

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique**

**UNIVERSITE MOULOU D MAMMARI DE TIZI OUZOU**

**Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques**



Département de Biochimie –Microbiologie

**MEMOIRE**

De fin d'Etudes en vue de l'obtention du

**Diplôme de Master2**

**Filière : Biotechnologies**

**Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes**

***Thème***

**Etude phytochimique et cyto histochimique des pétioles et feuilles  
de *Moringa oleifera* Lam. (arbre de vie) et *Vitex agnus castus* L.  
(gattilier) de la région d'Adrar.**

Réalisé par :

**Belhocine Mailis et Cherifi Lydia**

**Devant les membres de jury :**

Mr L'Hadj Mohand A	Maître assistant A (UMMTO)	Président
Mme Mezaour N	Maitre assistante A (UMMTO)	Examinatrice
Mme Mohamed Ouali D	Maitre assistante A (UMMTO)	Promotrice

**Année universitaire 2020- 2021**

## Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier vivement :

Madame Mohamed Ouali D, Maitre Assistante classe A (chargée de cours) au département de biologie, à l'université Mouloud Mammeri (UMMTO), Tizi Ouzou, de nous avoir proposées le sujet, d'avoir contribué activement à la réalisation de ce travail par son extrême disponibilité et qui a mis à notre disposition tous les moyens afin de mener à terme ce travail, qu'elle soit assurée de notre profonde reconnaissance et estime.

Monsieur L'Hadj Mohand A, Maitre Assistant classe A (chargée de cours) au département de biologie, à l'université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour qui nous avons beaucoup de respect et de considération.

Madame Mezaour-Dibi N, Maitre Assistante classe A (chargée de cours) au département de biologie, à l'université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, d'avoir accepté de juger ce travail et pour qui nous avons également beaucoup d'estime et de respect.

Madame Lassouane N, maître de conférences A, à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El Harrach (ENSA) dont l'extrême gentillesse à notre égard n'a jamais failli. En plus de son accueil chaleureux et sans calcul aucun, elle a mis à notre disposition tous les moyens du laboratoire. L'essentiel était de nous aider et de mener à terme notre travail.

Madame Moussouni S, maître de conférence B, à l'Université des Sciences et Technologies Houari Boumedienne (USTHB), de nous avoir aidées dans la confection des coupes histologiques au Laboratoire des Zones Arides (LRZA) d'Alger.

Mesdames Mohammed Ouali D et Boudiaf-Nait Kaci M, nos enseignantes au cours de notre cursus universitaire. Elles ont su nous inculquer l'amour des études et la bonne manière à mener à terme nos travaux.

A tous nos collègues en graduation en particulier Yasmine et Akila pour leur sincère amitié

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux meilleurs parents au monde, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*À mes merveilleuses sœurs, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*À ma famille, pour son appui et son soutien*

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

*À la meilleure des promotrices, pour sa confiance, sa disponibilité et son aide*

*À mon binôme, pour tout ce qu'on a traversé, pour les rues que nous avons arpentées, et à tous les moments passer à travailler*

*À mes amies, pour leur sincère amitié*

*À tous ceux sur terre, et à ceux dans l'au-delà*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents, qui ont toujours fait preuve d'amour et de bienveillance et m'ont soutenue tout au long de ma vie jusqu'à ce jour, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance*

*A mes frères et sœur : Samy, Nabil et Nesrine pour leurs conseils et encouragements*

*A mes amies, Samira, Laetitia, Hanane, Yasmine et Akila pour leur amitié et leur soutien moral*

*A mon binôme, Maïlis, pour tous les hauts et les bas que nous avons traversé pour mener à terme notre travail, et pour tous les moments de complicité et de fous rires que nous avons partagé*

*A ma grand-mère et tous mes oncles et mes tantes*

*A ma promotrice, pour sa confiance, son temps et son aide précieuse*

*Lydia*

## Liste des abréviations

**acétyl-CoA** : acétyl-coenzyme A

**alc** : alcaloïdes

**APG III** : Angiosperm phylogeny group III.

**cel** : cellulose

**cm** : centimètre

**ep** : épiderme

**FAA** : Formol-Acide-Acétique

**F<sub>e</sub>Cl<sub>3</sub>** : chlorure de fer

**g** : grammes

**GCMS** : Gas chromatography-mass spectrometry

**HCL** : Acide chlorhydrique

**HPLC** : high performance liquid chromatography

**KMnO<sub>4</sub>** : permanganates de potassium

**lign** : lignine

**lign con** : lignine coniférylique

**lignsyr** : lignine syringylique

**m** : mètre

**mm** : millimètre

**ml** : millilitre

**min** : minutes

**Mo-CBP3** : *Moringaoleifera* Chitin-Binding Protein

**M.oleifera Lam** : *Moringaoleifera* Lamarck.

**NH<sub>4</sub>Cl** : Chlorure d'ammonium

**np** : nervure principale

**pc** : parenchyme corticale

**phl** : phloème

**pl** : parenchyme lacuneux

**pm** : parenchyme médullaire

**pp** : parenchyme palissadique

**sc** : sclérenchyme

**tan** : tanins

**V. agnus castus L.** : *Vitex agnus castus* Linné

**vs** : vaisseau

**VII** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

**xyl** : xylème

## Liste des figures

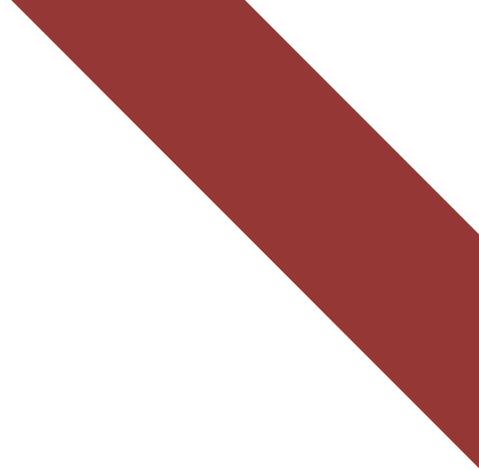
<b>Figure 1.</b> Voies de biosynthèse des polyphénols .....	4
<b>Figure 2.</b> Squelette de base d'un acide hydroxybenzoïque .....	5
<b>Figure 3.</b> Squelette de base d'un acide hydroxycinnamique.....	5
<b>Figure 4.</b> Squelette de base des flavonoïdes.....	5
<b>Figure 5.</b> Structure des différentes classes des flavonoïdes .....	6
<b>Figure 6.</b> Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- $\beta$ -D-glucose) .....	7
<b>Figure 7.</b> Structures des monomères constituant la lignine .....	8
<b>Figure 8.</b> Hétérocycles azotés constituant le noyau de base d'un alcaloïde .....	9
<b>Figure 9.</b> Aspect générale de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	12
<b>Figure 10.</b> Feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	13
<b>Figure 11.</b> Fleur de <i>Moringa oleifera</i> Lam. ....	13
<b>Figure 12.</b> Graines de <i>Moringa oleifera</i> Lam. ....	14
<b>Figure 13.</b> Allure générale de <i>Vitex agnus castus</i> L. ....	18
<b>Figure 14.</b> Feuilles de <i>Vitex agnus castus</i> L.....	19
<b>Figure 15.</b> Fleurs de <i>Vitex agnus castus</i> L.....	19
<b>Figure 16.</b> Graines de <i>Vitex agnus castus</i> L. ....	20
<b>Figure 17.</b> Localisation de la zone de l'échantillonnage .....	22
<b>Figure 18.C1:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	30
<b>Figure 19.C2:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	30
<b>Figure 20.C3:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	31
<b>Figure 21.C4:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Moringa olifera</i> Lam.....	31

<b>Figure 22.C5:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	32
<b>Figure 23.C6 :</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	33
<b>Figure 24.C7:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Moringa olifera</i> Lam. ....	33
<b>Figure 25.C8:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Moringa olifera</i> Lam.....	34
<b>Figure 26.C9:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille <i>Moringa olifera</i> Lam. ....	34
<b>Figure 27. C11:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	35
<b>Figure 28.C12 :</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Moringa oleifera</i> Lam....	35
<b>Figure 29.C13 :</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	36
<b>Figure 30. C14 :</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	37
<b>Figure 31.C1 :</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	39
<b>Figure 32.C2 :</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	39
<b>Figure 33. C3 :</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	40
<b>Figure 34.C4:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	41
<b>Figure 35. C5 :</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	41
<b>Figure 36 et 37. C6 et C7:</b> Coupes transversales au niveau du pétiole de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	42
<b>Figure 38. C8:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	43
<b>Figure 39. C9:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	44
<b>Figure 40. C10:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	44
<b>Figure 41. C11:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	45
<b>Figure 42. C12:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	46
<b>Figure 43.C13 :</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	46
<b>Figure 44. C14:</b> Coupe transversale au niveau du pétiole de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	47

<b>Figure 45.C15:</b> Coupe transversale au niveau de la feuille de <i>Vitex agnus cactus</i> L.....	48
<b>Figure 46 :</b> Matériel végétal.....	Annexe II
<b>Figure 47 :</b> Organes immergés dans un bain de paraffine.....	Annexe II
<b>Figure 48 :</b> Inclusion des organes dans de la paraffine.....	Annexe II
<b>Figure 49 :</b> Confection des coupes histologiques.....	Annexe II
<b>Figure 50 :</b> Déparaffinage et réhydratation.....	Annexe II

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Résultats du screening phytochimique des pétioles et feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	29
<b>Tableau II</b> : Résultats du screening phytochimique des pétioles et feuilles de <i>Vitex agnus castus</i> L.....	37
<b>Tableau III</b> : Les résultats de screening phytochimique des feuilles <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	Annexe I
<b>Tableau IV</b> : Les résultats de screening phytochimique des feuilles <i>Vitex agnus castus</i> L.....	Annexe I



# Sommaire

## Sommaire

<b>1 – Introduction générale</b> .....	1
<b>Chapitre I : synthèse bibliographique</b>	
I- Généralités.....	3
I.1. Les composés phénoliques .....	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Biosynthèse des composés phénolique.....	3
I.1.3. Classification .....	5
I.1.3.1. Les acides phénoliques .....	5
I.1.3.2. Les flavonoïdes.....	5
I.1.3.3 Les stilbènes.....	6
I.1.3.4. Les tanins.....	6
I.1.3.5. Les lignines .....	7
I.2. Les alcaloïdes.....	8
I.2.1. Définition.....	8
I.2.2. La biosynthèse des alcaloïdes .....	9
I.3. Les hétérosides .....	10
I.3.1. Les saponines .....	10
I.3.2. Les mucilages .....	10
I.4. Etude des espèces .....	10
I.4.1. <i>Moringa Oleifera</i> Lam. ....	10
I.4.1.1. Présentation de <i>Moringa Oleifera</i> Lam.....	10
I.4.1.2. Répartition géographique et habitat.....	11
I.4.1.3. Classification.....	11
I.4.1.4. Description botanique.....	12
I.4.1.5. Composition chimique.....	14
I.4.1.6. Propriétés et utilisations.....	15
I.4.2. <i>Vitex agnus castus</i> L.....	16
I.4.2.1. Présentation de <i>Vitex agnus castus</i> L.....	16
I.4.2.2. Répartition géographique et habitat.....	17

I.4.2.3. Classification.....	17
I.4.2.4. Description botanique.....	18
I.4.2.5. Composition chimique.....	20
I.4.2.6. Propriétés et utilisations.....	21

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

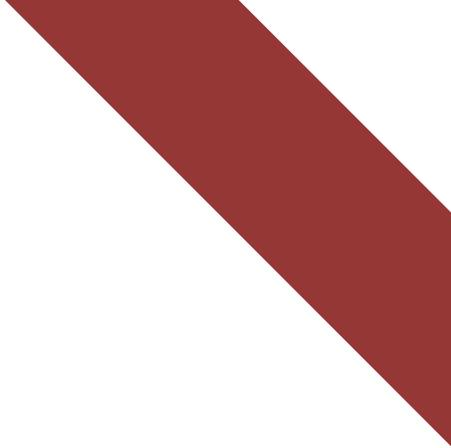
II.1. Matériel .....	22
II.1.1. Matériel végétal .....	22
II.2. Méthodes .....	23
II.2.1. Screening phytochimique .....	23
II.2.1.1. Mode opératoire.....	23
II.2.2. Etude cyto-histochimique.....	25
II.2.2.1. Mode opératoire .....	25
II.2.2.1.1. L'inclusion des organes dans la paraffine.....	25
II.2.2.1.2. La confection des coupes .....	26

## **Chapitre III : résultats et interprétations**

III.1. Résultats du Screening phytochimique des extraits aqueux des pétioles et feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	29
III.2. Etude cyto-histochimique des pétioles et feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	29
III.3. Résultats du Screening phytochimique des extraits aqueux des pétioles et feuilles de <i>Vitex agnus castus</i> L.....	37
III.4. Etude cytohistochimique des pétioles et feuilles de <i>Vitex agnus castus</i> L.....	38
<b>Chapitre IV : discussion et conclusion</b> .....	49

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**



# Introduction

# Introduction générale

---

Les plantes produisent et accumulent un ensemble de composés d'une grande diversité, regroupés sous le nom de métabolites secondaires. Le nombre de structures décrites excède 100 000, toutefois cette estimation reste loin de la réalité. En effet, seules 20 à 30% des plantes ont été étudiées du point de vue biochimique (Dixon, 2001 ; Wink, 2011). Le métabolisme primaire du végétal rentre directement dans un système de survie destiné à exécuter des fonctions physiologiques intrinsèques. Il existe aussi un métabolisme secondaire qui lui n'est pas impliqué dans un processus vital mais possède typiquement des propriétés écologiques, cette caractéristique a été détournée au profit de l'homme, exploitant ainsi les substances naturelles dans des industries diverses (Yang et *al.*, 2018).

Le Sahara Algérien dispose d'une biodiversité floristique exceptionnelle, constituée d'environ 500 espèces végétales (Ozanda, 1991). Ce sont en effet des réservoirs de substances naturelles à intérêt majeur pour les oasiens.

Cette étude rentre dans la thématique de l'axe de recherche sur la biodiversité floristique algérienne et plus particulièrement des plantes aromatiques et médicinales au niveau du laboratoire sur les Zones Arides de Bab Ezzouar. Notre travail se résume en une étude cyto histo chimique des métabolites secondaires présents dans les feuilles et pétioles de deux espèces végétales en l'occurrence *Moringa oleifera* Lam. et *Vitex.agnus castus* L., espèces introduites dans les zones arides du Sahara Algérien et plus particulièrement dans la région d'Adrar pour un développement rural durable en Algérie. Elles sont connues des autochtones pour leurs apports nutritionnels et médicinaux et, qui résistent bien à la sécheresse. Ce travail est en effet une première ébauche pour présenter les deux essences végétales en essayant d'un côté d'identifier la nature des composés phénoliques présents dans les pétioles et feuilles de *Moringa oleifera* Lam. et *Vitex agnus castus* L. et de l'autre de les situer au niveau cellulaire et tissulaire par la technique cyto histo chimique. Cette étude comporte deux parties :

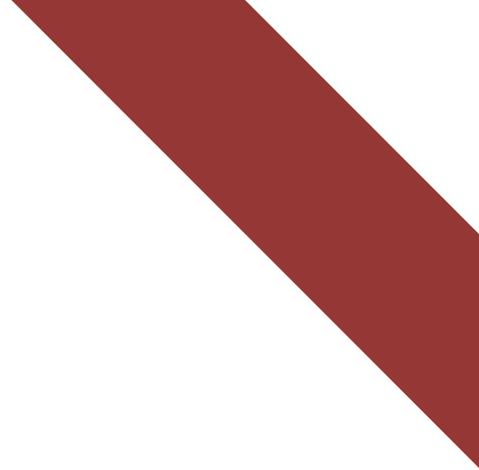
La première partie porte sur une synthèse bibliographique, consacrée d'un côté à la présentation succincte du métabolisme secondaire, suivi d'une présentation botanique des deux essences végétales, *Moringa oleifera* Lam et *Vitex agnus castus* L.

La seconde étape concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur le matériel et les méthodes utilisées et l'autre, regroupera l'ensemble des résultats

## Introduction générale

---

qui seront suivis d'une discussion générale et une conclusion ainsi que certaines perspectives en vue des travaux ultérieurs.



# Chapitre I

## Synthèse

### Bibliographique

## **I.Généralités**

Le règne végétal produit des centaines de milliers de composés organiques de faible poids moléculaire, qui ont été classés par les chercheurs en trois grands groupes (Erb et Kliebenstein, 2020) : Les métabolites primaires, présents dans toutes les plantes et essentiels à leur survie (Wink, 2016), les métabolites secondaires ou spécialisés, produits pour conférer un avantage sélectif à l'organisme (Oakley, 2017) et les phytohormones (Davies, 2004) qui régulent les processus de l'organisme.

Les métabolites primaires comprennent (Mosunova, 2020) : les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques. Ils représentent des nutriments, qui sont directement liés à la croissance et au développement de l'organisme (Sato et Matsui, 2012 ; Fernie et Pichersky, 2015). Les métabolites secondaires, composés non nécessaires à la croissance ou à la reproduction d'un organisme (Oakley, 2017), ils sont produits pour conférer un avantage sélectif à l'organisme, qui leur permet d'interagir avec l'environnement biotique et abiotique (Hartmann, 2007).

Les métabolites secondaires se divisent en trois grands groupes qui sont (Krief, 2003) :

- ✓ Les composés phénoliques ;
- ✓ les huiles essentielles ;
- ✓ les alcaloïdes.

### **I.1.Les composés phénoliques**

#### **I.1.1.Définition**

Les composés phénoliques sont présents et s'accumulent dans presque toutes les parties de la plante, à savoir les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction: éther, ester, hétéroside (Bruneton, 2015 ; Šaponjac *et al.*, 2016).

#### **I.1.2.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, acétophénonés, 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 hydroxycinnamiques 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).

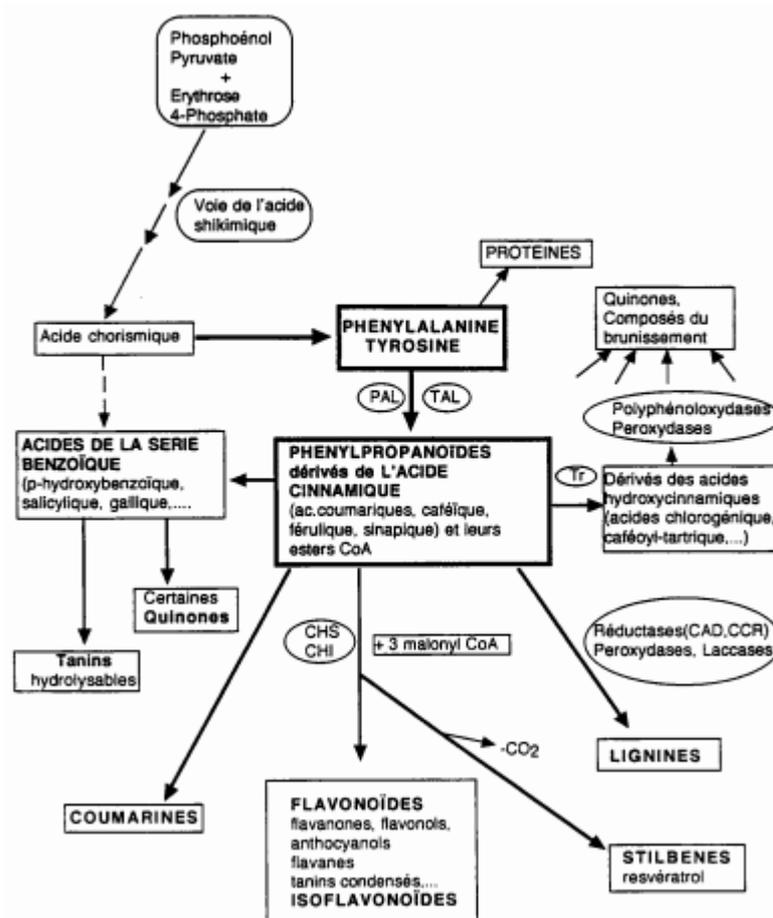


Figure 1. Voies de biosynthèse des polyphénols (Maurent, 2017).

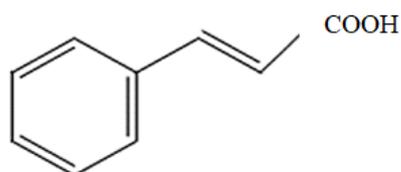
### I.1.3. Classification

Les composées phénoliques sont très diversifiés et parmi eux : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les stilbènes (Richter, 1993).

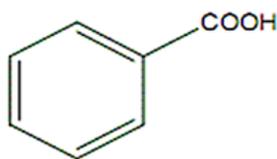
#### I.1.3.1. Les acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Ignat *et al.*, 2011).

Ils sont représentés par deux sous-classes (fig.2 et 3) : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Thompsen, et Mottola, 1984).



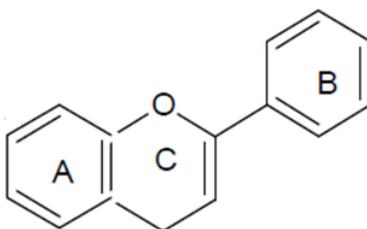
**Figure 2.** Squelette de base d'un acide hydroxybenzoïque (Guignard, 1996)



**Figure 3.** Squelette de base d'un acide hydroxycinnamique (Malagas, 1992)

#### I.1.3.2. Les flavonoïdes

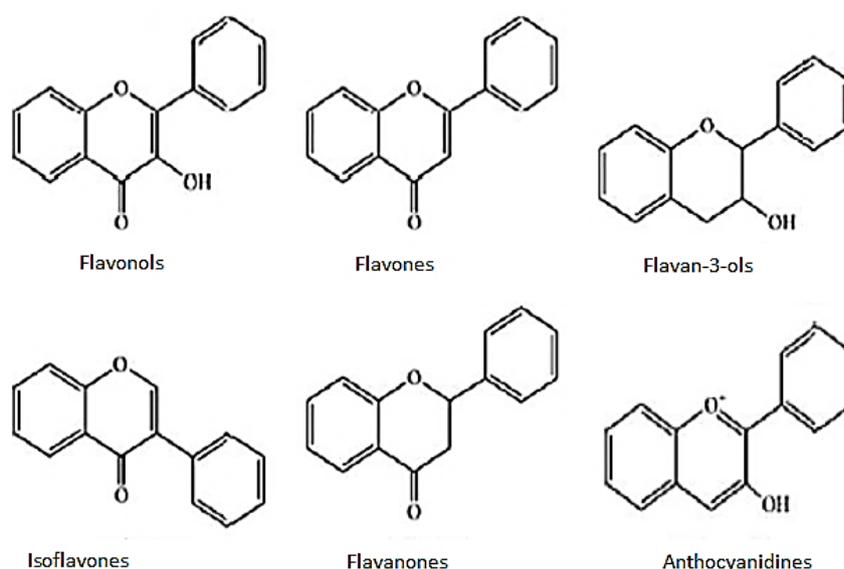
Les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure en C6-C3-C6 du diphenylpropane (fig.4), les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (De Rijke *et al.*, 2006).



**Figure 4.** Squelette de base des flavonoïdes (Remesy *et al.*, 1996).

Les flavonoïdes sont distribués dans les feuilles, l'écorce, les fleurs et les graines des plantes (Medic et *al.*, 2003). Ils s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, ils se concentrent dans l'épiderme des feuilles où ils se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermiques (Bruneton, 1999).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes (fig.5) dont les principales sont : les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (Remesy et *al.*, 1996).



**Figure 5.** Structure des différentes classes des flavonoïdes (Remesy et *al.*, 1996)

### I.1.3.3 Les stilbènes

Les stilbènes ont une structure en C6-C2-C6 : deux cycles benzéniques sont reliés par deux carbones, eux-mêmes unis par une double liaison. Ils peuvent être libres ou hétérosidiques, parfois polymériques. Ils sont présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs (la vigne, l'arachide...) (Bruneton, 2008).

### I.1.3.4. Les tanins

Le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (Manach et *al.*, 2004) d'où leur capacité à tanner le cuir. Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols et peuvent exister dans plusieurs organes des tissus jeunes où ils sont concentrés dans les vacuoles ou dans

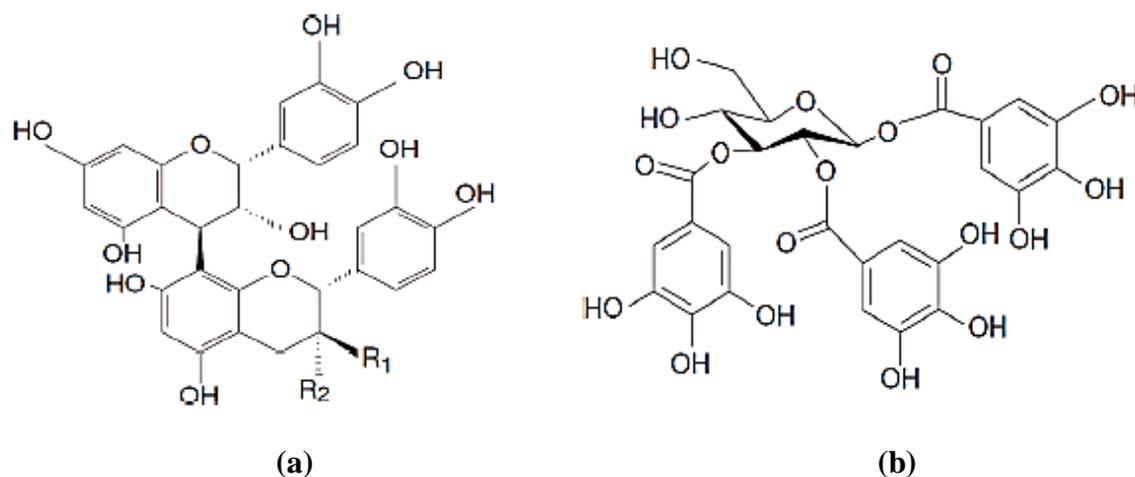
les tissus âgés et, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Karamac et Pegg, 2009). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Monteiro et al., 2007).

#### ❖ Tanins hydrolysables

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (fig. 6 a) (Monties et al., 1969; Cheng et al., 2007). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Nagata et al., 1992).

#### ❖ Tannins condensés

Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (fig.6 b) (Monties et al., 1969; Danglettere, 2007).

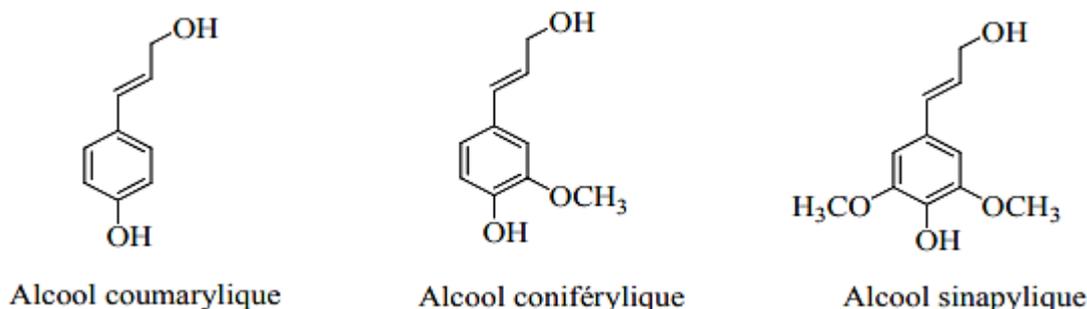


**Figure 6.** Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotannin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) (Sikora et McBride, 1990).

#### I.1.3.5. Les lignines :

Les lignines (fig.7) constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools p-coumarique, coniférylique et sinapilyque. Ces monomères servent de précurseurs pour les lignines mais aussi pour les lignanes (Muanda Nsemi, 2010).

La lignine est un constituant structural de la plante. Liée à la cellulose et aux hémicelluloses, elle constitue les parois cellulaires de la plante, elle est importante pour la matrice cellulaire du xylème contribuant par sa nature à l'hydrophobicité des parois cellulaires permettant ainsi le transport de l'eau et des minéraux dans la plante entière (Boeriu *et al.*, 2004).



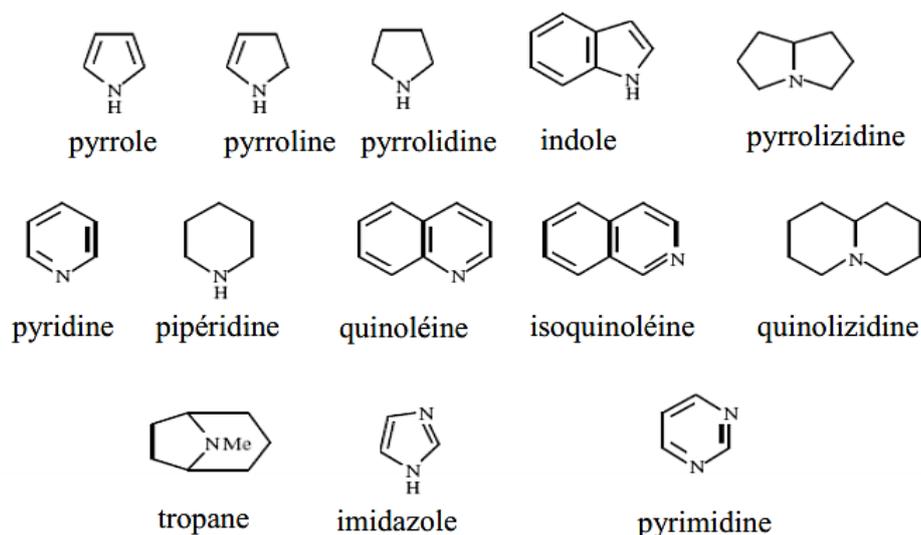
**Figure 7.** Structures des monomères constituant la lignine (Monties, 1989)

## I.2. Les alcaloïdes

### I.2.1. Définition

Les alcaloïdes (fig.8) sont des substances organiques, à caractère alcalin et présentant une structure complexe (Hemingway et Phillipson, 1980 ; Bruneton, 2009). La présence d'azote confère à la molécule un caractère basique plus au moins prononcé. Leurs rôles s'avèrent d'une extrême importance dûs d'une part à leur activité physiologique et d'une autre part à leur toxicité (Cordell, 1981). Les alcaloïdes dérivent des acides aminés, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures, leur classification se fait selon 3 ordres : leur activité biologique, leur structure chimique et leur voie de biosynthèse (Zenk et Juenger, 2007).

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, ils ne s'accumulent pas forcément dans leur lieu de synthèse mais migrent vers les organes cibles. Selon l'espèce de la plante, ils peuvent s'accumuler uniquement dans une seule partie de celle-ci, dans les écorces, les racines, les feuilles ou dans les fruits (Dunet, 2009).



**Figure 8.** Hétérocycles azotés constituant le noyau de base d'un alcaloïde (Weniger, 2010)

### I.2.2. La biosynthèse des alcaloïdes

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, ils se concentrent ensuite dans la vacuole. Leur biosynthèse est très complexe, toutefois, l'une des premières étapes est la décarboxylation des aminoacides par des décarboxylases spécifiques. Pour les alcaloïdes vrais, leur précurseur est un acide aminé simple, dans certains cas. La formation d'un alcaloïde nécessite l'intervention de deux acides aminés différents, ou de deux molécules d'un même acide aminé (quinolizidines), cependant le premier cas reste très rare (Bruneton, 1993).

L'ornithine et la lysine sont à l'origine des alcaloïdes à cycle pyrrolizidine quinolizidine. L'histidine forme le noyau imidazole de la pilocarpine, alcaloïde des Rutacées. La proline, le glutamate ne sont pas à l'origine d'un cycle particulier mais ils participent à la structure d'un certain nombre d'alcaloïdes.

La majorité des alcaloïdes est liée à la formation du noyau aromatique. La tyrosine et la phénylalanine, sont les précurseurs de l'important groupe des alcaloïdes isoquinoléiques. Le tryptophane est à l'origine de la quasi-totalité des alcaloïdes indoliques (Guignard, 2000).

### I.3. Les hétérosides

#### I.3.1. Les saponines

Ce sont des glycosides, des stéroïdes, ou de triterpènes dont la propriété phare est de mousser au contact de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaire liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse (Manach *et al.*, 2004).

#### I.3.2. Les mucilages

Ce sont des polymères complexes de fructose, d'acide glucuronique, et d'acide manuronique. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent au contact de l'eau (Muanda Nsemi, 2010)

### I.4. Etude des espèces

#### I.4.1. *Moringa Oleifera* Lam.

##### I.4.1.1. Présentation de *Moringa Oleifera* Lam.

*Moringa oleifera* Lam. ou *Moringa pterygosperma* Gaertner appartient à la famille monogénérique des arbres et arbustes : les Moringaceae. Cette famille comprend environ 12 à 14 espèces (Lalas et Tsaknis, 2002). Les plus connues sont : *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. longituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*, *M. rivaie*, *M. ruspoliana*, *M. stenopetala* (Fuglie, 2002).

Plusieurs noms vernaculaires sont attribués à *Moringa oleifera* Lam. :

- En Inde, il est appelé Dumstick pour rappeler la forme du fruit qui ressemble à une baguette (Pousset, 1999).
- En anglais : connue sous « west Indian tree », ou « Drumstick Tree », ou encore « Never die tree » en référence à sa résistance à la sécheresse (Hêdji *et al.*, 2014).
- En Afrique francophone, l'arbre est appelé « nébéday », nom vraisemblablement dérivé de son nom anglais.
- En Algérie, dans la région d'Adrar, est connu sous le nom de Shadjarat El Hahyète.

### I.4.1.2. 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

### I.4.1.3. Classification

❖ Laleye et al., (2015) ont établi la classification classique suivante :

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Dillenidae
<b>Ordre</b>	Capparidales
<b>Famille</b>	Moringaceae
<b>Genre</b>	<i>Moringa</i>
<b>Espèce</b>	<i>Oleifera</i>

❖ *M. oleifera* Lam selon APG III (2009), appartient à

<b>Ordre</b>	Brassicales
<b>Famille</b>	Moringaceae

#### I.4.1.4. Description botanique

- ✓ *Moringa oleifera* Lam. est un arbre (fig.9) atteignant 10 à 12m de hauteur (Roloff *et al.*, 2009) et dont le diamètre du tronc varie entre 20 et 40cm (Foidl *et al.*, 2001). Ses branches poussent de manière désorganisée, son écorce est de couleur grise foncée violacée ou blanchâtre et son feuillage est persistant (Yussof, 2016).



**Figure 9.** Aspect générale de *Moringa oleifera* Lam. (Roloff *et al.*, 2009)

- ✓ Les feuilles (fig 10) sont alternes, pétiolées avec à 10 paires de pennes portant chacune deux paires de folioles opposées, poussent principalement à l'extrémité des branches, elles mesurent 20 à 70cm de long (Morton, 1991).



**Figure 10.** Feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Mohamed Ouali, 2016)

- ✓ L'inflorescence (fig.11) est en panicule aux fleurs irrégulières. Ces dernières sont bisexuées et délicatement parfumées, (Besse, 1996 ; Roloff *et al.*, 2009). elles sont de couleur blanche tirant sur le crème, avec des points jaunes à la base, elles se composent de 5 sépales qui sont symétriques et lancéolés, 5 pétales inégaux et entourés de 5 étamines (Hédji *et al.*, 2014)



**Figure 11.** Fleur de *Moringa oleifera* Lam. (Louni, 2009)

- ✓ Les fruits sont sous forme de gousses à trois valves allongées, déhiscentes et mesurant 20 à 60cm de long. Les gousses sont situées au sommet des branches et renferment chacune environ 12 à 35 graines (Foidl *et al.*, 2001) .

- ✓ Les graines (fig.12) sont de forme arrondie, ailées, avec une coque marron semi-perméable. Le poids moyen d'une graine est de 0.3g dont 25% sont représentés par la coque. La production annuelle de l'arbre est de 15 000 à 25 000 graines (Makkar et Becker, 1997)



**Figure 12.** Graines de *Moringa oleifera* Lam. (Sivanesan et al., 2016)

#### **I.4.1.5. Composition chimique :**

Diverses études sur la composition phytochimique de *Moringa Oleifera* Lam. ont révélé son importante valeur nutritive.

- ✓ Les phénols : la présence des composés phénoliques a été révélée au niveau des feuilles, celles-ci contiennent entre 0.67% et 3.4% des phénols totaux (Makkar et Becker, 1996 ; Richter et al., 2003 ; Siddhuraju et Becker, 2003 ; Tchiégang et Kitikil, 2004).
- ✓ Les flavonoïdes : essentiellement présents au niveau des feuilles, de l'écorce de la tige et aussi des fleurs, (Kumbhare et al., 2012 ; Alhakmani et al., 2013).
- ✓ Les tanins : les feuilles de *Moringa Oleifera* Lam. sont riches en tanins. Cependant, les tanins condensés sont les plus marqués, ils sont présents sous forme de traces notamment au niveau des feuilles (Makkar et Becker,

1996 ; Richter et *al.*, 2003 ; Siddhuraju et Becker, 2003 ; Tchiégang et Kitikil, 2004).

- ✓ Les terpènes : les tritéroïdes sont essentiellement présents au niveau de l'écorce et des fleurs de la plante (Kumbhare et *al.*, 2012 ; Alhakmani et *al.*, 2013).
- ✓ Les éléments minéraux : ils existent en quantité importante au niveau des feuilles particulièrement le fer et le zinc (Kozat, 2007). Leur présence a été aussi révélée au niveaux des graines, mais de moindre importance (Dhakar et Maurya, 2011 ; Aho et Lagasi, 2012).
- ✓ Les acides gras : fortement présents dans les graines, notamment les acides gras saturés et insaturés. L'acide oléique représente 70% des acides gras totaux (Foidl et *al.*, 2001).
- ✓ Ajouté à cela, les acides aminés et les sucres simples, dont les fleurs manifestent la plus grande teneur, et certaines vitamines dont l'acide ascorbique, présent au niveau de la feuille (Laleye et *al.*, 2015).

#### **I.4.1.6. Propriétés et utilisations :**

Historiquement, toutes les parties de la plante ont été consommées comme nourriture et/ou utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de maladies métaboliques, inflammatoires, infectieuses, tumorales, respiratoires ainsi que l'arthrite, athérosclérose, soulagement de la douleur... Aujourd'hui, de nombreuses études scientifiques soutiennent ces usages traditionnels (Elgamily et al, Jaja-Chimedza et *al.*, 2017).

Selon Fuglie (1999), *M. Oleifera* Lam. est exploité de plusieurs façons : les feuilles sont utilisées pour la production de fourrage animal et d'engrais vert. Le tronc est exploité dans la production de gomme et de colorants. Le nectar des fleurs est connu pour la production de miel. Les graines ont fait l'objet de plusieurs études concernant les traitements des eaux usées, la poudre de graine s'est avérée être très efficace pour flocculer les contaminants et purifier l'eau potable (Berger ; Olsen ., 1987 et Gassenschmidt ., 1995).

L'extrait de graine a notamment été utilisé comme agent coagulant pour différents types de lait, il renferme des protéines générant une activité de coagulation du lait appropriée pour la fabrication du fromage, cet extrait vient rajouter une valeur nutritive supplémentaire au fromage produit (Sánchez-Muñoz., 2017) Les huiles de *M.oleifera* Lam. sont dotées d'une faible tendance à se détériorer et à rancir, ce qui leur doit leur utilisation en tant que lubrifiant dans la machinerie fine et que l'horlogerie (William et al., 2012). *M.oleifera* Lam. Possède une propriété antifongique, très exploitée dans les cultures transgéniques, grâce à la Mo-CBP3 qui est une protéine liant la chitine qui inhibe la germination et la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes (James et Zikankuba, 2017).

*M.oleifera* Lam. est aussi mis en avant grâce à ses propriétés thérapeutiques dû en grande partie à sa richesse nutritive. La poudre de feuille est très convoitée comme moyen de lutter contre la malnutrition chez les jeunes enfants dans les pays sous-développés (Ndong et al., 2007). Selon Malki et El Rabey (2015) *M.oleifera* Lam. est doté d'un pouvoir tonifiant, fortifiant et stimulant du système immunitaire lui permet de se positionner en tant que complément alimentaire très bénéfique pour les patients atteints du VIH (Tete-Benissan et al., 2012). Les anémies hémolytiques peuvent être atténuées grâce à son aptitude à amplifier le sang (Jaiswal et al., 2009).

#### **I.4.2. *Vitex agnus castus* L.**

##### **I.4.2.1. Présentation de *Vitex agnus castus* L.**

*Vitex agnus castus* L. appartient au genre *Vitex* qui est le plus grand genre de la famille des verbénacées comprenant 250 espèces réparties dans le monde entier (Rani et Sharma, 2013). Les plus répandus sont : *V. canescences*, *V. cooper*, *V. cymosa*, *V. fisherii*, *V. gardneriana*, *V. glabrata*, *V. leptobotrys*, *V. scabra*, *V. plygama*, *V. agnus castus* L. (Sena-filho et al., 2008).

*V. agnus castus* L. est l'espèce la plus connue et étudiée, plusieurs noms vernaculaires lui sont attribués :

- ✓ En Anglais, il est connu sous le nom de « Chast tree » ou « Berry chast » en référence à ses pouvoirs anaphrodisiaques (Dugaoua, 2008).

- ✓ En français, « Gattilier », « Baie de l'arbre chast » dérivé de son nom anglais, ou encore « Poivre de moine » par rapport aux moines qui l'astiquaient afin de respecter leur vœu de chasteté (Tela-Botanica, 2015).
- ✓ En Algérie, son nom varie en fonction des régions « Kaf mariam » pour rappeler la forme des feuilles qui ressemblent à des doigts, ou encore « Kharouaa » dans la région d'Adrar

#### I.4.2.2. Répartition géographique et habitat

*Vitex agnus castus* L. est retrouvé dans les endroits humides, au bord des cours d'eau à faible altitude, particulièrement dans la zone méditerranéenne. Il est originaire d'Asie, il a été introduit en Europe occidentale dans les jardins médiévaux et, s'est ensuite répandu en Asie centrale et occidentale ainsi qu'en Afrique (Allais, 2008). Il est maintenant cultivé partout dans le monde y compris la partie sud des Etats Unis. Il est aussi cultivé dans plusieurs zones subtropicales différentes dans le monde (Zahid et *al.*, 2016). En Algérie, cette espèce trouve un ultime refuge dans les oueds et même en plein cœur du Sahara (les zones arides).

*V. agnus castus* L. pousse sur tous les sols, pauvres en éléments nutritifs, caillouteux ou calcaires. Il résiste aussi parfaitement à la sécheresse.

#### I.4.2.3. Classification

- ❖ Cronquist (1981) a établi la classification suivante :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Astériidae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Verbénacées
<b>Genre</b>	<i>Vitex</i>
<b>Espèce</b>	<i>Vitex agnus castus</i> L.

❖ Selon APG (2009), *Vitex agnus castus* L. appartient à:

<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae

#### I.4.2.4. Description botanique

*Vitex agnus castus*. L est un arbuste à feuilles caduques (fig.13) qui pourrait croître en moyenne de 1,5 m à 2 m de haut. Son port est ligneux et ramifié. Le système racinaire est pivotant.



**Figure 13.** Allure générale de *Vitex agnus castus* L. (Dunning, 2016).

Les feuilles (fig.14) sont composées, palmées, avec des folioles vertes, linéaires, lancéolées, et dentées (Quezel et Santa 1963).



**Figure 14.** Feuilles de *Vitex agnus castus* L. (Gruffat, 2020)

- ✓ L'inflorescence est de type épi. Les fleurs (fig.15) sont petites, de couleur bleue violacée, parfumées. Le gattilier fleurit deux fois par an, en Avril et en Septembre (Mohamed Ouali, 2016).



**Figure 15.** Fleurs de *Vitex agnus castus* L. (Ruas, 2012)

- ✓ Les fruits sont des baies (fig.16) similaires à des grains de poivre, durs, d'un pourpre à la peau noire, jaunâtres à l'intérieur, à moitié couverte par leur calices verts et contenant quatre graines (Quezel et Santa 1963). L'odeur est aromatique et épicée, la saveur est chaude, singulière après maturation.



**Figure 16.** Graines de *Vitex agnus castus* L. (Courtoy, 2013)

#### **I.4.2.5. Composition chimique**

Des analyses phytochimiques de *Vitex agnus castus*.L ont révélé la présence d'acide phénolique et leurs dérivés phénols, flavonoïdes, tanins, iridoïdes, et huile essentielle (Sarac et *al.*, 2015).

- ✓ Les phénols : Le seul dérivé de l'acide benzoïque présent dans le gattilier est l'acide p-hydroxybenzoïque, il est retrouvé dans les graines et dans les fruits (Hoberg et al., 2000). L'unique dérivé de l'acide cinnamique connu chez *Vitex agnus castus* L. est l'acide férulique et se retrouve dans le fruit.
- ✓ Les flavonoïdes : D'après Allais (2008) les teneurs en flavonoïdes différent en fonction de la partie de la plante et sont plus concentrés dans les feuilles, au niveau des sommités fleuries et dans les fruits.
- ✓ Les tanins : ils sont présents dans les fruits, les fleurs et les feuilles (Antolic et Males, 1997).
- ✓ Les iridoïdes : Ce sont des composés monoterpéniques et se présentent sous forme de glucosides (hétérosides) (Allais, 2008 ; Bruneton, 2009), ce qui les stabilise et les rend hydrosolubles. Ils sont présents (Kuruuzum-Uz et *al.*, 2003) dans les

feuilles, les fruits et les sommités fleuries. Ces molécules possèdent diverses activités thérapeutiques notamment des activités antispasmodiques, anti-inflammatoires ou encore laxatives (Hu et *al.*, 2007) et agissent sur les récepteurs de la progestérone.

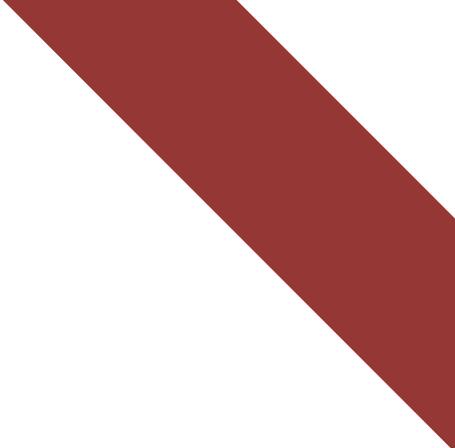
- ✓ Les huiles essentielles se retrouvent principalement les fleurs et également dans les fruits (Allais, 2008).

#### **I.4.2.6. Propriétés et utilisations**

Traditionnellement *Vitex agnus castus* L. a été utilisé par les praticiens de la phytothérapie dans le traitement de nombreuses maladies féminines, y compris les troubles menstruels, l'insuffisance prémenstruelles du corps jaune, l'infertilité, l'acné, la ménopause et la pré-ménopause (Daniele et *al.*, 2005).

*Vitex agnus castus* L. est apprécié pour ses nombreuses vertus. Ainsi, ses feuilles aromatiques sont utilisées comme antiparasitaires et vermifuges et permettent de calmer et de soulager les douleurs. Ses racines, quant à elles, sont tonifiantes et permettent de lutter contre la fièvre, elles représentent un puissant expectorant et ont aussi des propriétés diurétiques. Ses fruits, pour leur part, sont utilisés pour soulager et / ou améliorer les symptômes des maladies obstétricales et gynécologiques (Mohamed Ouali, 2016).

Les flavonoïdes et les tanins contenus dans *Vitex agnus castus* L. pourraient être responsables de son activité antioxydante (Sarikurkcü et *al.*, 2009). Les extraits d'huiles essentielles quant à elles démontrent des propriétés antifongiques et antimicrobiennes (Stojković et *al.*, 2011 ; Asdadi et *al.*, 2015).



# Chapitre II

## Matériel et méthodes

La partie expérimentale a débuté au mois d'Avril jusqu'au mois de Juin 2021. Elle a été réalisée au niveau des laboratoires suivants :

- ❖ Le laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA), sis à l'université d'Alger, pour la réalisation des coupes histologiques au microtome
- ❖ La coloration des coupes histologiques, les observations microscopiques ainsi que le screening phytochimique ont été réalisés au laboratoire de Physiologie Végétale, sis à l'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques (ENSA) d'El Harrach.

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel végétal

L'échantillonnage est réalisé au niveau de la station de Ouled Aïssa, à la Wilaya d'Adrar (fig. 17), en Mars 2021, par M<sup>me</sup> Mohamed Ouali, par une matinée ensoleillée sèche, à 30°C.

Nous avons travaillé sur les feuilles et les pétioles des deux espèces végétales : *Moringa oleifera* Lam. et *Vitex agnus castus* L.. D'une part, les organes végétatifs sont séchés à l'ombre et à l'air libre, puis broyés à l'aide d'un broyeur électrique (Moulinex). Le broyat est conservé dans des sachets en papier et stockés dans un endroit sec, pour la partie screening phytochimique.



**Figure 17.** Localisation de la zone de l'échantillonnage (www.google map.com).

D'autre part, pour la partie histologique, nous avons conservé les organes suscités dans le mélange Formol-Alcool-Acide Acétique (FAA) pendant 48 heures et ensuite dans de l'alcool absolu jusqu'à réalisation des coupes histologique.

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Screening phytochimique**

C'est un test qualitatif, qui constitue la première étape dans la recherche des molécules à activités thérapeutiques, il est basé sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation. Le but de ce test est de connaître la composition en métabolites secondaires, il est effectué soit sur le broyat, soit sur un infusé (Bouyer, 1996). (Annexe I)

#### **II.2.1.1. Mode opératoire**

Nous avons ajouté 100 ml d'eau distillée bouillante à 10g de poudre végétale. Puis nous avons laissé infuser pendant 15 min, avec agitation de temps en temps et enfin, nous avons filtré.

##### **➤ Les anthocyanes**

À 5 ml de l'infusé ont été ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque  $\frac{1}{2}$ . L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des anthocyanes.

##### **➤ Les tanins**

Nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution de  $F_6Cl_3$  à 5% à 5 ml d'infusé. La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

##### **➤ Les tanins catéchiques**

Nous avons additionné 7 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% et 5 ml d'HCl concentré) à 15 ml de l'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

➤ **Les tanins galliques**

À 5 ml de l'infusé ont été ajoutés 2 g d'acétate de Sodium et quelques gouttes de  $F_eCl_3$ . La réaction donne une coloration bleue foncée en présence des tanins galliques.

➤ **Les flavonoïdes**

5 ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique ont été mélangés à 5 ml d'infusé. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

➤ **Les alcaloïdes**

Nous avons ajouté 10 ml d'acide sulfurique (10%) à 1g de poudre végétale. Puis, nous avons agité énergiquement le mélange pendant 2 mn et par la suite, nous avons filtré.

Une fois le filtrat obtenu, nous avons versé 2 gouttes du réactif de Dragendorf. L'apparition d'un précipité rouge orangé indique la présence des alcaloïdes.

➤ **Les glucosides**

2 gouttes d'acide sulfurique ont été rajoutées à 2 g de poudre végétale. L'apparition d'une coloration rouge brique, ensuite violette indique la présence des glucosides.

➤ **Les mucilages**

5ml d'éthanol absolu sont rajoutés à 1ml de l'infusé. L'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages.

➤ **Les saponines**

1ml d'eau distillée est rajouté à 2ml de l'infusé. Les tubes sont énergiquement remués. Nous mesurons ensuite l'épaisseur de la mousse formée :

**Pas de mousse = test négatif -**

**Mousse moins de 1 Cm = test faiblement positif +**

**Mousse de 1-2 cm = test positif ++**

**Mousse de plus de 2 cm = test très positif +++ (Trease et Evans, 1987).**

## **II.2.2. Etude cyto-histochimique**

Une analyse cyto-histochimique est réalisée afin de localiser certains métabolites secondaires au niveau cellulaire et tissulaire. Les échantillons utilisés pour les tests cyto-histochimiques sont frais. Les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome de type **LEICA RM 2125 RT**. (Annexe II)

### **II.2.2.1. Mode opératoire**

#### **II.2.2.1.1. L'inclusion des organes dans la paraffine**

##### **➤ La fixation**

L'inclusion des organes dans de la paraffine est la première étape d'un long processus, la fixation en est le début, elle consiste à maintenir les échantillons en immersion dans une solution Formol Alcool Acide Acétique (FAA) pendant 48 heures.

##### **➤ La déshydratation**

S'en suit alors la déshydratation, qui se fait par des bains successifs dans des solutions alcooliques à concentration croissante :

- ✓ Ethanol 70° 1h
- ✓ Ethanol 95° 15 mn
- ✓ Ethanol 95° 30 mn
- ✓ Ethanol 100° 30 mn (vide partiel)
- ✓ Ethanol 100° 1h
- ✓ Ethanol 100° 1 nuit

##### **➤ L'imprégnation**

L'échantillon est ensuite soumis à une imprégnation dans différentes solutions comme suit :

- ✓ 1 bain de Toluène + Ethanol 100° (1/1) 30 mn
- ✓ bains de Toluène pur 1h chacun
- ✓ 1 bain de Toluène pur + Paraffine (1/1) 30 mn à 58-60°C
- ✓ bains de paraffine pur 1h à 58-60°C chacun
- ✓ 1 bain de paraffine pur toute la nuit à 58-60°C

➤ **L'inclusion**

Après le dernier bain, les échantillons sont complètement immergés dans de la paraffine. Tout d'abord, le choix du moule métallique se fait selon la taille de l'échantillon, dans lequel nous faisons couler de la paraffine pure chaude, une fine couche sera formé au fond du moule, l'échantillon est alors déposé minutieusement à l'aide d'une pince. À ce stade là, une cassette est déposée sur le moule et à l'air libre de façon à ce que la paraffine pénètre dans ses perforations. Enfin, après refroidissement, les cassettes de paraffine obtenus sont refaçonnés et prêts pour une éventuelle utilisation.

**II.2.2.1.2. La confection des coupes**

Les blocs de paraffines sont passés dans un microtome de type **LEICA RM21 25RT**, les coupes réalisées sont d'épaisseur variant entre 5 à 7 $\mu$ m. Les rubans de coupes sont étalés délicatement sur des lames préalablement nettoyées avec de l'éthanol et imbibées avec une eau gélatineuse. Le tout est ensuite déposé. Les lames contenant les coupes sont égouttées et séchées sur une plaque chauffante de type LEICA HI 1220, à 40° C, puis laissées à température ambiante.

➤ **Le déparaffinage**

L'étape de déparaffinage consiste à faire passer les coupes dans trois bains de Toluène :

- ✓ 1 bain de toluène pur 20 mn
- ✓ 2 bains de Toluène pur 10 min chacun

➤ **La réhydratation**

Enfin, les coupes ont été réhydratées sur trois bains d'éthanol :

- ✓ 2 bains d’Ethanol à 100° 10mn chacun
- ✓ 1 bain d’Ethanol à 100° + formol (4/1) 5 min

Les révélations sont faites en présence de réactifs appropriés, à l’aide d’un microscope photonique de type **Olympus, modèle C×21 F S 1**. Les photos sont prises au moyen de deux cellulaires de type **Samsung Galaxy A30** et **Samsung Galaxy J4**.

### ➤ Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont révélés par le réactif de Dragendorf. Les coupes sont trempées dans le réactif pendant quelques minutes, puis rincées à l’eau. Les alcaloïdes se colorent en noir.

### ➤ Les tanins

La vanilline est d’abord dissoute dans l’acide chlorhydrique (Andary et *al.*, 1994). Elle colore en marron ou jaune marron les catéchines, les procyanidols et les tanins condensés contenus principalement dans les vacuoles ou autour de la paroi dans le cas des tissus morts.

### ➤ Lignines

Les coupes histologiques sont trempées dans l’acide acétique pendant 10 min. Après un rinçage à l’eau, les coupes sont colorées au vert de méthyle, colorant spécifique des tissus lignifiés (Langeron, 1949).

Les lignines à radicaux coniferyls dérivant directement de l’acide férulique sont détectées par la réaction au phloroglucinol chlorhydrique (test de Wisner) (Vance et *al.*, 1980).

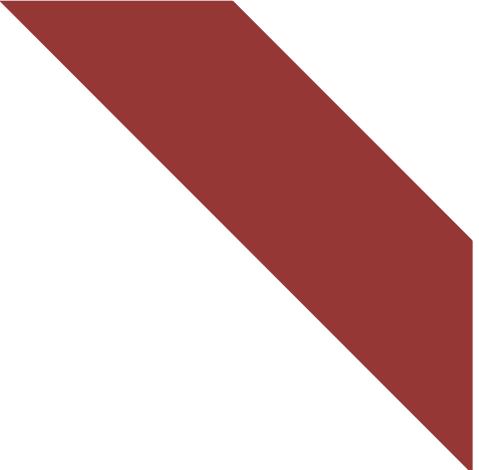
Les coupes sont mises au contact d’une solution de phloroglucinol à 1% dans l’éthanol 96° pendant 10 min, ensuite montées dans une goutte d’HCl à 50%. Les radicaux coniferyls imprégnant la paroi cellulaire sont colorés en rouge-violacé à pourpre.

- Les lignines à groupements syringylyls dérivant de l’acide sinapique sont révélées grâce au test de Maule (Faulkner et Kimmins, 1975). Les coupes sont immergées dans une solution de  $\text{KMnO}_4$  à 1% pendant 15min. Elles sont ensuite rincées à

l'eau distillée puis mises en contact avec l'HCl (2N) pendant 5 min. Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée puis traitées avec du NH<sub>4</sub>Cl (2N) en solution dans l'eau. Les groupements syringyls des lignines pariétales se colorent en rouge-brun par le test de Maule.

➤ **La coloration au bleu de toluidine**

Le bleu de toluidine confère à la fois une couleur rose violacé à la cellulose et une couleur bleue turquoise à la lignine. Les coupes sont colorées au bleu de toluidine pendant une minute, puis rincées à l'eau courante.



# Chapitre III

## Résultats et interprétation

### III. Résultats et interprétation

#### III.1. Résultats du Screening phytochimique des extraits aqueux des pétioles et feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

Les résultats des tests phytochimiques des feuilles et pétioles de *Moringa oleifera* Lam. Sont regroupés dans le tableau I

**Tableau I:** Résultats du screening phytochimique des pétioles et feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

Organes végétatifs Métabolites secondaires	pétioles	feuilles
Anthocyanes	+	+
Tanins	+	+
Tanins catéchiques	++	++
Tanins galliques	+	+
Flavonoïdes	+	+
Alcaloïdes	+	+
Glucosides	+	+
Mucilage	+	+
Saponines	-	-

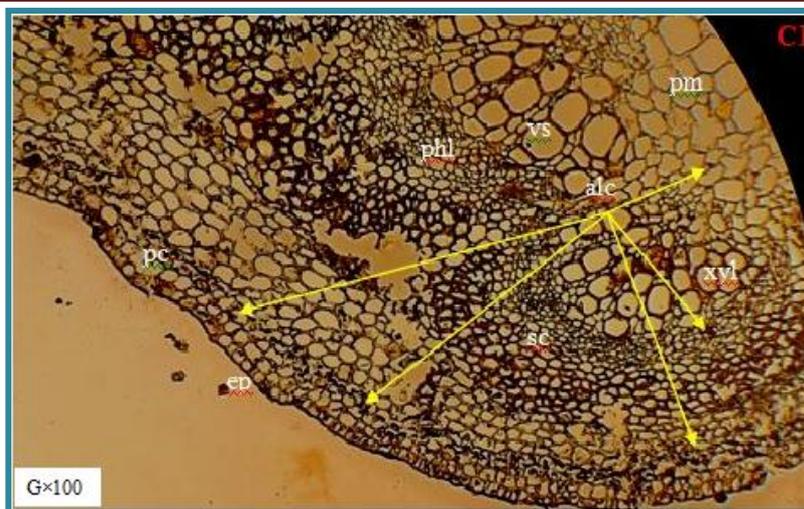
+ : présence

- : absence;

#### III.2. Etude cyto-histochimique des pétioles et feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

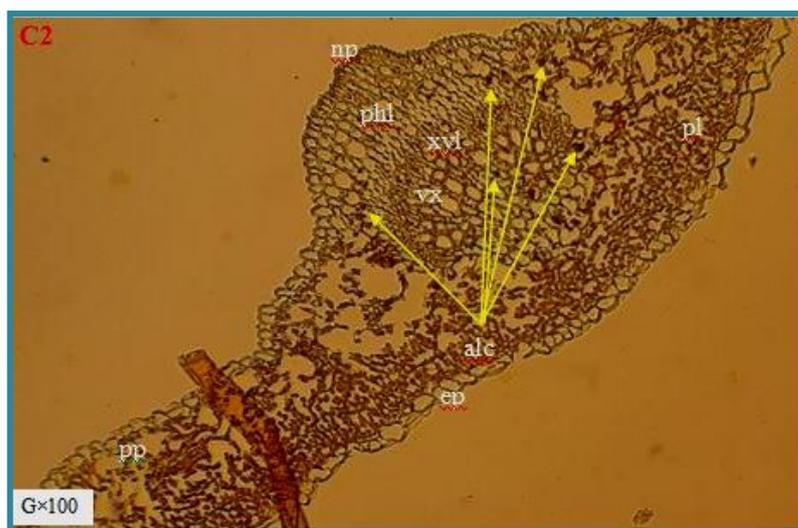
- La réaction de Dragendorff a mis en évidence une très faible présence d'alcaloïdes sous forme de traces noires aussi bien au niveau du pétiole qu'au niveau des feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

Au niveau des pétioles, leur présence est accentuée au niveau du parenchyme cortical, et sont sous forme de traces au niveau du parenchyme phloémien et parenchyme médullaire (fig.18, photo C1).



**Figure 18.C1** : Coupe transversale au niveau du pétiole de *Moringa oleifera* Lam.; alc : alcaloïde; ep : épiderme; pc : parenchyme cortical; sc : sclérenchymes ; xyl : xylème; vs : vaisseau; phl : phloème; pm : parenchymes médullaire.

Comme dans les pétioles, les alcaloïdes sont faiblement présents dans les feuilles de *Moringa Oleifera* Lam. Ils sont sous forme de traces au niveau des parenchymes palissadiques et lacuneux et même au niveau des cellules du parenchyme ligneux et au niveau du xylème (fig.19, photo C2).

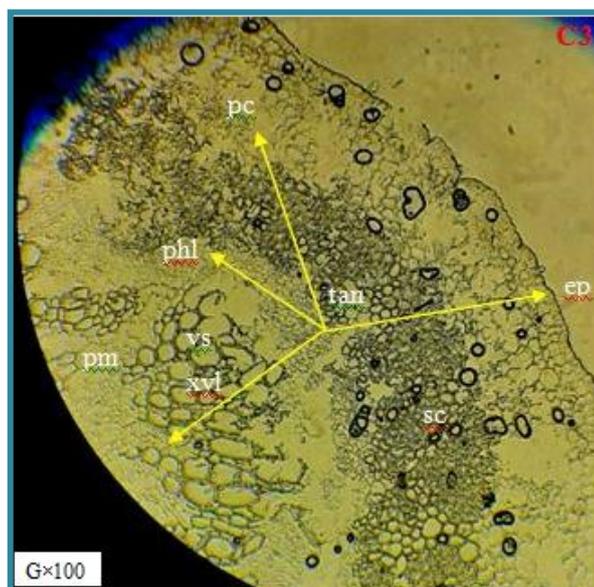


**Figure 19.C2** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Moringa oleifera* Lam.; alc : alcaloïde; np : nervure principale; ep : épiderme; pp : parenchyme palissadique; xyl : xylème; vx : vaisseaux; phl : phloème; pl : parenchymes lacuneux

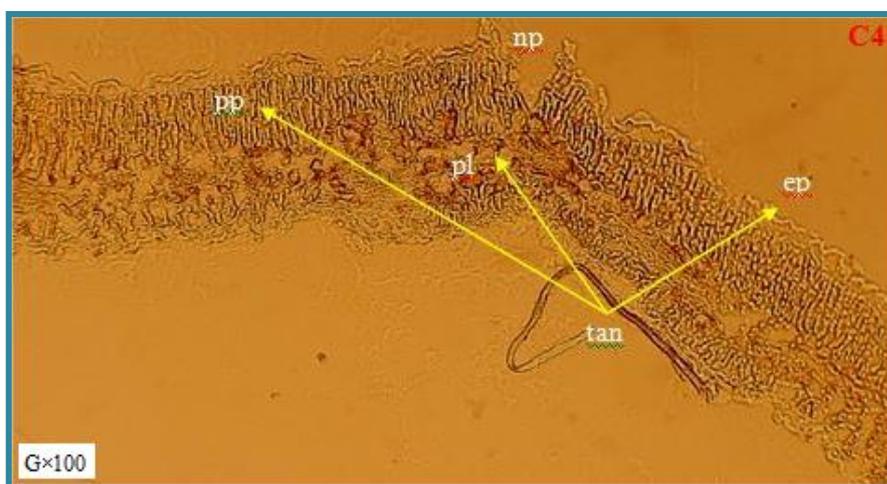
- La révélation cyto-histochimique des tanins par la vanilline chlorhydrique (Andary et al. 1994) a permis d'identifier leur site d'accumulation au niveau des tissus du pétiole et des feuilles des deux espèces étudiées. Les tanins, de type condensés sont principalement accumulés dans la vacuole des cellules de

tissus périphériques encore vivants, ils lui donnent une couleur jaune-orange. Dans les tissus morts, et après déshydratation de la vacuole, ces composés s'incrusteront dans la paroi et lui confèrent une teinte jaune-brunâtre.

Dans les pétioles, ils sont concentrés dans les cellules de l'épiderme, à la base du poil tecteur, dans les cellules du parenchyme cortical, du collenchyme, ainsi que celles du parenchyme médullaire et phloémien (fig. 20, photo C3).



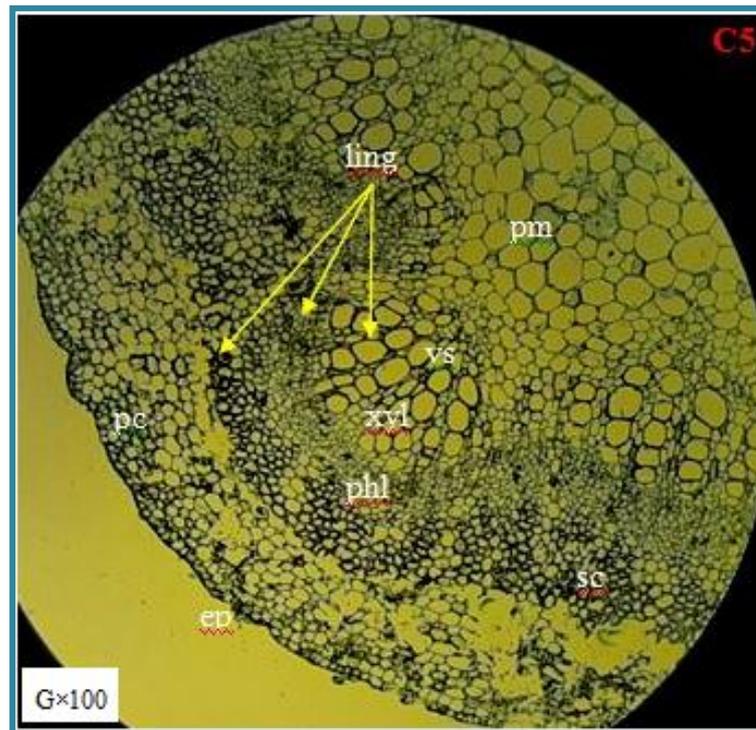
**Figure 20.C3** : Coupe transversale au niveau du pétiole *Moringa oleifera* Lam. ; tan : tanins; ep : épiderme; pc : parenchyme cortical; sc : sclérenchymes; xyl : xylème ; vs : vaisseau; phl : phloème; pm : parenchymes médullaire.



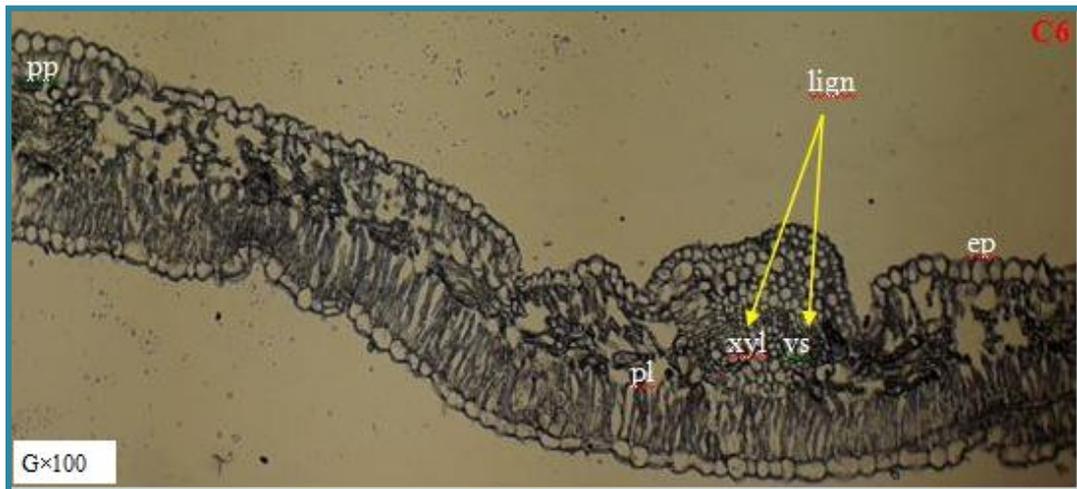
**Figure 21.C4** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Moringa olifera* Lam. ; tan : tanins ; ep : épiderme ; np : nervure principale ; pp : parenchyme palissadique pl : parenchymes lacuneux

Dans les feuilles, les tanins condensés sont incrustés dans les cellules de l'épiderme, des parenchymes palissadique et lacuneux (fig. 21, photo C4).

- La révélation cyto-histochimique des lignines au vert de méthyle (Langeron, 1949), montre que celles-ci imprègnent les parois du sclérenchyme au niveau de l'écorce, ainsi que celles des éléments du xylème (vaisseaux et parenchymes ligneux) au niveau du cylindre central des pétioles de *Moringa oleifera* Lam. (fig. 22, photo C5).



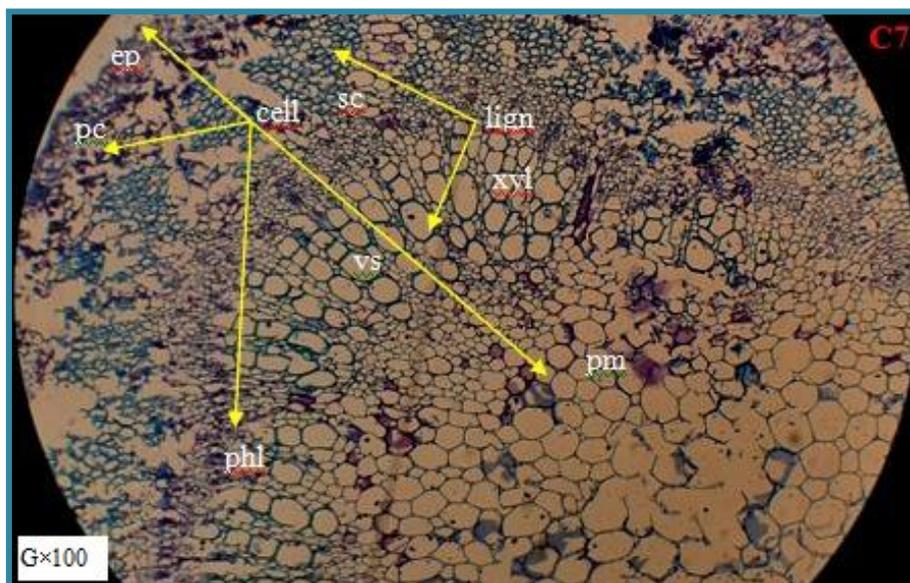
**Figure 22.C5 :** Coupe transversale au niveau du pétiole de *Moringa oleifera* Lam. ;  
 lign : lignine ; phl : phloème ; pc : parenchyme corticale ; pm : parenchyme médullaire ;  
 ep : épiderme ; xyl : xylème, vs : vaisseau ; sc : sclérenchyme



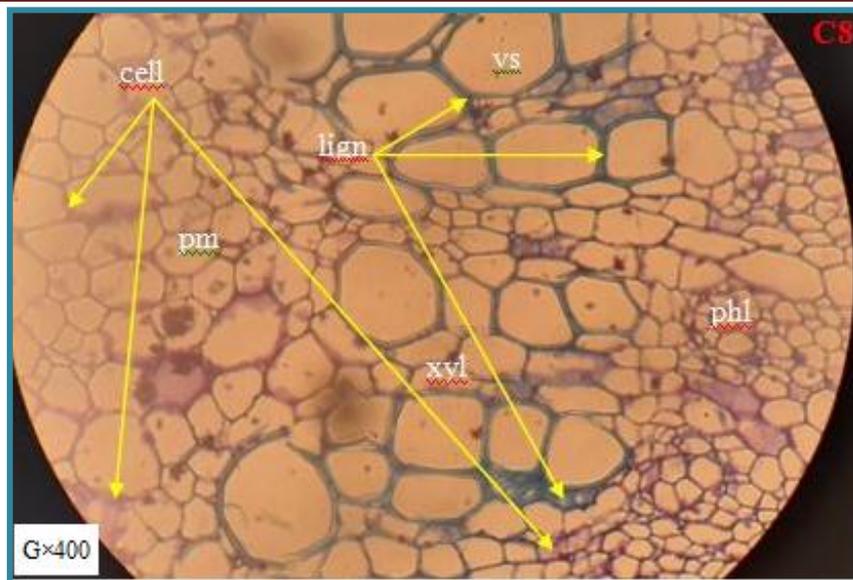
**Figure 23.C6** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Moringa oleifera* Lam. ; lign : lignine ; ep : épiderme ; xyl : xylème ; vs : vaisseau ; pl : parenchyme lacuneux ; pp : parenchyme palissadique ;

Au niveau des feuilles, celles-ci sont concentrées dans les parois des vaisseaux et des cellules du parenchyme ligneux (fig.23, photo C6).

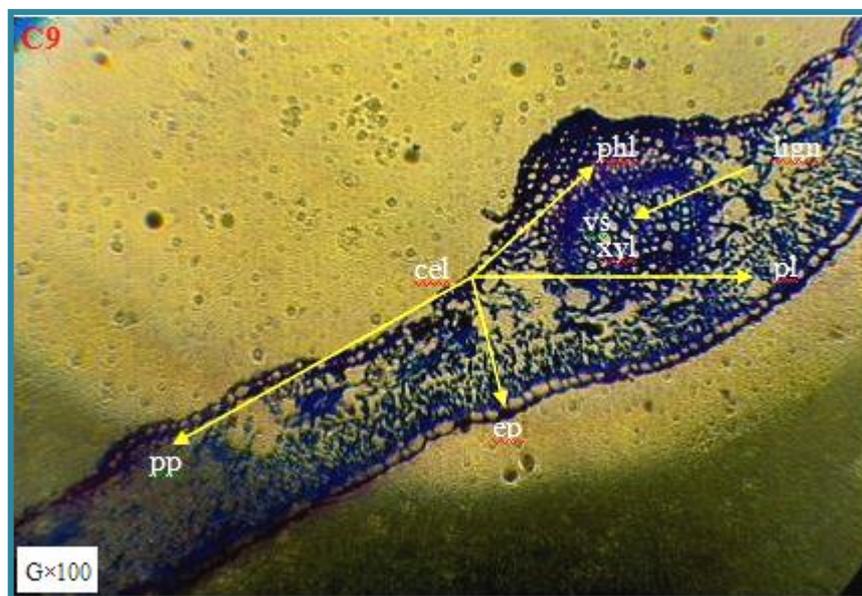
Vu que la coloration en vert caractéristique des tissus lignifiés n'était pas bien apparente au niveau des feuilles et, pour mieux élucider la présence des lignines dans les pétioles et les feuilles de *Moringa oleifera* Lam., nous avons réalisé la coloration par le réactif de toluidine. Celui-ci colore en bleu la lignine et en violet les tissus cellulose (fig.24, 25 et 26, photos C7 et C8).



**Figure 24.C7** : Coupe transversale au niveau du pétiole de *Moringa olifera* Lam. ; cel : cellulose ; lign : lignine ; ep : épiderme ; pc : parenchyme cortical ; sc : sclérenchymes, xyl : xylème ; vs : vaisseau ; phl : phloème ; pm : parenchymes médullaire

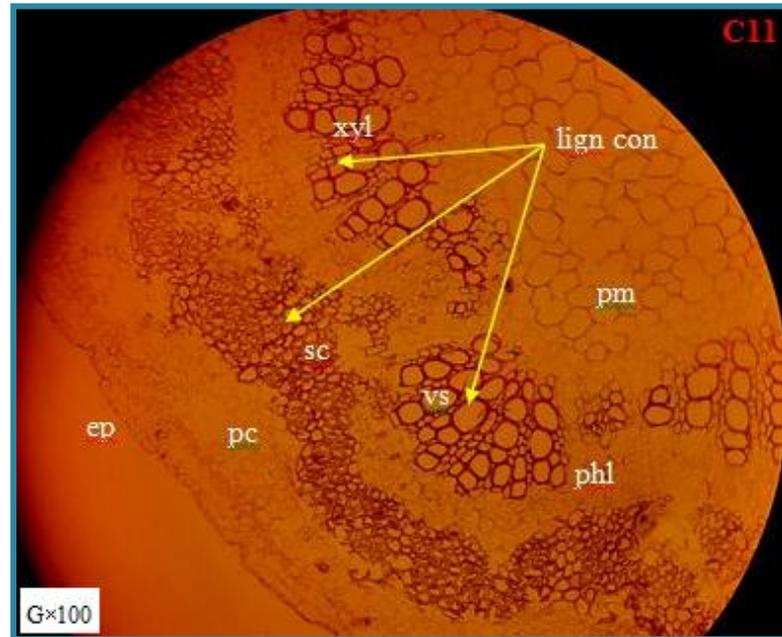


**Figure 25.C8** : Coupe transversale au niveau du pétiole de *Moringa olifera* Lam. ;  
 cel : cellulose ; lign : lignine ; ep : épiderme ; pc : parenchyme cortical ; sc : sclérenchymes, xyl : xylème ; vs : vaisseau ; phl : phloème ; pm : parenchymes médullaire



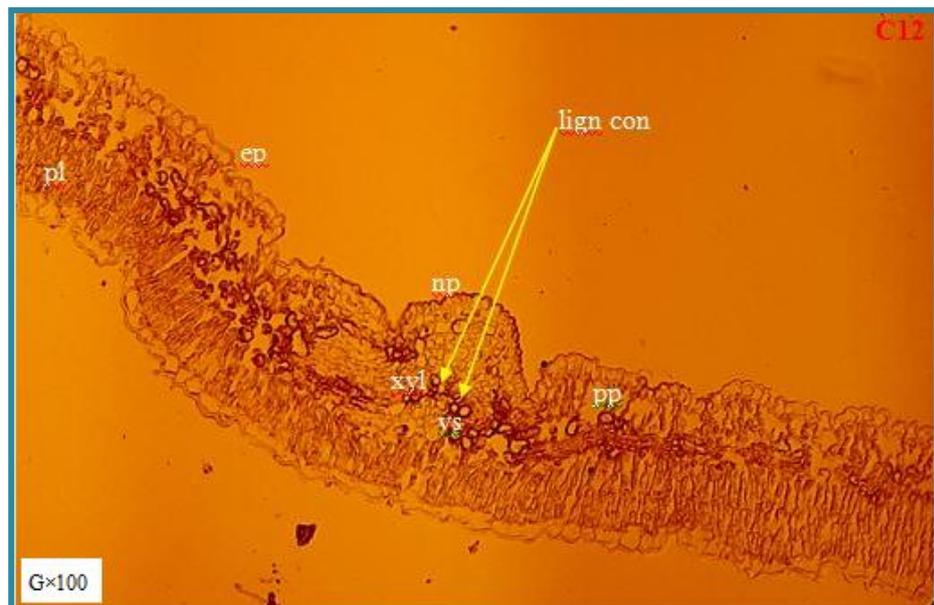
**Figure 26.C9** : Coupe transversale au niveau de la feuille *Moringa olifera* Lam. ;  
 cel : cellulose ; lign : lignine ; phl : phloème ; pl : parenchyme lacuneux ; pp : parenchyme palissadique ; ep : épiderme ; vs : vaisseau ; xyl : xylème

- Les radicaux conyferyls des lignines mis en évidence par le test de Wiesner (Vance, 1980) montrent une réaction positive au niveau des parois des cellules du sclérenchyme, ainsi que celles des vaisseaux et du parenchyme ligneux des pétioles (fig.27, photo C11) de *Moringa oleifera* Lam.



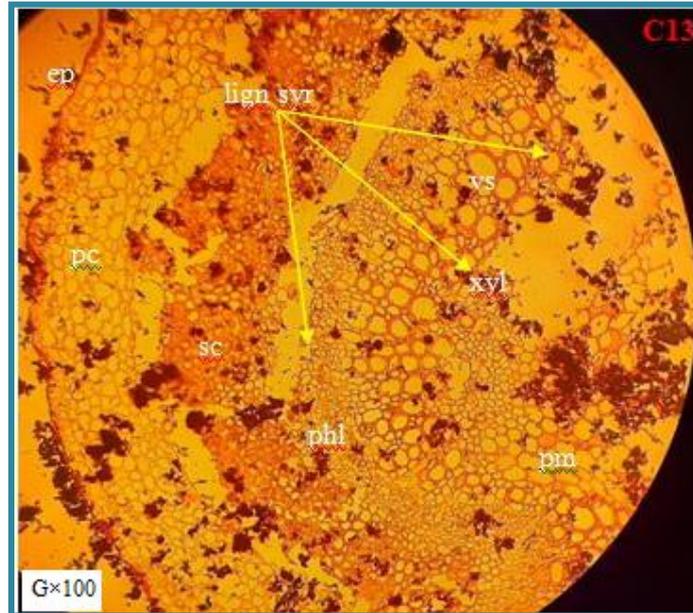
**Figure 27.C11:** Coupe transversale au niveau du pétiole de *Moringa oleifera* Lam. ; lign con: lignine conyferique; ep: épiderme; pc: parenchyme corticale; phl: phloème; xyl: xylème; sc; sclérenchyme; vs: vaisseau; pm: parenchyme médullaire

Au niveau des feuilles, ces derniers sont concentrés dans les parois des vaisseaux ainsi que celles de cellules du parenchyme ligneux (fig.28, photo C12).



**Figure 28. C12 :** Coupe transversale au niveau de la feuille de *Moringa oleifera* Lam. ; lign con : lignine conyferique ; ep : épiderme ; np : nervure principale ; pl : parenchyme lacuneux ; xyl : xylème ; vs : vaisseau ; pp : parenchyme palissadique.

- La réaction de Maule (Faulkner et Kimmins, 1975) révélant les radicaux syringyls des lignines, donne une réaction positive, reflétée par une coloration rouge, au niveau des parois du sclérenchyme, des vaisseaux, du parenchyme ligneux entourant les vaisseaux du xylème de *Moringa oleifera* Lam. (fig.29, photo C13).



**Figure 29.C13** : Coupe transversale au niveau du pétiole de *Moringa oleifera* Lam. ; lign syr : lignine syringylique; ep : épiderme; pc : parenchyme corticale; sc : sclérenchyme; xyl : xylème; phl : phloème; vs : vaisseau; pm : parenchyme médullaire.



**Figure 30.C14** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Moringa oleifera* Lam. ; lign syr: lignine syringylique; np : nervure principale; ep: épiderme; pp: parenchyme palissadique; xyl: xylème; pl: parenchyme lacuneux

Au niveau des feuilles, les radicaux syringyls des lignines sont incrustés dans les parois des éléments du xylème notamment les vaisseaux et le parenchyme ligneux (fig.30, photo C14).

### III.3. Résultats du Screening phytochimique des extraits aqueux des pétioles et feuilles de *Vitex agnus castus* L.

Les résultats des tests phytochimiques des feuilles et pétioles de *Vitex agnus castus* L. Sont regroupés dans le tableau II

**Tableau II:** Résultats du screening phytochimique des pétioles et feuilles de *Vitex agnus castus* L.

<b>Organes végétatifs</b>	<b>pétioles</b>	<b>feuilles</b>
<b>Métabolites secondaires</b>		
<b>Anthocyanes</b>	+	+
<b>Tanins</b>	+	+
<b>Tanins catéchiques</b>	++	++
<b>Tanins galliques</b>	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+	+
<b>Alcaloïdes</b>	+	+
<b>Glucosides</b>	+	+
<b>Mucilage</b>	+	+
<b>Saponines</b>	-	-

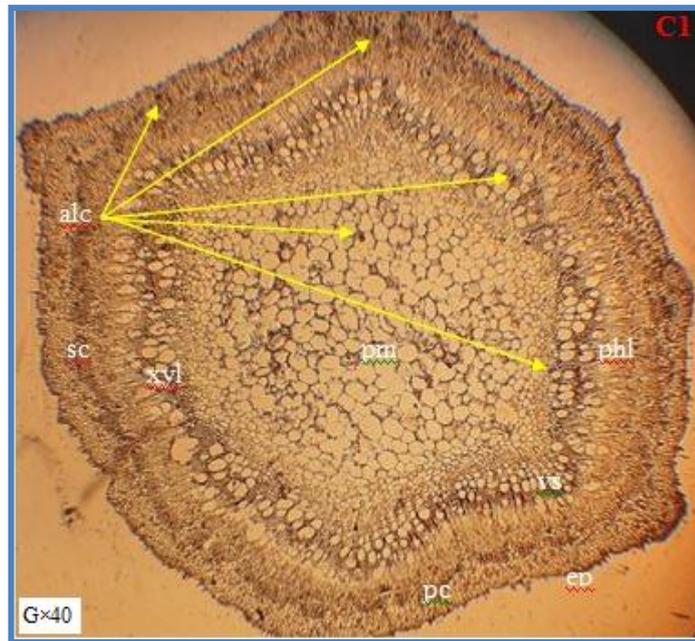
+ : présence

- : absence;

#### III.4. Etude cyto histo chimique des pétioles et feuilles de *Vitex agnus castus* L.

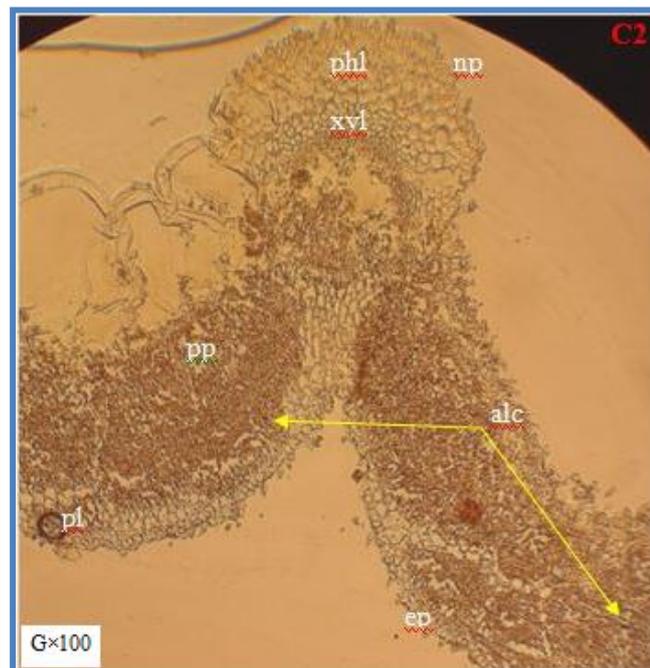
- La réaction de Dragendorff a mis en évidence une très faible présence d'alcaloïdes sous forme de traces noires aussi bien au niveau du pétiole et des feuilles de *Vitex agnus castus* L.

Au niveau des pétioles, leur présence est accentuée au niveau du parenchyme cortical, et sont sous forme de traces au niveau du parenchyme phloémien et parenchyme médullaire (fig.31,photo C1).



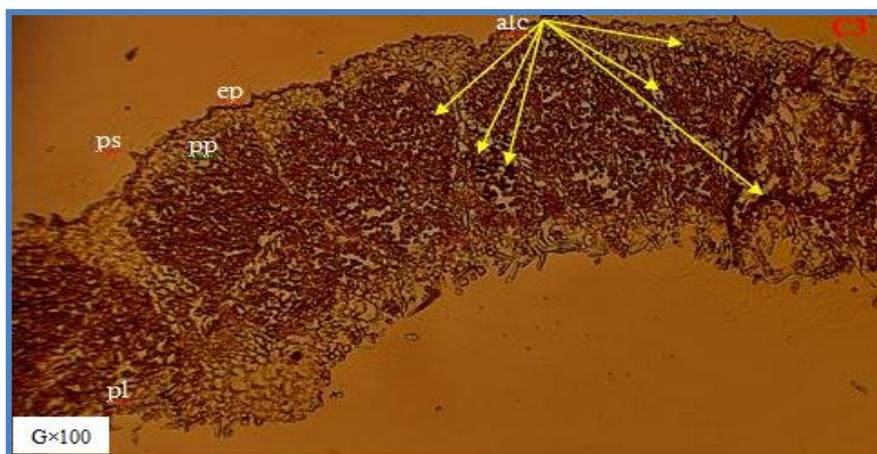
**Figure 31.C1 :** Coupe transversale au niveau du pétiole de *Vitex agnus cactus* L. alc : alcaloïdes ; ep : épiderme ; pm : parenchyme médullaire ; pc : parenchyme corticale ; phl : phloème ; xyl : xylème ; vs : vaisseau ; sc : sclérenchyme.

Comme dans les pétioles, les alcaloïdes sont faiblement présents dans les feuilles de *Vitex agnus castus* L.



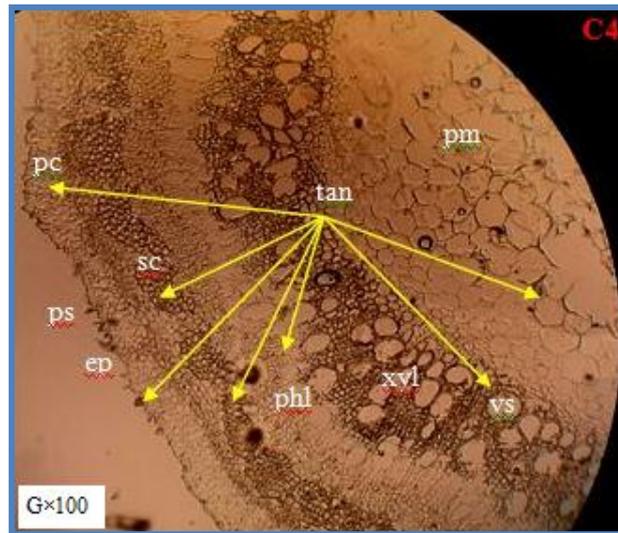
**Figure 32.C2 :** Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L. alc : alcaloïde ; ep : épiderme ; np : nervure principale ; pp : parenchyme palissadique ; pl : parenchyme palissadique ; xyl : xylème ; cc : cylindre central ; phl : phloème

Ils sont sous forme de traces diffuses dans les cellules des parenchymes palissadiques et lacuneux et même au niveau des cellules des parenchymes palissadique et lacuneux et celui ligneux, au niveau de xylème (fig 32 et 33, photo C2 et C3).

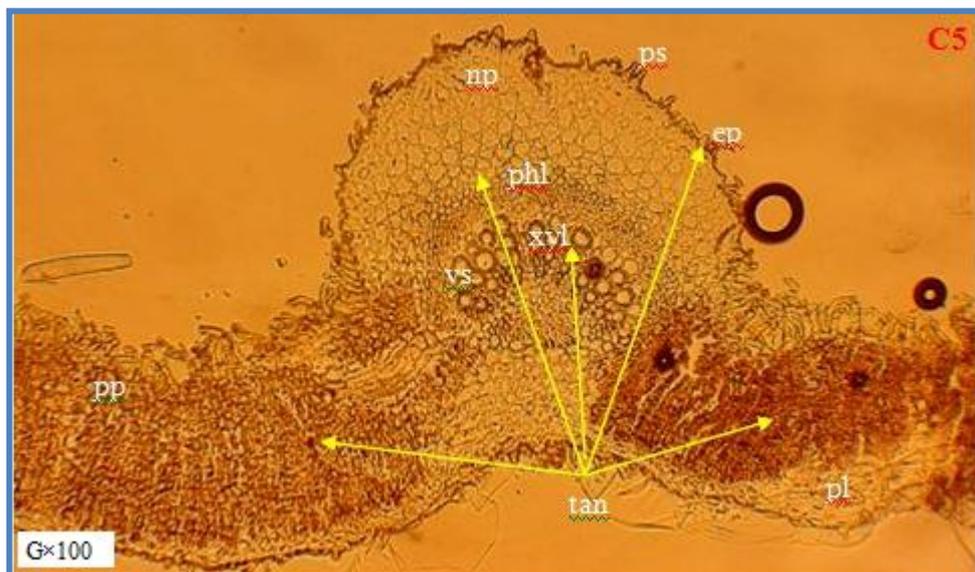


**Figure 33. C3** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L. alc : alcaloïde ; ep : épiderme ; pp : parenchyme palissadique ; pl : parenchyme palissadique ; ps : poil sécréteur

- Chez *Vitex agnus cactus* L., les pétioles et feuilles de *Vitex agnus cactus* renferment des tanins, il s'agit de tanins condensés, mis en évidence par screening phytochimique. Ces derniers sont localisés dans les cellules épidermiques, à la base des poils sécréteurs, dans les cellules du parenchyme cortical et médullaire (fig. 32 et 33 photos C2 et C3).



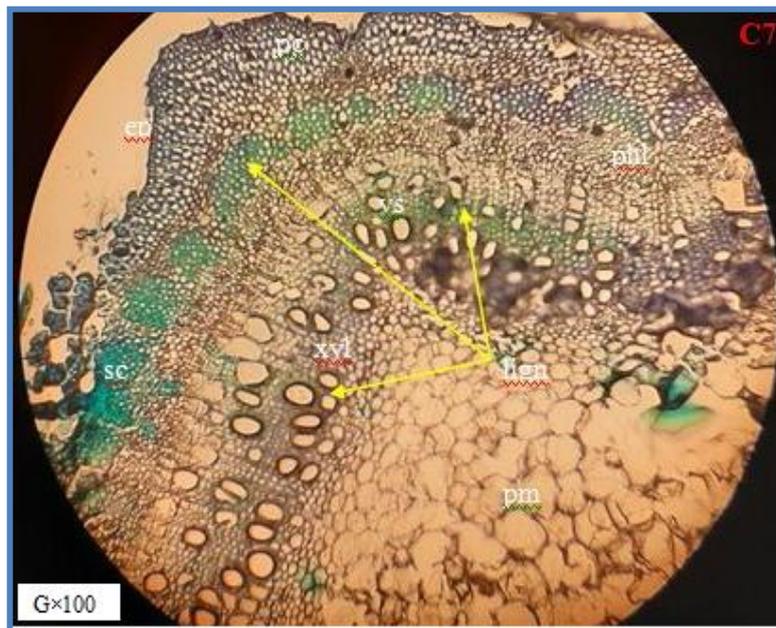
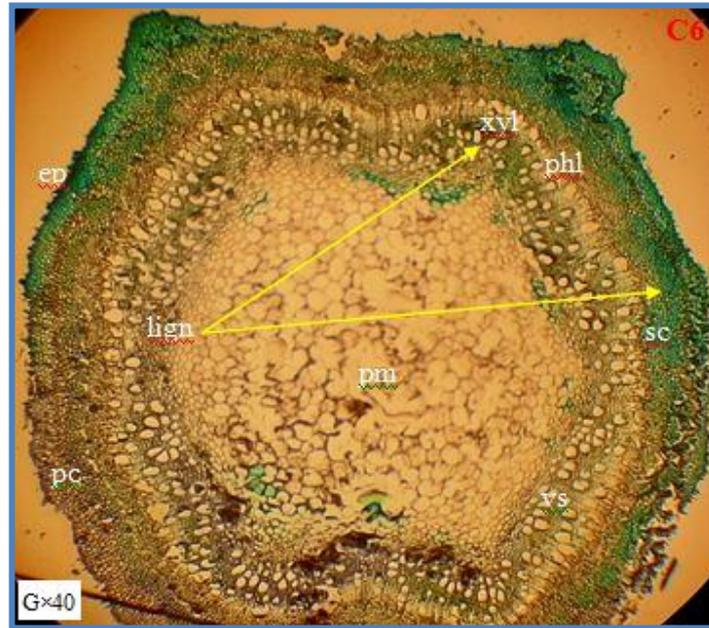
**Figure 34.C4 :** Coupe transversale au niveau du pétiole *Vitex agnus cactus* L. tan : tanins ; ep : épiderme ; ps : poil sécréteur ; pc : parenchyme corticale ; sc : sclérenchyme ; phl : phloème ; vs : vaisseau ; pm : parenchyme médullaire ; xyl : xylème



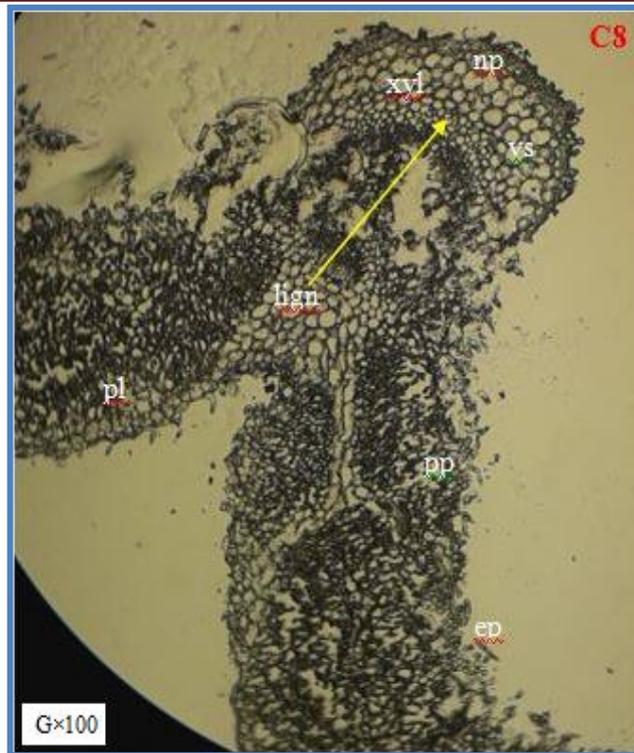
**Figure 35. C5 :** Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L. tan : tanins ; ep : épiderme ; pp : parenchyme palissadique ; xyl : xylème ; phl : phloème ; pl : parenchyme lacuneux ; vs : vaisseau ; np : nervure principale

Alors que dans les feuilles, les tanins condensés montrent une présence importante dans les cellules des parenchymes palissadique et lacuneux (fig. 35, photo C5)

- La révélation cyto-histochimique des lignines au vert de méthyle, montre que celles-ci imprègnent les parois du sclérenchyme au niveau de l'écorce des pétioles de *Vitex agnus cactus* L. ainsi que les parois des vaisseaux et celles du parenchyme ligneux au niveau du cylindre central (fig.36 et 37, photos C6 et C7).



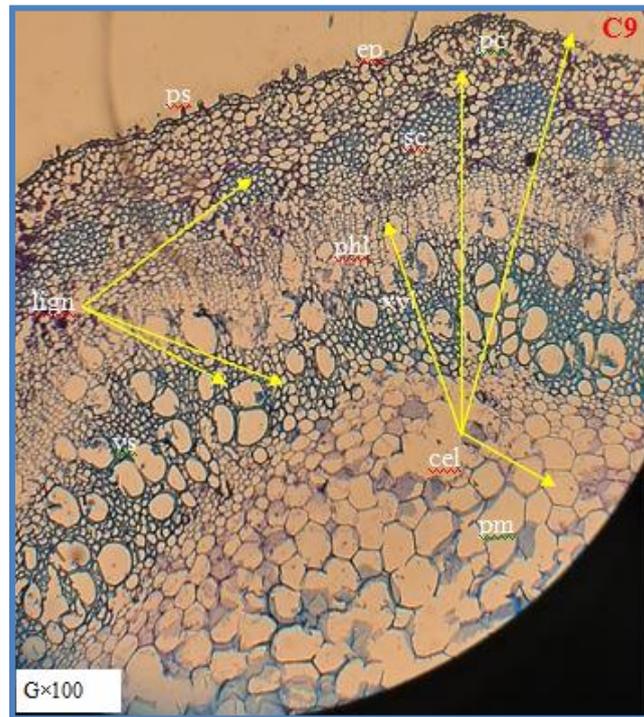
**Figure 36 et 37. C6 et C7 :** Coupes transversales au niveau du pétiole de *Vitex agnus cactus* L. lign : lignine ; xyl : xylème ; vs : vaisseau; sc : sclérenchyme ; phl : phloème ; pm : parenchyme médullaire ; ep : épiderme ; pc : parenchyme corticale ;



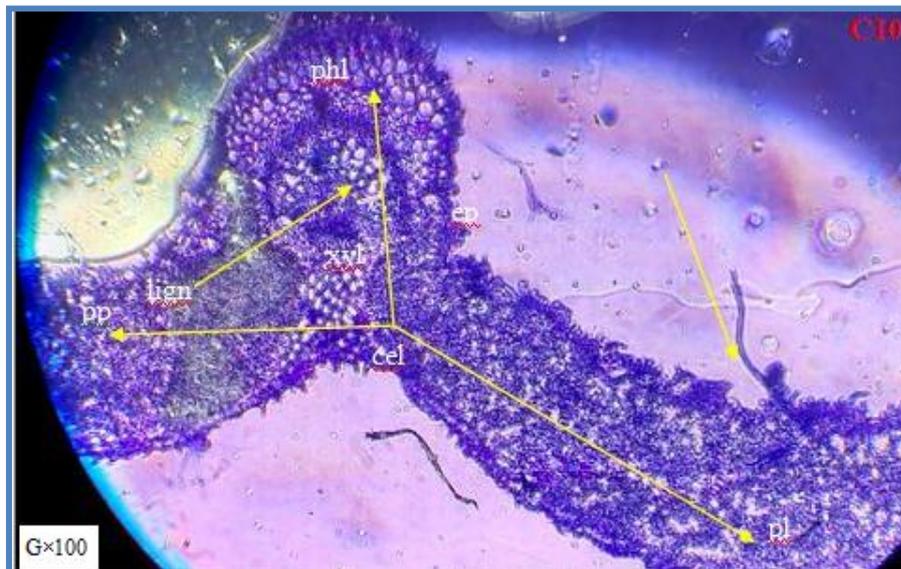
**Figure 38. C8** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L. lign : lignine ; ep : épiderme ; np : nervure principale ; xyl : xylème ; vs : vaisseau ; pp : parenchyme palissadique ; pl : parenchyme lacuneux

Dans les feuilles, la lignine est présente dans les parois des éléments du xylème (vaisseaux et parenchymes ligneux) (fig.38, photo C8).

- Vu que la coloration en vert caractéristique des tissus lignifiés n'était pas bien apparente en niveau des feuilles et, pour mieux élucider la présence des lignines dans les pétioles et feuilles de *Vitex agnus cactus* L., nous avons réalisé la coloration par le réactif de toluidine. Celui-ci colore en bleu la lignine et en violet les tissus cellulosique (fig.39 et 40, photos C9 et C10).

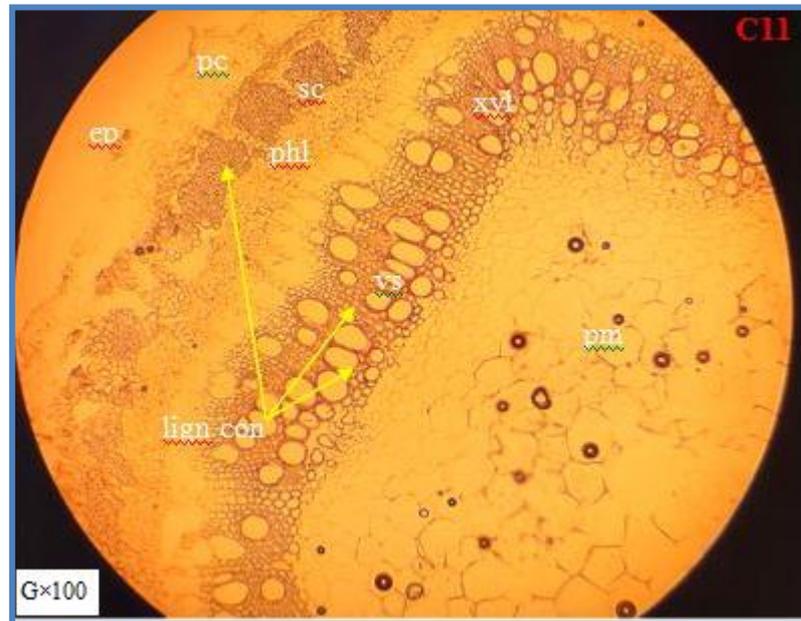


**Figure 39. C9** : Coupe transversale au niveau du pétiole de *Vitex agnus cactus* L. cel : cellulose ; lign : lignine ; ep : épiderme ; ps : poile sécréteur ; pc : parenchyme corticale ; phl : phloème ; ep : épiderme ; sc : sclèrenchyme ; xyl : xylème ; vs : vaisseau ; pm : parenchyme médullaire



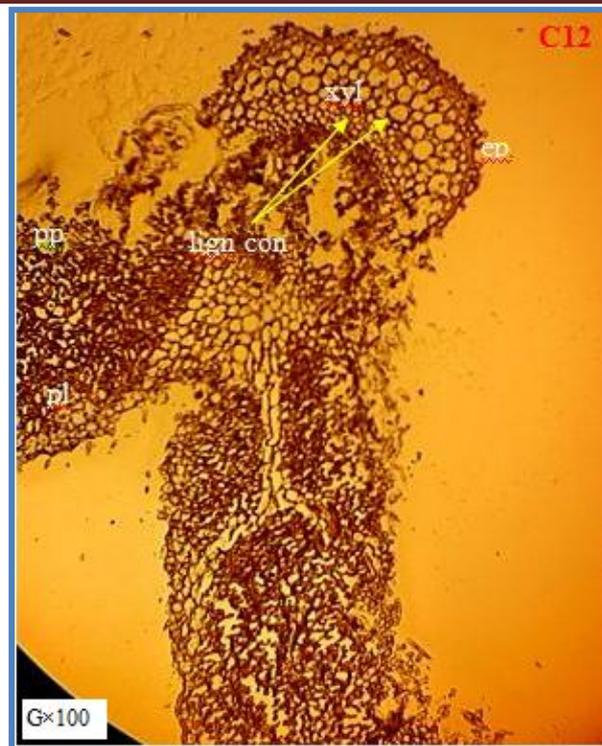
**Figure 40. C10** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L. cel : cellulose ; lign : lignine ; xyl : xylème ; pp : parenchyme palissadique ; pl : parenchyme lacuneux ; phl : phloème

- Les radicaux conyferyls des lignines mis en évidence par le test de Wisner (Vance, 1980) montrent une réaction positive dans les pétioles de *Vitex agnus cactus*. L, la présence des radicaux conyferyls des lignines est observée dans les parois des cellules du sclérenchyme ainsi que les parois des vaisseaux au niveau du cylindre central (fig.41, photo C11).

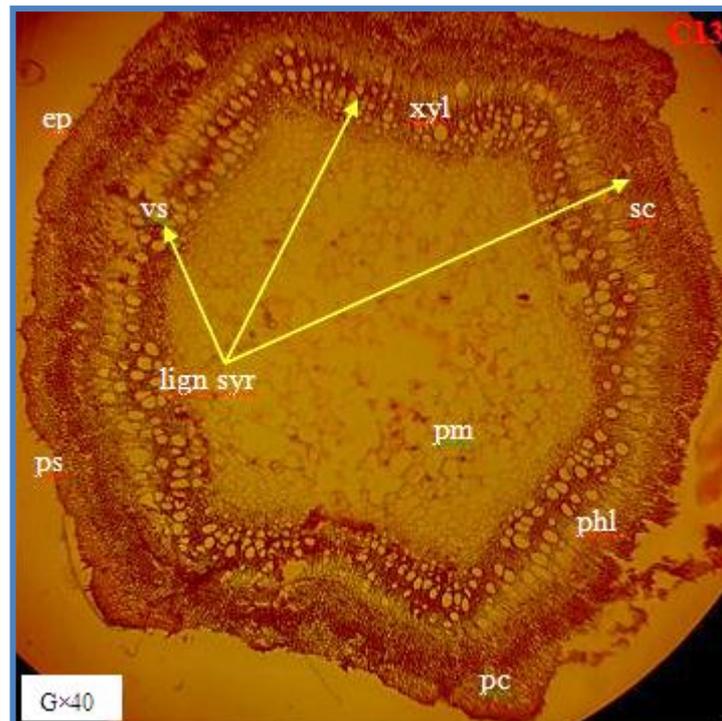


**Figure 41. C11 :** Coupe transversale au niveau du pétiole de *Vitex agnus cactus* L.  
 lign con : lignine conyferilique ; ep : épiderme ; pc : parenchyme corticale ; sc : sclérenchyme ; phl : ploème ; xyl : xylème ; vs : vaisseau ; pm : parenchyme médullaire

Dans les feuilles, ces derniers sont comme *Moringa oleifera* Lam. présents dans les parois des éléments du xylème (vaisseaux et parenchymes ligneux) (fig.42, photo C12).

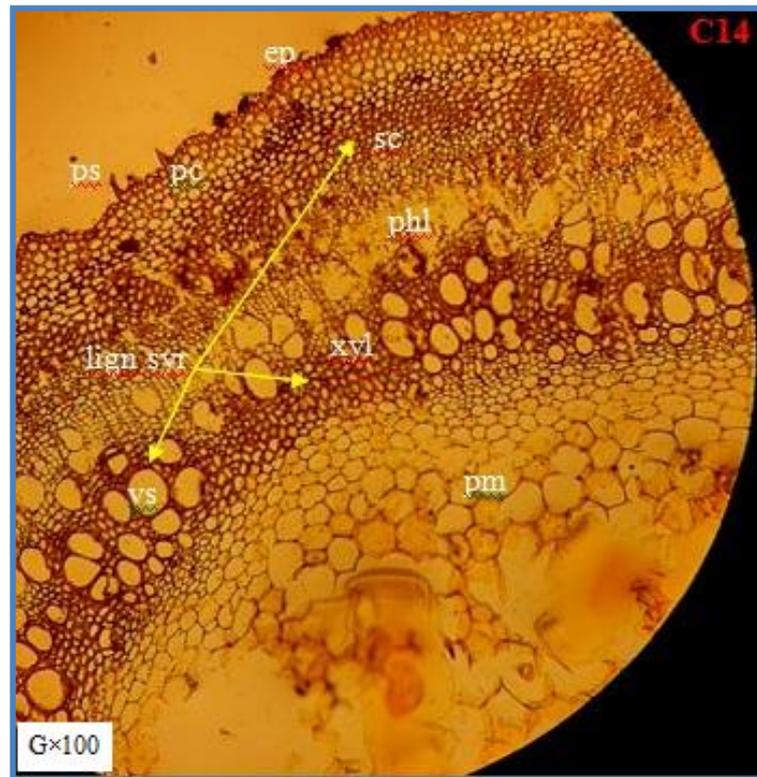


**Figure 42. C12 :** Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L. lign con : lignine conyférikque; ep : épiderme ; pp : parenchyme palissadique ; xyl : xylème, vs : vaisseau ; pl : parenchyme lacuneux



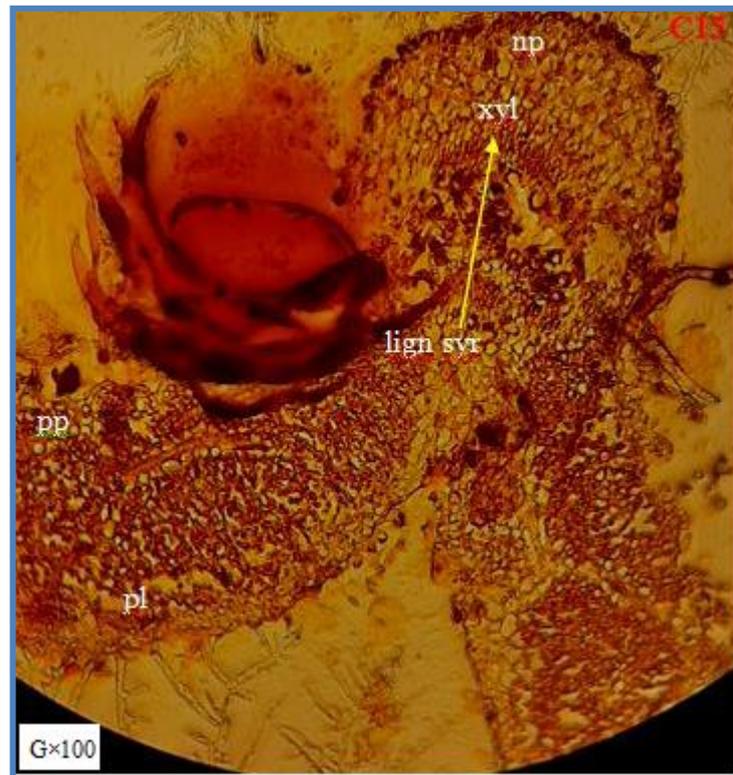
**Figure 43.C13 :** Coupe transversale au niveau du pétiole de *Vitex agnus cactus* L. lign syr : lignine syringylique; ep :épiderme ; pc : parenchyme corticale ; xyl : xylème ; sc : sclérenchyme ; vs : vaisseau ; pm : parenchyme médullaire

- La réaction de Maule (Faulkner et Kimmins, 1975) révélant les radicaux syringyls des lignines, donne une réaction positive, reflétée par une coloration rouge, au niveau des parois du sclérenchyme, des vaisseaux, du parenchyme ligneux entourant les vaisseaux du xylème de *Vitex agnus castus* L. (fig.43 et 44, photos C13 et C14).

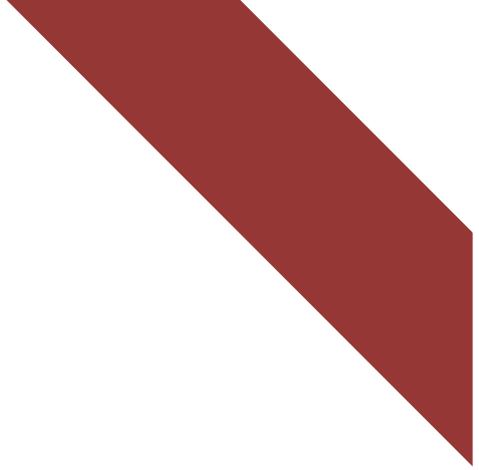


**Figure 44. C14 :** Coupe transversale au niveau du pétiole de *Vitex agnus cactus* L.  
lign syr : lignine syringylique; ep :épiderme ; pc : parenchyme corticale ; xyl : xylème ; sc : sclérenchyme ; vs : vaisseau ; pm : parenchyme médullaire

Au niveau des feuilles, les radicaux syringyls des lignines sont incrustés dans les parois des éléments du xylème notamment les vaisseaux et le parenchyme ligneux (fig.45, photo C15).



**Figure 45.C15** : Coupe transversale au niveau de la feuille de *Vitex agnus cactus* L.  
lign syr : lignine syringylique; np : nervure principale ; pp : parenchyme palissadique ;  
xyl : xylème ; pl : parenchyme lacuneux



# Chapitre IV

## Discussion et conclusion

#### IV. Discussion et conclusion

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (Mohammedi, 2013).

Cette analyse phytochimique a permis de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. En effet, le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques.

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (Ouedraogo, 2001), justifient l'utilisation multiple de *Moringa oleifera* Lam. et *Vitex.agnus castus* L. en tradi-thérapeutique et, de l'autre côté, pour se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu (Rira, 2006), en zones arides.

La variabilité des teneurs en composés phénoliques est généralement corrélée avec l'importance des activités biologiques. En effet, Les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (Ribéreau Gayon et Reynaud, 1968), protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présents dans les sols. Plusieurs effets pharmacologiques sont attribués aux flavonoïdes notamment dans la protection des aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (Makhloufi, 2010).

Les tanins, sont connus pour donner un goût amer aux plantes notamment à l'écorce ou aux feuilles et les rendent ainsi impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Eberhard *et al.*, 2005). Ils sont également produits en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs: déficience en éléments nutritifs, sécheresse, températures élevées et intensité lumineuse (Rira, 2006). Ils peuvent également réguler les tissus ayant subi des blessures superficiels ou bien des brûlures (Bruneton, 1999).

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires très hétérogènes, souvent connus pour leur potentielle toxicité à forte dose. Néanmoins, ils présentent également des propriétés pharmacologiques et thérapeutiques non négligeables (William *et al.*, 2003). En effet, diverses activités biologiques leur sont attribuées (Milcent et Chau, 2003), à faibles

doses, ils sont anesthésiques locaux, analgésiques, antibiotiques, antiparasitaires, anti-tumoraux (Chenni, 2010).

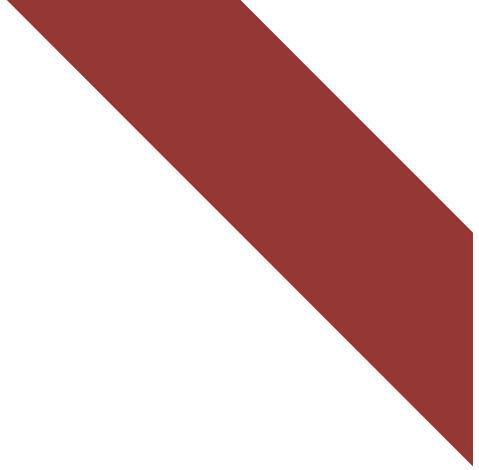
La lignine est un constituant structural de la plante, bien que primordiale d'un point de vue vital, maintient la structure du végétal (Boeriu et *al.*, 2004).

La répartition des métabolites secondaires montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (Hutzler et *al.*, 1998).

Egalement, l'inégale répartition des extraits polyphénoliques pourrait s'expliquer par le fait que la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, ceci serait lié aux conditions climatiques dures (la température, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires notamment les polyphénols et les flavonoïdes (Falleh et *al.*, 2008).

Ces résultats, suggèrent que *Moringa oleifera* Lam. et *Vitex agnus castus* L. pourraient représenter une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possèdent des activités biologiques très importantes. L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, il est souhaitable de :

- compléter ce travail par la purification et l'identification de diverses molécules isolées en utilisant des techniques chromatographiques, spectrales et spectrophotométriques ;
- de caractériser le profil phénolique des deux essences végétales à travers des techniques chromatographiques qualitatives et quantitatives notamment la GCMS, l'HPLC, ...avec l'application des tests de l'activité antioxydante *in vivo* afin d'y trouver une application pharmaceutique dans le traitement des infections humaine, animale et végétale, tout comme conservateurs des aliments ;
- élargir le panel des tests des activités *in vitro*, évaluer et tester les différents extraits et molécules isolées *in vivo* afin d'y trouver une application pharmaceutique de ces molécules actives, ou alors en conservation des produits destinés à la consommation.



# Références bibliographiques

- Abd-rabou. A, Zoheir K. M A, Kishta M. S, Shalby A. B, Ezzo. M. I. NanoMicelle of Moringaoleifera Seed Oil Triggers Mitochondrial Cancer Cell Apoptosis. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 17 (11) :4929-4933 .Egypt , 2016
- Aho, I.M etLagasi, J.E .a new water treatment sustem using MoringaOleifera seed. Am J SciIndRes, 3 (6) : 487-942 , 2012
- Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S.A. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of Moringaoleifera. AsianPacific journal of tropical biomedicine, 3 (8) : 623-627 , 2013
- Allais, D., Le gattilier, Actualités Pharmaceutiques, (47), 479, 49-52, 2008
- Al-malki . A.L, ElRabey. H.A. The antidiabetic effect of low doses of Moringaoleifera Lam Seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. BioMedRes. Int, ID 381040, Arabie Saudite, p 13, 2015
- Andary, C., Wylde, R., Maury, L., Heitz, A., Dubourg, A. and Nishibe, S. X-Ray analysis and extended NMR study of oroposide. Phytochemistry 37 : 885-887, 1994
- Antolic A, Males Z. Quantitative analysis of the polyphenols and tannins of Vitex agnus castus L. Acta Pharm Zagreb (47) : 207–211, 1997
- APG III. The AngiospermPhylogeny Group, An update of the AngiospermPhylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2),105-121, 2009
- Asdadi, A., Hamdouch, A., Oukacha, A., Moutaj, R., Gharby, S., Harhar, H. ...&Hassani, L. I. Study on chemicalanalysis, antioxidant and in vitro antifungalactivities of essential oilfromwildVitexagnus-castus L. seedsgrowing in area of Argan Tree of Moroccoagainstclinicalstrains of Candida responsible for nosocomial infections. Journal de mycologiemedicale, 25(4) : 118-127, 2015
- Berger, K., Bjerkholt, O., & Olsen, O. what are the options for Non OPEC producing countries ?N° 26.discussion papers , 1987
- Besse F. L'Arbre du mois – MoringaoleiferaLam.; Le flamboyant – Bulletin de liaison des membres du réseau Arbres tropicaux (40) : 5 ,1996

- Birch, A. J., & Donovan, F. W. .Studies in relation to biosynthesis. I. Some possible routes to derivatives of orcinol and phloroglucinol. *Australian Journal of Chemistry*, 6(4) : 360-368, 1953
- Boeriu, C.G., Bravo, D., Gosselink, R.J.A., Van Dam, J.E.G. Characterisation of structure- dependentfunctionalproperties of ligninwithinfraredspectroscopy. *Ind. CropsProd.* 20, 205–218, 2004
- Bruneton, J. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris, 1993
- Bruneton J. Pharmacognosie Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. (4) : 1269, 2008
- Bruneton J. Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales. Editions TEC et DOC, Lavoisier, 4ème édition, , 790-792, 2009
- Bruneton J. Pharmacognosie Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. (5) :1504, 2015
- Bouyer, J., Méthodes statistiques, médecine biologie : 139, 1996
- Chávez, J. P., Dos Santos, I. D., Cruz, F. G., & David, J. M. Flavonoids and triterpene ester derivativesfromErythroxylumlealcostae. *Phytochemistry*, 41(3), 941-943, 1996
- Cheng J-C., Bo Zhou F-D., Yang L., Liu Z.L. Antioxidantactivity of hydroxycinnamicacidderivatives in humanlowdensitylipoprotein: Mechanism and structure–activityrelationship. *Food Chemistry*. 104 : 132–139, 2007
- Chenni M., .Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryoniadioica*Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie. 138 p, 2010
- Cordell, G. A. Introduction to alkaloids, a biogeneticapproch, John Wiley, New York, 1981Maurent K. Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde : évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Chimie organique. Université Paul Sabatier – Toulouse, 2017

- Courtoy Bernard, "Section plantes médicinales" sur <http://www.lyonhorticole.com/section-plantes-medicinales/> consultée le 22/04/2021 à 13h38 , 2013(Courtoy Bernard se présente comme Architecte paysagiste)
- Cronquist, A., An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Columbia University Press, New York, NY, 1981
- Dhakar R. C, Maurya S. D, Pooniya B. K, Bairwa N, et Gupta M, Moringa: The herbal gold to combat malnutrition. *Chronicles of Young Scientists*, 2(3) : 119- 20, 2011
- Danglettere L. Apport des spectroscopies moléculaires à l'étude des mécanismes de fixation des ions métalliques polluants par les substances humiques. Complexation de Al(III), Pb(II) et Zn(II) par des systèmes modèles. Thèse de Doctorat. Lille. 316, 2007
- Daniele, C., Jt, Pittler, Mh Et Ernst, E.. Vitex agnus castus. *Sécurité des médicaments*, 28 (4) : 319-332, 2005
- Davies PJ, Plant hormones Biosynthesis, signal transduction, action!. Kluwer Academic, Dordrecht, (3) 2004
- De Rijke E, Out P, Niessen W M A, Ariese F, Gooijer C, Brinkman U A T. Analytical separation and detection methods for flavonoids, *Journal of Chromatography A*, 1112, 31 – 63, 2006
- Dixon, R.. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411 : 843-847, 2001
- Dunet, J.. Réactions de Michael et de Mannich appliquées à des arylcyclohexa-2,5-diènes en vue de la synthèse d'alcaloïdes de type aspidosperma et morphinanes. Thèse de doctorat: Chimie organique. L'université Bordeaux I. École doctorale des sciences chimiques. 263p, 2009
- Dugoua, Jj, Seely, D., Koren, G., Et Mills, E., Sécurité et efficacité de chastree (Vitex agnus castus) pendant la grossesse et l'allaitement. *Journal of population therapeutics and clinical pharmacology*, 15(1), 2008
- Dunning Sheila, "Summer Blue Flowers Enjoyed by People and Bees" sur <http://nwdistrict.ifas.ufl.edu/hort/2016/06/22/summer-blue-flowers-enjoyed-by-people-and-bees/> consultée le 21/04/2021 à 12h26, 2016 (Dunning Sheila se présente comme agent commerciale d'horticulture)

- Erb Matthias and Kliebenstein Daniel J., Plant SecondaryMetabolites as Defenses, Regulators, and PrimaryMetabolites: The BlurredFunctionalTrichotomy, 2020
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-bouraoui, N., Trabelsi N., Boulaaba, M., Abdelly, C., .Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L. organs, and their biological activities, *C. R. Biologies.* (331) :372-379, 2008
- Faulkner, G., et Kimmins, W.C .Strainingreactions of the tissus bordinglesionsinduced by wounding, tabaccoma virus and tabacconecrosis virus in bean. *Phytopathology*, 65 : 1396-1400, 1975
- Fernie AR, Pichersky E, Focus issue on metabolism: Metabolites, metaboliteseverywhere. *Plant Physiol* 169 : 1421–1423, 2015
- Fuglie L. J. The Miracle Tree: Moringaoleifera: Natural Nutrition for the Tropics. Church World Service, Dakar., P.68, 1999
- Fuglie , L. J. Combating malnutrition with Moringa (Senegal). CIRAD, 2002
- Gourdin Patrice,, ‘‘Gattilier présentation’’ sur [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/129914](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/129914) consultée le 21/04/2021 à 13h03, 2019(Gourdin Patrice se présente comme Historien)
- Gruffat Xavier, ‘‘ Gattilier’’, sur <https://www.creapharma.ch/gattilier.htm> consultée le 21/04/2021 à 11h52, 2020(Gruffat Xavier se présente comme pharmacien)
- Guignard J.L., Abrégé de botanique. Ed. Masson, : 285, 1995
- Guignard, thèse de doctorat, Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchusmaculatus* (Coleoptera : Bruchidae), 1995
- Guignard, J-L. Biochimie végétale. Edition Dunod, Paris. 274p, 2000

- Hartmann T, Fromwasteproducts to ecochemicals: Fiftyyearsresearch of plant secondarymetabolism. *Phytochemistry* 68 : 2831–2846, 2007
- Hemingway, S. R. and Phillipson, J. D. Alkaloids of the Rubiaceae. In : J. D. Phillipson and M.H. Zenk (Eds), *Indome and BiogeneticallyRelatedAlkaloids*. AcademicPress, London p : 62-90, 1980
- Hédji, C. C., Gangbazo, D. K., Hounato, M. R., &Fiogbe, E. D. Valorisation de Azollaspp, Moringaoleifera, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences*, 81 : 7277-7289, 2014
- Hoberg E., Meier B., Sticher O.: Quantitative high perfor- mance liquid chromatography analysis of diterpenoids in Agni-castifructus. *Planta med.* 66: 352-355, 2000
- Hoberg E., Meier B., Sticher O.: A new analytical HPLC method for the determination of agnuside and p-hydroxy- benzoicacid contents in Agni casti fructus. *PhytochemicalAnalysis*, in press, 2000
- Hu Y, Hou T.T, Zhang Q.Y, Xin H.L, Zheng H.C, Qin L.P, Rahman K. Evaluation of the estrogenicactivity of the constituents in the fruits of *Vitex rotundifolia* L. for the potentialtreatment of premenstrual syndrome. *J. Pharmacol.*; 59 :1307-1312, 2007
- Ignat I, Volf I, Popa V I. A criticalreview of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 126 : 1821-1835, 2011
- Jaiswal D., Rai P. K., Kumar A., Mehta Sh., etWatalG.Effect of Moringaoleifera lam. Leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 123 (3): 392-396, 2009
- James. A. etZikankuba. V. *Moringaoleifera* a potential tree for nutrition security in sub-Sahara Africa. *American Journal of Research Communication*, 5(4): 1-14 ,2017
- Karamać M., Pegg R.B. Limitations of the tetramethylmurexide assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(14): 6425-6431, 2009

- Korkina L.G., Afanas'ev I.B. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv. Pharmacol.* 38: 151–163, 1997
- Kozat S. Serum T3 and T4 concentrations in lambs with nutritional myodegeneration. *J. Vet. Intern. Med.*, 21: 1135-1137, 2007
- Krief S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Sciences du Vivant [q-bio]*. Muséum national d'histoire naturelle – MNHN PARIS, 2003
- Kumbhare, R.M., Kosurkar, U.B., Ramaiah, M.J., Dadmal, T.L., Pushpavalli, S.N.C.V.L., & Pal-Bhadra, M. Synthesis and biological evaluation of novel triazoles and isoxazoles linked 2-phenyl benzothiazole as potential anticancer agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22 (17) : 5424-5427 , 2012
- Kuruuzum-Uz A, Stroch K, Demirezer LO, Zeeck A. Glucosides from *Vitex agnus castus*. *Phytochemistry*; 63 : 959-964, 2003
- Lalas, S & Tsaknis, J. Characterization of *Moringa oleifera* Lam. seed oil variety « Periyakulam 1 ». *Journal of food composition and analysis*. 15 (1) : 65-77, 2002
- Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khayasenegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5) : 2682-2700 , 2015
- Langeron M. Histologie et cytologie végétale. In: Masson et Cie, ed. *Précis de Microscopie Technique – Expérimentation – Diagnostic*, Paris (7) : 1347–1348, 1949
- Louni S. Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera*. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach, Algérie 13 : 14 , 2009

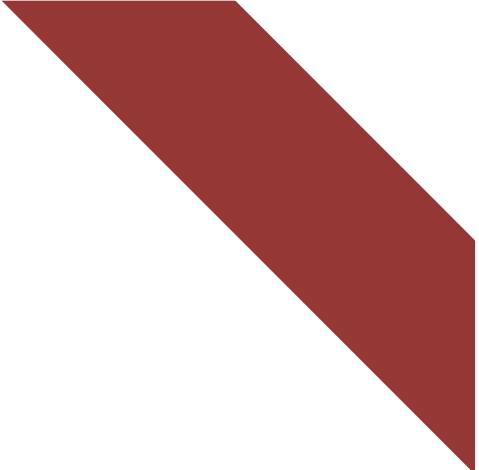
- Macheix, J. J. Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle. *Acta botanicagallica*, 143(6) : 473-479, 1996
- Makhloufi., . Etude des activités antimicrobienne et anti-oxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricariapubescens*(Desf.) et *Rosmarinusofficinalis*L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubakerbelkaid, Tlemcen. Algérie. 136 p,2010
- Makkar, H.A., &Becker,K. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *MoringaOleifera*leaves. *Animal feed science and technology*, 63(1-4), 211-238 , 1996
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747, 2004
- Medic–Saric, M., Jasprica, I., Smolcic, A., Momar, A., Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and PhenolicAcids ; *CroaticaChemicaActa*; 77 (1-2) : 361-366, 2003
- Milcent R., Chau, F., .Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francoischau EDP. Paris. France. 846p, 2003
- Mohamed Ouali, D., thèse de doctorat en cours
- Mohammedi Z.,Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p, 2013
- Monties B., Marine-Font A., Douillard, R. Propriétés spectroscopiques des polyphénols. *Ann PhysiolVég*. 11(4): 313-339, 1969
- Monties B., Lignins, In : *Plantephénolics, methods in plant biochemistry* , haikborne J.B , ed, academic press, London , (1) : 113-157, 1989
- Monteiro M, Farah A, Perrone D, Trugo L C, Donangelo C. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition*.137: 2196-2201, 2007
- Morton, J.F . The Horseradish Tree, *Moringapterygosperra* (Moringaceae) - A Boon to Arid Lands. *EconomicBotany* 45 : 318-333, 1991.

- MuandaNsemi F. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Biologie végétale. Université Paul Verlaine – Metz, 2010
- Mosunova Olga, dans Module de référence en sciences de la vie , 2020
- Nagata T., Hayatsu M., Kosuge N. Identification of aluminium forms in tealeaves by Al NMR. *Phytochemistry*. 31(4), 1215-1218, 1992
- Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro A.T. et Gning R.D. Valeurnutritionnelle du Moringaoleifera, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnelssénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*. 7 (3):1-17, 2007
- Oakley BR, dans le module de référence en sciences de la vie , 2017
- Ouedraogo Y., Nacoulma O., Guissou I.P., GuedeGuina F., . Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux d'écorces de tige et de racines de *Mitragynainermis(wilid).o.ktz* (rubiaceae). *Pharm. Méd. Trad.* Vol. (11) :13-29, 2001
- Ozanda P., Flora and vegetations of the Sahara. CNRS, 1991
- Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (Afssaps), Mai 2008.
- Pousset, Y. Optimisations pour la prédiction de zones de couverture radioélectrique (Doctoral dissertation, Poitiers), 1999
- Quezel, P., Santa, S., Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (2), Paris, Centre National de la RechercheScientifique, 1963
- Rajangam J., Azahkia, Manavalan, R., Thangaraj, T., Vijayakumar, A., &Muthukrishan, N. Production et utilisation du Moringa en Inde du sud: la situation actuelle, 2002
- Rani, A, et Sharma, A. Le genre vitex : un examen. *Revenues pharmacognosie*, 7 (14) : 188, 2013

- Remesy C., Manach C., Deming C., Texeir O., Regenat F. Interêtnutritionnel des flavonoïdes. MédNut, 32 (1) : 17-27, 1996
- RibereauGayon P.,.les composés phenoliques des vegetaux, Ed, *Dumond, Paris*, 245 p, 1969
- Richter, R., Mukhopadhyay, A., & Brisson, A. Pathways of lipidvescilededeposition on solid surfaces : a combined QCM-D and AFM study.Biophysical journal, 85(5) : 3035-3047 ,2003
- Richter, G. Métabolisme des végétaux : Physiologie et biochimie. Edition Presses Polytechniques et Universitaires Romandes : 318-338, 1993
- Rira, M., .Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p, 2006
- Roloff A., Weisgerber H., Lang U., Stimm B., .Moringaoleifera Lam., 1785 :Enzyklopädie der Holzgewächse – 40. Erg.Lfg. 6/05 . WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ,2009
- Sahli Ramla. Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques, 2017
- Saint-Sauveur, A.D., &Broin, M.Produire et transformer les feuilles de moringa, 2010
- Šaponjac V T, Canadanovic-Brunet J, Cetkovic G, Djilas S. Chapter 6: Detection of Bioactive Compounds in Plants and Food Products. In: Nedovic, Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food. Food Engineering Series. SpringerInternational Publishing, Switzerland.,2016
- Sarac, N., Ugur, A., & Sen, B. 2015. In vitro antimutagenicity of vitexagnus-castus L. essential oils and ethanolicextracts. IndustrialCrops and Products, 63, 100-103, 2015
- Sato Fumihiko, Matsui Kenji, dans Plant Biotechnology and Agriculture , 2012
- SenaFilho, Jg, Penderter, J., Maia, Gl, Tavares, Jf, Xavier, Hs, Sobra Da Silva, M., ... Et BarbosaFilho, Jm. Ecdystéroïdes Des espèces vitex : distribution et compilation de leurs données spectrales 13C-RMN. Chimie et biodiversité, 5(5) : 707-713, 2008

- Sikora F.J., McBride M.B. Aluminium complexation by protocatechuic and caffeic acids as determined by UV spectrophotometry. *SoilSci. Soc. Am. J.* 54: 78-86, 1990
- Sivanesan I., Saini R.K., &Keum Y.S. Phytochemicals of *MoringaOleifera*: a review of their nutritional,therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*, 6(2) : 1-14 , 2016
- Stojković, D., Soković, M., Glamočlija, J., Džamić, A., Ćirić, A., Ristić, M., &Grubišić, D. Chemical composition and antimicrobialactivity of *Vitexagnus-castus* L. fruits and leaves essential oils. *Food Chemistry*, 128(4) : 1017-1022, 2011
- Tchiégang, C .,&Aissatou, K. Données ethnonutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes- feuilles consommés dans la savane de l'adamoua (Cameroun). *Tropicultura*, 22(1) :11-18 , 2004
- Tela-Botanica, le réseau de la botanique francophone, 2015
- Tete-Benissan A., Quashie M., Lawsonsivi K., Kokou K., et Gbeassor M. Récupérationnutritionnelle chez les sujetsmalnutris VIH positifs et VIH négatifs après utilisation de feuilles de *Moringaoleifera* Lam. *Journal of Animal & Plant Sciences*.15 (2): 2184-2199, 2012
- Thompsen J. C., etMottola H. A. Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *AnalyticalChemistry* . 56(4): 755-757, 1984
- Trease ,G., Evans ,W .,Textbook of Pharmacognosy. (13), *BalliereTindall*, London, 1987
- Vance, C. P., Johnson, L.E.B., Halvorsen, A. M., Heichel, G.H., & Barnes, D.K .Histological and ultrastructural observations of *Medicagosativa* rot nodule senceceafterfoliageremoval. *Canadian Journal of Botany*, 58 (3) : 295-309, 1980
- William J. A., Kwame O.B., et Baatuuwie N. B. Initial growthresponse of *Moringaoleifera*seedlings to differentsoilamendments. *African Journal of Agricultural Research*.7 (45) : 6082-6086, 2012
- Wink, M. Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. *Annual Plant Reviews*, 2(40) , 2001
- Wink M, dans *Encyclopedia of Evolutionary Biology* , 2016

- Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. Response of Plant SecondaryMetabolites to EnvironmentalFactors. *Molecules*. 23(4):762 ,2018
- Yusuf, M.A., Nahar, S., Faisal, F.M., Iqbal, J., Rahman, M.M. Antiobesity activity of MoringaOleifera leaves against high fat diet-induced obesity in rats. *Int J Basic ClinPharmacol*, 10 : 1263-8 , 2016
- Zahid, H., Rizwani, H., Ishaq, S., *PhytopharmacologicalReview on Vitex agnus-castus : A PotentialMedicinal Plant ; ChineseHerbalMedicines*, 8(1): 24-29, 2016
- Zenk, M.H., etJuenger, M. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *PhytochemistryReview*. 68: 2757 – 2772, 2007



# Annexes

**Tableau III** : Les résultats de screening phytochimique des feuilles *Moringa oleifera* Lam.

Métabolites secondaires de feuilles	Après le test	Interprétation
<b>Extrait aqueux</b>		
<b>Alcaloïdes</b>		+

<b>Tanins galliques</b>				+
<b>Tanins catéchiques</b>				++
<b>Anthocyanes</b>				+

<b>Mucilages</b>		+
<b>Glucosides</b>		+
<b>Saponines</b>		-

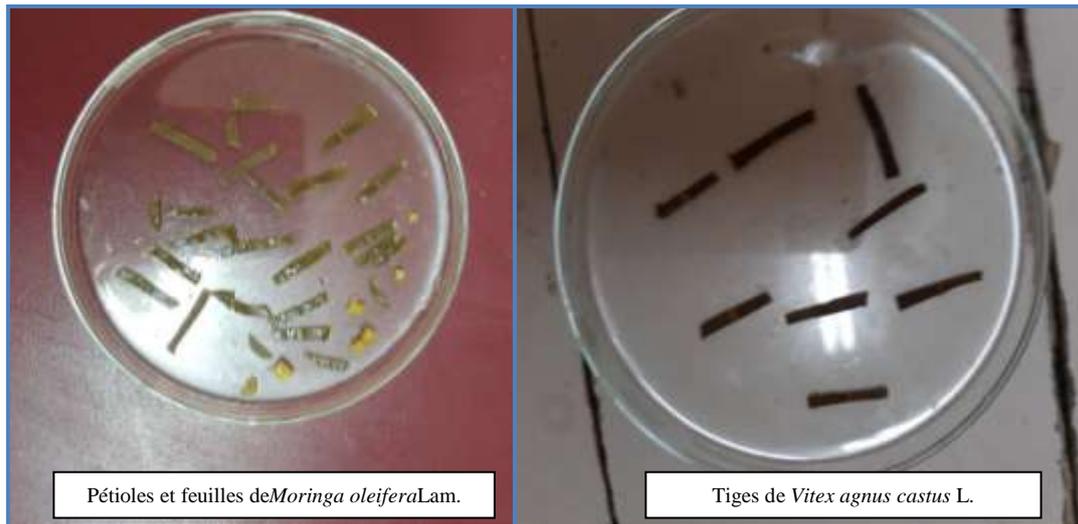
**Tableau IV** : Les résultats de screening phytochimique des feuilles de *Vitex agnus castus* L.

Métabolites secondaires de feuilles	Après le test	Interpretation
<b>Extrait aqueux</b>		
<b>Alcaloïdes</b>		<b>+</b>

<b>Tanins galliques</b>				+
<b>Tanins catéchiques</b>				++
<b>Anthocyane</b>				+

<b>Mucilages</b>		+
<b>Glucosides</b>		+
<b>Saponines</b>		-

**Etude cyto-histologique**



**Figure 46.** Matériel végétal



**Figure 47.** Organes immergés dans un bain de paraffine



**Figure 48.** Inclusion des organes dans de la paraffine



**Figure 49.** Confection des coupes histologiques



**Figure 50.** Déparaffinage et réhydratation

## Résumé

Le présent travail a pour objectif d'abord d'identifier sur un infusé de pétioles et de feuilles de *Moringa oleifera* Lam. et *Vitex agnus castus* L., deux espèces de la région d'Adrar, la présence de métabolites secondaires et par la suite les situer sur le plan tissulaire et cellulaire à travers une étude cyto histo chimique, réalisées sur des coupes transversales, minces, confectionnées au microtome.

Le screening phytochimique a montré la présence d'anthocyanes, de flavonoïdes, de tanins, d'alcaloïdes, de glucosides et de mucilages. Seules les saponines s'avèrent absentes.

L'étude cyto histo chimique a également donné des résultats similaires pour les pétioles et feuilles des deux essences végétales. En effet, les alcaloïdes sont faiblement présents dans les deux organes analysés, ils sont plus concentrés dans le parenchyme cortical des pétioles. Les tanins sont très présents dans les pétioles et feuilles des deux espèces végétales, ils sont localisés dans les vacuoles des cellules jeunes périphériques dont l'épiderme et les parenchymes ou incrustés dans les parois cellulaires lignifiées. Les lignines sont aussi présentes dans les pétioles et feuilles des deux espèces végétales, elles sont concentrées dans les parois des cellules sclérenchymateuses au niveau du cortex ou celles des vaisseaux et parenchyme ligneux du xylème, dans le cylindre central. Deux types de lignines sont mises en évidence, il s'agit, de lignines coniféryliques et de lignines syringilliques, les deux incrustées dans les parois de cellules du sclérenchyme et celles des parois des vaisseaux et parenchyme ligneux des pétioles et feuilles de deux espèces végétales.

**Mots clés :** *Vitex agnus castus* L., *Moringa oleifera* Lam., étude cyto-histo chimique, Adrar, métabolites secondaires

## Abstract

The purpose of this work is first to identify on an infused of petioles and leaves of *Moringa oleifera* Lam. and *Vitex agnus castus* L., two species from the region of Adrar, the presence of secondary metabolites and subsequently their location on the tissue and cell plane through a cytohistochemical study, carried out on thin cross-sections made of microtome.

Phytochemical screening showed the presence of anthocyanins, flavonoids, tannins, alkaloids, glucosides and mucilages. Only saponins are missing.

The cytohistochemical study also gave similar results for the petioles and leaves of the two plant species. Indeed, alkaloids are weakly present in both organs analyzed, they are more concentrated in cortical parenchyma petioles. The tannins are very present in the petioles and leaves of the two plant species, they are localized in the vacuoles of the young peripheral cells including the epidermis and parenchyma or encrusted in the lignified cell walls. The lignins are also present in the petioles and leaves of the two plant species, they are concentrated in the walls of the sclerechymatous cells at the level of the cortex or those of the vessels and woody parenchyma of the xylem, in the central cylinder. Two types of lignin are identified, namely coniferyl lignin and syringillic lignin, the two embedded in the cell walls of sclerechyme and those of the vessel walls and the woody parenchyma of the petioles and leaves of two plant species.

**Keywords:** *Vitex agnus castus* L., *Moringa oleifera* Lam., cyto-histochemical study, Adrar, secondary metabolites