méthanoïque plus quatre gouttes de HCL pure.
- Tube 3 : on ajoute 1ml d'extrait hydro-méthanoïque plus trois gouttes de NaOH.

L'apparition de coloration rouge pour tube 2 et bleu pour tube 3 dénote la présence des anthocyanes.

I.4.3 Criblage des tanins

Le criblage des tanins se réalise a partir de l'extrait hydro-méthanolique, on utilise 3 tubes à essai.

- Tube 1 : témoin
- Tube 2 : addition de 5 gouttes de gélatine 1%.

L'apparition d'un précipité blanc signifie la présence des tanins.

- Tube 3 : addition de 5 gouttes de FeCl_3 .

Le changement de coloration est observé :

Virage au vert noirâtre indique la présence des tanins catéchiques, Virage au bleu noirâtre indique la présence des tanins gallique.

I.4.4 Criblages des stérols et triterpènes

Au début, dépigmenter 100 mg d'extrait hydro-méthanolique par addition de 10 ml de cyclohexane, dissoudre le résidu dépigmenté dans 10 ml de chloroforme. Après le séchage de la solution obtenue, On a utilisé 4 tubes à essai.

- Tube 1 : témoin
- Tube 2 : test de salkowski : ajouter 1ml de H_2SO_4 .

L'apparition de coloration rouge (anneau) indique la présence de stérols insaturés.

- Tube 3 : test de lobermann-burschard : ajouter trois gouttes d'anhydride acétique et additionner une goutte de H_2SO_4 concentré.

Le changement de coloration est observé pendant une heure :

Une coloration rouge (anneau) indique la présence de stéroïdes et stérols, et Une coloration rouge-violet indique la présence des triterpènes.

- Tube 4 : test de Badjet-kedde : ajouter quelques grains d'acide picrique.

L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques (**Bruneton, 1993**).

I.4.5 Criblages des quinones et anthraquinones

Ce test est réalisé à partir d'extrait hydro-méthanolique, on utilise 3 tube à essai.

- Tube 1 : témoin
- Tube 2 : on ajoute KOH 10% et le chloroforme à 1ml d'extrait.

L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthraquinones.

- Tube 3 : on ajoute NaOH et l'éther de pétrole à 1ml d'extrait.

Le changement de couleur au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones.

I.4.6 Criblage des saponosides

Pour l'identification des saponosides, dans un tube à essai on ajoute 1ml d'eau distillé et 1g de poudre végétale, puis on chauffe le mélange au bain marie à 85°C pendant 30 min, après on agite vigoureusement le tube, en position horizontale pendant 30 secondes environ portoir, après 10 min au repos on observe l'hauteur de la mousse.

- Pas de mousse : test négatif.
- Mousse moins de 1 cm : test faiblement positif.
- Mousse de 1 à 2 cm : test positif.
- Mousse plus de 2 cm : test très positif.

I.4.7 Criblage des alcaloïdes

Préparations des réactifs

- Dragendorff : 0.85g sous nitrate basique de bismuth + 8g d'Iodure potassium + 10ml d'acide acétique glaciale + 70ml d'eau distillé.
- Mayer : 1.35g chlorure mercurique + 5g d'Iodure potassium + 30 ml d'eau distillé.

Agiter jusqu'à dissolution puis ajouter 100 ml d'eau distillé.

Pour faire les tests d'identification rapides des alcaloïdes, on peut préparer un extrait selon le procédé suivant :

Dans un tube à essai de 16 ml, on introduit 200 mg de poudre végétale avec 10 ml d'acide sulfurique. On agite pendant 2 min et on filtre sur papier filtre, après on partage le filtrat entre 3 tubes, on ajoute respectivement au :

- Tube 1 : quelques gouttes de réactif Dragendorff.
- Tube 2 : quelques gouttes de réactif Mayer.
- Tube 3 : reste comme témoin.

La précipitation et la coloration de tube 1 en orange et de tube 2 en jaune confirme la présence des alcaloïdes (**Vigor claire et al., 2010**).

I.5 Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire recherche de biochimie appliqué université Constantine 1. Nous avons travaillé sur un extrait méthanolique de la poudre végétale de feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

I.5.1 Définition

La chromatographie est à la fois une méthode de séparation et d'identification de divers constituants d'un mélange (**Marouf, 2002**). La chromatographie sur une couche mince est essentiellement une chromatographie liquide exécutée sur une couche de particules d'une substance polymérisée immobilisée sur un support planaire (**Yrjonen, 2004**).

I.5.2 Principe

La chromatographie couche mince (CCM) est largement utilisée, sa mise en œuvre nécessite seulement une faible quantité d'échantillon. C'est une technique de séparation et d'identification des constituants d'un mélange. Elle est fondée sur le principe de la différence de solubilité d'une espèce chimique dans un solvant (**Pradel et Adda, 1975**).

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption ; la phase mobile est un solvant ou un mélange des solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une plaque semi-rigide de matière de plastique ou d'aluminium (**Anton et al., 1998**).

I.5.3 Mode opératoire

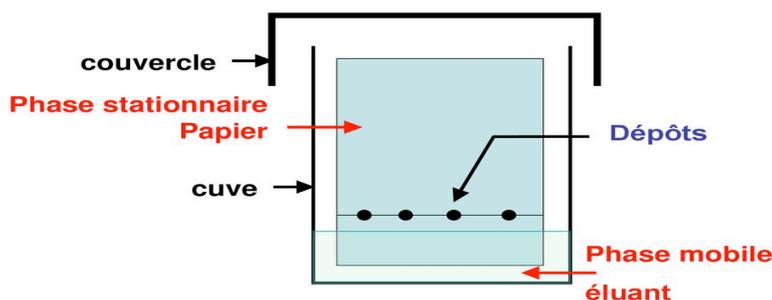
- **La phase stationnaire** : se présente sous forme de gel de silice étalée en mince couche sur une plaque de verre d'aluminium ou sur une feuille semi-rigide de plastique.
- **La phase mobile** : appelée aussi l'éluant, composé d'un mélange de solvant, cette phase est la responsable de la migration des composés.

Les différents systèmes solvants choisis pour cette phase sont les suivants :

Tableau 5 les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM

	Systèmes solvants	Proportions
Les systèmes solvants Utilisés	S = toluène et d'acétate d'éthyle	(34/14) ; (v/v)

- **Le dépôt des échantillons :** le dépôt se fait à l'aide d'une pipette pasteur sur les points marqués au long de la ligne de la plaque CCM. Le diamètre de la tache ne doit pas dépasser 4 mm pour réussir la séparation des échantillons. Pour l'extrait On fera 3 dépôts successifs. Le dépôt de produit doit être effectué de façon homogène à l'aide d'un capillaire sans creuser le support solide. (**Erika et al., 2008**).
- **Développement des plaques :** chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (chromatographie ascendante) (**Since, 2003**).
- **Développement de la chromatographie :** Lorsque le front de séparation arrive à 2 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, on retire cette dernière de la cuve. La plaque est séchée à l'air libre.

**Figure 38** la chromatographie sur couche mince (**Site5**).

- **La révélation :** Révélation sous lampe UV : permet de mettre en évidence sous forme de taches des substances qui absorbent les UV à $\lambda = 254 \text{ nm}$ et $\lambda = 366 \text{ nm}$.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son rapport frontal R_f , calculé par la formule suivante :

$$R_f = \frac{d}{D}$$

d : la distance parcourue par la molécule.

D : la distance parcourue par la phase mobile (front du solvant).

L'apparition des spots colorés sur la plaque CCM sous la lampe UV, indique la présence des métabolites secondaires.

- **Relation structure-fluorescence**

L'examen en lumière ultraviolette est la méthode la plus utilisée pour la détermination des structures des flavonoïdes, le tableau 6 résume la relation qui peut exister entre la structure d'un composé et sa fluorescence sous UV.

Tableau 6 La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes (Site3).

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir	Flavonols 5, 6, 7, tri OH libres Flavonols 5, 7, 8, tri OH libres
Brun noir	3-OH absent ou 3-OH substitué
Violet	Flavones 5-OH et 4' OH Flavones 3-OR et 5 OH ,4'-OH Flavones 6 ou 8 OH Chalcones Dihydroflavonols Isoflavones Flavanones
Bleu claire (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans 5-OH libre avec 3 OH substitué
Jaune terne Jaune Fluorescence orangée	Flavonols 3- OH libre avec ou sans 5-OH libre
Jaune vert brillant	5 OH libre ou 5 OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3OH libres Aurones Chalcone flavanones
Jaune pâle	dihydroflavonols

I.6 Etude de L'activité antibactérienne:

Les testes de l'activité antibactérienne ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie du centre de recherche en sciences pharmaceutiques de Constantine (CRSP).

I.6.1 Principe :

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disques en gélose dite méthode de diffusion de disques (**Rahal et al., 2005**).

L'activité inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour du puits ou de disque. Elle est considérée comme positive pour tout produit donnant un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm (**Kabouss et al., 2000**).

I.6.2 Les souches bactériennes testées

Les souches utilisées dans les tests font parties des microorganismes, qui sont des pathogènes et des contaminants. Le support microbien est composé d'*Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* :

***Staphylococcus aureus* :**

Les staphylocoques sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas (**Nauciel, 2000**), irrégulier à la façon d'une grappe de raisin (**Dabernat et al., 2000**). *Staphylococcus aureus* est un germe aérobic - anaérobic facultatif (**Dabernat et al., 2000**), doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides (**Nauciel, 2000**).

***Pseudomonas aeruginosa* :**

Le genre pseudomonas est fait de bacilles mobiles aérobies stricts, se cultive facilement sur les milieux usuels. *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. (**Nauciel, 2000**).

C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et des divers animaux. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (**Dabernat et al., 2000**).

***Escherichia coli* :**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (**Nauciel, 2000**).

Le groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, dit K.E.S, sont rassemblés des enterobacteriaceae qui ont en commun les caractères suivants :

- La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.
- Ce sont des bactéries pathogènes.
- Ces espèces sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques (**Dabernat et al., 2000**).

***klebsiella pneumoniae* :**

Les *Klebsiella* sont des bactéries très répandues dans la nature (l'eau, le sol, les végétaux, la flore fécale des animaux), sur la peau, les muqueuses et surtout les voies respiratoires supérieures de l'homme provoquant ainsi des pneumonies mortelles c'est pourquoi Friedlander les a appelé pneumobacilles (**Leon et Michel, 1989**).

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans des infections sévères notamment des infections urinaires (IU), des pneumonies et des bactériémies (**Berrazeg et al., 2013**). Elle est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (**Hennequin et Forestier, 2007**). Elle est impliquée surtout dans les unités de soins intensifs (USI) (**Boukadida et al., 2002**).

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulées, anaérobies facultatifs (**El Fertas-Aissani et al., 2012**).

I.6.3 L'évaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne est effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosés (**Bijondi *et al.*, 1993**).

Des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) sont imprégnés de 0,5 ml de chaque dilution (1/2, 1/4, 1/8) de l'extrait flavonique. Ces mêmes disques sont appliqués sur la surface du milieu gélosé Mueller Hinton (**Bijondi *et al.*, 1993**). Après incubation 18 heures à 37°C, la lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque de l'extrait flavonique.

I.6.3.1 Méthode utilisée :

Méthode de diffusion en disque

La méthode de diffusion en milieu gélosé ou méthode de disques est une technique qualitatif basé sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide, à partir des disques stériles imprégnés dans l'extrait à tester, permettant de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des germes par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque (**Sharififar et MH, 2007**). Après deux repiquages successifs sur bouillon nutritif et un isolement sur gélose nutritif, des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions bactériennes ayant une turbidité (exprimé par la mesure de la Densité Optique à 625 nm) voisine à celle de McFarland de 0.5. Une DO de 0.08-0.1 correspond à 10^8 UFC/ml (**Lesueur *et al.*, 2008**). Par la suite la surface entière de la gélose Mueller Hinton a été étalée par cette suspension bactérienne.

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

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

À l'aide d'une pince stérile et sous une hôte bien propre et stérilisée, les disques contenant les différentes concentrations de l'extrait ont été déposés sur la surface du milieuensemencé.

L'extrait de *moringa oleifera* Lam. est dissous dans 1 ml de méthanol, plusieurs concentrations ont été testées (50, 100 et 200 mg/ml). Des disques stériles de 6 mm de diamètre (papier Whatman n°3) imprégnés de 10µl d'extrait de plante par disque, ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose. Les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 1 à 2 h ensuite incubées 24 h à 37°C. Un disque imbibé de méthanol utilisé comme contrôle négatif. L'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition exprimée en mm. L'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact de l'extrait sur les souches bactériennes.

Tableau 7 Echelle de sensibilité des germes (Benkhaled, 2018).

Diamètres de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité du germe
0	0	Résistant
< 8	-	Non sensible
9 < Ø < 14	+	Sensible
15 < Ø < 19	++	Très sensible
> 20	+++	Extrêmement sensible

I.7 Etude de L'activité antifongique :

Les souches fongiques utilisées, ont été procuré du laboratoire parasitologie de l'hôpital Didouche Mourad de Constantine, à savoir : *Rhodotorula. Sp.*, *Candida albicans*.

Ce travail est effectué au laboratoire de microbiologie du centre de recherche en sciences pharmaceutiques de Constantine (CRSP).

I.7.1 Objectif :

L'activité antifongique de l'extrait méthanolique de la poudre du *moringa oleifera* Lam. est étudiée sur deux souches fongiques.

I.7.2 Les souches fongiques testées

Candida albicans

Membre de la famille des Candidaceae, *Candida albicans* est un champignon diploïde et encapsulé (Hazen et Howell, 2007).

Candida albicans est l'espèce la plus fréquemment incriminée en pathologie humaine (El Jouhari, 2008), c'est une levure non pigmentée, non capsulée, qui se reproduit de façon asexuée par bourgeonnement multiple, cette levure commensale des muqueuses digestives et vaginales appartient au Phylum des Deutéromycètes (Belarbi, 2017 ; Moulinier, 2002).

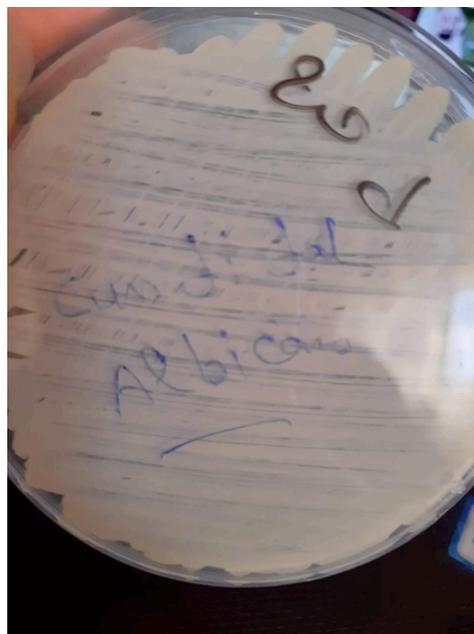


Figure 39 Aspect morphologique de *Candida Albicans*

Rhodotorula. Sp.

Rhodotorula est un genre de levures pigmentées unicellulaires, appartenant à la division des Basidiomycota.

Les levures du genre *Rhodotorula* sont des pathogènes émergents et opportunistes.

Rhodotorula sp. est une levure de la famille des sporidiobolacées, le genre comprend quelques espèces, dont trois sont impliquées en pathologie humaine, il s'agit de *R. mucilaginosa* (*R. rubra*), *R. glutinis* et *R. minuta*.

I.7.3 Méthode utilisée :

Méthode de diffusion de disque

Tout d'abord, l'activité antifongique a été déterminée par la méthode de diffusion de disque (NCCLS, 1997). En bref, 100 µl de suspension contenant 10^6 CFU/ml de cellules microbiennes, ont été étalées sur des boîtes de pétri contenant La gélose Sabouraud. Les disques (6 mm de diamètre) ont été séparément imprégnés avec 15 µl de divers extraits et placés sur la gélose qui a déjà été inoculée avec le micro-organisme sélectionné. Les boîtes ont été conservées à 4 °C pendant 1 h. Puis, elles ont été incubées pendant 48h à 30°C. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres (y compris le diamètre du disque de 6 mm).

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1 Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des composés phénoliques par macération hydrométhanolique à 70% représente 13.9 %, ce rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du poudre des feuilles de moringa 100 g.

Le rendement d'un extrait est calculé selon la formule suivante :

R (%): 100 Mext/Méch

$$R (\%) = 100 (49.2 - 35.3) / 100$$

L'extraction de notre échantillon a fourni un rendement de 13.9 %.

Le rendement de notre extrait Méth est supérieur que celui de l'extrait méthanolique obtenu par la méthode de Soxlhet (11,78%) enregistré chez **(Roopalatha et Nair, 2013)**.



Figure 40 Pesée de l'extrait.

II.2 Screening phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des feuilles de *Moringa oleifera* Lam., a donné les résultats représentés dans le tableau 8. Il est à constaté que la plante étudiée contient des polyphénols, représentés principalement par des flavonoïdes, des tanins, des stéroïdes et des alcaloïdes.

Tableau 8 Résultats de l'étude des métabolites secondaires de la plante *Moringa oleifera* Lam.

Composés chimiques		Réactifs	Extraits méthanolique de <i>M. oleifera</i> Lam.
Flavonoïdes		HCL+Mg	+++
Anthocyanes		HCL+NaOH	-
Tanins	Gallique	Gelatine 1%	+++
	Catéchique	FeCL ₃ 1%	+++
Stéroïdes	Stérols	H ₂ SO ₄	+++
	Stéroïdes	C ₄ H ₆ O ₃ +H ₂ SO ₄	++
	triterpènes		-
	steroïdelactoniques	C ₆ H ₃ N ₃ O ₇	-
Quinones	Quinones	KOH+CHCL ₃	-
	Anthraquinones	Ether de pétrole + NaOH	-
Saponosides		/	-
Alcaloïdes		Bi(NO ₃) ₃ + KI + CH ₃ COOH + HgCL ₂	+++

+++ Présence majeure du composé, ++ Présence moyenne, + Présence, - Absence.

Les flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, stéroïdes ont été détectés en grande quantité dans les feuilles. La richesse de la plante *Moringa oleifera* Lam. en alcaloïdes et flavonoids explique la toxicité de cette plante ce qui élucide certainement son usage dans le traitement des maladies. Aussi, La présence de ces métabolites secondaires peut être attribuée aux actions antifongiques et antibactériennes de la *M. oleifera* Lam.

- **Criblage des flavonoïdes**

Le criblage des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. est confirmé par l'apparition d'une couleur rouge dans le test réalisé, ce qui indique que cette plante est riche en flavonoïdes.



Figure 41 photographie de résultat de criblage des flavonoïdes.

- **Criblage des anthocyanes**

L'extrait méthanolique de la *M. oleifera* lam. ne contiennent pas des anthocyanes, les phases aqueuses n'ayant pas viré ni en rouge ni en bleu.



Figure 42 ographie de résultat de criblage des anthocyanes.

- **Criblage des tanins**

L'utilisation de la gélatine 1% dans l'extrait méthanolique a provoqué l'apparition d'un précipité blanc dans le test réalisé, ce qui indique la présence des tanins.

L'utilisation du réactifs $FeCl_3$ pour la détection des tanins, donne une coloration bleu noirâtre dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. donc la plante est riche en tanins galliques.



Figure 43 photographie de résultat de criblage des tanins.

- **Criblages des stéroïdes, stérols et tritérpènes**

Les réactifs H_2SO_4 et l'anhydride acétique, on détecté un anneau rouge seulement dans l'extrait méthanolique, ce qui indique la richesse de la plante en stérols et stéroïdes, et l'absence des triterpènes.

Les stéroïde-lactonique ne sont pas détectés dans l'extrait méthanolique.



Figure 44 photographie de résultat des criblages des stérols, stéroïdes et tritérpène.

- **Criblages des quinones et anthraquinones**

Les quinones et les anthraquinones ne sont pas détectés dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

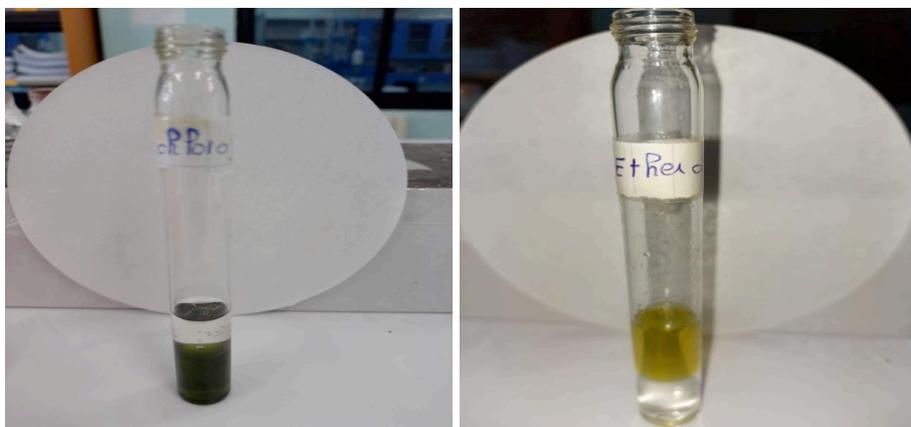


Figure 45 photographie de résultat de criblage des quinones et anthraquinones.

- **Criblage des saponosides**

Après l'échauffement de tube pendant 1 min, et avec une simple agitation, les résultats montrent l'absence de la mousse. Donc la plante de *M. oleifera* Lam. ne contient pas des saponosides.

- **Criblage des alcaloïdes**

Une précipitation et changement de couleur a été observé dans les tubes qui contiennent les réactifs de dragendorff et mayer, donc les feuilles de *M. oleifera* Lam. contiennent des alcaloïdes.

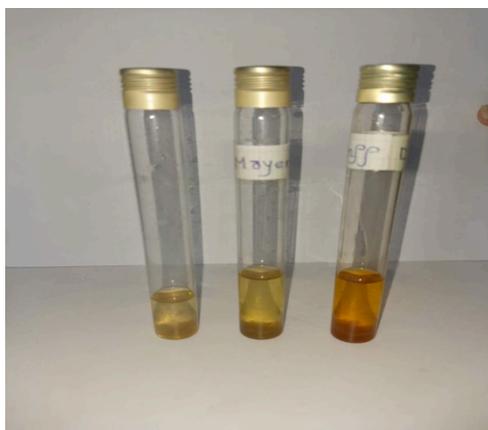


Figure 46 photographie de résultat de criblage des alcaloïdes.

II.3 Chromatographie analytique sur couche mince C.C.M

La chromatographie sur couche mince est déterminé par la séparation des deux phases, mobile et stationnaire, le développement de cette technique dépend de l'espace vapeur, pour voir les empreintes flavoniques de nos extraits méthanoliques et à partir de systèmes solvants : toluène et d'acétate d'éthyle.

Après la révélation de la plaque CCM sous lampe UV à 254 et 365 nm, on observe une série de spots, avec des couleurs et des R_f différents (tableau 9). Ce qui nous a permis de révéler la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires.

Tableau 9 Comportement chromatographique de l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera* Lam. sur plaque de silice dans le système solvant (toluène et d'acétate d'éthyle) (34/14).

L'extrait méthanolique de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	Couleur	R _f
Spot 1	Bleu	0.21
Spot 2	Jaune	0.46
Spot 3	Rose-violet	0.73
Spot 4	Violet	0.86

Structure-R_f

La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité :

- Les polyhydroxyflavones ont des faibles valeurs de R_f (0,00-0,25).
- Les oligohydroxy et les oligométhoxyflavones ont des valeurs de R_f comprises entre (0,3-0,5).
- Les flavanones, les flavonols, méthoxyflavones ont les valeurs les plus élevées de R_f (0,5-0,75).

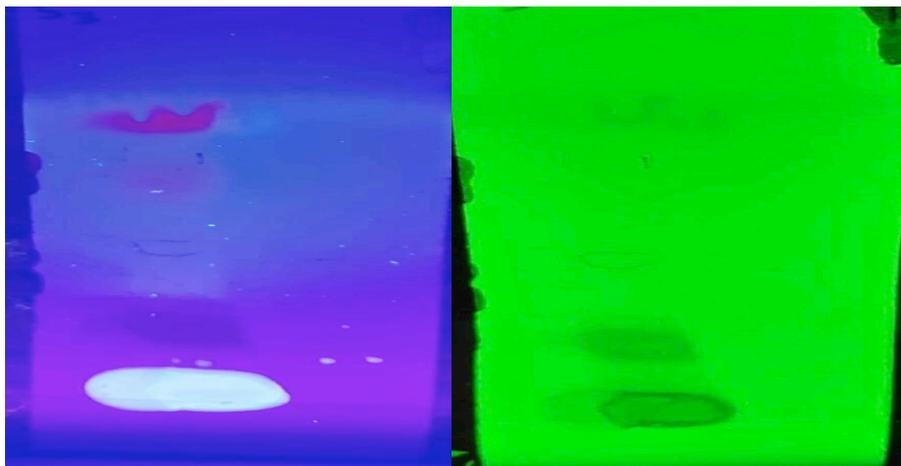


Figure 47 photographie de chromatogramme sous lampe UV 365 et 245 nm.

D'après les résultats des Rfs on remarque que cette plante est riche en coumarines et flavonoïdes de type flavones et flavonols.

Les tests préliminaires des criblages phyto-chimique et de chromatographie sur couche mince ont permis la mise en évidence de quelques métabolites dans la partie feuilles de notre plante comme les polyphénols, les flavonoïdes, stérol, stéroïdes, tanins et les alcaloïdes.

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

La quantité des composés phénoliques des extraits de la plante étudiée dépend essentiellement: de leur origine (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008). la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation (Park et Cha., 2003).

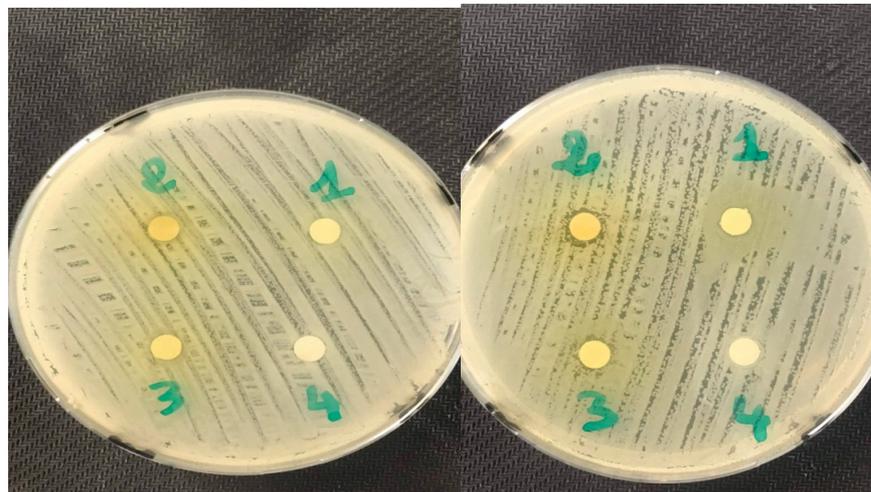
II.4 Activité antibactérienne

L'extrait méthanolique de l'espèce *Moringa oleifera* Lam. a été testé contre les 4 souches bactériennes suivantes : *Escherichia coli* , *klebsiella pneumoniae* , *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* , cette étude est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

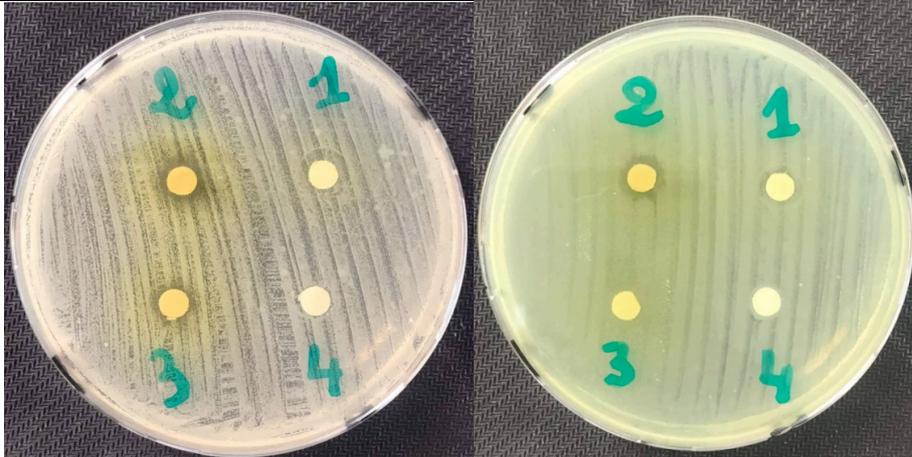
Les résultats de l'activité antibactérienne in vitro sont confinés dans le **tableau 10** et la **figure 48**.

Tableau 10 Diamètre de la zone d'inhibition des extraits hydrométhanoliques de *Moringa oleifera* Lam. en fonction des concentrations.

Bactéries	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Doses (mg/ml)			Témoin(-) méthanol
	50	100	200	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	6	7	8	6
<i>k. pneumoniae</i> ATCC700603	6	6	6	6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25953	6	6	10	6
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6	8	9	6



<i>klebsiella pneumoniae</i> (gram-)	<i>Escherichia coli</i> (gram-)
---	------------------------------------



<i>Staphylococcus aureus</i> (gram+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (gram-)
---	--

Figure 48 Activité antibactérienne d'extrait hydrométhanolique de la poudre des feuilles du *Moringa oleifera* Lam. sur les souches bactériennes testées.

Les résultats du test antibactérien montrent une variation dans l'efficacité d'inhibition de l'extrait hydrométhanolique de la poudre des feuilles du *Moringa oleifera* Lam. vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Les résultats récapitulés dans le Tableau (10) montrent que les différentes concentrations de notre extrait ont des activités antimicrobiennes de degrés variables contre les bactéries testées. Une augmentation du diamètre de zones d'inhibition de l'extrait a été révélée avec l'augmentation de la concentration.

Observation d'un effet antibactérien considérable contre les bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) et une absence d'inhibition pour la bactérie (*klebsiella pneumoniae*).

L'effet antibactérien obtenu vis-à-vis des bactéries gram positifs peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram + et Gram - (**Georgantelis et al., 2007**). Les bactéries Gram - possèdent une couche additionnelle qui se compose de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides (**Basli et al., 2012**).

La sensibilité des bactéries envers l'extrait est classée selon les diamètres des zones d'inhibition. L'effet antibactérien a été observé sur la plupart des bactéries testées, à savoir, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les diamètres d'inhibition varient de 6 à 8 mm pour *Escherichia coli* de 6 à 9 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 6 à 10 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Il apparaît que *Staphylococcus aureus* (Gram+) est la bactérie la plus sensible par comparaison avec les autres souches (Gram-), ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positives et ceux à Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries à Gram positives est constituée d'une seule couche, alors que la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Ali-Shtayeh et al., 1998**).

La sensibilité des bactéries à gram-positif traduit l'action antibactérienne des flavonoïdes. En effet, cette sensibilité est en relation avec le nombre des hydroxyles libre c'est-à-dire que les flavonoïdes les moins hydroxylés sont les plus actifs, car dans les travaux de (**Cowan, 1990**), A démontré que les flavonoïdes dépourvues de groupement hydroxyle libre ont plus d'activité antibactérienne, ce qui conduit à une augmentation de

leurs affinité aux lipides membranaires. Selon ces données on peut supposer que les flavonoïdes testées visent la membrane cytoplasmique des microorganismes c'est pour ça que les zones d'inhibitions pour les bactéries a gram-positif sont plus grandes que celles des bactéries à gram négatif (*Escherichia coli*) car ils ont qu'une seule membrane biologique ce qui les laisse vulnérables (Chadi, 2014).

Pour ce qui est de l'extrait aqueux-méthanol, nos résultats rejoignent ceux de (Millogo-Koné *et al.*, 2012) qui ont montré l'efficacité de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* Lam de Burkina Faso contre plusieurs bactéries testées.

II.5 Activité antifongique

L'extrait méthanolique de l'espèce *Moringa oleifera* Lam. a été testé contre deux souches fongiques suivantes : *Candida albicans*, *Rhodotorula* sp. Cette étude est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

Les résultats de l'activité antifongique in vitro sont confinés dans le tableau 11 et la figure 49.



Figure 49 Activité antifongique d'extrait hydrométhanolique de la poudre des feuilles du *Moringa oleifera* Lam. sur les souches fongiques testées.

Tableau 11 Zone d'inhibition en (mm) des souches fongiques avec l'extrait végétal de *Moringa oleifera* Lam.

Les Souches fongiques		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
		1	2	3	Temoin -
Levure	<i>Candida albicans</i>	14	12	12	6
	<i>Rhodotorula</i> sp.	9	11	10	6

Les résultats obtenus confirment l'efficacité de l'extrait végétal issu de la plante médicinale *Moringa oleifera* Lam. et leur pouvoir antifongique. De nombreux travaux soulignent cet effet antifongique des principes actifs naturels.

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'extrait testé vis-à-vis deux souches fongiques (*Candida albicans*, *Rhodotorula* sp.). Les zones d'inhibition sont indiquées dans le tableau (11).

Notre extrait montré une grande efficacité dans l'inhibition des deux souches étudiées. Ceci est en accord avec les résultats obtenus sur d'autres espèces fongiques et d'autres extraits végétaux.

Nous notons également que plus la concentration de l'extrait augmente plus les diamètres des zones d'inhibition sont importants, et cela a été constaté par **(Karagoz et al., 2010)**.

En général, la variabilité des résultats est due à l'influence de plusieurs facteurs tels que les microorganismes testés **(Pattnaik et al., 1996)**, cela a été confirmé par **(Suhr et Nielsen, 2003)**, qui mentionnent que les effets antifongiques des extraits végétaux dépendent de la méthode d'application.

Les méthodes classiques d'évaluation de la sensibilité des levures aux antifongiques sont basées sur l'appréciation de l'inhibition de la croissance cellulaire.

Notre extrait a montré une activité antifongique, ce qui s'accorde aux résultats de **(Millogo-Koné et al., 2012)**, qui ont obtenu des résultats efficaces contre le *Candida albicans* et qui sont même plus efficace comparativement aux bactéries.

Conclusion générale

Conclusion

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances et de composés bioactifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Notre étude a porté sur l'espèce *Moringa oleifera* Lam. qui appartient à la famille des Moringaceae. Le *M. oleifera* Lam. est une plante consommée dans la plupart des régions du monde pour ses nombreux bienfaits. Les feuilles de cette plante possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antidiabétiques, antihypertensives et antioxydantes.

La séparation des substances chimiques de l'extrait préparé par technique de macération avec solvant, et les tests de screening phytochimique effectués montrent que cette plante est riche en composés phénoliques (Les flavonoïdes, les tanins) et des alcaloïdes, des stéroïdes.

Les résultats de la chromatographie sur couche mince (C.C.M) confirment la richesse de l'extrait méthanolique en composés phénoliques et des coumarines.

L'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) a été déterminée sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 25953). et deux levure (*Candida albicans*, *Rhodoturella*. Sp.) selon la méthode de diffusion sur disque. Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique possède une meilleure activité antibactérienne et antifongique vis à vis les souches testées, avec des zones d'inhibition variant.

L'étude antibactérienne de l'extrait méthanolique de la poudre des feuilles du *M. oleifera* Lam. a montré un pouvoir antibactérien contre les bactéries à gram positif et celles gram négatif.

Ces résultats, suggèrent que *M.oleifera* Lam. pourrait représenter une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possède des activités biologiques très importantes.

Pour compléter cette étude il serait intéressant de mener une étude approfondie sur le *M. oleifera* Lam.

Il serait intéressant aussi de faire d'autres études comme l'activité antioxydante et l'étude in vivo sur un modèle animal.

Nous pensons montrer à travers ce travail que les plantes constituent un réservoir très intéressant pour la recherche dans le futur.

Références bibliographique

Références bibliographique

- 1) **Achille, R. (1980)** Botanique médicale, 4ème Ed. Paris : l'imprimerie de Gignoux. p 321.
- 2) **Alhakmani, F., Kumar, S., Okindra, A., et Khan, A. (2013)** Estimation of total phenolic content, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(8), 623-627.
- 3) **Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R. M. R., Faidi, Y. R., Salem, K., et Al-Nuri, M. A. (1998)** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. Journal of Ethno Pharmacology, 60: 265-271.
- 4) **Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A. (2007)** *Moringa oleifera*: a food plant with multiple bio-chemical and medicinal uses. Phytother Res, 21, 17–25.
- 5) **Armelle, et Broin, M. (2010)** Produire et transformer les feuilles du Morinaga, Janvier 2010. Moringanews/Morinaga association of Ghana.
- 6) **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (2000)** Bactériologie clinique. 3^{ème} édition Ellipses (Ed) Paris, 602 p.
- 7) **Basli, A., et al. (2012)** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. Phytothérapie;10(1):2-9.
- 8) **Baydar, H., Sağdic, O., Ozkan, G., Karadoğan, T. (2004)** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control. 15:169-172.
- 9) **Berrazeg, M. S.M., Diene, M., Drissi, M., Kempf, H., Richet, L., Landraud, et J. M., Rolain. (2013)** Biotyping of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from France and Algeria using MALDI-TOF MS. PLoS.One. 8:e61428.
- 10) **Besse, F. (1996)** *Moringa oleifera* LAM; L'arbre du mois, Le Flamboyant no 40.

- 11) **Foidl, N., Makkar H.P.S., Becker K. (2001)** Potentiel de *Morinaga oleifera* en Agriculture et dans l'Industrie, Potentiel de développement des produits du Morinaga 29 octobre- 2 novembre 2001, Dar es Salaam, Tanzani p 4-7.
- 12) **Bijondi, D., Cianci, P., Geraci, C et Ruberto, G. (1993)** " Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants ", Flavour and fragrance journal, Vol 8, pp 331-377.
- 13) **Birch, A. J., et Donovan, F. W. (1953)** Studies in relation to biosynthesis. I. Some possible routes to derivatives of orcinol and phloroglucinol. Australian Journal of Chemistry, 6(4) : 360-368.
- 14) **Bohlmann, J., Meyer-Gauen, G., Croteau, R. (1998)** Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 4126–4133.
- 15) **Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I. (2012)** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue de génie industriel. Volume 7. p.p.: 35-45.
- 16) **Bourgaud, F. (2013)** Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, Unité Mixte de Recherche 1121 Université de LorraineINRA, Nancy-Colmar), Fondateur de la société Plant Advanced Technologies, Nancy.
- 17) **Briemann, H.L., Setzer, W.N., Kaufman, P.B., Kirakosyan, A., CsekeLJ, P. (2006)** the chemical components of plants. Nat. Prod. Plants 1–50.
- 18) **Broin, M. (2005)** Composition nutritionnelle des feuilles de *Morinaga oleifera*. CTA 5p.
- 19) **Bruneton, J. (1993)** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques et Documentation, Paris. 915- 211,338.
- 20) **Burns, J., Yokota, T., Ashihara, H., Lean, M.E., Crozier, A. (2002)** Plant foods and herbal sources of resveratrol. J. Agric. Food Chem. 50, 3337–3340.
- 21) **Cabrera, M., Simoens, M., Falchi, G., Lavaggi, M.L., Piro, O.E., Castellano, E.E., Vidal, A., Azqueta, A., Monge, A., de Ceráin, A.L., Sagrera, G., Seoane, G., Cerecetto, H., González, M. (2007)** Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: Biological evaluation and structure–activity relationships. Bioorg. Med. Chem. 15, 3356–3367.

- 22) **Charnay, P., Tourmeau, J. (2006)** Le Petit Futé Guide pratique de la Dégustation, Éditeur Nouvelles Editions de l'Université, p203.
- 23) **Chávez, J. P., Dos Santos, I. D., Cruz, F. G., & David, J. M. (1996)** Flavonoids and triterpene ester derivatives from *Erythroxyllumlealcostae*. *Phytochemistry*, 41(3), 941-943.
- 24) **Chira, K., Such, J., Saucier, C., Teissèdre, L. (2008)** Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. 6 :75-82.
- 25) **Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivthong-Ngam, L., BRatanachamnong, P., Srisawat, S., Klai-Upsorn, S.P. (2007)** The in vitro and ex vivo antioxidant Bproperties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(3): 439-446.
- 26) **Collin, S., Crouzet, J. (2011)** Polyphénols et procédés, Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaires. Ed. Lavoisier. P6-17.
- 27) **Cornwell, T. (2004)** Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry* 65, 995–1016.
- 28) **Cowan, M. (1999)** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.
- 29) **Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000)** Natural products (secondary metabolites). *Biochem. Mol. Biol. Plants* 24, 1250–1319.
- 30) **Crout, D.H.G., Geissman, T.A., (1969)** Organic chemistry of secondary plant metabolism. Freeman, Cooper and Co., San Francisco.
- 31) **Crozier, A., Jensen, E., Lean, M.E.J., McDonald, M.S. (1997)** Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 761, 315–321.
- 32) **Descheemaeker, K., Provoost, CH. (1999)** L'impact de la nutrition sur la santé, Ed, LouvainGarant, p95.
- 33) **Djermene, N., et Gherraf, N. (2013)** Extraction des métabolites secondaires des plantes médicinales.
- 34) **Ebrahimzadeh, M. A., Pourmmorad, F., et Hafezi, S. (2008)** Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology*. 32: 43-49.

- 35) **El Fertas-Aissani, R., Messai, Y., Alouache, S., Bakour, R. (2012)** Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.
- 36) **El Jouhari, F. Z. (2008)** Particularisme des champignons dits «émergents» en pathologie humaine (Doctorat en pharmacie). Mohammed V, Rabat.
- 37) **Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M. (2007)** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites, Review. *Phytochemistry* 68, 939- 953.
- 38) **Fabre, N., Rustan, I., de Hoffmann, E., Quetin-Leclercq, J. (2001)** Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 12, 707–715.
- 39) **Fahey, J. W. (2015)** *Moringa Oleifera*: A Review of the Medicinal Potential. In I International Symposium on Moringa 1158 (Pp. 209-224).
- 40) **Faizi, S., Siddiqui, B.S., Saleem, R., Siddiqui, S., Aftab, K., Gilani, A. U.H. (1994)** Isolation and structure elucidation of new nitrile and mustard oil glycosides from *Moringa oleifera* and their effect on blood pressure. *Journal of Natural Products*, 57 (9): 1256-1261.
- 41) **Fakurazi, S., Hairuszah, I., Nanthini, U. (2008)** *Moringa oleifera* Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (8): 2611-2615.
- 42) **Georgantelis, D., et al. (2007)** Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 C. *Meat science*;76(1):172-181.
- 43) **Ghasi, S., Nwobodo, E., Oli, J.O. (2000)** Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam. in high-fat diet fed wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 69 (1): 21-25.
- 44) **Gonzalez, A. G., Estevez-Braun, A. (1997)** Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14: 465-475.

- 45) **R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., Poutanen H. (2010)** Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.*, 11: 1365-1402.
- 46) **Hanson, J.R. (2003)** Natural products: the secondary metabolites. Royal Society of Chemistry.
- 47) **Haralampidis, K., Trojanowska, M., Osbourn, A.E. (2002)** Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants, in: *History and Trends in Bioprocessing and Biotransformation*. Springer, pp. 31–49.
- 48) **Harborne, J.B., Williams, C.A. (2000)** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481–504.
- 49) **Hartmann, T. (2007)** from waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68:2831-2846.
- 50) **Hêdji, C.C., Diane, N.S. Kpoguè, G., Marcel, R., Houinato, et Emile, D. F. (2014)** Valorisation de *Azolla spp*, *Morinaga oleifera*, son de riz, et de coproduits de volaille et de poisson en alimentation animale: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences* 81: 7277 – 7289.
- 51) **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004)** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* Numéro 1 :3-6.
- 52) **Hennequin, C., Forestier, C. (2007)** Influence of capsule and extended-spectrum beta- lactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion. *Research in Microbiology* 158(2007) 339-347.
- 53) **Hostettmann, K., Marston, A. (1995)** *Chemistry and Pharmacology of Natural Products, Saponin*. CambridgeUniversityPress Cftmbridge.
- 54) **Igor Passi, L.B. (2002)** Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloïdes* lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.
- 55) **Imohiosen, O., Gurama, H. H., et Lamidi, T. B. (2014)** Phytochemical and antimicrobial studies on *Moringa oleifera* leaves extracts. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(1), 39-45.

- 56) **Jaiswal, D., Kumar Rai, P., Kumar, A., Mehta, S., Watal, G. (2009)** Effect of *Moringa oleifera* Lam. Leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 123 (3): 392-396.
- 57) **Karagöz, Z.E., Yemiú, G.P., Coúkun, B.K., Candoan, K. (2010)** Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*, Vol86, N°2,283–288.
- 58) **Kholif, A. E., Gouda, G. A., Anele, U. Y., et Galyean, M. L. (2018)** Extract Of *Moringa oleifera* Leaves Improves Feed Utilization Of Lactating Nubian Goats. *Small Ruminant Research*, 158, 69-75.
- 59) **Koul, B., Chase, N. (2015).** *Moringa oleifera* Lam.: Panacea to several maladies. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Volume 7(6). p.p.: 687-707.
- 60) **Kumari, D. (2010)** hypoglycemic effect of *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* in type-2 diabetes. *Bioscan*, 5: 211-14.
- 61) **Lee, J. Y., Park, H.R., Moon, S.O., Kwon, Y.J., Rhee, S.J., Choi, S.W. (2004)** Identification and quantification of anthocyanins and flavonoid in mulberry (*Morus* sp.) cultivars. *Food Sci. Biotechnol.*
- 62) **Louni, S. (2009)** Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera*.
- 63) **Lucienne, A.D. (2010)** Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition Berti. 20-6.
- 64) **Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V., Biro, L. (2003)** the role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica Szegedientis*. 1-4.125-119.
- 65) **Macheix, J. J., Fleuriet, A., et Jay-Allemand, C. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- 66) **Makkar, H.P.S., Becker, K. (1997)** Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge 128, 311-322.
- 67) **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 fin de cycle Institut du Developpemet Rural Université Polytechnique de Bobo –Dioulasso.
- 68) **Marouf, A. (2002)** Analyse instrumentale à l'usage des biologistes, 2ème édition. dar elgharb, pp 2-11.
- 69) **Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002)** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angiologie 51, 304-315.
- 70) **Menat, E. (2006)** Les polyphénols de thé, du vin et du cacao, Phytothérapie, Numéro 1 :540-545.
- 71) **Merghem, R. (2009)** Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: 107-133.
- 72) **Michael, J.P. (2004)** Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids. Nat. Prod. Rep. 21, 650– 668. Michael, J.P., 2004b. Indolizidine and quinolizidine alkaloids. Nat. Prod. Rep. 21, 625–649.
- 73) **Moheb, A., Ibrahim, R.K., Roy, R., Sarhan, F. (2011)** Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. Phytochemistry 72: 2294- 2307.
- 74) **Nauciel, C. (2000)** Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris, 276p.
- 75) **Ndong, M., Wade, S., Dossou, N., Guiro, A.T. et Gning, R.D. (2007)** Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development. 7 (3):1-17.
- 76) **Neto, J.X.S, Pereira M. L, Oliveira1 .T. A, Rocha-Bezerra L. C. B, Lopes T. D. P, Costa H. P. S, Sousa et al., (2017)** A Chitin-binding Protein Purified from *Moringa oleifera* Seeds Presents Anticandidal Activity by Increasing Cell Membrane Permeability and Reactive Oxygen Species Production, p 12, ed: Yuji Morita, l'universite Aichi Gakuin, Brazil doi: 10.3389/fmicb.2017.00980.
- 77) **Okumu, M. O., Mbaria, J. M., Kanja, L. W., Gakuya, D. W., Kiama, S. G., Ochola, F. O. (2016)** phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Volume 5(4). p.p.: 302-308.

- 78) **Owolabi, M., Coker, H., Jaja, S. (2007)** Flavonoid metabolites in urine after oral administration of the aqueous extract of *Persea Americana* to rats. *J. Nat. Med*, 61, 200-204.
- 79) **Park, H. J. et Cha, H. C. (2003)** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society.*, 7 : 327-330.
- 80) **Parrotta, J. A. P. (1785)** *Moringa oleifera* LAM. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*; Roloff A., Weisgerber H., Lang U., Stimm B.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim; 2009; 8p.
- 81) **Patel, S., Thakur, A. S., Chandy, A., et Manigauha, A. (2010)** *Moringa oleifera*. A Review of There Medicinal and Economical Importance to the Health and Nation. *Drug Invention Today*, 2(7), 339–342.
- 82) **Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., (1996)** Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, Vol 86, 237-246.
- 83) **Pradel, G. et Adda, J. (1975)** Chromatographie en couches minces des 2, 4-dinitrophénylhydrazones des composés carbonylés. *Le Lait*, 55(549-550), 603-620.
- 84) **Price, M. L. (2007)** Le Moringa. In Note technique- ECHO.
- 85) **Rajangam, J., Azahkia, Manavalan, R., Thangaraj, T., Vijayakumar, A., et Muthukrishan, N. (2002)** Production et utilisation du Moringa en Inde du sud: la situation actuelle.
- 86) **Ravindra, C., Joshi B., Vasantharaj D., Rashmi K. (2016)** A review of the insect and mite pests of *Moringa oleifera* Lam. *Agriculture for Development*.
- 87) **Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R., Vincent, C.H. (2008)** Biopesticides d'origine végétale. Ed. Lavoisier, p259, 280.
- 88) **Rivera-Vargas, L.I., Schmitthener, A.F., Graham, T.L. (1993)** Soybean flavonoid effects on and metabolism by *Phytophthora sojae*. *Phytochemistry, the International Journal of Plant Biochemistry* 32, 851–857.
- 89) **Roloff, A., Weisgerber, H., Lang U., et Stimm B. (2009)** *Moringa oleifera* Lam 1785. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*.

- 90) **Roopalatha, U. C., Nair, V. M. (2013)** Phytochemical analysis of successive reextracts of the leaves of *Moringa oleifera* Lam. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Volume 5. p.p.: 0975-1491.
- 91) **Rosa, D. (1993)** *Moringa oleifera* : un arbre parfait pour les jardins à la maison. Forest service, Dept. Of Agriculture, U. S. A.
- 92) **Sankhalbar, S., Vernekar. (2016)** Quantitative and qualitative analysis of phenolic and flavonoid content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. Pharmacognosy Res. Volume 8(1). p.p.: 16–21.
- 93) **Scalbert, A. et Williamson, G. (2000)** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of nutrition. 130: 2073-2085.
- 94) **Shahriar, M., Hossain, I., Bahar, A. N., Akhter, S., Haque, A., Bhuiyan, M. A. (2012)** Preliminary phytochemical screening, in-vitro antioxidant and cytotoxic activity of five different extracts of *Moringa oleifera* leaf. Journal of applied pharmaceutical science. Volume 2(05). p.p.: 65-68.
- 95) **Silanikove, N., Perevolotsky, A., Provenza, F. D. (2001)** Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91(1), 69-81.
- 96) **Sine, J. P. (2003)** Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses editions marketing S A. p 99-101.
- 97) **Sophia, J. (2015)**. La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel Sciences pharmaceutiques.
- 98) **Suhr, K.I., Nielsen, P. V. (2003)** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology, Vol 94, N° 4, 665-674.
- 99) **Udosen, I. E., Okwori, A. E. J., Ijebor, J. A., Jonson, P. O., Adikwu, T. I. (2016)** Effects of *Moringa oleifera* Leaf tea on Salmonella Typhi and Escherichia Coli. Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS). Volume 15(3). p.p.: 62-66.
- 100) **Williams, C.A., Grayer, R.J. (2004)** Anthocyanins and other flavonoids. Nat. Prod. Rep. 21, 539–573.
- 101) **Wink, M., 1998**. Chemical ecology of alkaloids, in: Alkaloids. Springer, pp. 265–300.

- 102) **Woitke, H.D., Kayser, J.P., Hiller, K. (1970)** Advances in the research of triterpene saponins. A review. 2. Pharm. 25, 213.
- 103) **Zeghad, N. (2008)** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêts économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne, mémoire de magister, université de Constantine 1, p : 2, 5, 41.
- 104) **Zhang, M., Ma, J., Bi, H., Song, J., Yang, H., Xia, Z., Du, Y., Gao, T., Wei, L. (2017)** Characterization and cardioprotective activity of anthocyanins from Nitraria tangutorum Bobr. by-products. Food Funct. 8, 2771–2782.
- 105) **Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999)** the determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64, 555–559.

Les sites :

(Site 1) : www.alliance.org

(Site 2) : <http://www.moringanews.org>

(Site 3) : <https://7saveurs.com>

(Site 4) : <https://www.researchgate.net>

(Site 5) : <https://slideplayer.fr>

(Site 6) : <https://www.lejournaldujardin.com>

(Site 7) : <https://doi.org>

(Site 8) : <https://fr.wikipedia.org>

(Site 9) : <http://www.echonet.org>

(Site 10) : www.winrock.org

(Site 11) : <http://doi.wiley.com>

(Site 12) : <https://scholar.google.fr>

(Site 13) : <https://tice.ac-montpellier.fr>

(Site 14) : <https://www.base-search.net>

(Site 15) : <https://www.sciencedirect.com>

(Site 16) : <https://core.ac.uk>

..... Année universitaire : 2021-2022	Présenté par : Houfani Ikram Kihal Nahla
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et physiologie de la reproduction	
Intitulé : Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne chez l'espèce (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)	
<p>Résumé</p> <p>La présente étude porte sur la mise en évidence de la présence des métabolites secondaires, principalement des polyphénols, dans l'extrait hydro-méthanolique des feuilles du <i>Moringa oleifera</i> Lam. une espèce médicinale utilisée en phytothérapie traditionnelle. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par la méthode de macération.</p> <p>Un criblage phytochimique nous a permis d'affirmer la richesse de la plante <i>Moringa oleifera</i> Lam. en composés phénoliques alcaloïdes, des stéroïdes et des coumarines, Le criblage a été complété par une analyse chromatographique (CCM) qui a révélé la présence de plusieurs molécules à différents rapports frontaux.</p> <p>L'évaluation du pouvoir antibactérien de notre extrait est effectué sur quatre souches bactériennes (<i>Escherichia coli</i>, <i>klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>). On a évalué également le pouvoir antifongique contre deux souches fongiques (<i>Rhodoturella</i>. Sp., <i>Candida albicans</i>).</p> <p>Les résultats montrent que cette plante possède une importante activité antibactérienne et antifongique avec différents diamètres d'inhibition.</p>	
Mots-clefs : <i>Moringa oleifera</i> Lam., Polyphénols, CCM, activité antibactérienne, activité antifongique.	
<p>Laboratoires de recherche :</p> <p>Stage de courte durée au laboratoire de centre de recherche en science pharmaceutique (CRSP).</p>	
<p>Encadreur : BOUCHOUKH Imane MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.</p> <p>Examineur 1 : CHIBANI Salih MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1.</p> <p>Examineur 2 : DJEROUNI Aissa MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.</p>	

