

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Ref :



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Végétale

Thème :

**Etude histologique et caractérisation chimique
de laurier rose : *Nerium oleander* L. Dans la
région Ferdjioua–MILA-**

Présenté par:

BEN SI ALI Salima

BOUAFIA Amel

Devant le jury composé de :

Président :	BOUSBIA sabri	(MCB)	Centre universitaire de Mila.
Examineur :	BOUASSABA Karima	(MAA)	Centre universitaire de Mila.
Promoteur :	SAHLI Mohamed	(MAA)	Centre universitaire de Mila.

Année Universitaire: 2018/2019



Dédicace :

Je dédie ce modeste travail :

*A mon cher père **MASSOUD**, premier et dernier homme de ma vie, en espérant que cet humble geste sera apprécié comme un signe de la gratitude de votre fille, qui prie toujours pour votre entrée au paradis. La miséricorde de dieu.*

*A ma chère mère **ALDJIA** source de ma vie, d'amour et de tendresse, qui n'a pas cessé de m'encourager et prier pour moi, plai s à dieu le tout puissant t'accorder meilleure sante et lange vie, merci d'être le père et la mère.*

*À mes frères **Adel, Soufian, Morad**, ils sont parents à moi, je les remercie tous pour leur grande responsabilité et leur compassion.*

Dieu les sauve et leur donne la santé, longue vie et bonheur.

*A ma sœur **LAMYA Et saliha** à leur encouragements dans les moments difficiles ; merci pour votre amour, et époux de ma grand soeure (**FOUZI**), et sons oublié mes chéré*

***SAJOU et SIMO** (les rose de domicile).*

*A ma chère amie **KAWTHER, SAWSANE ...***

SALIMA.





Remerciements

Alhamdo li Allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidés à compléter cette recherche modeste.

*Premièrement, nous remercions
"SAHLI Mohamed"
Pour avoir accepté de nous encadrer
et de nous diriger,
pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance
qu'il nous a accordée en réalisant de ce travail,
Nous la remercions profondément pour
son compréhension,
son patience et
son politesse incomparable.*

*Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier les membres jury
" BOUASABA Karima "et
" BOUSBIA Sabri " pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous voudrions exprimer nos vifs remerciements à
«DOCTEURE MIROUH » pour ces conseils éclairés ces
encouragement, ces efforts avec nous, sa gentillesse ; à tout le
personnel du laboratoire d'analyses médicale :Dr. Mirouh.A à
Ferdjioua.*

*Nous remercions également tous nos enseignants, et les
administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la
Vie.*

*En fin nos vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou
de loin ; directement ou indirectement à l'élaboration du fruit de
nos années d'études.*

Dédicace

Avant tout c'est grâce à dieu que nous sommes là je dédie ce travail'

*Ma chère mère **saliha** , Aucune dédicace ne saurait exprimer la profondeur de ma reconnaissance, parce que je te dois ce que je suis. Tu m'as donné la vie, Je t'aime, maman, plus que tout dans ce monde. tu m'as conseillé du courage pour battre surtout pour ne pas m'affaiblir devant les banalités de la vie et, tu seras là et toujours à mes côtés, que j'ai due surmonter des longues années d'étude.*

Ma très chère Maman, je t'aime très fort et je t'aimerai toujours. Puisse Dieu tout puissant vous protéger, vous procurer longue vie, santé et bonheur, J'espère que tu seras toujours fière de moi.

Je t'aimerai jusqu'à la fin de mon existence

*A mon adorable père **djamal** A celui qui m'a tout donné sans compter, Puisse Dieu tout puissant te préserver du mal, te combler de santé, de bonheur et t'accorder une longue et heureuse vie, afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.*

Je t'aimerai jusqu'à la fin de mon existence

*Amon marie Abd ElGhafour « **FIFOU** » prés de mon coeur qui m'a encouragé, qui m'a donné la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés et pour tout le soutien et l'amour que vous me portez.*

*A mon frère : **SAMIR***

*A mes sœurs : **HIBA** t ma la belle petite sœur **Ritadj***

Je vous souhaite vous une vie pleine de bonheur et de succès

Je dédie ce travail aussi :

*A ma chérie et la deuxième maman **SOUAD***

*A mon binôme : **SALIMA***

A tous les amis et mais connaissances ;kanza ;imane ;Hadjer ; Soulaf; Amira ;Amani ;

AMEL

Le but de ce projet consiste à une étude pédologique, histologique et chimique d'une plante médicinale de la famille des Apocynacée, il s'agit de *Nerium oleander* L. cette dernière récoltée à la région de Ferdjioua willaya de Mila.

L'étude de pédologie montre que le sol est Alcalin, peu salé, Argilo limoneuse et riche en calcaire. L'étude histologique à partir des observations microscopiques après la technique de la double coloration illustre les différents tissus végétatifs qui caractérisent les trois parties de laurier rose.

Les tests préliminaires sur la poudre et l'infusé reflètent que la plante est riche en composés polyphénols, flavonoïdes, les tanins, alcaloïdes, cardinolides, glucosides, terpènes et stérols, et les saponosides dans les racines et les tiges, par contre nous avons constaté l'absence des saponosides (dans les tiges) et des anthocyanes, leuco-anthocyanes, coumarines, et anthraquinones dans les trois parties.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux des feuilles de l'espèce étudiée montrent que les extraits méthanoliques et aqueux sont riches en polyphénols totaux.

L'activité anticoagulante des polyphénols de la feuille de laurier rose a été également évaluée *in vitro* en utilisant les tests du temps de céphaline-kaolin (TCK) et du temps de Quick (TQ). Les temps de coagulation obtenus sur un plasma normal en présence de ces polyphénols indiquent qu'ils exercent une grande activité anticoagulante sur les deux voies de la coagulation.

Mots-clés : *Nerium oleander* L. polyphénols, activité anticoagulante, étude histologique, étude pédologique, et étude chimique.

المخلص

قمنا بعمل دراسة بيئية و تشريحية و كيميائية لنبته طبية تابعة للعائلة الدفلية (Apocynacée) والتي تعرف بالدفلة، تناولنا في الجانب البيئي دراسة بعض تحاليل التربة الكيميائية والفيزيائية لمنطقة فرجيوة (ميلة) لمعدل الحموضة وملوحة، الناقلية الكهربائية... الخ

أما الدراسة النسيجية التي تمت عن طريق الملاحظة المجهرية بتقنية التلوين المزدوج سمحت لنا بمعرفة مختلف الأنسجة للأجزاء الثلاثة لنبات المدروس.

أما الجانب الكيميائي تم فيه إجراء تجارب المعاينة الكيميائية على أوراق وسيقان وجذور نبات الدفلة المتحصل عليها عن طريق نقع هذه الأجزاء في محاليل مختلفة (كحول ي و مائي) أعطتنا فكرة شاملة حول مركبات الايض الثانوي التي تحتويها كمركبات فينولية وغلوكوسيدات، قلويدات.. الخ

في الأخير قمنا بإضافة كل من التقدير الكمي لعديدات الفينول (مستخلص كحولي ومائي) مكننا من معرفة الفعالية البيولوجية لها حيث تم تقييم نشاطية المضادة لتخثر الدم بالاستخدام اختبار الوقت السريع (TQ) واختبار cephaline kaolin (TCK).

أزمنة التخثر المتحصل عليها في بلازما عادية بوجود هذه المستخلصات تظهر بان مواد الايض هذه تمارس نشاطية مضادة لتخثر الدم على كلا مسري التخثر الدموي.

الكلمات المفتاحية:

الدفلة ، عديدات الفينول، النشاط المضاد للتخثر، الدراسة التشريحية الدراسة الكيميائية ، دراسة تحليل التربة.

The objective of this project consists in a pedological, histological and chemical study of a medicinal plant of the family Apocynaceae, it is *Nerium oleander* L.harvested at the region Ferdjioua -Mila-

The soil study shows that the soil is alkaline, slightly salty, clay loamy and rich in limestone. The histological study from the microscopic observations after the double staining technique illustrates the deferent vegetative tissue that characterizes the three parts of *Nerium oleander* L.

Preliminary tests on powder and infused reflect that the plant is rich in polyphenols compound, flavonoids, alkaloids,tannins, cardinolides, glucosids, saponosids,terpenes and sterols in roots and leaves, however we found absence of saponosides(in stem) and anthocyanins, leuco-anthocyanins, coumarins, and anthraquinones in all three parts.

The total polyphenols assay results of the leaves of the species studied show that the methanolic and aqueous extracts are rich in total polyphenols.

The anticoagulant activity of polyphenols in the oleander leaf was also evaluated in vitro using the partial thromboplastin time (TCK) and Quick Time (TQ) tests. The clotting times obtained on normal plasma in the presence of these polyphenols indicate that they exert a high anticoagulant activity on both ways of coagulation.

Key words: *Nerium oleander* L. polyphenols, anticoagulant activity, histological study, pedological study, and chemical study.

- % : Pourcentage
- μl : Microlitre
- **2c** : 2 carpelles.
- **5e** : 5 étamine
- **5p** : 5 pétales
- **5s** : 5 sépales
- **Abs** : Absorbance
- **APG**: Groupe de phylogénie des angiospermes
- **ATP** : Adénosine Tri-Phosphate.
- **AVK** : anti-vitamines K
- **C** : carbone
- **CE** : Conductivité Electrique
- **CH₃COOH glacial** : acide acétique glacial
- **CNS** :système nerveux central
- **Co**: Collenchyme.
- **Cu**:La cuticule
- **EAG/g.MS** : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche
- **Epi** :l'épiderme
- **F** : facteur
- **F** : feuilles
- **F3P** : facteur 3 plaquettaire
- **FCR** : réactif de FolinCiocalteu
- **FECL₃**: Chlorure ferrique
- **G** : gramme
- **G** : Gramme
- **H** : Heure.
- **H** : Humidité
- **H₃PMo₁₂O₄₀** : acide phosphomolybdique
- **H₃PW₁₂O₄₀** : acide phosphotungstique
- **HBMP** : héparines de bas poid
- **HCl** : Acide chlorhydrique
- **HNF** : héparine non fractionnée
- **K⁺** : Ion de Potassium.

- **KOH** : Hydroxyde de potassium
- **LR** : laurierrose
- **m** mètre
- **Me** : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant
- **Min** : minute
- **ml** : Millilitre
- **mm** : Millimètre.
- **Mv**: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction
- **N** : normalité
- **Na+**: Ion de Sodium
- **Na₂CO₃** : Carbonate de sodium.
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium
- **O.M.S.** : l'Organisation mondiale de la Santé
- **°C**: Degré Celsius
- **P** : poids
- **P.P** : Parenchyme Palissadique
- **P0**: Poids de la poudre avant extraction.
- **pH**: Potentiel d'hydrogène
- **Ph** : Phloème
- **PPP** : plasma pauvre en plaquettes s moléculaire
- **PPT** : Les polyphénols totaux
- **R** : racine
- **R%** : Rendement en %
- **S** : Second.
- **T** : température
- **T** :tige
- **TCK** : temps de céphaline kaolin
- **TP** : taux de prothrombine
- **TQ** : temps de Quick
- **UV** : Ultra-violet
- **V/V** : Rapport volume par volume
- **Xy** : Xylème.

Figure №01 : Différentes classes de flavonoïdes	05
Figure № 02 : Structure d'une molécule de coumarine	06
Figure № 03 : Structure de la molécule d'isoprène	09
Figure №04 : différents types des tissus selon leur fonction.....	11
Figure №05 : Cellules épidermique.....	12
Figure №06 : Poils absorbants chez le rhizoderme.....	13
Figure №07 : Endoderme et le cadre de Caspari.....	13
Figure №08 : Eléments de xylème.....	15
Figure № 09 : Eléments de phloème.....	15
Figure № 10 : Différents types de collenchyme	16
Figure№ 11 : Différents types de sclérenchyme	16
Figure №12 : Exemple de localisation des tissus secondaire	18
Figure № 13 : Laurier rose (<i>Nerium oleander</i> L)..	23
Figure №14 : feuilles de Laurier rose.....	26
Figure №15 : fleur de <i>Nerium oleander</i> L	27
Figure №15 : fruits de <i>Nerium oleander</i> L.	27
Figure №17 : grains de <i>Nerium oleander</i> L.	28
Figure №18 : Mode d'action des hétérosides cardiotoniques au niveau des cellules myocardiques.....	33
Figure№19 : Situation géographique de wilaya Mila, (commune de Ferdjioua).	35
Figure №20 : figure résumes les différents étapes de la double coloration	40
Figure №21 : trois parties de la plante laurier rose (infusé et poudre)	41
Figure № 22 : étapes de la macération méthanolique	45
Figure № 23 : étapes de préparation de l'extrait aqueux	45
Figure №24 : Protocole de dosage des poly phénols totaux.....	47
Figure №25 : préparation d'un pol de plasma.....	48

Figure №26: étapes de la voie exogène.....	49
Figure №27: matériel prépare pour l'évaluation de TCK	50
Figure№ 28: étapes de la voie endogène (TCK).....	51
Figure №29: Coupe transversale de la feuille de Laurier Rose Vue d'ensemble (x10)...	53
Figure №30: Coupe transversale de la feuille d' Laurier Rose .détail G (x40).....	54
Figure№31: Coupe transversale de Tige d' L R: Vue d'ensemble (x10).....	55
Figure№32: Coupe transversale de tige d' L R. détail G (x 40).....	56
Figure №33: Coupe transversale de Racine d' LR G (x10)	56
Figure №34: Coupe transversale de racine d' LR G (x 40).....	57
Figure №35: Résultat du test des saponosides	59
Figure №36: Résultat du test des tanins	59
Figure №37: Résultat du test des Anthocyanes	60
Figure №38 : Résultat du test des Leuco-anthocyanes	60
Figure № 39: Résultat du test des Coumarines.....	61
Figure №40: Résultat du test des glycosides	61
Figure №41: Résultat du test des flavonoïdes.....	62
Figure №42 : Résultat du test des stérols et triterpènes.....	62
Figure №43 : Résultat du test des Alcaloïdes	63
Figure№ 44 : Résultat du test des polyphénols... ..	63
Figure № 45: Résultat du test des Quinones libre	64
Figure № 46: Résultat du test des Anthraquinones.....	64
Figure№47: Résultat du test des Cardinolides.....	65
Figure №48 : Rendement des extraits bruts	66
Figure № 49: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	67
Figure №50: Teneur en polyphénols totaux pour Laurier Rose.....	67

Figure №51 : Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de LR vis-à-vis de la voie endogène.....69

Figure№ 52: Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de Laurier Rose vis-à-vis de la voie exogène... ..70

Liste de tableaux

Tableau N°01: Facteurs de la coagulation plasmatique	19
Tableau N°02: Famille des Apocynacées dans le monde	22
Tableau N° 03: classification botanique de l'espèce <i>Nerium oleander</i> L	24
Tableau N°04: différentes étiquettes de la plante de <i>Nerium oleander</i> L.à travers le monde.	24
Tableau N°05: différentes variétés de l'espèce <i>Nerium oleander</i> L	29
Tableau N°06: Constituants chimiques des différentes parties de <i>Nerium oleander</i> L	30
Tableau N°07: Principales utilisations de <i>Nerium oleander</i> L. en médecine traditionnelle selon les pays	31
Tableau N°08: Propriétés pharmacologiques de <i>Nerium oleander</i> L.....	32
Tableau N° 9: gamme de pH des sols.....	37
Tableau N°10: échelle de la salinité de sol.....	37
Tableau N° 12: Echelle international pour la détermination de texture du sol par le pourcentage d'humidité	38
Tableau N°12: Résultats des tests phytochimique effectués sur les extraits hydroéthanolique des racines, tige, feuilles de(<i>Nerium oleander</i> L)... ..	58

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

الملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Les plantes médicinales et les métabolites secondaires

1. Les déférente Définition	03
2. Les métabolite.....	03
2.1. Métabolites secondaires.....	03
3 .Biosynthèse.....	04
4. Classification.....	04
4.1. Polyphénols.....	04
4.1.1. Classification de Polyphénols.....	04
4.1.1.1. Flavonoïdes.....	04
4.1.1.2-Tanins.....	06
4.1.1. 3.Coumarines.....	06
4.1.1.4. Anthocyanes.....	07
4.1.1.5. Quinones.....	07
4.2. Alcaloïdes.....	07
4.2.1. Classificationd'alcaloïdes.....	08

Table des matières

4.2.2. Fonctions et propriétés.....	08
4.2.3. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques.....	08
4.3. Terpénoïdes et stéroïdes.....	09
4.3.1. Classification de terpènes	09
5. Glucosides.....	10
6. Généralités sur l'histologie végétale.....	11
6.1. L'histoire de l'histologie végétale	11
6.2. Définition de l'histologie végétale.....	11
7. Les méristèmes primaire.....	12
7.1. Les différents types de tissus primaire.....	12
7.1.1. Tissus de protection.....	12
➤.. L'épiderme	12
➤.. Rhizoderm.....	13
➤.. Endoderm.....	13
7.1.2. Tissus de remplissage (Les parenchymes).....	14
7.1.3. Tissu conducteurs.....	14
➤.. Le xylème.....	14
➤.. Le phloème.....	15
7.1.4. Tissus de soutien	15
➤.. Collenchyme.....	16
➤.. Sclérenchyme.....	16
7.1.5. Tissus sécréteurs.....	17
8. Méristèmes secondaires.....	17
8.1. Les différents type tissus secondaires.....	17
8.1.1. Tissus conducteurs secondaires.....	17
8.1.2. Tissus protecteurs secondaires.....	17

L'activité anticoagulante

1 .Définition la Coagulation du sang.....	19
1.1. facteurs (F) de coagulation.....	19
1.2. Les voies de coagulation.....	20
➤.. Voie endogène.....	20
➤.. Voie exogène.....	20
1.3 . Les testes de coagulation.....	20
2. Les anticoagulants.....	21

Généralités sur espèces étudiées

1. Famille Apocynacée	22
1.2. Aspect chimique de la famille apocynacée.....	22
1.3. Aspects pharmacologiques.....	22
2 .Genre <i>Nerium</i>	23
2.1. Aspect chimique de Genre <i>Nerium</i>	23
2.2.Aspects pharmacologiques de Genre <i>Nerium</i>	23
3. Espèce <i>Nerium oleander L.</i>	23
3.1.Classification.....	24
3.2.Synonymes.....	24
3.3. Origine et répartition géographique	25
3.4.Description et morphologique	25
3.4.1 Feuilles.....	25
3.4.2. Fleurs	26
3.4.3.Fruit.....	27
3.4.4 Graine.....	27
3. 5. Conditions de croissance.....	28
3.6. Les déférentes variétés de l'espèce <i>Nerium oleander L.</i>	28
3.7. Aspecte (composition) chimique.....	30

Table des matières

3.8. Utilisations traditionnelles dans le monde.....	30
3.9. Propriétés pharmacologiques.....	31
3.10. Toxicité du <i>Nerium oleander</i> L.....	32
➤...Symptômes de toxicité.....	33
➤.. Traitement.....	33
3.11. Les Intérêt Médical et socioéconomiques.....	33
3.11.1. Intérêt Médical	34
3.11.2. Intérêt socioéconomique	34
3.12. Effets du laurier rose sur l'homme et les animaux.....	34

Partie 2 : Etude expérimentales

Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone de prélèvement.....	35
2. climat.....	35
3. Étude pédologique.....	36
3.1. Matériel	36
3.2. Méthode	36
3.2.1. Détermination du pH du sol	36
3.2.2. Détermination de la Conductivité Electrique	37
3.2.3. Détermination de l'Humidité Relative et la Texture.....	37
3.2.4. Détermination du Calcaire total	38
4. Étude histologique.....	38
4.1. Principe.....	38
4.2. Mode opératoire.....	39
5. Étude phytochimique :.....	40
5.1. Matériel végétale.....	40

Table des matières

5.2. Méthodes.....	40
5.2.1. Préparation de matériel végétal.....	41
5.2.2. Préparation des extraits pour étude phytochimique.....	41
✓.. Préparation de l'infusé à 10%	41
✓.. Préparation d'extrait macération éthanolique.....	41
5.3. Screening photochimique.....	42
5.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé	42
➤.. Saponines.....	42
➤.. Tanins.....	42
➤.. Anthocyanes	42
➤.. Leuco- anthocyanes.....	43
➤.. Coumarine.....	43
5.3.2....Tests préliminaires sur la poudre (drogue végétale).....	43
➤.. Glycoside	43
➤.. Flavonoïde.....	43
➤.. Terpènes et stérole.....	43
➤.. Alcaloïde	43
➤.. Composé phénolique.....	44
➤.. Quinones libres	44
➤.. Cardinolides.....	44
6. L'extraction de poly phénol	44
6.1. Préparation des extraits	44
✓.. Préparation de l'extrait méthanolique.....	44
✓.. Préparation de l'extrait aqueux.....	45
6.2. Rendement de l'extrait brut	45
6.2. Dosage quantitatif des polyphénols totaux (PPT).....	46
✓.. Principe).....	46

Table des matières

✓.. Protocole.....	46
7. L'activité anticoagulante	47
1. Préparation du pool plasmatique (standard) déplaquettés.....	47
7.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène.....	48
7.3.Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène.....	50

Résultats et discussions

1. Analyses pédologiques.....	51
1....Le pH du sol.....	51
2....La Conductivité Electrique	51
3....L'Humidité Relative et la Texture.....	52
4....Le Calcaire.....	53
2.Histologie.....	53
2.1. La feuille	53
2.2. Tige.....	54
2.3. Racine	56
3. Screening Chimique.....	58
A / Résultat	59
3.1. Résultats de Tests préliminaires sur l'infusé	59
3.2. Résultats de Tests préliminaires sur la poudre	61
B /Discussion	65
4. Rendement des extraits bruts.....	66
A/Résultat.....	66
5. Dosage des polyphénols totaux	66
A/Résultats.....	67
B /Discussion	68
6. L'activité anticoagulante	68
A/ Résultats.....	68

Table des matières

✓.. La voie endogène (TCK).....	68
✓.. La voie exogène (TP.....	69
B/ Discussion.....	70
Conclusion et perspectives.	
Références bibliographiques.	
Annexes	



Introduction générale

Introduction

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales. L'être humain utilise des plantes depuis des milliers d'années pour traiter divers maux. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales (**Delaveau , 1974**).

Actuellement, il existe près de 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Dossevi et al., 2011**). Les plantes aromatiques et médicinales ont eu une diversité infinie d'emplois, dans le domaine thérapeutique, alimentaire, cosmétique, industriel (**Taddei, 1984**). Dans plusieurs pays en voie de développement, une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour les soigner (**Malo, 1991**).

Les plantes médicinales ont la capacité de produire des substances naturelles très diversifiées. A côté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisable par l'homme (**Marouf et Joël, 2007**). Ces molécules existent dans toutes les cellules végétales en quantité extrêmement faible et elles sont importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent (**Hartmann, 2007**). La recherche de nouvelles molécules médicamenteuses d'origine végétale repose sur la qualité des plantes médicinales en déterminant leur qualité par des études phytochimiques et pharmacologiques (**Dif et al., 2015**). Les métabolites secondaires peuvent être classés en polyphénols, alcaloïdes, isoprénoïdes. Chacune renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités thérapeutiques (**Krief, 2003**).

Le *Nerium oleander* L. est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et elle fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (**Almaly et al., 2006**). Elle est utilisée comme une anti-carie dentaire, antichute des cheveux pour le nettoyage et l'assouplissement des pieds (peau). Contre les morsures de serpent, lutte contre les insectes (**Oukal, 2008**). et dans le traitement de l'eczéma (**Bai et al., 2010**). Laurier-rose a été considéré comme plante toxique due à un certain nombre de ses Composants qui peuvent montrer des signes de toxicité (**Akhtar et al. 2014**).

Les maladies cardiovasculaires, selon l'OMS, (2011) représente 35% des causes de mortalité. C'est la raison pour laquelle plusieurs études sont focalisées sur la recherche des anticoagulants naturels pour traiter ces pathologies vasculaires (**Mannallah, 2012**).

Les anticoagulants sont utilisés pour la prévention et le traitement d'événements thrombotiques sévères. Les plus utilisés sont jusqu'à présent l'héparine et ses dérivés et les antis vitamines K (**Kortchinsky et al., 2013**). La majeure partie des héparines commercialisées actuellement est extraite de muqueuses intestinales de porc (**Elalamy, 2012**). Cependant, l'utilisation des produits d'origine porcine est défendue dans la religion islamique. C'est pour ça des études sont focalisées sur la recherche des ressources naturelles anticoagulant pour traiter ces pathologies.

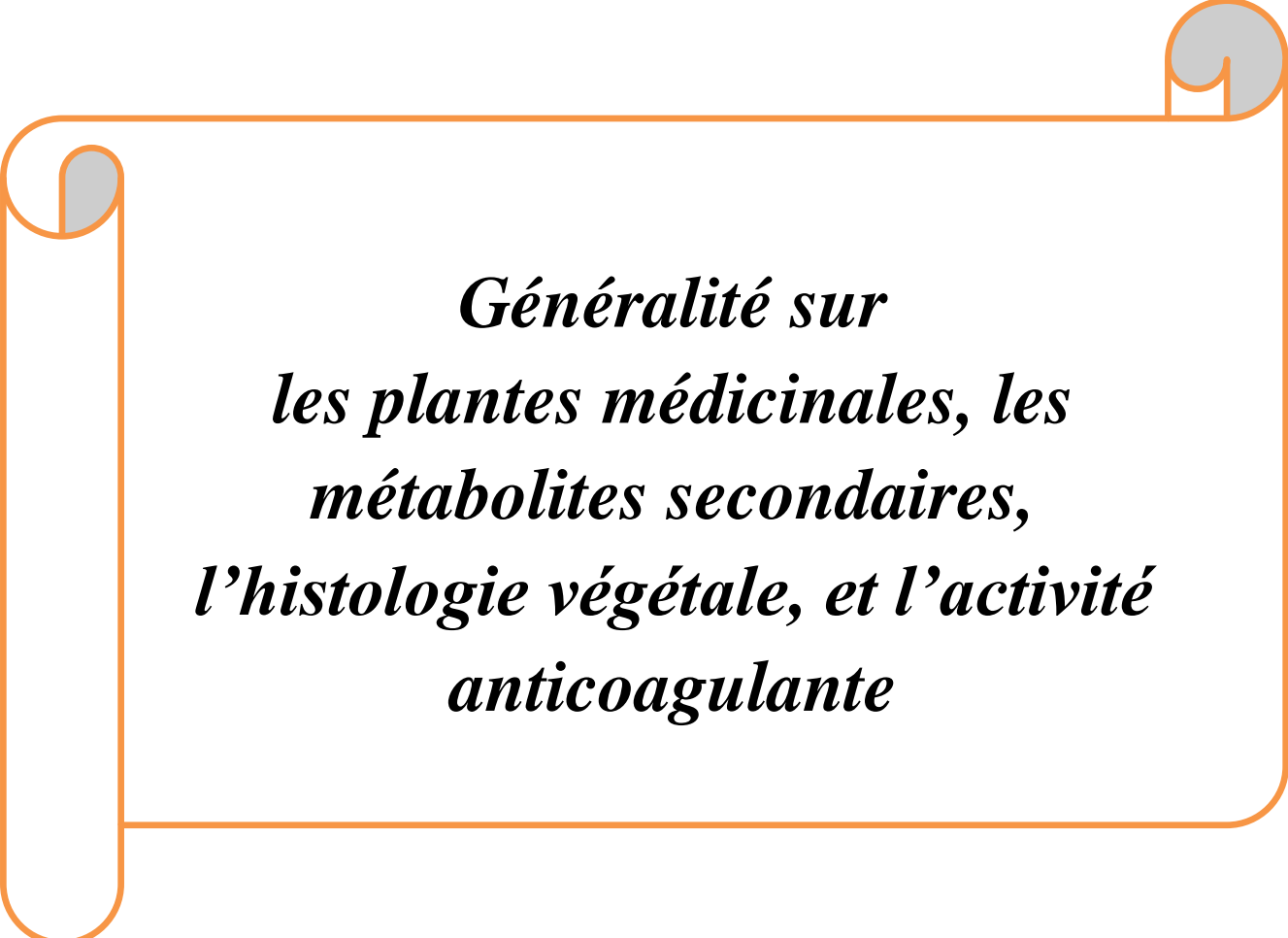
Nerium oleander L. cette espèce est connue uniquement par sa toxicité mais ses propriétés thérapeutiques sont cachées pour beaucoup de gens C'est pour ça nous avons étudié cette plante.

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude phytochimique des feuilles, tige et racine de Laurier rose (*Nerium oleander* L), et aussi l'étude histologique des différentes partie de la plantes, donc définir les caractéristiques chimiques et histologique de *Nerium Oleander*, ainsi une étude biologique basé sur la recherche de l'effet anticoagulante de différentes concentrations des extraits des feuilles de laurier rose. Sans oublier une petite étude pédologique pour connaître le milieu de développement de notre espèce étudié. Notre travail sera réparti en deux parties :

- La 1^{ère} partie relative à synthèse bibliographique sur les plantes médicinales, les métabolites secondaire et des généralités sur histologies des plantes, donne quelques informations sur l'activité anticoagulante, et présentation une généralité sur l'espèces étudié.
- La 2^{ème} partie est réservé à l'étude expérimentale cette dernière elle est subdivisée en matériels et méthodes, résultats et discussion. enfin on termine par une conclusion et perspective.

Partie 1 :

Synthèse bibliographique



***Généralité sur
les plantes médicinales, les
métabolites secondaires,
l'histologie végétale, et l'activité
anticoagulante***

1. Les déférente Définition

Dans le code de la Santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales **(Ghabrier, 2010)**.

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

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (**O.M.S.**) en 2008, plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé primaires **(Pierangeliet al., 2009)**. Plusieurs plantes peuvent être une guérison de nombreux maux quotidiens qui vont des simples troubles digestifs jusqu'à le traitement des maladies chroniques comme le cancer, l'ulcère, le diabète, les calculs rénaux **(Jiofack et al., 2009)**.

2. Les métabolites

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Chez les plantes, il existe deux grandes classes des métabolites : primaire et secondaire.

2.1. Métabolites secondaires

« Les métabolites secondaires sont des composés dont la présence est restreinte à certains groupes taxonomiques; ils ne sont pas essentiels à la vie de la cellule – de l'organisme - mais jouent un rôle au niveau de l'interaction avec l'environnement favorisant ainsi la survie de l'organisme dans son écosystème » **(Verpoorte, 2000)**.

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes **(Boudjouref, 2011)**. Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux **(Newman et Cragg, 2012)**. Elles n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante **(Guignard, 1996)**.

On recensait plus de 85000 métabolites secondaires en 1988 **(Verpoorte, 2000)** dont 16000 alcaloïdes et plus de 33000 terpénoïdes, Ainsi plus de 100000 molécules différentes sont connues et, 4000 nouveaux métabolites sont découverts chaque année **(Verpoorte,1999)**.aussi, plus de 200.000 structures ont été définies **(Hartmann, 2007)**.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des poly phénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graine sou la maturation des fruits, Les plus représentés sont les flavonoïdes et les tannins (**Hirasa et al ., 1998**).

Les métabolites secondaires Bio-synthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Peekinget al.,1987**).

3. Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme Primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate (**Verpoorte et Alfermann, 2000**).

4. Classification

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes: Poly phénols, terpénoïdes et stéroïdes, alcaloïdes (**Hennebelleet al., 2004**).

4.1. Polyphénols

Les poly phénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside...etc. (**Bruneton, 1999**). La grande majorité de composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique (**Gorham, 1977**). Ils sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Enfin, ils sont sensibles à l'oxydation (**Gorham, 1977**).

4.1.1. Classification de Polyphénols

La classification de ces substances a été proposée par (**Harborne, 1980**).On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

4.1.1.1. Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des Structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Benhammou, 2011). En 2003 environ de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grunhage, 2003). Certains sont des pigments universels des végétaux, ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (Heller et Forkmann, 1993).

Ils sont généralement soluble dans l'eau et stocker dans des vacuoles ainsi que dans les chloroplastes.(Riberau, 1968) Ils se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont représentés dans le figure (01).

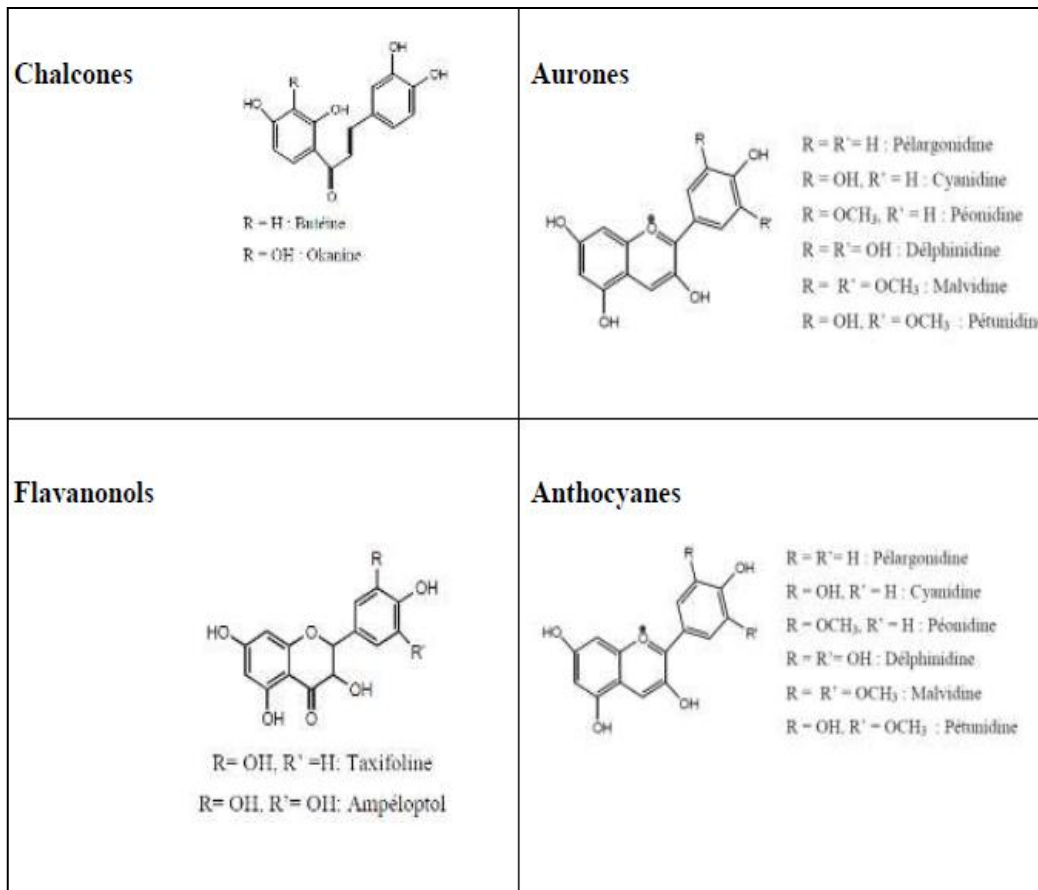


Figure N°01 : Différentes classes de flavonoïdes (Nkhili, 2009).

4.1.1.2. Tanins

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux

(Alkurdal.,2008). Aussi à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Haslam, 1998). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (Khanbabae et Ree, 2001). Ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Rira, 2006).

A. Tanins hydrolysables:

Les tanins galliques, ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques, Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (Paris et Hurabielle, 1981).

B. Tanins condensées

Ce sont des tanins non hydrolysables, ils sont Plus complexes que les tanins galliques, ils possèdent un squelette phényl-2- chromane de flavonoïdes (Alilou, 2012).

4.1.1. 3. Coumarines

Les coumarines figure (02) sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétale (Benayache, 2005). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (Bruneton, 1999).

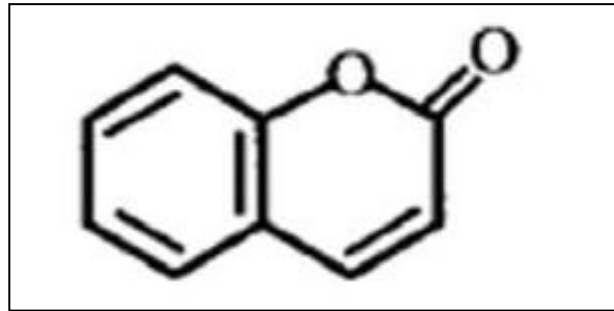


Figure N° 02 : Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).

La coumarine et ses dérivés ont des actions phytobiologiques (Hostettmann, 1992), bactériostatiques et anti fongiques (Rufini et Sampaolo, 1977). Ils ont un effet antioedémateux (Hoult et Paya, 1996).

4.1.1.4. Anthocyanes

Les anthocyanes (en grec Anthos signifie fleur, et kyanos signifie bleu) sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces. Ils sont accumulés dans les vacuoles cellulaires (**Kong et al., 2003**). Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosyléen position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (**Bessas et al., 2007**).

4.1.1.5. Quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

4.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (**Schauenberg et Paris, 2005**). Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (**Hess, 2002**). Ils peuvent être présents dans tous organes (**Ziegler et Facchini, 2008**). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue (**Roux et Catier, 2007**). Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (**Ziegler et Facchini, 2008**).

4.2.1. Classification d'alcaloïdes

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques leur composition chimique et structure moléculaire (**Ziegler et Facchini, 2008**). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (**Nacoulma, 2012**).

➤ Selon l'origine biosynthétique

On distingue trois types d'alcaloïdes :

- ✓ **Alcaloïdes vrais** : d'après certains auteurs, ils sont issus seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont bio synthétiquement formés à Partir d'un acide aminé (**Bruneton, 1999**).

- ✓ **Pseudo-alcaloïdes** : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés (**Bruneton, 1999**).
- ✓ **Proto-alcaloïdes** : se sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ils ont une réaction basique et sont élaborés invivo à partir d'acides aminés (**Bruneton, 1999**).
- **Selon leur composition chimique et structure moléculaire**

Les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes :

- ✓ Phénylalanines, Alcaloïdes quinoléiques: Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques, Alcaloïdes dérivés du trépane, Alcaloïdes stéroïdes (**Gonzalez et al., 1984**).

4.2.2. Fonctions et propriétés

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque (**Cowan, 1999**).

4.2.3. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, chez l'homme ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques (**Mccalley, 2002**).

Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses subtilisations en thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire (**Gazengel et Orecchioni, 2013**). On notera aussi l'existence d'anti-tumoraux, d'antiparasitaires, de curarisants, anti-cancer (**Iserinetal., 2007**).

4.3. Terpénoïdes et stéroïdes

Appelés aussi terpènes, constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (**Hellal, 2011**). En effet les plantes synthétisent plus de vingt deux milles dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (**Conolly, 1992**). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C₅H₈) (**Seenivasan., 2006**), c'est-à-dire leur particularité structural la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique figure (03) à 5 atomes de carbone (**Hernandez-Ochoa, 2005**).

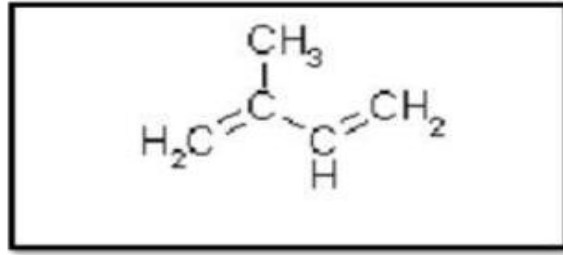


Figure N° 03: Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia *et al.*, 2007).

4.3.1. Classification de terpènes

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les triterpènes C30, et les tétraterpènes C40 (Guignard, 1996).

- Mono terpènes

Les monoterpénoïdes sont des composants majeurs des arômes de plantes. Ces produits naturels volatiles, appelés huiles essentielles, constituent la base de l'industrie de la parfumerie et des arômes (Hanson, 2003).

- Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des molécules à 15 atomes de carbone constituées de trois unités isopréniques et dérivant du Farnésyldiphosphate (Wink, 2003). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules.

- Di terpènes

Les di terpènes sont formés de quatre unités isoprènes (C₂₀H₃₂) (Hernandez, 2005), ils comprennent les gibbérellines phytohormones du développement impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux tels que la germination (Graebe, 1987).

- Triterpénoïdes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C30 issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène (Krief, 2003).

Les stéroïdes sont dérivés de triterpène est étracycliques. Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens (Hanson, 2003).

- Saponines (Groupes de stéroïdes)

Le mot saponine est dérivé du mot latin *sapo*. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (Hart *et al.*, 2008), Ils sont des

glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Wallace, 2004**).

5- Glucosides

Les glucosides sont des produits du métabolisme secondaire des plantes constitués de deux parties. La première contient un sucre, par exemple le glucose ; presque toujours inactive, elle exerce un effet favorable sur la solubilité et l'absorption du glucoside, ainsi que sur son transport vers un organe. La seconde partie, la plus active, détermine l'effet thérapeutique ; elle est appelée « aglycone » (**De Borée, 2012**). En général, l'action physiologique de glycosides, est intimement associée à et en raison de l'aglycone. Le rôle du sucre dans la molécule est normalement une de stabilisation et de solubilisation, bien que la variation résultante des propriétés physiques puisse, dans certains cas, modifier les propriétés pharmacodynamiques de l'aglycone. Pour l'administration, notamment par voie orale en tant qu'agent médicamenteux, la portion sucre du glycoside est dans la plupart des cas nécessaire de porter l'aglycone vers le site d'action à un organe ou un tissu particulier, lorsque l'action pharmacologique est destinée (**Balboa *et al.*, 1981**).



L'histologie végétale

6. Généralités sur l'histologie végétale

6.1. L'histoire de l'histologie végétale

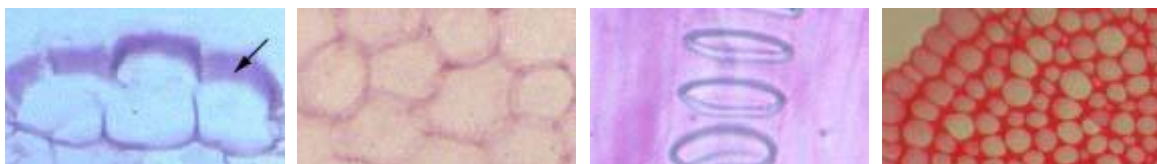
Historiquement, les premières observations de tissus de plantes sont très anciennes et remontent au XVII^e siècle. Elles sont pratiquement contemporaines de la construction des premiers microscopes. Les descriptions de R. Hooke dans sa célèbre *Micrographia* (1665), d'A Van Leeuwenhoek (1674), de M. Malpighi (1674), de N. Greew (1685) établirent des faits et introduisirent des termes encore utilisés actuellement (cellules, parois, parenchyme, vaisseaux, fibres...). Du point de vue de l'histoire des sciences, il est intéressant de signaler que les préparations originales de Leeuwenhoek ont été retrouvées récemment dans les archives de l'Académie royale de Londres. Parfaitement confectionnées, minces – moins de 20 µm d'épaisseur – et intactes, elles ont pu être, après plus de trois siècles, observées au microscope électronique à balayage ; elles témoignent de l'habileté et de la précision des premiers microscopistes (**Site web N°01**).

6.2. Définition de l'histologie végétale

L'histologie générale est l'étude des tissus, associations de cellules de même type et parfois de composants extracellulaires formant les constituants élémentaires des organes. Les tissus sont des ensembles coopératifs de cellules différenciées qui forment une triple association, territoriale, fonctionnelle et biologique (**site web N° 02**).

Un tissu est un groupement de cellules ayant une même origine embryonnaire, ayant le même aspect et qui sont semblablement différenciées dans le but de remplir une fonction déterminée. Les tissus peuvent se diviser en plusieurs catégories structurales ou fonctionnelles (**Cutler et al., 2008**).

On classe les tissus selon leur fonction :



de protection

parenchymes

conducteurs

de soutien

Figure N°04: les différents types des tissus selon leur fonction.

7. Les méristèmes primaires

Méristèmes sont localisés à l'extrémité des tiges (méristème caulinaire) et des racines (méristème racinaire) et ils assurent la croissance en longueur. L'embryon des Angiospermes comporte déjà les ébauches des futurs méristèmes caulinaires et racinaires. Le fonctionnement des méristèmes primaires aboutit à l'obtention des différents tissus. Ils sont dénommés tissus primaires pour les différencier des tissus secondaires qui apparaissent chez certaines plantes ultérieurement (**Helène ,2001**).

Les cellules du méristème primaire sont petites et isodiamétriques. Elles sont parfaitement jointives (pas de méats). Elles possèdent un noyau central occupant une partie importante du volume cellulaire. L'appareil vacuolaire est réduit et il est constitué par de très petites vacuoles qui sont soit sphériques soit disposés en un très fin réseau. Les mitochondries sont nombreuses et il n'existe pas de plastes différenciés (**Helène ,2001**).

7.1. Les différents types de tissus primaire

7.1.1. Tissus de protection

➤ L'épiderme

L'épiderme est un tissu végétal superficiel formant une assise continue de cellules qui recouvre les parties aériennes d'une plante et fournit une protection contre la dessiccation et les agressions extérieures tout en permettant les échanges gazeux avec l'atmosphère.

L'épiderme est interrompu par des cellules stomatiques. La paroi externe des cellules épidermique est épaissie par un dépôt de cutine (**Brongniart,1873**).

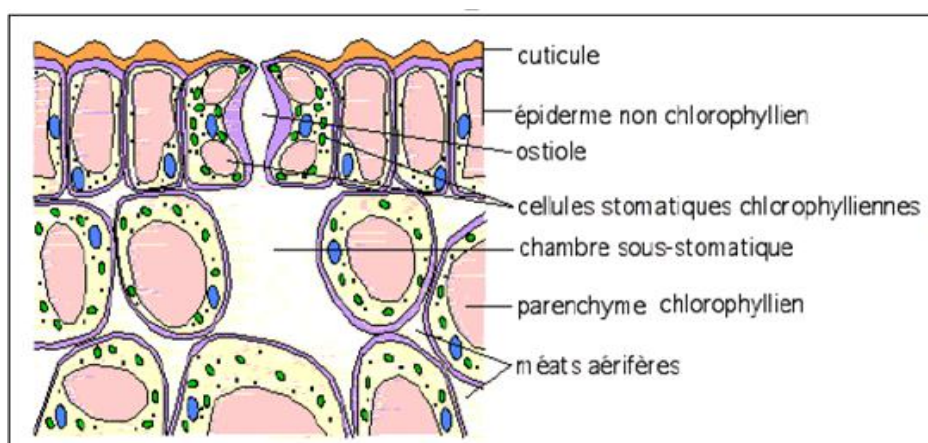


Figure.Nº05: Cellules épidermique.

➤ **Rhizoderme (assise pilifère)**

C'est un tissu superficiel des racines d'une plante, équivalent de l'épiderme des parties aériennes, parfois appelé épiderme racinaire. A la différence de l'épiderme, il est dépourvu de cuticule et de stomate. Dans la toute jeune racine, de nombreuses cellules du rhizoderme forment des poils absorbants (cellules hypertrophiées) spécialisés dans la collecte de l'eau et des sels minéraux présents dans le sol.

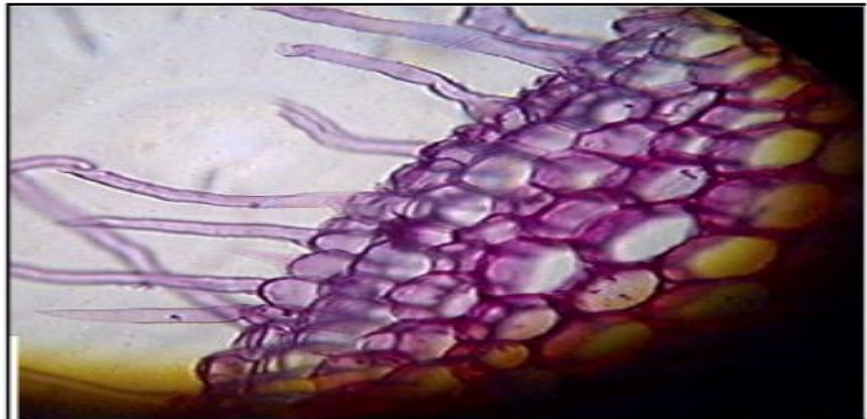


Figure.Nº06:Poils absorbants chez le rhizoderme

➤ **Endoderme**

L'endoderme correspond à la partie la plus interne d'écorce végétale dans les jeunes tiges et les jeunes racines, souvent constituée d'une seule assise de cellule. Plus la plante va de venir âgée, plus l'endoderme va se lignifier en formant ainsi les cadres de Caspari qui assurent ainsi une sélectivité des substances assimilées via l'empêchement des voies de transports apoplasmiques et l'obligation des voies de transport symplasmique.

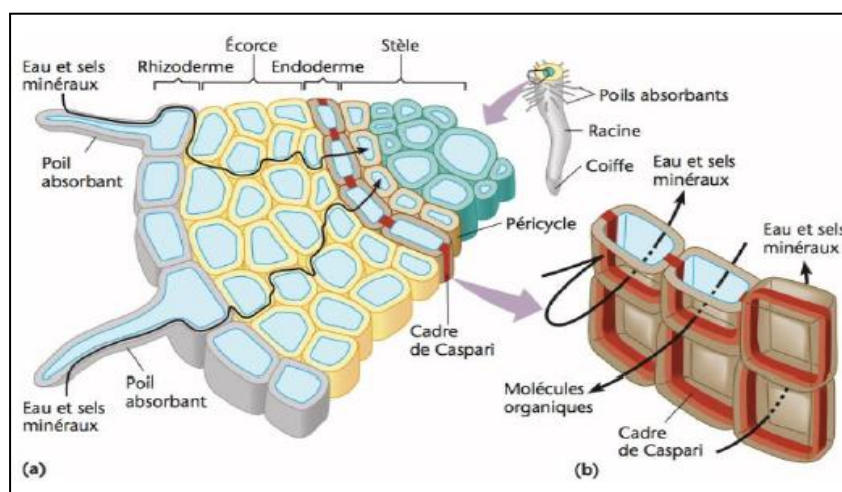


Figure.Nº07: Endoderme et le cadre de Caspari.

7.1.2. Tissus de remplissage (Les parenchymes)

Les parenchymes, nés du fonctionnement des méristèmes primaires, sont formés de cellules vivantes. Les cellules parenchymateuses sont volumineuses, isodiamétriques ou allongées. Leurs vacuoles sont très développées mais leurs parois pectocellulosiques sont minces et flexibles à cause de l'absence de paroi secondaire. Le parenchyme se localise dans le cortex (parenchyme cortical) ou bien dans la moelle (parenchyme médullaire) des tiges et des racines, dans le mésophylle des feuilles et dans la chair des fruits. On classe ces tissus d'après leurs fonctions en parenchymes chlorophylliens qui assurent la photosynthèse, les parenchymes de réserve, plus interne, qui accumulent des composés organiques (sucres, lipides, protéines) et autres comme l'eau et l'air. Le parenchyme lacuneux qui est très poreux, a un rôle dédié aux échanges gazeux avec le milieu (**Brongniart,1873**).

7.1.3. Tissu conducteurs

Les tissus conducteurs des Angiospermes sont le xylème et le phloème. **Le xylème** conduit la sève brute (eau+sel minéraux) minéraux puisés dans le sol par les racines, **le phloème** conduit la sève élaborée (substances organiques provenant de la photosynthèse) vers tous les organes de la plante. Le xylème et le phloème sont étroitement associés et forment le système vasculaire qui assure les corrélations entre les différentes parties de la plante.

Une zone génératrice appelée cambium libéro-ligneux se met entre le xylème primaire et le phloème primaire, sa différenciation donne naissance à des tissus conducteurs secondaires appelés xylème secondaire (le bois) et phloème secondaire (le liber) (**Brongniart,1873**).

➤ **Le xylème** est formé de deux types de cellules :

-Les trachéides sont des cellules mortes allongées, moins riches en lignines, les extrémités sont en biseau où la sève circule via les perforations et les ponctuations.

-Trachées (vaisseaux) constitué de cellules mortes, assez larges et plus courtes que celles des trachéides. Leurs extrémités sont ouvertes est la sève y circule librement.

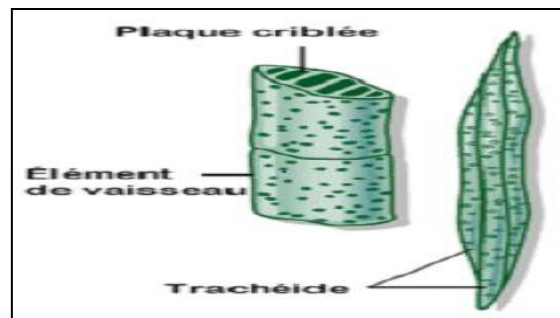


Figure.Nº 08: Eléments de xylème.

➤ Le **phloème** est aussi formé par deux types de cellules :

-Les **cellules criblées** ce sont des cellules vivantes allongées ayant conservé leur paroi cellulosique et leur cytoplasme mais dépourvus de noyau. Leurs parois transversales sont perforées et appelées des cribles, permettant le passage de la sève élaborée.

-Les **cellules compagnes**, sont des cellules vivantes associées aux cellules criblées et qui communiquent avec elles par des plasmodesmes en assurant ainsi toutes les fonctions nécessaires que les tubes criblés ne peuvent plus remplir.

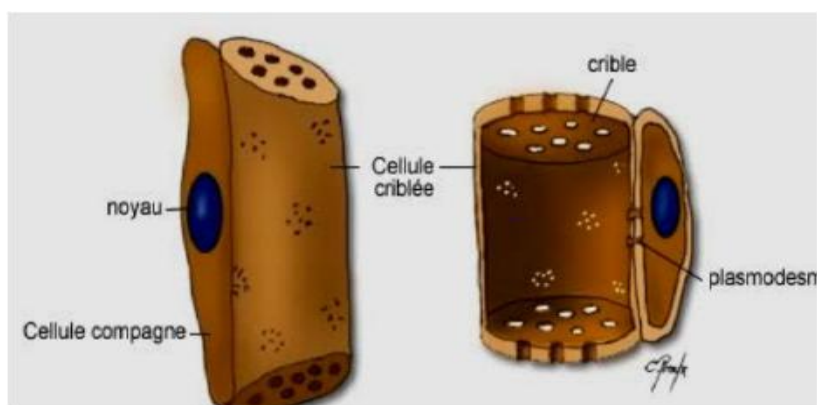


Figure.Nº 09: Eléments de phloème.

7.1.4. Tissus de soutien

➤ **Collenchyme**

C'est le tissu de soutien des organes jeunes et en croissance, situé en général sous l'épiderme des tiges et des pétioles, caractérisé par des cellules vivantes plus ou moins allongées, dépourvues de paroi secondaires, dont les parois primaires sont épaissies par un dépôt de cellulose, ce qui confère à la plante une grande résistance. On peut distinguer trois types d'épaississement :

-**Annulaire** : dépôt de cellulose uniformément réparti tout autour de la paroi

-**Angulaire** : épaissement cellulosique de la paroi au niveau des ongles

-**Tangentiel** : épaissement des parois tangentielles (uniquement les parois parallèles à la surface externe).

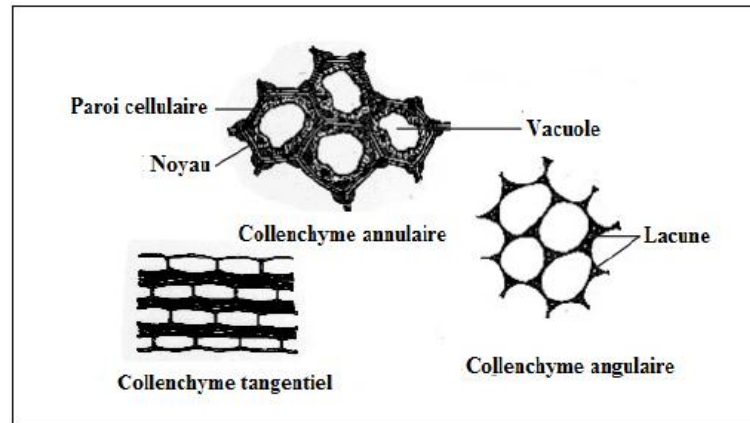


Figure.Nº10: Différents types de collenchyme.

➤ **Sclérenchyme**

Le sclérenchyme est un tissu de soutien des organes dont l'allongement est achevé (parties de la plante qui ne sont plus en croissance). C'est un tissu constitué de cellules allongées, mortes dont les parois sont épaissies par un dépôt de lignine qui confère la dureté et la rigidité à la plante. Les cellules de sclérenchyme sont regroupées en fibres scléreuses sous forme de faisceaux ou bien en sclérites.

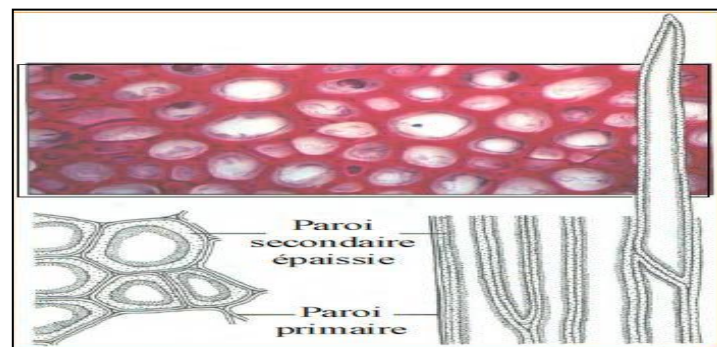


Figure.Nº11: Différents types de sclérenchyme.

7.1.5. Tissus sécréteurs

Ce sont des tissus spécialisés dans la synthèse et la sécrétion de certaines substances (essences, latex.....etc.). Ces tissus peuvent accumuler les produits synthétisés au sein de leur cellule ou bien les rejeter hors de celles-ci dans des cavités ménagées dans les organes, c'est le cas d'excrétion des produits sécrétés. On peut distinguer deux catégories de tissus sécréteurs :

-**Tissus sécréteurs externes** comme l'épiderme et les poils sécréteurs

-**Tissus sécréteurs internes** comme les poches et les canaux sécréteurs ornés des cellules présentant des formes irrégulières (**Brongniart,1873**).

8. Méristèmes secondaires

Les méristèmes secondaires n'existent que chez les Gymnospermes et les Angiospermes dicotylédones, ils sont constitués de cellules à contour rectangulaires disposées en rangées régulières. La vacuole est très développée, le noyau est localisé à la périphérie des cellules.

Les méristèmes secondaires assurent la croissance des organes en largeur, ils sont constitués de deux assises génératrices : l'assise génératrice subéro-phellodermique (ASP) et l'assise génératrice libéroligneuse (ALL) (**Hélène , 2001**).

7.1. Les différents types tissus secondaires

7.1. 1. Tissus conducteurs secondaires

Ce sont des tissus conducteurs des sèves brute et élaborée dans le végétal. Ils proviennent du fonctionnement des méristèmes secondaires libéro-ligneux ou cambium, et donc présents dans les organes âgés des Angiospermes dicotylédones (tige, feuille et racine). La zone génératrice donne naissance à deux tissus conducteurs secondaires : Le liber (phloème secondaire) dirigé vers l'extérieur et le bois (xylème secondaire) dirigé vers l'intérieur (**Brongniart,1873**).

7.1.2. Tissus protecteurs secondaires

Les tissus protecteurs secondaires sont formés à partir d'une zone génératrice appelée zone subéro-phellodermique (phellogène) qui est un méristème secondaire cortical mis en place par différenciation de cellules de parenchyme cortical sous épidermique et parfois de l'épiderme, destiné à produire : vers l'extérieur, du suber (liège), un tissu de protection constitué par un manchon de cellules mortes imperméables contenant de la subérine. Vers l'intérieur, il forme un tissu vivant, le phelloderme qui joue un rôle assimilateur ou de réserve .L'association suber-phelloderme-phellogène s'appelle péri derme. Il n'existe pas de phellogène au sens strict chez les Monocotylédones mais il est bien présent chez les Angiospermes Dicotylédones (**Brongniart,1873**).

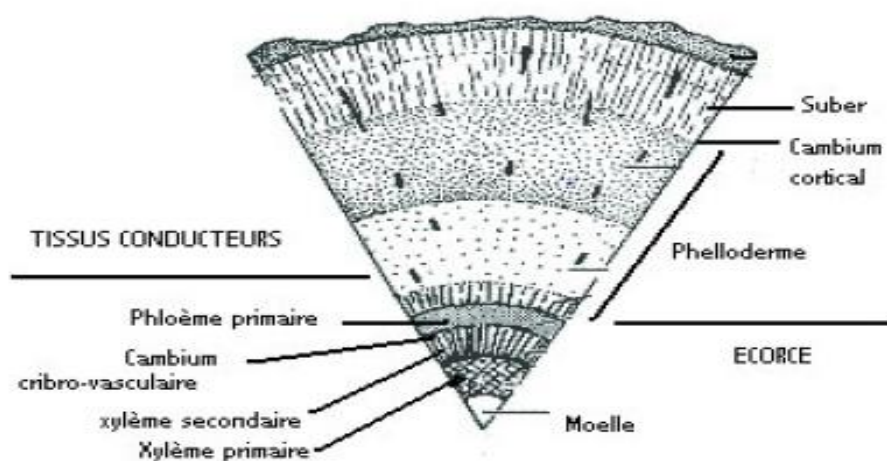


Figure N°12: Exemple de localisation des tissus secondaire



***L'activité
anticoagulante***

1. Définition la Coagulation du sang

La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme central permettant de transformer le fibrinogène en fibrine, est la thrombine. Le processus de formation de la thrombine est complexe avec une série d'activations enzymatiques qui surviennent à la surface des phospholipides membranaires des plaquettes, cellules endothéliales ou monocytes (Schved, 2007).

C'est un phénomène localisé au site de la brèche vasculaire car cette cascade de réactions, malgré son auto-amplification, est limitée et régulée par différents systèmes d'inhibiteurs physiologiques. L'équilibre entre la coagulation et les mécanismes qui vont la limiter est fondamental, une rupture ayant pour conséquence un risque hémorragique (déficit en facteurs) ou thrombotique (excès de facteurs activés ou déficit en inhibiteurs) (Manallah, 2012).

1.1. Facteurs (F) de coagulation

Les facteurs de la coagulation, synthétisés pour la plupart par le foie, sont présentés dans le tableau (08).

Tableau N°01: Facteurs de la coagulation plasmatique (Boisseau, 1996).

N° de Facteur	Synonyme	Lieu synthèse plasmatique	de Demi-vie	dépendant Vitamine K
I	Fibrinogène	Foie	4-6 jours	Non
II	Prothrombine	Foie	3-4 jours	Oui
V	Pro-accéléline	Foie et système Réticulo endo thélial	1 5-24 heures	Non
VII	Proconvertine	Foie	4-6 heures	Oui
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Foie	10- 1 4 heures	Non
IX	Facteur anti-hémophilique B	Foie	20- 28 heures	Oui
X	Facteur Stuart	Foie	48-60 heures	Oui
XI	Facteur Rosenthal	Foie	48 heures 1	Non
XII	Facteur Hageman	Foie	50-70 heures	Non
XIII	Facteur de stabilisation de la fibrine	Foie	3-7 jours	Non

1.2. Les voies de coagulation :

La coagulation est un processus complexe au cours duquel le sang liquide forme un caillot gélatineux. La coagulation peut suivre deux voies (**Selverthorn et al., 2007**).

❖ Voie endogène :

Dans cette voie de coagulation tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. Cette voie est déclenchée par l'activation du facteur XII (Hageman) lors de ce contact aux structures électronégatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycanes), une activation qui conduit par la suite à l'activation de pré-kallikréine en kalikréine qui à son tour peut activer le F XII. Le F XII activé catalyse la transformation de la forme zymogène du facteur XI à la forme protéolytique activée qui active par la suite le facteur IX. Ce dernier se lie à la surface des phospholipides anioniques des plaquettes (F3P) par l'intermédiaire des ions de calcium et forme en présence de son cofacteur, le facteur VIII le complexe tenase qui est responsable de l'activation du facteur X (**Colvin, 2004**).

❖ Voie exogène :

Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sous-endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (pro-convertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquent de prothrombine en thrombine (**Colvin, 2004**).

La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène en monomères de fibrine qui s'associent les uns aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIII a (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine (**Ajjan et Grant, 2006**).

1.3. Les tests de coagulation

à l'aide de quelques tests de coagulation simples d'identifier les diathèses hémorragiques plasmatiques. Dans le cas du test de Quick diminué signifie que le F VII (système exogène) ou la cascade en aval du F X sont altérés ou encore perturbés par des antagonistes de la vitamine K. et le temps de thromboplastine partielle activé (APTT), on ajoute au plasma citrate (en plus du

calcium) des céphalines et de du kaolin (substitut d'une activation de contact), et l'on mesure le temps de coagulation correspondant .S'il est allongé, la déficience est liée à l'activation endogène ou de nouveau à la partie terminale commune à partir du FX (**Silbernagl et Lang., 2003**).

2. Les anticoagulants

Les anticoagulants sont utilisés pour la prévention et le traitement d'événements Thrombotiques sévères. Les plus utilisés sont jusqu'à présent l'héparine et ses dérivés et les anti-vitamines K (AVK). De nombreuses études cliniques ont démontré leur action dans la prévention et le traitement de complications thromboemboliques (**Kortchinsky et al. 2013**).



***Généralités sur
Les espèces étudiées***

1. Famille Apocynacée :

La famille des Apocynacée est une famille de plante dicotylédone ce sont pour la plupart des lianes ou des plante herbacée quelque arbres ou arbuste a latex à feuilles persistante des régions tempéré à tropicale, c'est une feuille cosmopolite.

Au jour duit cette famille donne nombreuses plante ornementale, ainsi que des plantes médicales. Elle comprendre de 1500 espèces réparties en près de 424 genre (**Engle ,1984 ; Anonyme ; 2009**).

Les Apocynacées sont connues pour leur importance comme source de substances médicamenteuses de première importance (ex. Vincristine, Vinblastine, Vincamine,...). Elle se développant principalement dans la zone intertropicale répartis en 4 sous-familles (**Gaussen et col., 1982**) (Voir tableau 01) .

Tableau N°02: Famille des Apocynacées dans le monde (**Gaussen et col., 1982**).

Sous – famille	Genre	Distribution géographique
Apocynoideae	<i>Apocynum</i>	Amérique du Nord, Mexique
	<i>Nerium</i>	a méditerranée au Japon
	<i>Strophanthus</i>	De là l'Afrique à la Malaisie
Plumériodeae	<i>Plumeria</i>	Amérique chaude
Tabernaemontanoideae	<i>Tabernaemontana</i>	Tropique
Cerbéroideae	<i>Cerbera</i>	Madagascar

1.2. Aspect chimique de la famille apocynaceae

Les hétérosides cardiotoniques et les alcaloïdes à noyaux indolique et stéroïdique sont considérés comme les marqueurs chimitaxonomiques de la famille des Apocynaceae (**Paris. R.; Hostettman. K. et col., 2000**).

1.3. Aspects pharmacologiques

Au point de vue des ouvrages classiques de la matière médicale, la famille des *Apocynaceae* fournit des drogues de première importance en thérapeutique (**Paris.R et col., 1971; Pauwels L., 1979**). C'est le cas des alcaloïdes indoliques anticancéreux (ex. vinblastine et vincristine extraites de la pervenche de Madagascar ou celle de la vincamine obtenue la pervenche mineur) (**Gaussen et col., 1982**).

2. Genre *Nerium*:

Le genre *Nerium* regroupe dans le monde deux espèces : (Popenoe. J., 1975; Yamauchi. T. et col., 1983): *Nerium oleander* L. et *Nerium indicum* Mill.

2.1. Aspect chimique de Genre *Nerium*

Le genre *Nerium* est marqué par un métabolisme secondaire orienté vers les terpènes, notamment vers les tri terpènes, les cardénolides et pregnanes (Paris. R.R. et col., 1971). L'absence des alcaloïdes a été signalée par plusieurs auteurs (Abe. F. et col., 1992; Tiwari. S. et col., 2003).

2.3. Aspects pharmacologiques de Genre *Nerium*

Les espèces de *Nerium indicum* et *Nerium oleander*, sont des plantes toxiques. A ce titre leur utilisation en phytothérapie est limitée à l'usage externe. *Nerium indicum* est largement utilisée en médecine traditionnelle chinoise, pour stimuler les muscles cardiaques, soulager les douleurs et comme insecticide (Eun Jeong. S., 2001; Shan Yu. M. et col., 2004).

3. Espèce *Nerium oleander* L.

Le *Nerium oleander* L. ou Laurier rose appelée localement Défla est un arbuste appartenant à la famille des Apocynacée. Le nom latin *Nerium* vient du grec nerion signifiant «humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (Paris. R.R. et col., 1971) et les sols profonds et bien drainés (Lewonczuk ,2004) son adaptation à la sécheresse et son caractère très décoratif permet de la planter dans les régions de climat méditerranéen ou subtropical (Frohne et Pfander., 2005). Le nom spécifique *oleander* vient de l'italien de « oleandro » qui vient du latin « olea » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages. (Delille , 2007).



Figure N° 13: Laurier rose (*Nerium oleander* L) (Hugues, 2012).

3.1. Classification:

Selon classification botanique des angiospermes (APGIII, 2009) la classification botanique de l'espèce *Nerium oleander* L. est comme suite :

Tableau N° 03: la classification botanique de l'espèce *Nerium oleander* L.

Règne	Végétale
Sous règne	Plante
Division	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Ordre	Gentianales
Famille	Apocynacées
Genre	<i>Nerium</i>
Espèce	<i>Oleander</i> L.
Nom scientifique	<i>Nerium oleander</i> L.

3.2. Synonymes

Nerium oleander L. est connu sous différentes dénominations communes selon les pays et régions considérés le tableau N° 03 montres ces différentes nomenclatures vernaculaires.

Tableau N°04 : Les différentes étiquettes de la plante de *Nerium oleander* L. à travers le monde. (Inchem, 2005).

Pays	Nom communes
Puerto Rico, Spain	Adelfa
Puerto Rico	AlheliExtranjero
Catalunya-Spain	Baladr
Brazil	Loureiro rosa, Loandro ,Flor de Sao Jose ,Espirradeira
Argentina Uruguay	Laurel rosa . Laurel de jardín
France	Laurier rose
Hawaii	Oleana , Oliwa
Cuba	Rosa Francesa
Brazil, UK, USA	Oleander
Mexico	Rosa Laurel
Algérie, nord d'Afrique	الدقلة , الدقلى
Pays de golf	الدقلة أو التفلة أو ورد الحمار أو الغار الوردي أو الحين

3.3. Origine et répartition géographique

Le *Nerium oleander* L. se développe notamment aux pays du pourtour du bassin méditerranéen. Il serait originaire du Proche-Orient (**Paris et al., 1971**). L'espèce croît spontanément sur les berges rocailleuses des rivières, parfois même dans les zones littorales, habituellement dévolues aux espèces halophiles. Adaptée à la sécheresse, le *Nerium oleander* L. est très décoratif pour la beauté de ses fleurs (**Paris et al., 1971; Bruneton, 2001**).

En Afrique du Nord, l'est assez *Nerium oleander* L. commun dans la zone steppique. Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocailloux. Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (**Chopra et al., 1971 ; Ratiba ,2003**).

Le *Nerium oleander* L. se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...) (**Ridings , 1976 ; Siddiquiet al., 1987; Siddiquiet al., 1989 ; Begumet al., 1997 ; Begumet al., 1999 ; Banon et al., 2006**). Elle est fréquemment cultivée comme ornemental (**Ridings, 1976; Barbosaet al.,2008; Delille, 2007**).

3.4. Description et morphologique

Laurier rose est un arbrisseau dressé atteignant 2 à 4 m de hauteur, il peut atteindre les 5 m de haut. Ses racines sont blanchâtres et contiennent un suc laiteux peu abondant très astringent. Le bois contient également du suc amer, laiteux ou translucide, en grande quantité. Les feuilles persistantes verticillées par 3 ou opposées, allongées et coriaces elles sont lancéolées et mesurent jusqu'à 15 cm de long pour 2,5 cm de large en moyenne. Arborent une couleur vert foncé. Les fleurs, roses le plus souvent, sont disposées en corymbes terminaux. La corolle, mesurant 4 à 5 cm de diamètre, s'évase en cinq lobes étalés, peuvent être doubles ou simples d'une grande variété de coloris. Des fruits apparaissent par la suite. Il contient une certaine de petites graines duveteuse, surmontées d'une aigrette sessile qui facilite la dispersion par voie aérienne. (**Jouve, 2009**).

3.4.1. Feuilles

Opposées ou verticillées par 3, longuement lancéolées (8-14 x 5-2.5cm), coriaces, à nervures secondaires pennées, très nombreuse, serrées. (**Paris, 1971; Bruneton, 2001; Hussain, 2004, Delille, 2010**).

- Caractères des feuilles :

Elles persistent pendant l'hiver, elles sont coriaces, ovales, très allongées, sans poils, remarquables par les quarante à soixante-dix paires de nervures secondaires, fines, sériées, sensiblement parallèles, parfois fourchues qui partent de la forte nervure principale. Le limbe est entier d'un vert mat en dessus, plus pâle et ponctué en dessous, il porte un pétiole extrêmement court. (Paul.,1991) .



Figure N°14: Les feuilles de *Nerium oleander L.* (Cliché personnel, 2019).

3.4.2. Fleurs

En corymbes terminaux, ont une corole infundibuliforme à gorge roses évasant en 5 lobes étalés et ornés d'un appendice à 3-4 dents courtes elles 23 s'épanouissent de juin à septembre, sont de teinte rose ou blanche, disposées en corymbe (Delille. L., 2007).

- Le pistil:

Il est formé d'un ovaire à deux loges libres dont les placentas portent de nombreux ovules, d'un style et un stigmate. Une couronne de glandes nectarifères entoure la base de l'ovaire. La formule florale est : 5s (sépalés) + 5p (pétales) + 5e (étamine) + 2c (carpelles). (Huxley.,1992)



Figure №15: les fleurs de *Nerium oleander* L. (Cliché personnel, 2019).

3.4.3. Fruit

Brun fauve, de 10 à 12 cm, mince et presque cylindrique, forme de deux parties qui à maturité, se séparent et s'enroulent tout en restant réunies par la base (Hammiche et al., 2007). Comporte deux follicules allongés (8-16 x 0.5-1.5 cm), soudés jusqu'au début de la déhiscence.



Figure №16: les fruits de *Nerium oleander* L. (Cliché personnel, 2019).

3.4.4 Graine:

Duveteuse, est surmontée d'une aigrette sessile qui en facilite la diffusion (Paris. R.R. et col., 1971; Bruneton. J., 2001; Hussain. M. A. et col., 2004). Ou bien la dispersion par voie aérienne (Jouve, c, 2009).



Figure N°17: les graines de *Nerium oleander* L.(originale, 2019)

3.5. Conditions de croissance:


Sa croissance est rapide. C'est un arbuste peu exigeant qui supporte le calcaire et les terres un peu pauvres, un sol pas trop sec en été et au printemps. Le sol doit être fertile. Le laurier rose a grand besoin de soleil. Il est très résistant à la sécheresse mais s'accommode aux climats tropicaux humides, il est sensible au froid (Aubineau et al, 2002 ; Benston, 1984).

Les lauriers roses résistent facilement jusqu'à à 8°C, ses longues racines lui permettent de chercher l'eau à grande profondeur dans le lit des rivières à sec (Aubineau et al., 2002 ; Benston, 1984).

3.6. Les différentes variétés de l'espèce *Nerium oleander* L

Laurier rose se caractérise de nombreuses variétés ornementales par ses fleurs colorées et se trouve rose, rouge, blanc et jaune, Peut être simple ou complexe Comme indiqué dans le tableau N° 4 (Huxley, 1992). Les fleurs dégagent une odeur douçâtre à l'état frais et sont peu odorantes une fois séchées (Jouve, 2009).

Tableau N°05: Les différentes variétés de l'espèce *Nerium oleander L.*

<p>Nerium oleander 'Mont blanc' (5 à 6 m)</p>	
<p><i>Nerium oleander</i> 'Splendens' (5 à 6 m)</p>	
<p><i>Nerium oleander</i> 'Petite Salmon' (3 à 4 m)</p>	
<p><i>Nerium oleander</i> 'Tamour' (5 à 6 m)</p>	
<p><i>Nerium oleander</i> 'Cavalaire' syn. 'Mme Allen' syn. 'Mme Planchon' (4 à 6 m)</p>	

3.7. Aspecte (composition) chimique

Les études phytochimiques effectuées sur *le Nerium oleander L.* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les cardénolides, tritèrènes, prégnanes, flavonoïdes, coumarines et des dérivés stéroïdiques (**Hanson, 1985**). Une trentaine de cardénolides ont été séparés ou caractérisés, majoritairement représentés par l'oleandrine, (**Paris. R.R. et col., 1971**).

Toute la plante est dangereuse, ni l'ébullition ni la dessiccation des feuilles ne permettent d'inactiver les toxines constituées essentiellement d'hétérosides cardénolides (**Bruneton, 1999**).

Tableau N°06: Constituants chimiques des différentes parties de *Nerium oleander L.*

Parties utilisées	Les substances composées (référence)
Feuilles	Cardénolides (Hanson. J .., 1999)
	Tri terpènes (Hanson. J., 1997)
Racines	Cardénolides (Paris. R .,1999)
Différentes parties	Cardénolides (Hanson. J. R., 1985)
	Flavonoïdes (Hanson. J. R., 1985)
	coumarines (Hanson. J. R., 1985)
	Phytostérols (Hanson. J. R., 1985)

3.8. Utilisations traditionnelles dans le monde

Le Nerium oleander L. est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (**Adom. R. O. et col., 2003; Almahy. H. A. et col., 2006**). Elle est utilisée comme un anti caries dentaires (**Maftah et al ,2003**), antichute des cheveux, pour nettoyage et pour la peau, contre les morsures de serpent, lutte les insectes (**Oukal, 2008**). Les usages traditionnels des différents organes de *Nerium oleander L.* Selon les pays sont décrits dans le tableau.

Tableau N°07: Principales utilisations de *Nerium oleander L.* en médecine traditionnelle selon les pays.

Parties Utilisées	Pays	Indications / (références)
Feuilles ou séchées	Afrique du sud	abortif (Adom. R. O. et col., 2003)
	Algérie	nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre es caries dentaires (Maftah.al., 2003)
	Iran	cardiotonique et diurétique (Adom.l.,2003).
	Maroc	antidiabétique, abortif, démangeaison, mal de tête (Bnouham. al., 2002), antigale, contre la chute des cheveux et l'eczéma(Oukal. Z., 2008).
	Tanzanie et Turquie	antibactérien (Erdemoglu. N. et col., 2003; Adom. Al .,2003).
Différents organes	Cuba	Cuba médecine de folklore (Adom. R. O. et col., 2003).
	Inde et Bangladesh	Antibactérien (Adom. R. O. et col., 2003)

3.9. Propriétés pharmacologiques :

D'après la littérature, les diverses parties du *Nerium oleander L.* ont exhibé in-vitro et in-vivo une série d'activités biologiques et pharmacologiques (voir le tableau N°07).

Tableau N°08: Propriétés pharmacologiques de *Nerium oleander L.*

Partie Utilisée	Propriétés pharmacologiques et utilisation / (références)
Feuilles	cardiotoniques, antibactériens. (Hussain. M., 2007), inhibition du système nerveux central (CNS) chez les souris. (Hanson. Jl., 1999), anticancéreux (Hanson. J., 1999).
Racine	anticancéreux, anti lépreux, antiulcéreux, antibactériens, cardiotoniques. (Hanson. J., 1999).
Différentes parties	anti malaria, antivirale, antiulcéreux, anticancéreux, antidote (Ibrahim. K. 2007) et comme insecticide (Adom., 2003). Emménagogue, comme Abortif, antispasmodique et dans le traitement d'angine de poitrine... (Al-yahya. M., 2006), antiparasitaires... (Siddiqui. S.,1987).

L'oléandrine c'est un médicament à base de l'espèce *Nerium oleander L* a été utilisée comme principe actif d'un médicament nommé NERIOL® (Laboratoires Nativelle) commercialisé en France de 1960 à 1968 pour le traitement des insuffisances cardiaques et des défaillances cardiaques dues au dysfonctionnement des valves mitrales sur des patients réfractaires aux cardiotoniques. On utilisait alors les propriétés cardiotoniques et diurétiques de l'oléandrine (comprimé à 0,2 mg). Les effets secondaires étaient digestifs (nausée, vomissements, diarrhée) et nerveux (vertiges). (Reynolds, 1989).

3.10. Toxicité du *Nerium oleander L*

Nerium oleander L. est une plante toxique par ingestion de ces diverses parties (feuilles, fleurs, tiges,...). (Adom, 2003). La toxicité de *Nerium oleander L.* est due à des un glycoside stéroïdique rattaché aux cardénolides (Hammiche et al., 2013), qui cause de l'empoisonnement par l'inhibition des pompes Na⁺/K⁺ ATP ase (barbasa et al.,2008). Dépendantes au niveau des cellules myocardiques (ces pompes permettent la sortie de trois ions sodium contre l'entrée de deux ions potassium dans la cellule .On obtient ainsi un accroissement du taux intracellulaire de sodium entraînant secondairement un accroissement du taux intracellulaire de calcium et une diminution du taux intracellulaire de sodium (échange transmembranaire du sodium intracellulaire avec du calcium extracellulaire) responsable de l'augmentation de la contractilité des fibres myocardiques (effet inotrope positif bien connu des digitaliques) (Jouve, c, 2009).

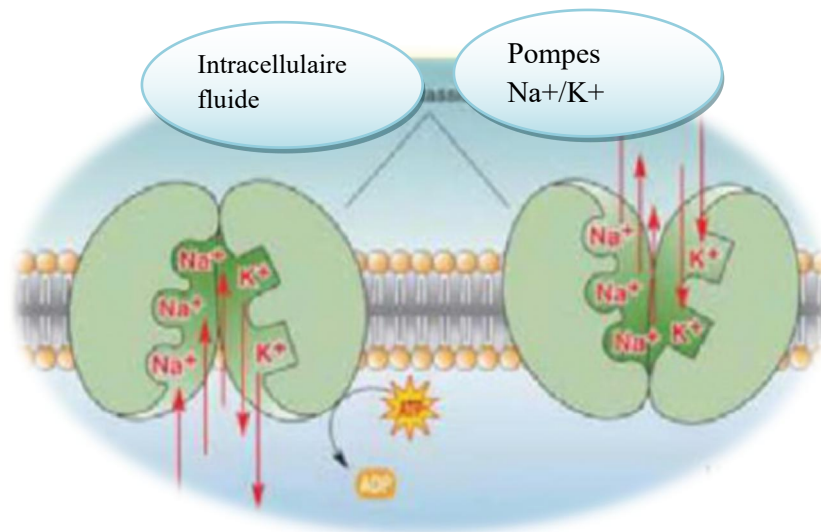


Figure N°18: Mode d'action des hétérosides cardiotoniques au niveau des cellules myocardiques.

❖ **Symptômes de toxicité:**

Les symptômes apparaissent plusieurs heures (72h) après l'ingestion d'une quantité toxique (Adom et al., 2003). Les signes neurologiques comprennent habituellement une sensation de malaise, de faiblesse et, souvent de la confusion mentale, des troubles de la vision, des signes cardiaques, troubles du rythme (Charnot, 1945).

❖ **Traitement :**

En traitement traditionnel le laurier rose a été utilisé comme médication cardiaque et comme abortif. Ce produit purifie la matrice et calme les douleurs rhumatismales et goutteuses; les ulcères des animaux seraient traités par la feuille sèche pilée (Charnot, 1945). Des dermatites ont été provoquées chez des sujets sensibles (Sijelmassi, 1981).

3.11. Les Intérêt Médical et socioéconomiques

3.11.1. Intérêt Médical

Malgré, le rôle négatif de laurier rose par ces feuilles nacrées sternutatoires, vomitives et purgatives et qui contiennent une substance qui irrite la peau et qu'il suffirait de 100 g de feuilles pour tuer un bœuf, le laurier rose d'un autre côté est utilisé comme remèdes, surtout dans la médecine populaire comme il est venu dans les indications de (Cheref. Y 1979), que le laurier rose stimule l'activité des reins, c'est un hypertensif artériel, il est utilisé aussi dans les faiblesses cardiaques où il est préparé sous forme d'infusion de fleur ou de feuille. Il est conseillé aussi comme antiparasitaire de la peau, dans la cicatrisation des plaies et comme anti-inflammatoire.

3.11.2. Intérêt socioéconomique

L'emploi du laurier rose est recommandé en usage externe dans l'arsenal thérapeutique populaire. À Kelibia (Tunisie), la poudre de feuillage est réputée être efficace dans les cas de gangrène, alors qu'un rameau tendre frotté sur la partie concernée passe pour soigner les dermatoses et en particulier l'eczéma. Quelques gouttes de latex sur la plaie sont préconisées dans les cas de morsure de chien.

Cette indication dans les affections dermatologiques nous a été également signalées dans les villages du Nord-ouest de la Tunisie, où les feuilles de laurier rose sont appliquées en cataplasme pour soigner les plaies, placées sur la tête, les feuilles écrasées auraient une action stimulante sur le cuir chevelu et soulageraient la malade frappé d'insolation. Toujours dans le Nord, le décocté des racines est utilisé en bain de bouche pour calmer les douleurs dentaires. A Jelma, dans le centre du pays, les graines pilées et placées en mèche sont conseillées pour le traitement local des hémorroïdes, et les fumigations des feuilles passent pour guérir l'hémiplégie lorsqu'elle est récente (**Boukef, 1986**). En médecine, la plante est utilisée en cas de faiblesse cardiaques ; en homéopathie, myocardites, angines de poitrine et aux maladies intestinales (**Podlech, 1988**).

3.12. Effets du laurier rose sur l'homme et les animaux

Le laurier-rose est un arbuste dangereux toutes ses parties sont toxiques pouvant en cas d'ingestion provoquer des accidents graves. Les symptômes apparaissent plusieurs heures après l'ingestion d'une quantité toxique telle que les frissons, les diarrhées, les coliques, une faiblesse générale, les maux de tête, les pouls irréguliers, une grande agitation, des palpitations, des vertiges, des douleurs abdominales, des nausées et des vomissements, des selles sanguinolentes, une irritation gastro-intestinale avec des troubles respiratoires, ralentissement de la fonction respiratoire et irrégularité cardiaque. Certaines des personnes intoxiquées sont mortes le suc laiteux contenu dans les tiges peut provoquer chez certaines personnes des dermatites. Il est fortement déconseillé de dormir à l'ombre du laurier-rose cela peut provoquer l'apparition de courbatures, sueurs froides et vertiges (**Delille, 2007 ; Engel, 1984 ; Kingsbury, Wilson, 1909**). La consommation des feuilles provoque chez les animaux domestiques des vomissements, des diarrhées, une stupeur, des tremblements, des convulsions suivies de paralysie. La dose mortelle pour les ovins est de 1 à 5g. La plante est très toxique, notamment pour les chameaux. Les chevaux y sont particulièrement sensibles (**Engel, 1984**).

Partie 2 :

Etude expérimentales



***Matériel et
méthode***

1. Présentation de la zone de prélèvement

La région de Ferdjioua est une daïra d'Algérie située dans la wilaya de Mila, la commune de Ferdjioua a est localisée au Nord-Ouest de la wilaya de Mila à 31 km suivants la rude national (RN) 79, à 80 km au Sud de Jijel et à 100 km à l'Ouest de Constantine. Les cordonnées géographiques de la zone prélèvement sont les suivant :

- $36^{\circ} 25'58''N$ =latitude.
- $5^{\circ} 53'26''E$ =longitude.

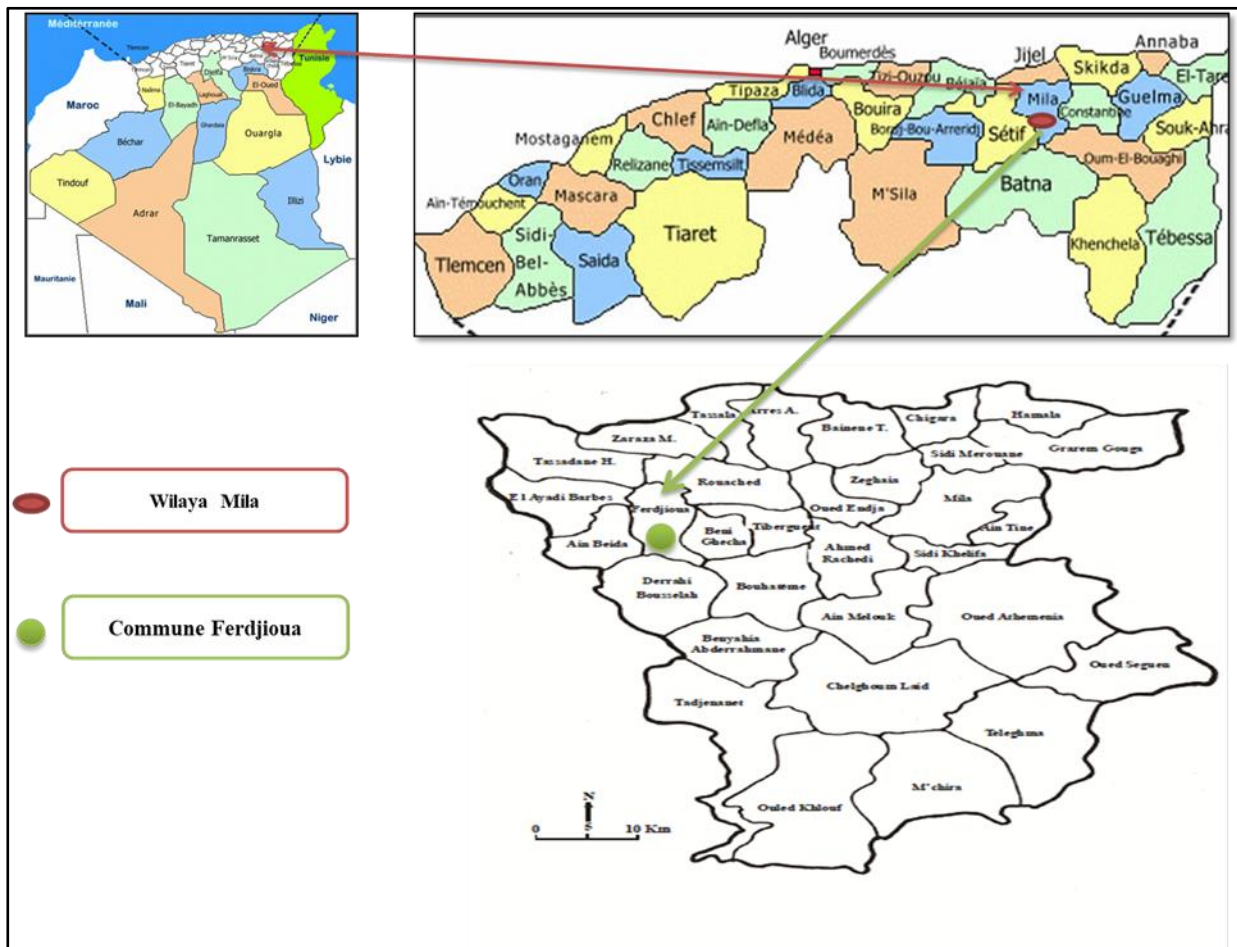


Figure N°19: Situation géographique de wilaya Mila (commune de Ferdjioua) (site web N° 3).

2. Climat

Le climat de la wilaya de Mila est un climat typiquement méditerranéen. Il est caractérisé par un Hiver doux et pluvieux et une période estivale longue chaude et sèche qui se prolonge du mois de Mai au mois d'Octobre avec une variation saisonnière et spatiale (Peguy,1989).

3. Étude pédologique

L'étude d'un sol, à des fins pédologiques ou agronomiques, consiste en un ensemble de prospections sur le terrain, complétées par des analyses au laboratoire des échantillons représentatifs du sol, prélevés du site étudié.

Les études au laboratoire s'intéressent à des analyses minéralogiques, physiques (humidité, texture, structure...), chimiques (pH, EC., calcaire, ...).

3. 1. Matériel :

✓ Préparation les échantillons :

Les échantillons (250g de sol) destinés à l'analyse sont séchés à l'air. Après séchage et retirer les débris végétaux et les cailloux, ensuite peser l'échantillon, enregistrer le poids obtenu, Mettre la terre dans un mortier de porcelaine et pilonner légèrement, juste pour écraser les mottes mais non les graviers. Passer au tamis 2 mm. Ainsi de suite jusqu'à ce qu'il ne reste plus que les graviers. Stocker dans des boîtes en carton portant une référence.

3.2. Méthode :

3.2.1. Détermination du pH du sol :

✓ pH_{eau} :

Mise en suspension $P_0 = 10$ g de sol dans un flacon à agitation avec 25ml d'eau distillée, après agitation pendant une heure à une température proche de 20°C, la lecture du pH se fait sur le pH mètre. **(Bonneau et Souchier, 1994).**

✓ pH_{KCl} :

Mise en suspension $P_0 = 10$ g de sol dans un flacon à agitation avec 25ml de KCl. après agitation pendant une heure à une température proche de 20°C, la lecture du pH se fait sur le pH mètre. **(Bonneau et Souchier, 1994)**

Tableau N° 09: La gamme de pH des sols (Gauchier et Soltser, 1981) .

Ph	Désignation des sols
3 - 4,5	Extrêmement acides.
4,5 – 5	Très fortement acides.
5 – 5,5	Très acides.
5,5 – 6	Acides.
6 – 6,75	Faiblement acides.
6,75 – 7,25	Neutre.
7,25 – 8,5	Alcalins.
>8,5	Très alcalins

3.2.2. Détermination de la Conductivité Electrique :

Peser **05 g** de sol bien séché, puis ajouter **25 ml** d'eau distillée, après une agitation pendant une heure par un agitateur mécanique, la solution est mesurée avec un conductimètre.

Tableau N°10: l'échelle de la salinité de sol (Ussl, 1954).

La Conductivité Electrique	Salure
0,0 -0,6	Non salé.
0,6 -1,4	Peu salé.
1,4 -2,4	Salé.
2,4 – 6	Très salé.

3.2.3. Détermination de l'Humidité Relative et la Texture:

- Peser la capsule vide (P_0).
- Peser **50g** de sol séché et l'imbibé d'eau goutte à goutte, toutes en mélangeant jusqu'à ce que la pâte glisse doucement lorsqu'on incline la capsule, le poids du sol+eau est (P_1).
- On met la capsule avec son contenu dans l'étuve pendant **24 heures** à une température de **105°C**, Après **24 heures** on pèse la capsule à nouveau c'est le (P_2).

Pour déterminer l'humidité relative on applique l'équation suivante :

$$H\% = \frac{(P_0 + P_1) - P_2}{P_1} \times 100$$

Pour déterminer la texture du sol on utilise l'échelle suivante :

Tableau N° 11: Echelle international pour la détermination de texture du sol par le pourcentage d'humidité.

% de saturation	Texture
< 12	Sableuse
12 - 24	Sablo -limoneuse
24 - 37,5	Limono -sableuse
37,5 - 45	Limono- argileuse
45 - 75	Argilo limoneuse
> 75	Argileuse

3.2.4. Détermination du Calcaire total :

Pour déterminer la teneur du sol en calcaire total, nous avons utilisé la technique de titrimétrie qui consiste à :

- Mettre dans un Erlen-Mayer **10g**de sol tamisé à **02mm**.
- Ajouter **50 ml** d'**HCl** à **0,5N** et couvrir l'Erlen.
- Laisser le mélange (sol, **HCl**) refroidir après une ébullition de **15 min**.
- Filtrer la solution et laver le filtrat avec l'eau distillée pour lessiver l'excès d'**HCl**.
- Déterminer la quantité d'**HCl** qui ne réagit pas avec le **CaCO₃** en ajoutant quelques gouttes de **Phynolftaline**.
- Titrer la solution avec la **NaOH** à (0,2 N).

On utilise l'équation suivante pour déterminer la teneur de sol en CaCO₃ :

$$\text{CaCO}_3\% = \frac{5 \times [(50 \times \text{normalité de l'HCl}) - (\text{normalité de NaOH} \times \text{quantité de NaOH})]}{(\text{Poids du dol utilisé})}$$

4. Étude histologique : Technique de la Double Coloration ou Technique dite vitale.

4.1. Principe :

Sur une coupe plus fine que possible, on fait agir successivement des solutions d'hypochlorite de sodium et d'hydroxyde de sodium diluées. Les contenus cellulaires sont détruits, les parois

sont respectées. En faisant agir successivement le Vert de méthyle et le Rouge Congo, les parois cellulosesiques se colorent en rose, les parois lignifiées ou sclérifiées se colorent en vert.

4.2. Mode opératoire :

Dans un verre de montre placer les coupes successivement :

1- Pendant **15 à 20 mn** dans l'hypochlorite de sodium dilué au 1/2.

2- Laver **01** fois à l'eau distillée ;

3- Laver **01** fois avec la solution d'hydroxyde de sodium à **05%** (si la coupe est très riche en amidon : racine, rhizome) :

4- Laver **02** fois à l'eau distillée ;

5- Laver **01** fois dans un bain d'eau additionnée de quelques gouttes d'acide acétique ;

6- Traiter au Vert de méthyle pendant **01à03 mn** ;

7- Laver rapidement à l'eau distillée ;

8- Traiter par le Rouge Congo pendant **15 mn** ;

9- Laver rapidement à l'eau distillée ;

10- monter entre lame et lamelle pour l'observation microscopique.

Remarque : le même protocole expérimental a été réalisé sur les différents organes de la plante (feuille, tige, racine)(Figure20).

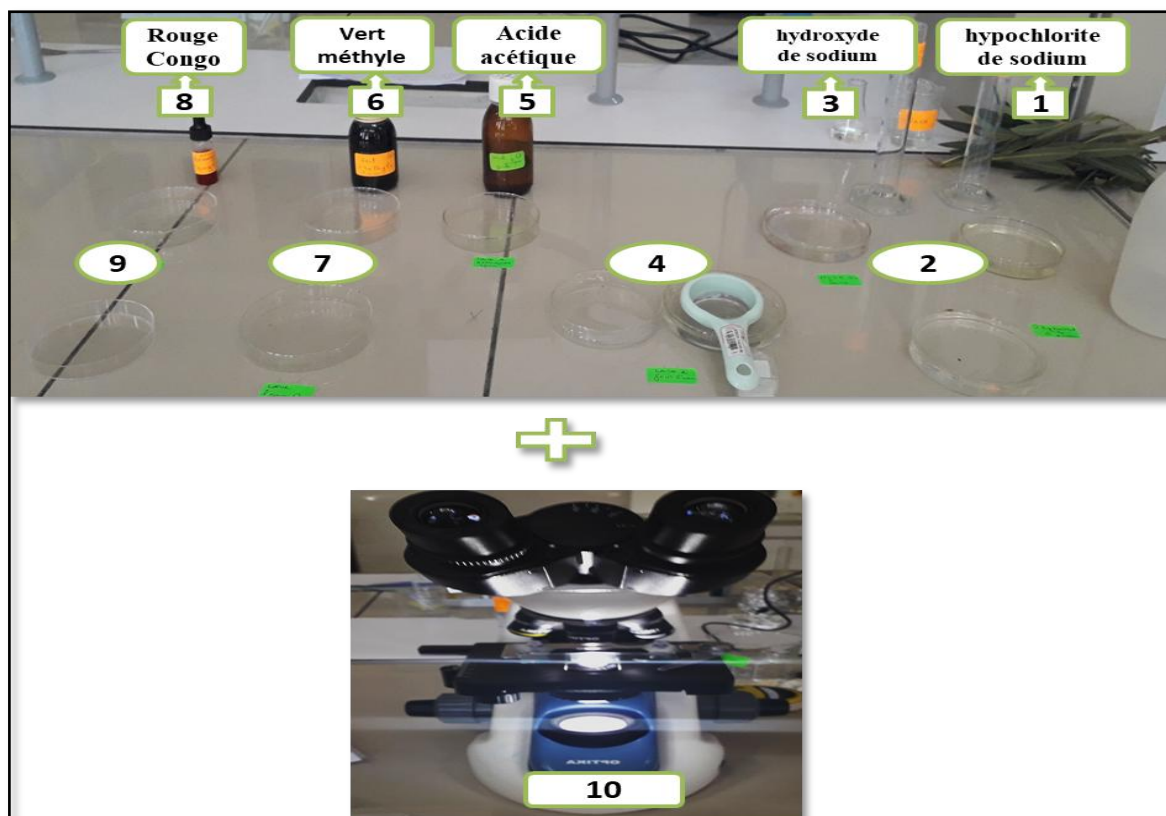


Figure №20: Les étapes de la technique Double Coloration.

5. Étude phytochimique

5.1. Matériel végétale :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à la tige, racine et feuille d'espèce *Nerium Oleander* L. ou bien Laurier rose.

5.2. Méthodes :

5.1.1. Préparation de matériel végétal

✓ récolté et séchage

La récolte la plantes de laurier rose (*Nerium oleander* L.) a été réalisée au mois de janvier 2019 dans la région de Ferdjioua (willaya de MILA).

Chaque partie de plantes (racine, tige, feuille) récolté ont été séchées à l'ombre sur les papiers des journaux pendant un 21 jour

✓ Broyage

Les trois partie ont été sèches sont broyées mécaniquement à l'aide d'un mortier puis tamiser par un tamis de diamètre 2 mm par l'infusé et 0.5 mm par le poudre.



Figure N° 21: les trois partie de plante laurier rose (infusé et poudre).

5.2.2 .Préparation des extraits pour étude phytochimique

Les extractions solide /liquide de cette plante ont été réalisées selon deux modes de préparation : infusion et macération par un solvant eau ou (éthanol-eau 70/30).

- **Objectif :**

Cette étape consiste à extraire le maximum des molécules chimiques contenant dans les trois parties de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

- ✓ **Préparation de l'infusé à 10% :**

Verser 10g de drogue sont des petits fragments dans 100ml d'eau bouillante, agite et laisse le mélange refroidit après 24h d'attendent filtre le mélange et conserve le filtrat dans un flacon à l'abri de la lumière.

- ✓ **Préparation d'extrait macération éthanolique :**

50g de chaque partie de plante ont été macérée dans 250ml d'éthanol (70%) sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2 jusqu'à 3 heures de temps. Après 3 jours ; les produits obtenue ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre, les filtrats obtenus ont été conserves dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

5.3. Screening phytochimique

Le screening photochimique ou le criblage ; c'est ensembles des méthodes et des Techniques d'analyse des substances organique naturelles de la plante. Il représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents composés et groupes chimiques contenus dans un organe végétal, Ces groupes photochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines et les saponosides, ...etc. (**Lendvai et al.,2002**).

Les tests de screening photochimique de notre travail ont été réalisés au sein du Laboratoire du Centre Universitaire AbdElhafide Boussouf Mila.

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

(+++) : Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négatif.

5.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé

➤ **Test des saponosides :**

2g de la poudre de chaque plant a été macère avec 100 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes, on filtre, l'extrait ensuite on le refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes, la formation d'une mousse >1 cm persistante indique la présence de saponosides (**Benzahi K, 2001 ; Chaouch N, 2001**).

➤ **Test des tanins :**

10 g de la poudre avec 80 ml d'alcool éthylique (50 %) à macéré pendant quelques minutes, après une filtration sur papier filtre, On agite le filtrat obtenu. On ajoute ensuite quelques gouttes de FeCl₃ au milieu. L'apparition d'une couleur verte prouve la présence des tanins (**Kalla, 2012**).

➤ **Test des anthocyanes :**

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5 ml d'extrait dans un tube auxquels on ajoute 15 ml d'H₂SO₄ à (10%) (Milieu acide). Après agitation, le mélange est additionné de 5 ml NH₄OH à (10%) (Milieu basique). La présence d'anthocyanes est affirmée par une coloration bleu-violacée en milieu basique (**Bruneton, 1999**).

➤ **Test des Leuco-anthocyanes :**

Nous avons pris 5ml d'infusé, mêlé de 4ml d'alcool chlorhydrique (éthanol/HCl pur 3/1 v/v). après un chauffage au bain-marie à 50° pendant quelques minutes l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des Leuco-anthocyanes (**Solfo, 1973**).

➤ **Test des coumarines :**

20g de petits fragments de chaque partie a été mise à la macération dans 20 ml d'éthanol et une filtration sur papier filtre, on ajoute au 5 ml du filtrat 5 ml de KOH (10%) et 5 ml de HCl (10%) L'apparition d'une précipitation rouge brune révéla la présence des coumarines.

I-5-3-2 -Tests préliminaires sur la poudre (drogue végétale)

➤ **Test des glycosides :**

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1ml de l'extrait brut avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling a été chauffé à 70°C dans un bain marie, un test positif est révéla par la formation d'un précipité rouge brique (**Tresse et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des flavonoïdes :**

On trempe 10 g de la plante dans 150 ml d'acide chlorhydrique à 1 % pendant 24 heures, on filtre et on procède aux tests suivants: On ajoute à 10 ml du filtrat, du NH₄OH jusqu'au pH basique. L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes (**Benwqhi, 2001 ; Chaouch, 2001**).

➤ **Recherche des triterpènes et stéroïdes :**

On agite le filtrat obtenu par macération de 5 g de la poudre dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes. On ajoute 1 ml d'acide sulfurique sur les parois du ballon. L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution prouve la présence des stérols et tri terpènes (**Kalla, 2012**).

➤ **Recherche des alcaloïdes :**

On prend 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai et ajouter 5 gouttes de réactif de Wagner, l'apparition d'un précipité marron chocolat révéla la présence des alcaloïdes (**Treaseet Evans, 1989; Harborne, 1998**).

➤ **Test des polyphénols :**

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique(FeCl_3). A 2ml d'extrait une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des poly phénols ((Békro *et al.*, 2007).

➤ **Test des quinones libres :**

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

➤ **Teste des anthraquinones :**

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH_4OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (Oloyede, 2005).

➤ **Test des cardinolides :**

01g de poudre sèche est macéré dans 20ml d'eau distillée pendant 03^h après avoir filtré le mélange, prélever 10ml du filtrat l'extraire avec un mélange de 10ml de CHCl_3 et de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, évaporer la phase organique dans un bain de marie $T^\circ 90^\circ \text{C}$, après le précipité est dissout dans 03ml de CH_3COOH glacial, ajoutant quelques gouttes de FeCl_3 suivi de 01ml d' H_2SO_4 concentré sur les parois du tube.

L'apparition d'une couleur vert bleu dans la phase acide indique la présence des Cardinolides.

6. L'extraction de polyphénol

6.1. Préparation des extraits

✓ **Préparation de l'extrait méthanolique :**

Dans une solution de méthanol/eau (70 : 30, V/V) 10g de matériel végétal broyé (feuilles de *Nerium oleander L.*) et sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2 à 3 jours ; les macérâtes ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre. Les filtrats obtenus est soumis ensuite à une évaporation par l'appareil de rota vapeur; les produits finaux ont été stockes dans des boites de pétries en verre fermés hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation la figure (22) Présente les étapes de la macération méthanolique (Talbi *et al.*, 2015).

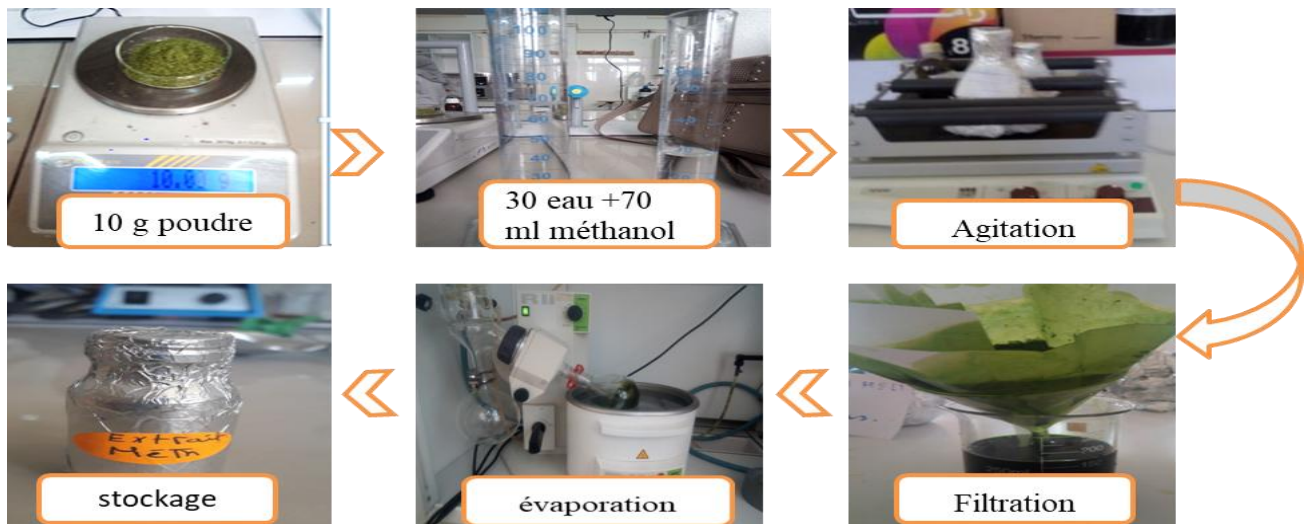
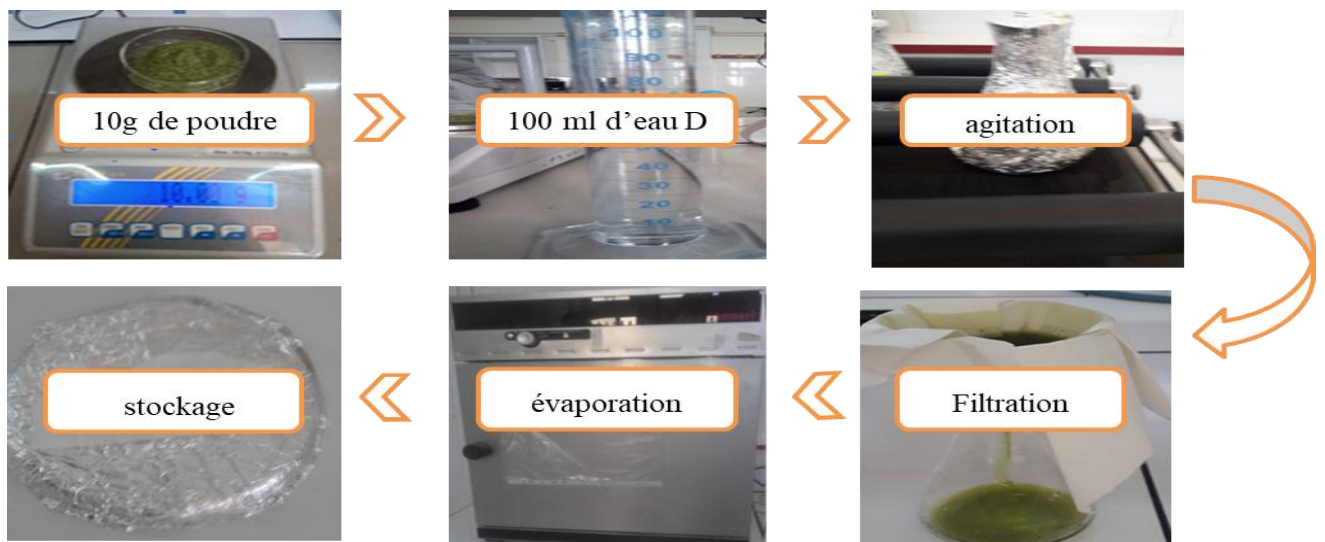


Figure N° 22: Les étapes de la macération méthanolique.

✓ Préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait aqueux, macéré dans 100ml d'eau distillé une quantité 10g de poudre des feuilles (L R) sous agitation mécanique pendant une nuit à une température ambiante. Les solutions obtenues ont été filtrées à l'aide d'un papier filtre. Les filtrats sont ensuite évaporés dans une étuve à une température de 40 °C pour éliminer l'eau (Figure 23) (Talbiet *al.*, 2015).



FigureN°23: Les étapes de préparation de l'extrait aqueux.

6.2. Rendement de l'extrait brut :

Le rendement de l'extrait bruts sont calculés selon (Li et al ; 2015) on utilisant la formule suivante :

Rendement de l'extraction (%) = Le contenu poly phénol de l'extraction (g)/Le poids de la poudre sec de la plante (g) × 100.

$$R\% = (Me/Mv) \times 100$$

R % : Rendement en %.

Me: Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

6.2. Dosage quantitatif des polyphénols totaux (PPT)

Les phénols totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu avec spectrophotométrie UV-visible (**Silva et al., 2005**).

✓ **Principe**

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizotet Charpentier, 2006 ; Ghazi et Sahraoui, 2005**).

✓ **Protocole**

Les polyphénols (PPT) ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs. 200 µl d'extrait végétal à différentes concentrations est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée (1 ml de réactif de Folin Ciocalteu et 9 ml d'eau distillée). Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à concentration de 75g/l sont ajoutés.

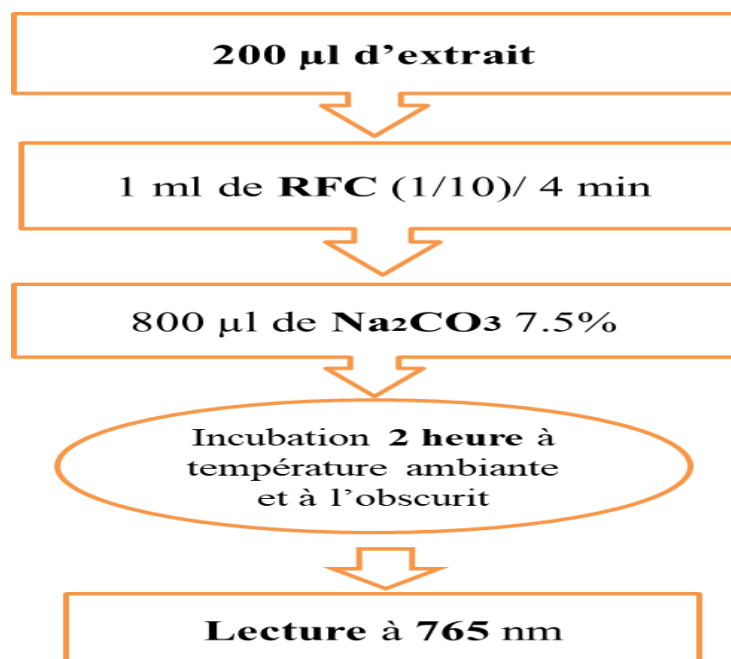


Figure.Nº24: Protocole de dosage des poly phénols totaux (Li et al ., 2007) .

La courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$) est effectuée par l'acide gallique ; A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0.75g/1, des solutions filles sont ainsi préparées à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g du poids sec de la plante en poudre.

7. L'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des extraits de plante étudiée et de leur principal constituant a été réalisée au sein du laboratoire d'analyses médicales : Dr. Mirouh à Ferdjioua.

L'activité anticoagulante des extraits préparés a été évaluée in vitro vis-à-vis la voie exogène et endogène de la coagulation. Et ceci sur un pool des plasmas normaux déplaquettés et à l'aide de deux tests globales et chronométriques; le temps de Quick (TQ) ou nommé également taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline kaolin (TCK).

7.1. Préparation du pool plasmatique (standard) déplaquettés

Le pool plasmatique déplaquettés est un mélange de plasmas déplaquettés des volontaires sains adultes non traités, dont les TQ et TCK sont normaux et comparables. Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (figure 25).

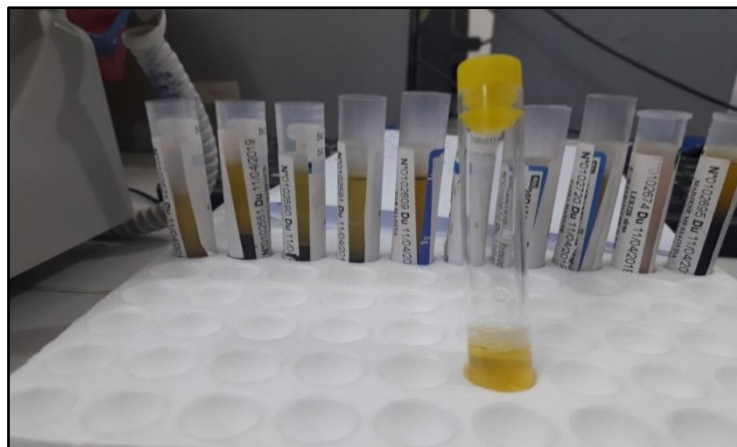


Figure.Nº25: préparation d'un Pol de plasma.

7.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène :

✓ Principe :

L'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation a été évaluée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP) qui permet d'une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (La proconvertine VII, la prothrombine II, la proaccélélerine V, le facteur Stuart X, et aussi le fibrinogène) (Caquet, 2004).

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium. Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré (Athukorala et al., 2007). Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation (Athukorala et al., 2007).

✓ Mode opératoire

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Athukorala et ses collaborateurs (Athukorala et al., 2007). 100 µl de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37°C est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés (10, 20, 30 µl), préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 200 µl de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre (Figure Nº 26).

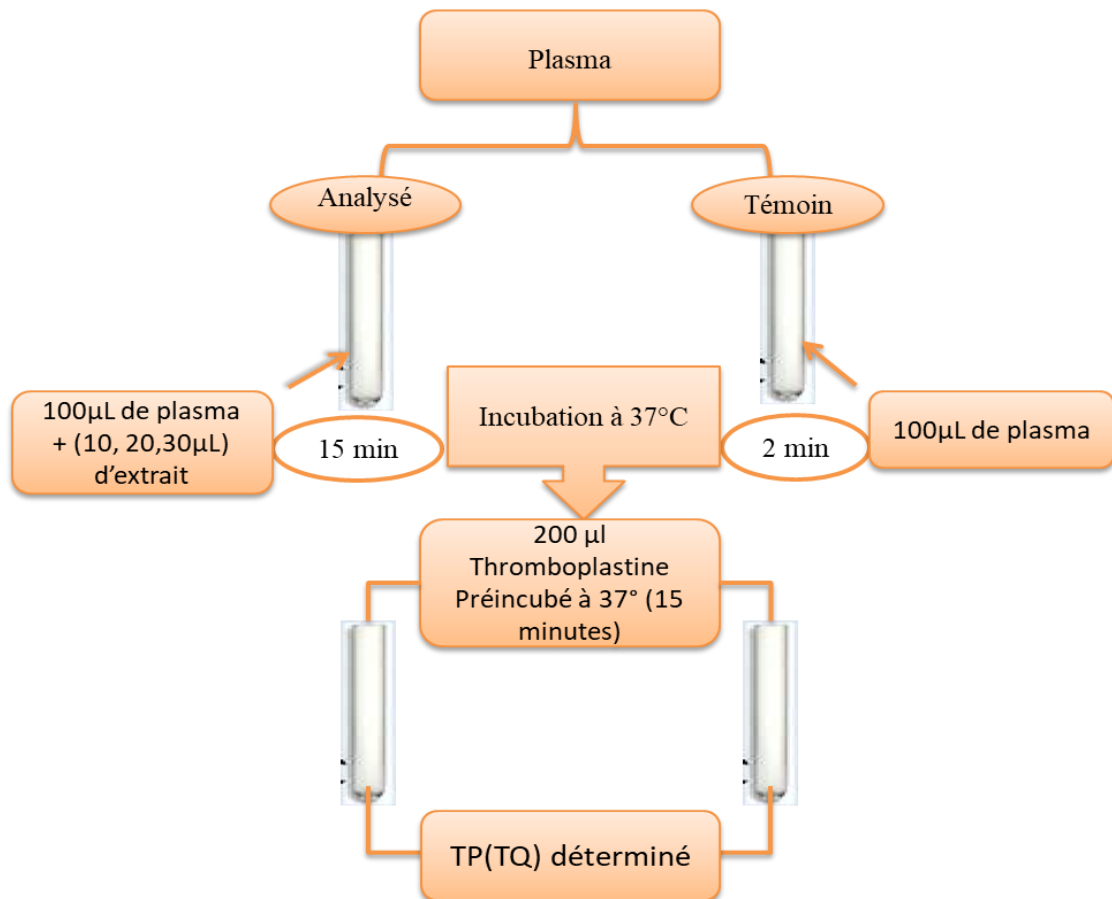


Figure №26: Les étapes de la voie exogène (Athukorala et al., 2007).

7.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène :

❖ Principe :

L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits vis-à-vis de la voie endogène de la coagulation a été réalisée en utilisant le test du temps de céphaline-Kaolin (TCK), un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs plasmatiques de la voie endogène (intrinsèque) de la coagulation (Caen, 1975). Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 C° d'un plasma déplaquetés et citrates mis en présence de phospholipides (la céphaline) substitut du facteur 3 plaquettaire (F3P) d'un activateur du système contact (Prékalikriène, Kininogène de haut poids moléculaire et le facteur XII) qui est généralement le Kaolin et de calcium comme un facteur déclenchant (Caquet, 2004). Un temps de coagulation allongé en présence de différents extraits par rapport à celui du contrôle négatif indique que ces extraits exercent une activité anticoagulante vis-à-vis de cette voie de coagulation.

❖ Mode opératoire

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100 µl de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30 µl) préparées à une concentration donnée .Après incubation, 100µl d'une solution de céphaline-Kaolin sont additionnés puis le mélange est réincubé à 37C° pendant 3 minutes et la coagulation est alors déclenchée par l'addition de 100µl d'une solution aqueuse de 0,025M CaCl₂. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre optique basé sur le changement de la transmission de la lumière depuis d'addition du calcium (déclenchement du chronomètre) jusqu'à la formation du caillot de fibrine (arrêt du chronomètre) (Caquet, 2004).



Figure N°27: Le matériel prépare pour l'évaluation de TCK.

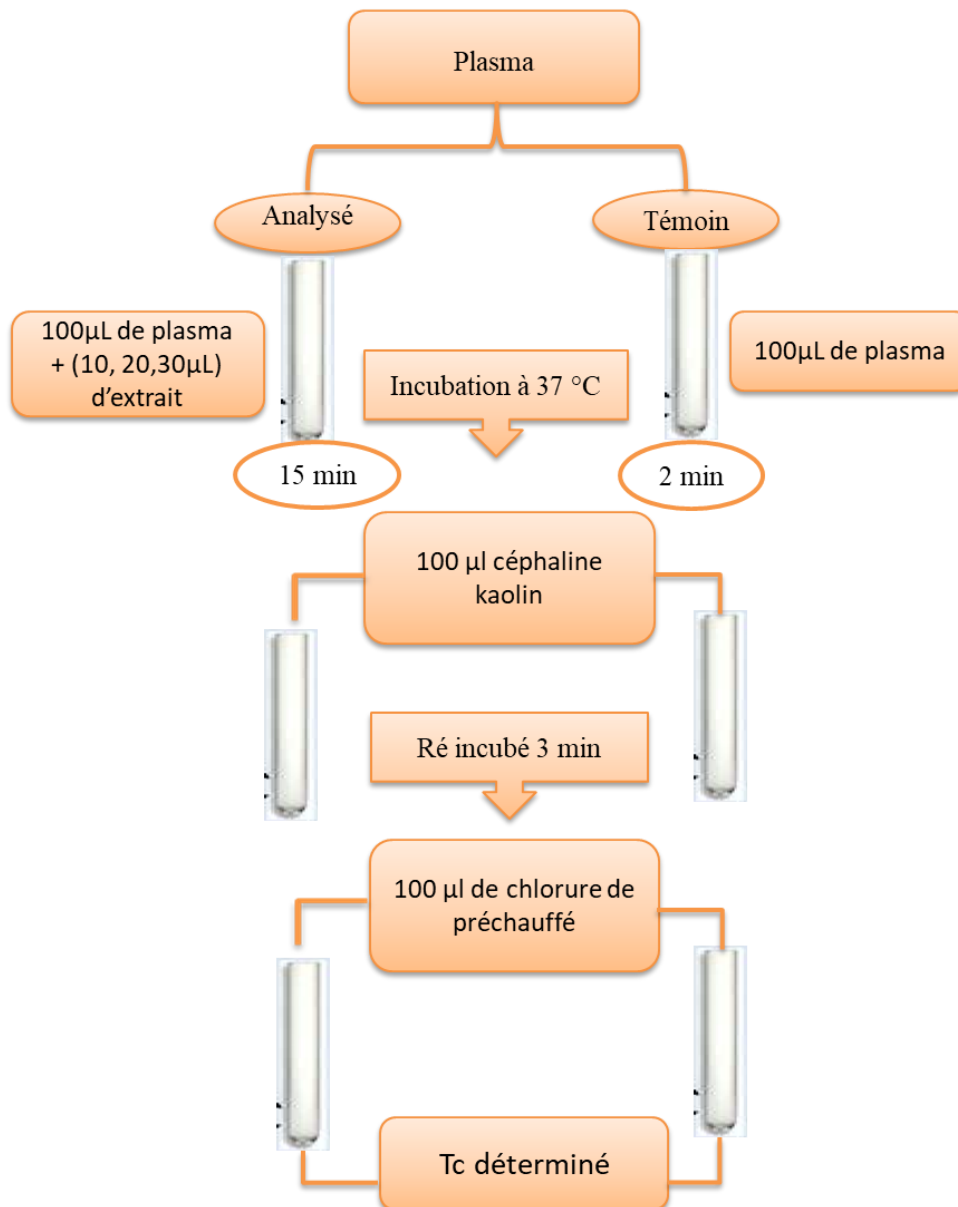


Figure № 28: Les étapes de la voie endogène (TCK) (Caquet, 2004).

✓ **Analyse statistique**

Pour chacun des paramètres étudiés, nous avons procédé à une analyse descriptive (moyenne, Ecart- type....).

A decorative border in orange outlines a scroll-like shape. The top and bottom edges are horizontal, while the left and right edges are vertical with rounded ends. At each of the four corners, there is a grey circular element that looks like a scroll's binding or a decorative flourish.

Résultats

Et

discussions

1. Analyses pédologiques :

✓ **Le pH du sol :**

Les résultats montrent les valeurs suivantes :

$$\text{pH}_{\text{eau}} = 7.56$$

$$\text{pH}_{\text{KCl}} = 6.75$$

Selon la gamme du pH des sols (Gauchier et Soltser, 1981), (Tableau n°09) on peut conclure que notre sol est **Alcalin**.

✓ **La Conductivité Electrique :**

Les résultats montrent que la Conductivité Electrique est de :

$$\text{CE} = 1.2 \text{ mmhos/cm}$$

Selon l'échelle de la salinité de sol (USSS, 1954), (Tableau n°10) on peut conclure que notre sol est **peu salé**.

✓ **L'Humidité Relative et la Texture :**

Les résultats de la pesée étaient les suivants:

$$P_0 = 31.60 \text{ g} \quad P_1 = 104.77 \text{ g} \quad P_2 = 77.22 \text{ g}$$

Pour déterminer l'humidité relative on applique l'équation suivante:

$$H\% = \frac{(P_0 + P_1) - P_2}{P_1} \times 100$$

Alors après le calcul:

$$H\% = 56.45\%$$

D'après l'échelle internationale pour la détermination de la texture du sol par le pourcentage d'humidité (Tableau n° 11) on peut conclure que la texture de notre sol est **Argilo limoneuse**.

✓ **Le Calcaire:**

- Calcaire total:

On à : - La quantité de **NaOH** utilisé = **0,9 ml.**

- La normalité de l'**HCl** utilisé = **0,5 N.**

-La normalité de **NaOH** utilisé = **0,2 N.**

On utilise l'équation suivante pour déterminer la teneur de sol en **CaCO₃** :

$$\text{CaCO}_3\% = \frac{5x[(50 \times \text{normalité de l'HCl}) - (\text{normalité de NaOH} \times \text{quantité de NaOH utilisé})]}{\text{Poids du sol}}$$

Après l'application numérique on trouve:

$$\text{CaCO}_3\% = 12.41 \%$$

2. Histologie:

2.1. Feuille :

Dans la coupe transversale de la feuille on observe les différent tissue par :

a) Vue d'ensemble (x10) :

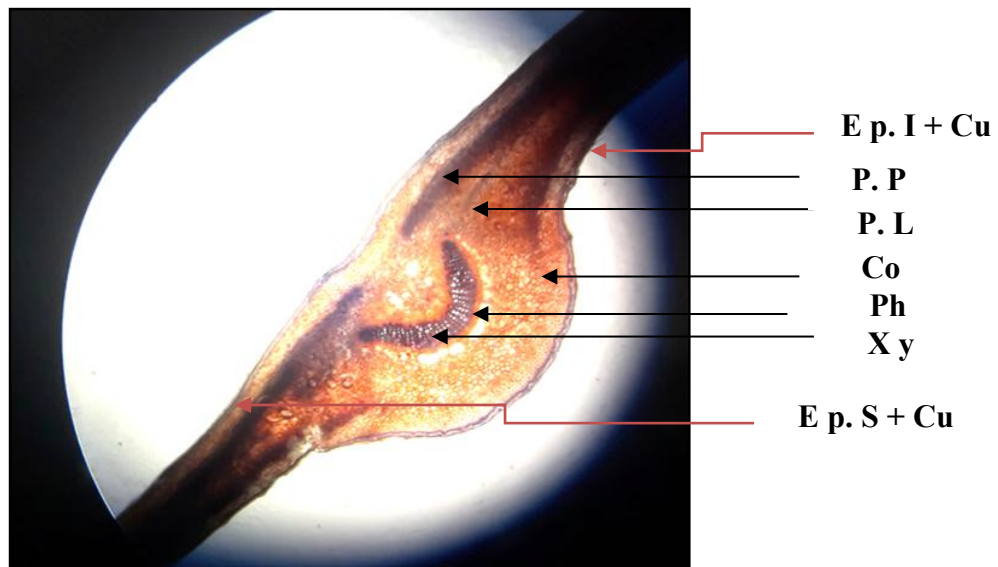


Figure N° 29 : Coupe transversale de la feuille de Laurier Rose Vue d'ensemble (x10)

➤ Sur cette coupe (figure 29), on observe de l'extérieur vers l'intérieur:

-2 épidermes, l'**épiderme inférieur (EP. I)** sur la face dorsale pourvu d'une cuticule (**Cu**) mince. Et l'**épiderme supérieur (E p. S)** sur la face ventrale, bordés d'une épaisse cuticule (**Cu**).

- Il comprend un **parenchyme palissadique** se trouvant sur la face ventrale, formé d'une ou plusieurs couches de cellules, les cellules sont riches en chloroplastes, il est situé sous l'épiderme supérieur.

- Le **parenchyme lacuneux**, se trouvant sur la face dorsale, localisé entre l'épiderme inférieur et le parenchyme palissadique, moins riche en chloroplastes, il contrôle les échanges gazeux entre la feuille et l'atmosphère.

- **Collenchyme (Co)**, c'est le tissu de soutien des organes jeunes.

- un système vasculaire composé de **phloème (Ph)**, c'est le tissu conducteur responsable de la conduction de la sève élaborée. Il est composé de cellules particulières, vivantes et dépourvues de noyau, appelées tubes criblés. Les cloisons transversales de ces cellules sont perforées et de **xylème (Xy)**, c'est le tissu conducteur responsable de la conduction de la sève brute.

b) détail G(x40) :

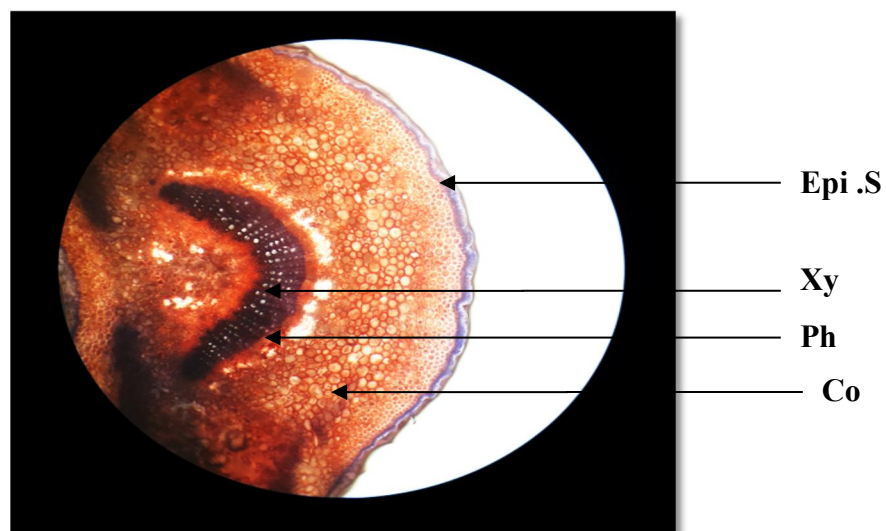


Figure N° 30: Coupe transversale de la feuille d' Laurier Rose.détail G(x40)

-**Co** : Collenchyme.

-**Ph**:Phloème.

-**X y**: xylème.

-**Epi** : Epiderme.

2.2. Tige :

Une coupe transversale de la tige jeune des accessions étudiées montre une superposition des couches suivantes :

a) Vue d'ensemble(x10) :

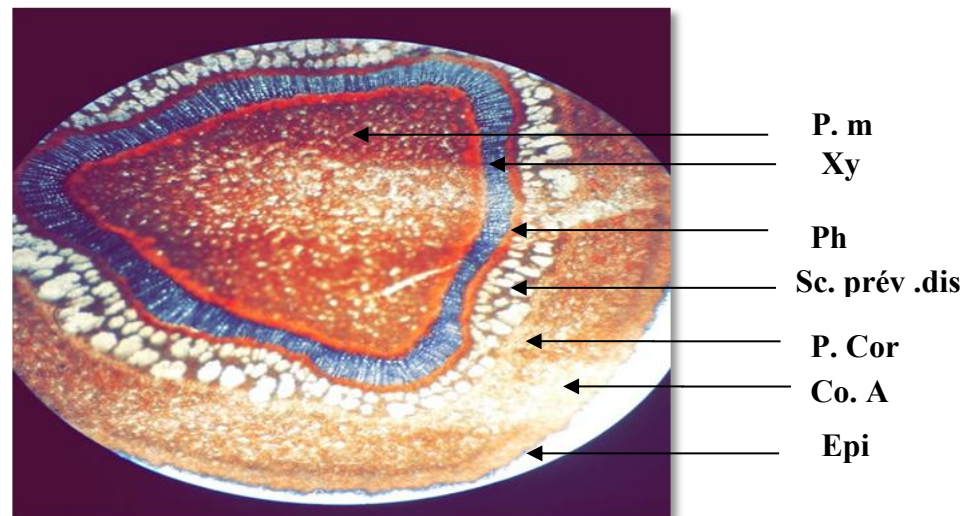


Figure № 31: Coupe transversale de Tige d' L R: Vue d'ensemble(x10)

-**L'épiderme (Epi)** :l'épiderme est le tissu superficiel de protection. Il ne comporte en général qu'une seule couche de cellules, dont la paroi externe est épaisse et pourvue d'une couche imperméable.

-**Collenchyme annulaire (Co.A)** : généralement sous l'épiderme. Sont des petites tailles et ont des formes variables.

-**Parenchyme cortical (P. Cor)** : sont de forme et de taille variable, en général isodiamétriques ou allongées, plus ou moins arrondies dans les angles.

-**Sclérenchyme pré-vasculaire discontinu (Sc. Pré .dis)** : également est un tissu primaire formé de cellules mortes dont les parois sont chargées de lignine (rigidité la plante).

-**Phloème (Ph)** externe (sève élaborée) et **xylème (Xy)** interne (sève brute).

-**Parenchyme médullaire (P .M)** tissu de remplissage formé de cellules vivantes peu différenciées avec une paroi primaire mince et flexible; pas de paroi secondaire. Et sont des tissue plus volumineux dans la plante.

b)détail G(x40) :

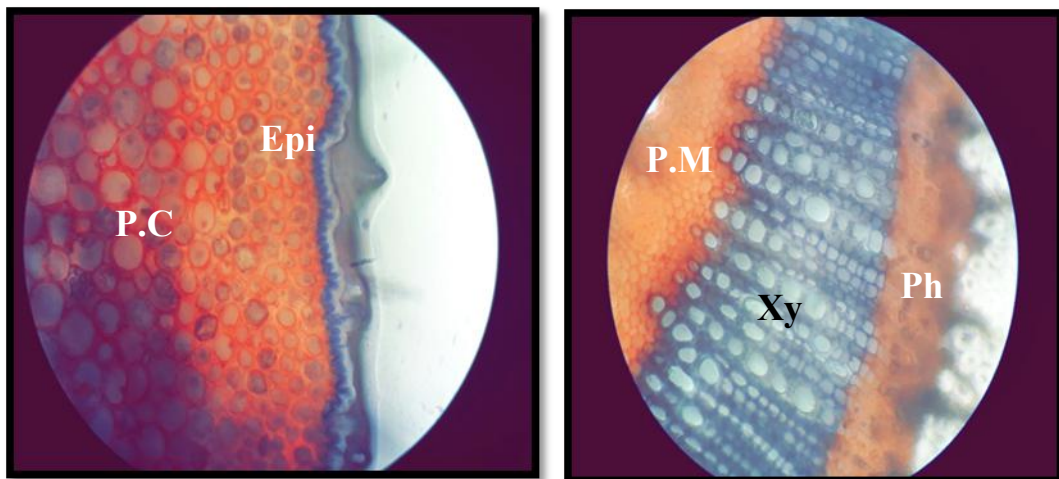


Figure N° 32: Coupe transversale de tige d' L R. détail G (x 40).

Epi : Epiderme.

P.C : Parenchyme cortical

Ph: Phloème

P.M : Parenchyme médullaire **P.C** : Parenchyme cortical.

Xy: xylème

2.3. Racine :

Sur des coupes effectuées dans la racine, on distingue de l'extérieur vers l'intérieur plusieurs structures :

a) Vue d'ensemble (x10) :

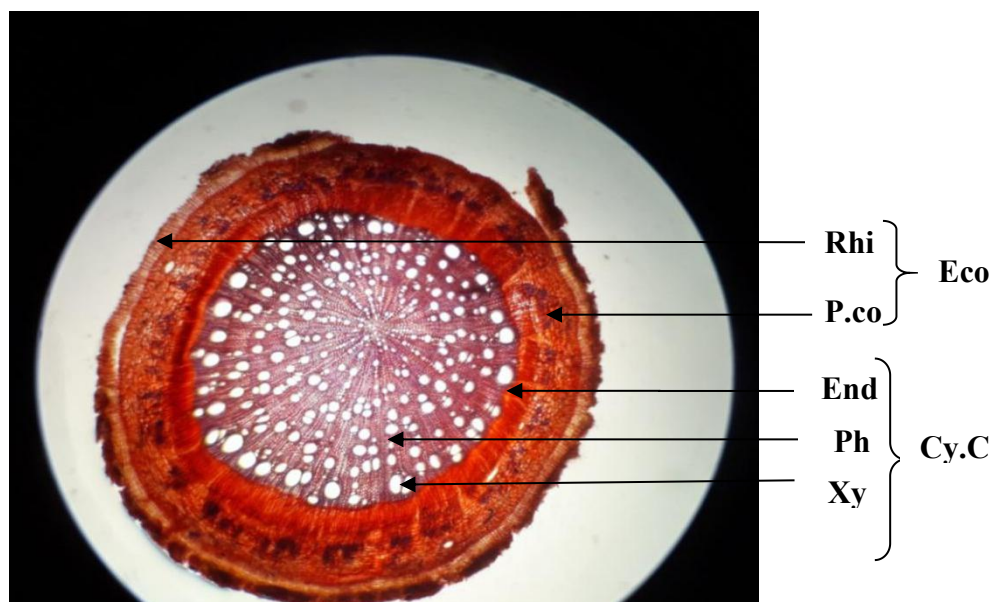


Figure N°33: Coupe transversale de Racine d' LR G(x10).

Distinguer deux zones essentielles :

✓ **Ecorce (Eco)** compose :

-**rhizoderme (Rhi)** :C'est un tissu superficiel des racines, équivalent de l'épiderme des parties aériennes, parfois appelé épiderme racinaire. A la différence de l'épiderme, il est dépourvu cuticule.

-**Parenchyme cortical (P.co)** : est formé de cellules laissant entre elles d'importants méats. Il est constitué de cellules jointives à la forme d'un parallélépipède

✓ **Cylindre central(Cy.c)** compose :

-**L'endoderme (End)**est une couche de cellules qui se trouve entre l'écorce (le cortex) et cylindre central, il constitue un anneau unistratifié, joue le rôle de barrière sélective qui règle le passage des substances provenant du sol vers les tissus conducteurs de cylindre central. Les cellules sont en forme de parallélépipède et les parois possèdent un épaissement, imperméable à l'eau.

-Composé des **Phloème** ou liber, conduits la sève élaborée (solution de substances organiques riches en glucides) et des **xylèmes** ont des tailles différentes selon leur emplacement dans le cylindre central, et Responsable de la conduction de la sève brute (eau et minéraux).

b)détail G(x40) :

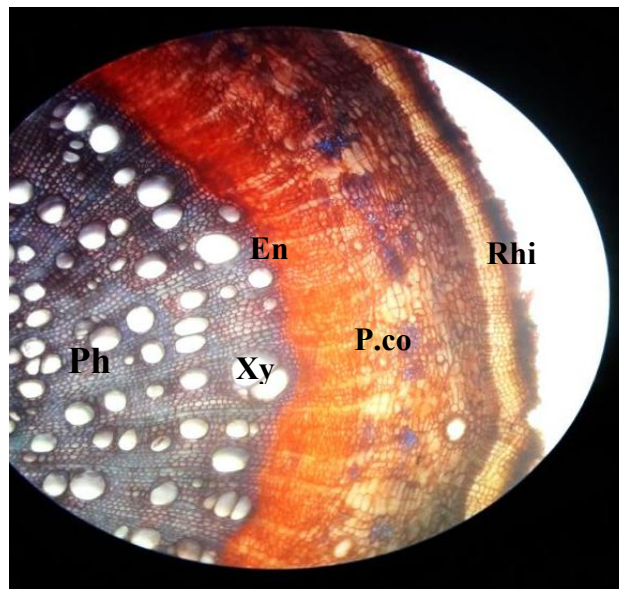


Figure N°34: Coupe transversale de racine d' LR G(x 40)

Rhi : Rhizoderme

P.co : Parenchyme cortical

En :endoderme

Xy : xylème

Ph : phloème

3. Screening Chimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos espèces. La détection de de ces métabolites est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ou encore un changement de couleur spécifique.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé. Sont présentés dans le tableau (12) :

Tableau №12: Résultats des tests phytochimique effectués sur les extraits hydroéthanolique des racines, tige, feuilles de (*Nerium oleanderL*).

Préliminaires	Résultats			
	Test	Feuille	Tige	Racine
L'infusé	Saponines	+	-	++
	Tanins	+++	+++	+++
	Anthocyanes	-	-	-
	Leuco -anthocyanes	-	-	-
	Coumarine	-	-	-
La poudre	glucoside	+++	+++	++
	Flavonoïde	+++	+++	+++
	Terpènes et Stérols	+++	+++	+++
	Alcaloïde	++	++	++
	Composé Phénolique	+++	+++	+++
	quinones libres	++	++	++
	Anthraquinones	-	-	-
	Cardinolides	++	+	+

(+++) : Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négative

A/ Résultats :

3.1. Résultats de Tests préliminaires sur l'infusé :

➤ **Saponines :**

Les résultats de la composition chimique ont montré que la présence des saponosides dans la tige et racine car on a l'apparition d'une mousse persistante avec une hauteur plus de 1 cm ce qui indique la richesse de laurier rose. Et absent dans la feuille, Les résultats sont présents dans la figure suivante (figure35).

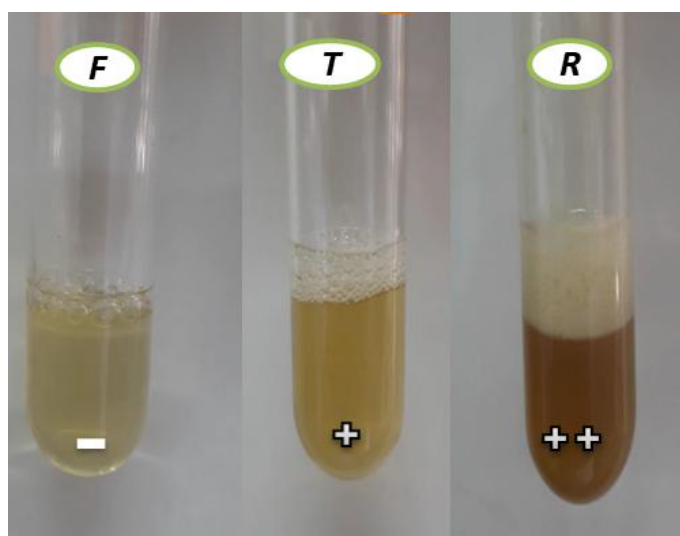


Figure №35: Résultat du test des saponosides.

➤ **Les tanins :**

Pour les résultats de test des tanins nous remarquons que : L'apparition d'une couleur verte foncée dans les trois parties prouve la présence des tanins, mais à une teneur plus élevée dans les feuilles. Les résultats de test tanins sont représentés dans la (figure36):

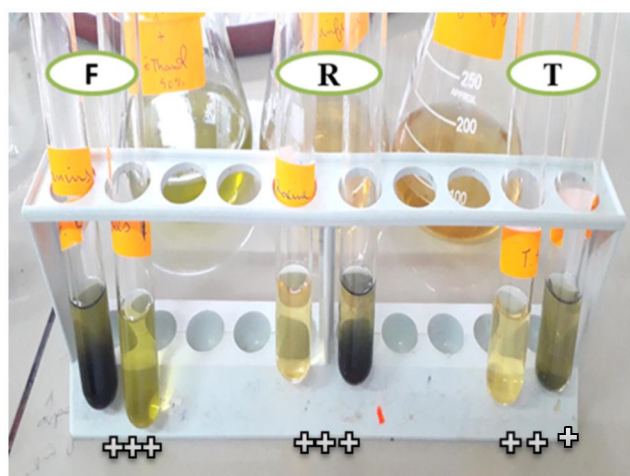


Figure №36: Résultat du test des tanins.

➤ **Anthocyane:**

On remarque l'absence des anthocyanes dans les Extraits de trois organe .Les résultats sont présentés dans la figure suivante:

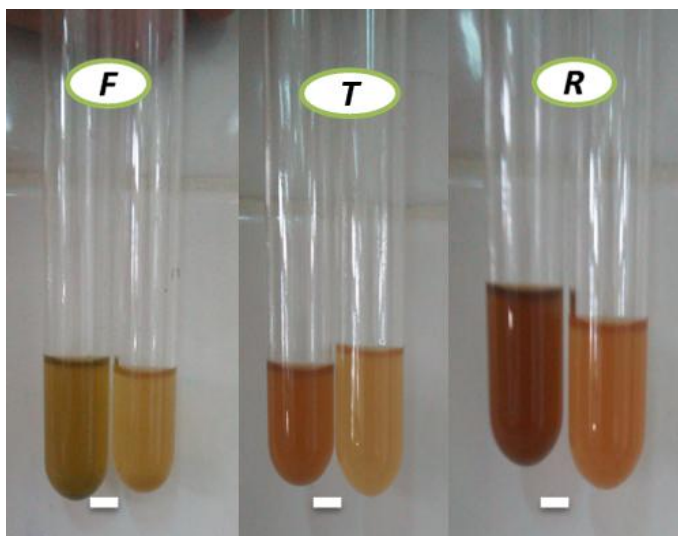


Figure.№37: Résultat du test des Anthocyanes.

➤ **Leuco-anthocyanes :**

On remarque l'absence des leuco-anthocyanes dans les extraits de trois organes .Les résultats sont présentés dans la figure suivante :

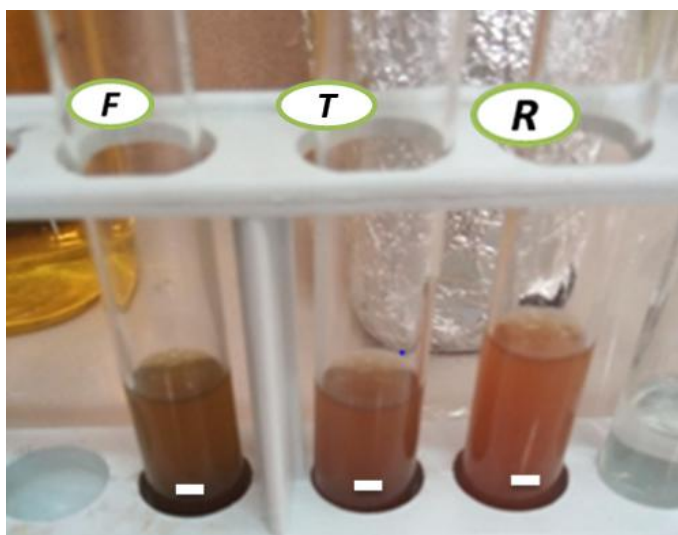


Figure.№38: Résultat du test desLeuco-anthocyanes.

➤ **Coumarine :**

Les résultats obtenus pour le teste des coumarines montrent l'absence de la formation de précipitation brun confirme n'existence pas des coumarines dans l'extraits.

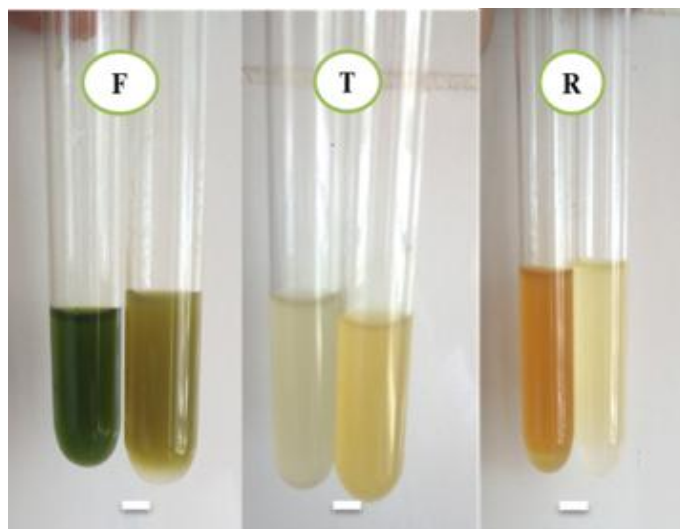


Figure №39 Résultat du test des Coumarines

3.2. Résultats de Tests préliminaires sur la poudre :

➤ Glycoside :

Les glycosides sont présents avec une intensité importante dans les extraits. Sa présence est confirmée par la formation d'une précipitation rouge brique au fond des tubes ; Nous avons noté que les tiges et les feuilles sont très riches en glycosides (composées réducteurs) a partir les racines (Figure 40).

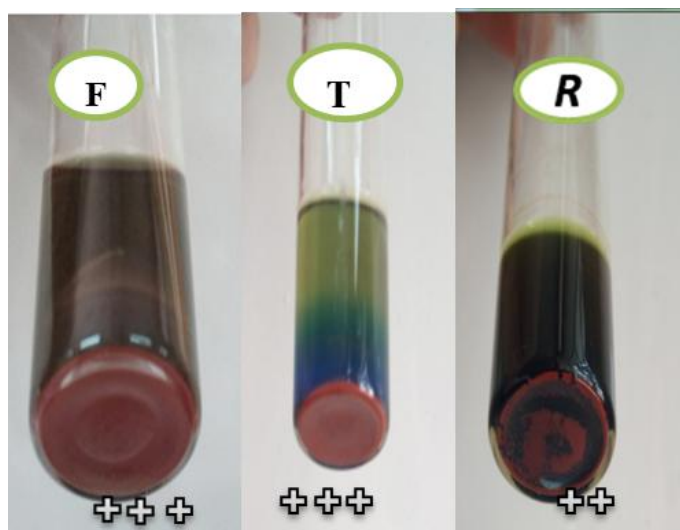


Figure №40: Résultat du test des glycosides.

➤ **Flavonoïde :**

Pour les résultats de test de flavonoïdes nous remarquons l'apparition de la couleur jaune indiquant la teneur des flavonoïdes dans les trois extraits testés. Les résultats de test flavonoïdes sont représentés dans la (figure 41).

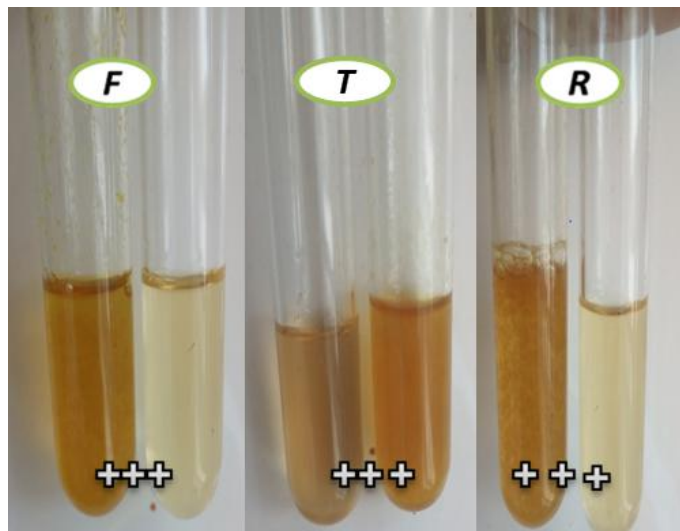


Figure N°41: Résultat du test des flavonoïdes.

➤ **Triterpènes et stéroïde :**

Pour les résultats de test des triterpènes et des stéroïdes, nous remarquons l'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge dans les extraits de *neruimoleander L.* Dans les triterpènes et les stéroïdes sont présents avec une teneur très abondante dans les tubes. Les résultats de test sont représentés dans la (figure 42).

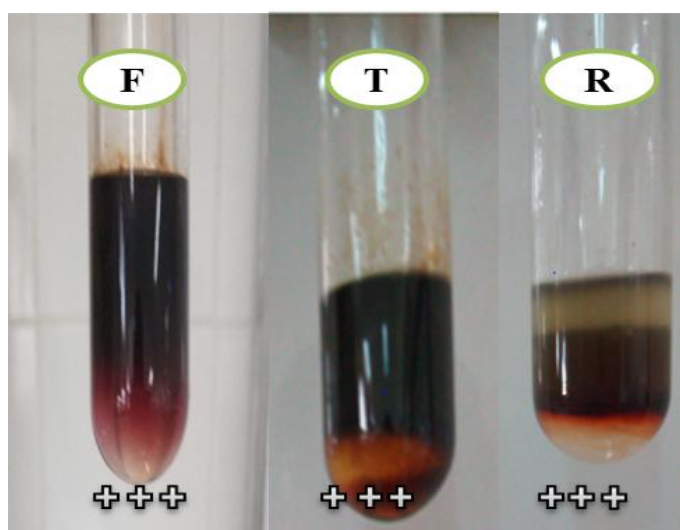


Figure N°42: Résultat du test des stéroïdes et triterpènes.

➤ **Alcaloïdes :**

Il ressort que les alcaloïdes sont révélés dans les extraits de laurier rose avec une forte présence, cette présence est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge brune (tige et racine) marron chocolat (feuille) (figure 43).

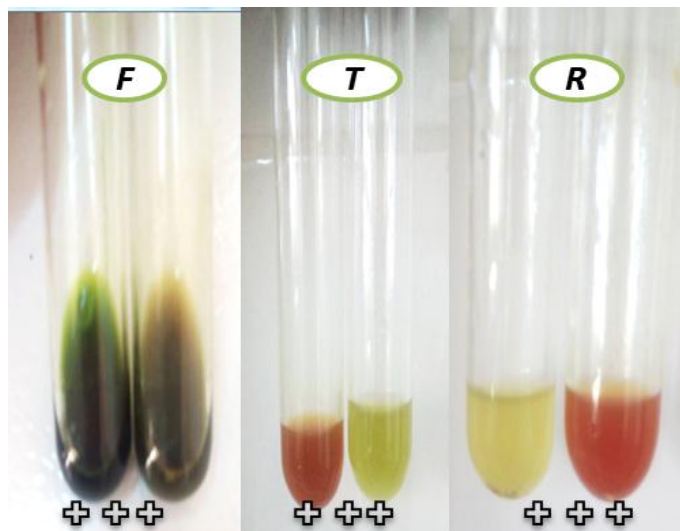


Figure N°43: Résultat du test des Alcaloïdes.

➤ **Polyphénole :**

Nous avons remarqué la présence de la couleur verte foncé ou bleu noirâtre qui indique la présence des composés phénolique dans les extraits, donc la teneur des composés phénoliques est plus élevée dans les feuilles, tige ; racine. Les résultats de test des composés phénolique sont représentés dans la (figure 44).

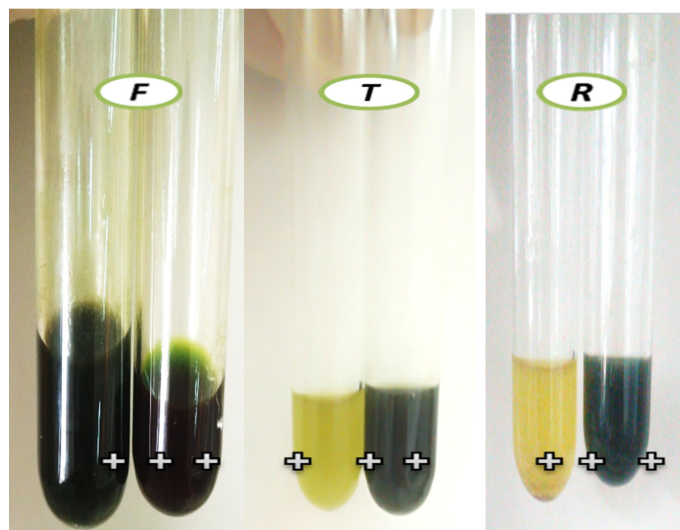


Figure N° 44: Résultat du test des polyphénols.

➤ **Quinones libre :**

On remarque un changement de couleur présence est confirmée par la pigmentation de couleur jaune, rouge dans les tubes de tests. Donc la présence des quinones libres dans les organes de Laurie rose. Les résultats de test représentent de la (figure 45).

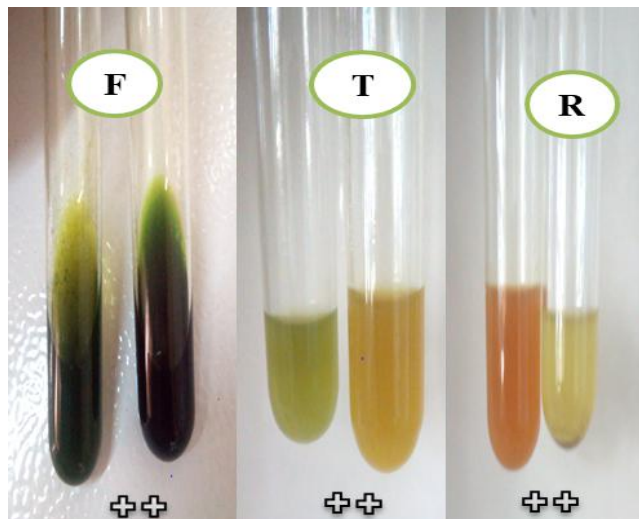


Figure № 45: Résultat du test des Quinones libre.

➤ **Anthraquinone :**

On remarque l'absence des anthocyanes dans les trois organes (feuilles, racine, tige). Les résultats sont présentés dans la figure suivante:

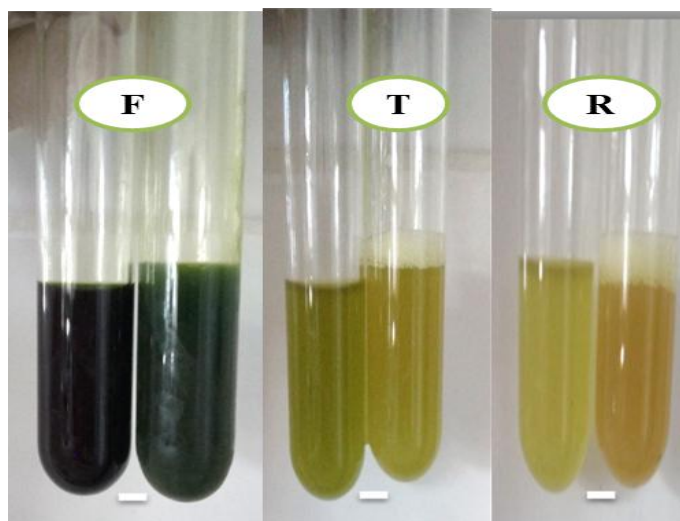


Figure №46: Résultat du test des Anthraquinones.

➤ **Cardinolides :**

Nous avons remarqué la présence de la couleur verte bleu dans la phase acide donc la présence des Cardinolides. Les résultats de test des composés phénolique sont représentés dans la (figure47).

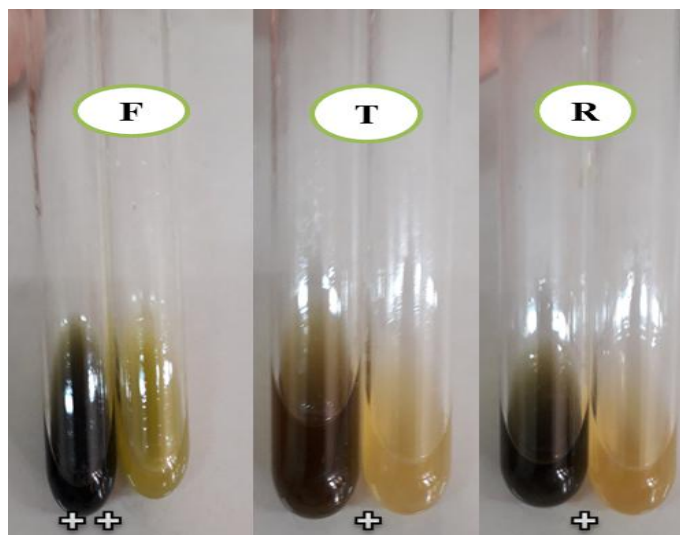


Figure 47: Résultat du test des Cardinolides.

B/ Discussion :

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique sur les différentes préparations d'extrait à révéler la présence des polyphénols, tanins, flavonoïdes, composés réducteurs, terpènes, quinones libres, cardinolides et les alcaloïdes dans les trois parties de la plante. Par contre nous avons constaté l'absence des coumarines, anthraquinones.

Les mêmes résultats de **Patel et al., 2010** ont montré que dans les différentes parties de *Nerium oleander L.* on peut isoler un grand nombre de métabolites tels que les alcaloïdes, les tanins, les glycosides et les cardénolides. La présence des triterpènes est confirmée par les travaux de **Siddiqui et al., 2012**. Aussi **Pearn., 1987** a montré que *Nerium oleander L.* contient 0,5 % de flavonoïde et un petit pourcentage des alcaloïdes.

Les travaux de **Garima et al., 2010** et **Phani et al., 2013** illustrent la présence des polyphénols, tanins, flavonoïdes, composés réducteurs et les alcaloïdes. Ils ont souligné l'absence des coumarines, anthraquinones et les saponines dans les feuilles de Laurier rose.

Selon **Desai., 2000**, **Nchame., 2005** les composés réducteurs ou le glucoside sont présents dans les trois parties de l'espèce, avec une proportion plus élevée dans les feuilles et les tiges que dans les racines et ceci s'accorde avec nos résultats.

Les résultats de la tige et racine obtenue par Samia., 2006 s'accorde avec les résultats obtenus dans notre travail.

4. Rendement des extraits bruts :

A/ Résultat

Les extraits bruts de l'espèce étudiée sont obtenus par macération dans le méthanol-eau et des extraits aqueux. Le rendement de ces extraits a été déterminé par rapport au matériel végétal sec.

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure :

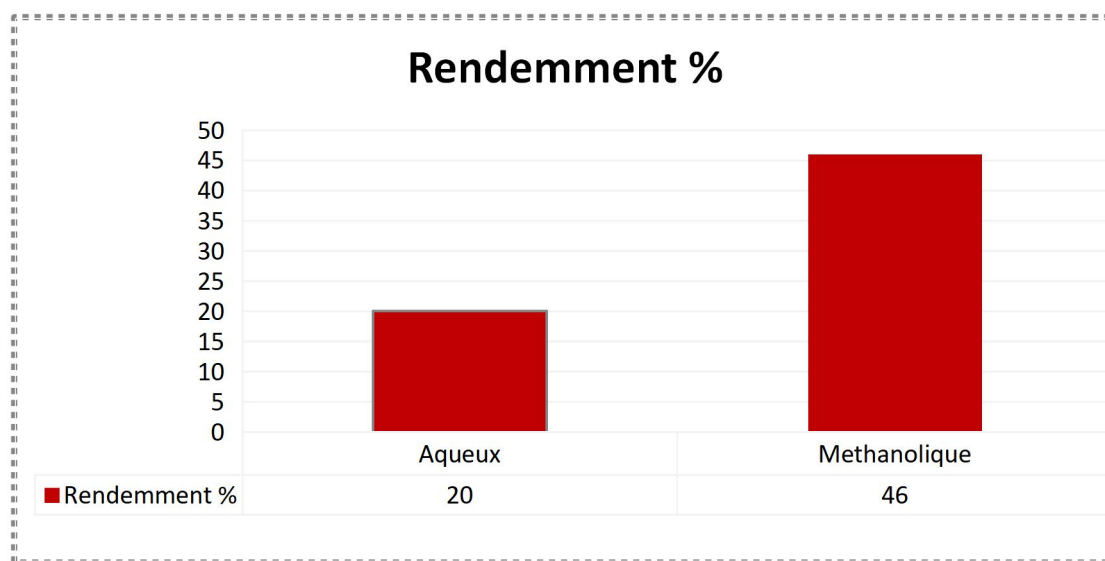


Figure N°48: Rendement des extraits bruts.

D'après les résultats du rendement obtenus à partir des deux extraits aqueux et méthanol (figure48) on note:

Pour les feuilles de Laurie rose, il ressort que les rendements d'extraction obtenus à partir des extraits à méthanol sont plus importants et élevée que ceux obtenir à partir des extraits aqueux. Car la polarité du solvant d'extraction (méthanol) est plus élevé du celle de l'eau.

5. Dosage des polyphénols totaux :

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/gES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique(Figure 49).

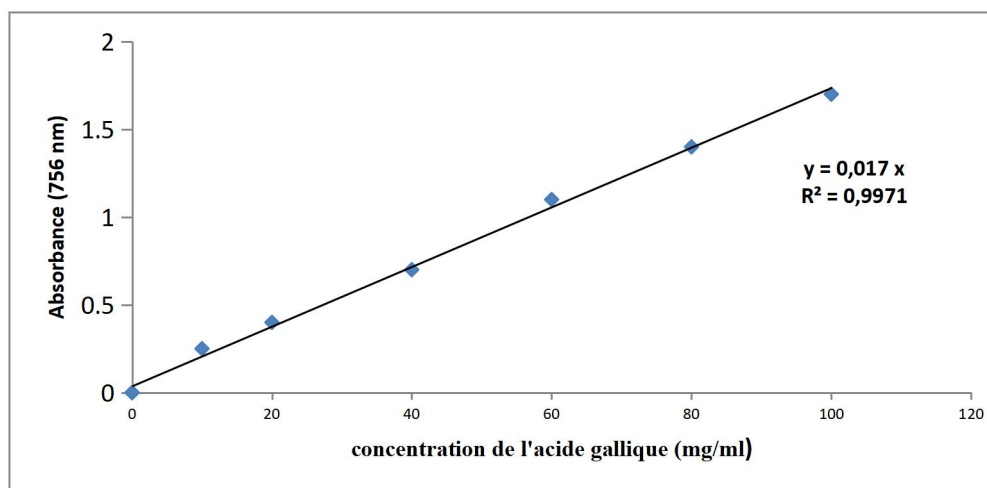


Figure № 49: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

A/ Résultats

Le résultat de la teneur en polyphénol totaux des d extraits (méthanolique et aqueux) issus des feuille de Laurier Rose sont représentés dans la figure:

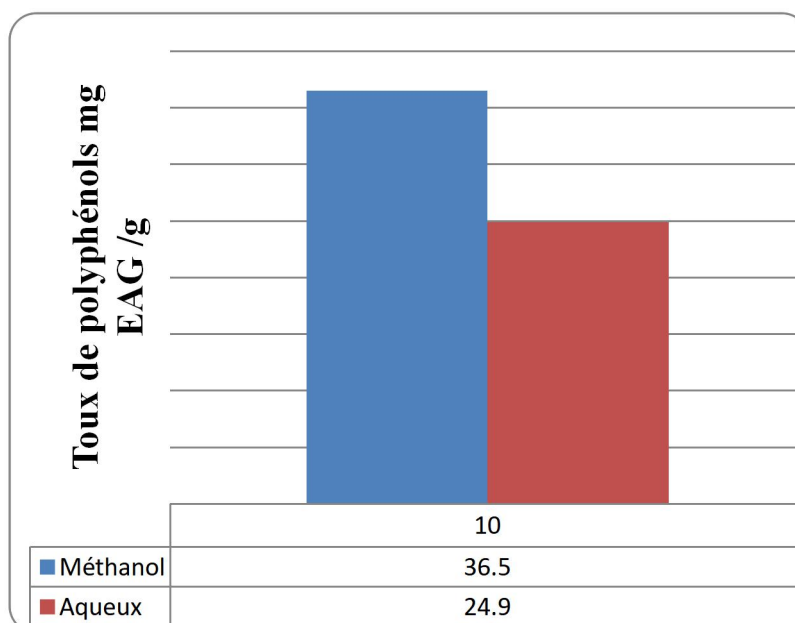


Figure №50 : Teneur en polyphénols totaux pour Laurier Rose.

Les résultats obtenus lors du dosage des polyphénols totaux montrent que les extraits méthanoliques et aqueux de Laurier Rose, sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes. La (Figure 50), montre que l'extrait méthanolique dilué possède la plus haute teneur en polyphénols avec une valeur de $365 \pm 0,01 \text{ mg EAG/g}$, en ce qui concerne l'extrait aqueux dilué, la teneur en polyphénols totaux est $249 \pm 0,01 \text{ mg EAG/g}$.

B/ Discussion :

La teneur de l'extrait méthanolique des feuilles de *Nerium oleander* L. en polyphénols totaux est de $365 \pm 0,01$ mg EAG/g d'extrait. Cette teneur est largement proche que celle obtenue par **Huang et al. 2007** (307 mg EAG/g d'extrait). Mais elle est plus supérieure de celle obtenue par **Mohdjerani ,2012** qui enregistre un teneur de polyphénols de l'ordre de 9,402 mg EAG/g. En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques température élevée exposition solaire, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage sécheresse, salinité) (**Falleh et al., 2008 ; Podsedek, 2007**). **Perez** et ses collaborateurs, (2007) ont montré l'effet du traitement de pré-extraction (irradiation ionisante) et du solvant d'extraction, sur la concentration des composés phénoliques totaux dans les extraits du romarin.

6. L'activité anticoagulante :

Le pouvoir anticoagulant des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles de Laurier rose a été évalué in vitro vis-à-vis de deux voie de la coagulation la voie endogène et la voie exogène à l'aide de deux testes chronométriques généraux qui explorent la coagulation d'une manière non spécifique le TCK et le TQ respectivement.

A/ Résultats:

✓ **La voie endogène (TCK):**

L'évaluation de la capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de LS et BN vis-à-vis à la voie endogène de la coagulation a été réalisée à l'aide du test de temps de céphaline kaolin (TCK).

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus révèlent que l'extrait des feuilles de *Nerium Oleander* L. possède une activité anticoagulante. Les temps de coagulation (TCK) céphaline-kaolin en présence d'extraits de *Laurier rose* allongé par rapport à un témoin de TCK de 28,2 S, le TCK normal est compris entre 30 et 40 S selon le réactif.

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis à la voie endogène des extraits méthanoliques et aqueux de BN sont représenté dans la Figure :

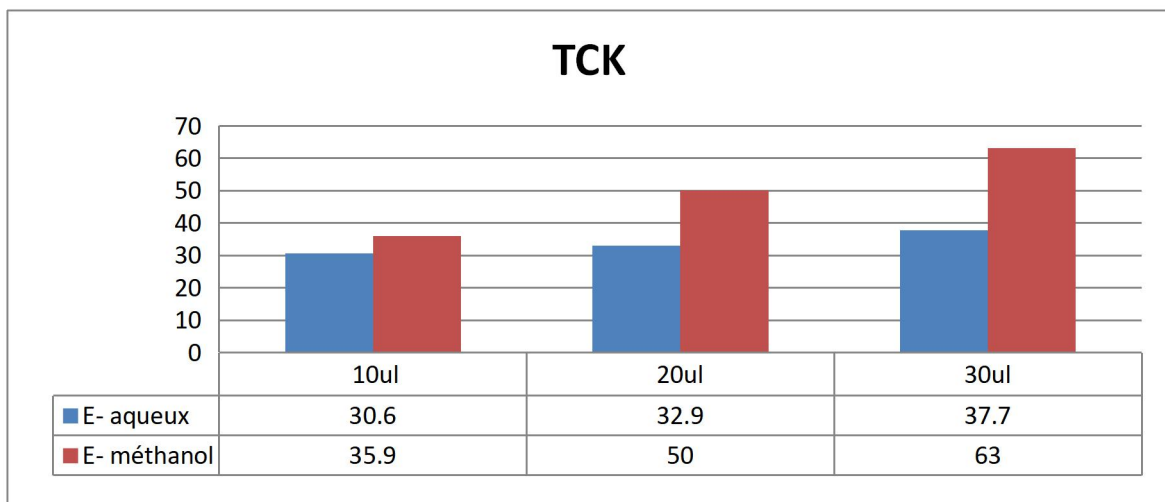


Figure №51: Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de LR vis-à-vis de la voie endogène.

A partir de ces résultats on conclut que les extraits aqueux et méthanolique de Laurier rose exercent une activité anticoagulante positivement corrélée avec les différentes concentrations de l'extrait testé à la voie endogène TCK. Le temps d'allongement de coagulation des volumes (10 ; 20 ; 30µL) des extraits méthanoliques et aqueux de LR par rapport à un témoin de TCK de 28,2s (le TCK normal est compris entre 30 et 40s selon le réactive). il ressort que le volume 10µL est capable d'exercer une activité anticoagulante estimée par un TCK de 35,9S par un allongement de 7,7 S pour l'extrait méthanolique, et un TCK de 30,6S avec allongement de 2,4S pour l'extrait aqueux .

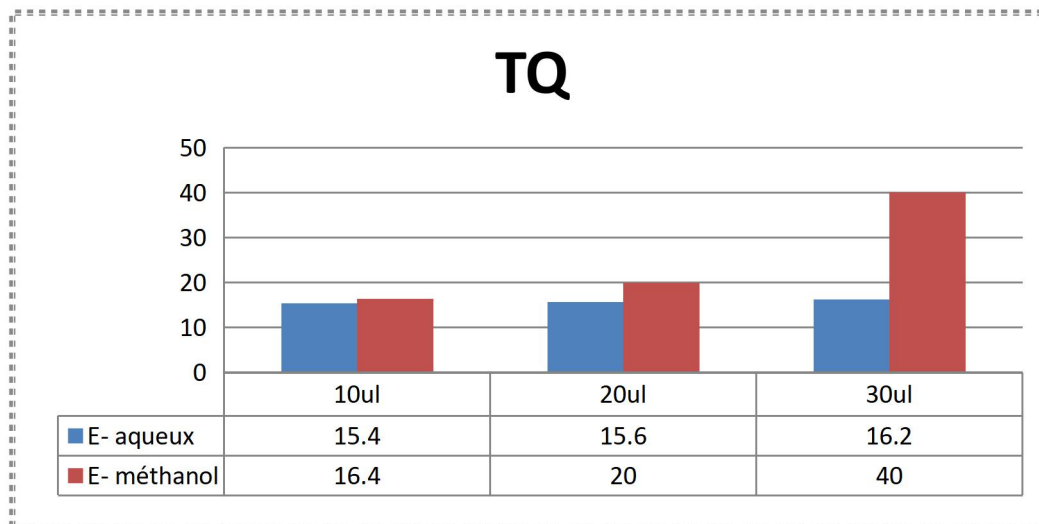
Il est de même pour le volume 20µL de l'extrait méthanolique de LR est exercés un effet anticoagulant plus fort, estimés par un TCK de 50S avec un allongement de 21, 8S, que l'extrait aqueux qui est estimés par un TCK de 32,95S avec un allongement de 4,7S.

Finalement, le volume 30µL à une capacité anticoagulante estimée par un TCK de 63S par allongement de 34,8S pour l'extrait méthanolique que plus élevée appart pour le TCK de l'extrait aqueux 37,7S par allongement de 9,5 S.

✓ **La voie exogène(TP):**

Le temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui permet d'explorer globalement la voie exogène de la coagulation où le facteur tissulaire est le déclencheur de cette voie. Les résultats de la capacité anticoagulante des extraits méthanolique et aqueux de Laurier rose vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation, réalisée à l'aide du test de temps de Quick (TQ), ont été comparés le temps d'allonger de coagulation par rapport à un témoin de TQ de

13,5s (le TQ normal est compris entre 12s et 14s selon le réactive. Les résultats de la capacité anticoagulante des volumes des extraits méthanolique et aqueux de L'espèce pour cette voie est positivement sont représenté dans la (Figure51).



Figure№ 52: Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de Laurier Rose vis-à-vis de la voie exogène.

Les résultats de l'évaluation de la voie exogène de l'activité anticoagulante des extraits méthanolique et aqueux de Laurie rose(LR) montrent que :

Le volume 10µL des extraits méthanoliques et aqueux de LR capable d'allonger le temps de quick avec des valeurs d'ordre de (2,9S et 1,8S) avec un TQ de 16,4S et de 15, 3S respectivement.

Bien que le volume 20µL capable d'exercer une activité anticoagulante sur la voie exogène de la coagulation, estimée par TQ de 20S avec un allongement de 6,5S pour l'extrait méthanolique et un TQ de 15,64S avec un allongement de 2,1S pour l'extrait aqueux.

Finalement le volume 30µL des extraits méthanoliques et aqueux de LR présente une activité anticoagulante avec un TQ de 40S avec allongement de 26,5S pour l'extrait méthanolique que plus élève à TQ de 16,2S avec allongement de 2,7S pour l'extrait aqueux.

B/Discussion :

Pour l'activité anticoagulante des polyphénols de *Nerium Oleander*L. cette étude n'a jamais l'objet d'une publication c'est pour cela, il n'y a pas d'investigations pour comparer nos résultats, on peut de faire une petite comparaison avec certaines espèces :

Les plantes sont une bonne source pour isoler des composés naturels sans effets secondaires défavorables, capables d'inhiber les enzymes de la voie de la coagulation et de réduire l'activation des plaquettes sanguines (**Valgimigl., al 2017**).

Selon **Sakthipriya et Vidhya, (2015)** *Pergularia deamia* (même famille de laurier rose) présente une bonne activité anticoagulante peut être attribuée par la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponines et d'autres composés actifs.

Enfin il faut signaler qu'il existe d'autres composés doués aussi de cette activité d'anticoagulant, parmi laquelle, les polysaccharides (**Youmbai, 2015**), quelques tannins (**Bae, 2011**) et les peptides (**Mieszczanek et al., 2004**).



Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu à partir de l'étude pédologique que le sol favorable pour la croissance de notre plante d'étude est alcaline, peu salé, Argilo limoneuse et contient 12.41% de calcaire. L'étude histologique illustre les différentes tissus de Laurier rose.

Nous avons conclu que les trois parties de *Nerium oleander* L. (Laurier rose), sont très riches en: polyphénol (flavonoïde, tanins et quinones libres), alcaloïdes, cardinolides, glucosides, saponosides, terpènes et stérols, dans les racines et les tiges, ce qui leur confère une valeur thérapeutique et médicinales importantes. Tandis que l'absence des saponosides (dans les feuilles) et des anthocyanes, leuco-anthocyanes, coumarines, et anthraquinones dans les trois parties.

L'analyse quantitative des composés phénoliques des extraits méthanolique et aqueux chez Laurier Rose a bien montré que leurs feuilles contiennent une teneur importante de polyphénols totaux. L'extrait méthanolique (dilué) présente une teneur en polyphénols totaux plus importante (365 ± 0.01 mg EAG/g). Tandis que l'extrait aqueux (dilué) a donné une teneur moins importante en polyphénols égale à ($249 \pm 0,01$ mg EAG/g).

L'étude de l'effet des polyphénols de Laurier rose sur l'allongement du temps de coagulation des deux voies a permis d'établir que ces métabolites exercent une activité anticoagulante sur les deux voies de la coagulation.

En fin, nous pouvons dire que ce travail peut donner des résultats préliminaires pour des futures études complémentaires approfondies. Pour cela, quelques perspectives peuvent être envisagées :

- Etude de la cytotoxicité, fuite cellulaire par l'étude de la pompe Na^+/K^+
- Orienter les recherches scientifiques vers une étude approfondie et complémentaire de l'activité des diverses molécules bioactives.
- Compléter l'étude in vivo pour l'évaluation de l'activité anticoagulante totale de sang.
- Développer des médicaments à base de plantes contre les maladies cardiaques.



***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

A

- **Abe. F et Yamauchi. T. (1992).** Two pregnanes from Oleander leaves. *Phytochemistry.*, vol. **31**, pp. 2819-2820.
- **Adom. R. O., Gachichi. J. W., Onegi. B., Tamale. J., Apio. S. O. (2003).** The cardiotonic effect of the crude ethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated guinea pig hearts. *African health sciences.* vol. **3**, pp. 77-82.
- **Ajjan R., Grant P. J., (2006) .** Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186: 240–259.
- **Akhtar, T.,Sheikh, N., Hassan ,M.(2014).** Clinical and pathological features of nerium oleander extract toxicosis in wistar rats. *Bio Med Central*; 7:947.
- **Alilou H., (2012)**etudephytochimique et antifongique de deux plantes dusud du maroc : *asteriscusgraveolens*subsp. *odorus (schousb.) greuteretasteriscusimbricatus(cav) dc.* thèse de doctorat en sciences. université ibnzohr. agadir, Maroc. 215p
- **Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H.,** Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. (2008) *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 - 274
- **Almahy. H. A et Khalid. H. E. (2006).** Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander* *International journal of tropical medicine.*,vol. 1, n°. 2, pp. 58-61.
- **Al-yahya. M. A., Al-farhan. A. H., Aadam. S. E. I. (2000).**Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *citrulluscolocynthis*and *nerium oleander* in rats. *fitoterapia.*, vol. **71**, 385-391
- **Anonyme,2009-** laurie rose, Nrium oleander arbuste de la famille des apocynacée (Frangipanier, laurie-rose ,Thevetia peruviana).Aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique. 92p.

- **Athukorala, Y., Lee, K.W., Kim, S.K., Jeon, Y.J. (2007):** Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*, 98, p1711–1716.

B

- **Balbaa S.I., Hilal S. H., Zaki A.Y. (1981)** utilisation Medicinale de 400 plantes. Poulshau en burg. Ferdinande. Paris, pp. 254-255.
- **Bae, S., Gais, T. L. (2007).** The effects of state-level tax and expenditure limitations on revenues and expenditures. Retrieved from Rockefeller Institute Policy web site: http://www.rockinst.org/pdf/government_finance/2007-05-21.
- **Banon. S., Ochoa. J., Alarcon. J. A., Sanchez-blanco. M. J. (2006).** Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. *Environmental and Experimental Botany.*, vol. 56, pp. 36-43.
- **Barbosa R.R., Fontenele-Note J.D., Soto-Blanco B.(2008).** toxicité chez les chèvres causées par le laurier rose (*Neriumoleander*). *ResVetSci* ;85 :279-281.
- **Barbosa. R. R., Fontenele-neto. J. D., Soto-blanco. B. (2008)** Toxicity in goats caused by oleander (*Nerium oleander*). *Research in Veterinary Science.*, vol. 85, issue 2, pp. 279-281.
- **Békro Y.A., Békroj A.M., Bouab.B., Trab F.H. and Ehilé E.E.(2007)** :Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana*. (Bai) Herendet Zarucchi (caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2), p217-225
- **Benayache F., (2005).** recherche et détermination structurale des métabolites secondaires d'espèces du genre *genista* (fabaceae) : *g. saharae*, *g. ferox*. thèse de doctorat en chimie organiques. université mentouri-constantine. algérie. 199 p.
- **Benhammou N.,(2011).** Activité antioxydante des extraits des composés Phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. Algérie.
- **Benwqhi K,(2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon *Dactylon* L chiendent, mémoire de magister. Université d'Ouargla. P15 – 17.

- **Benzahi K. (1990).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante cynodnDactylon-L <<chindent>>, mémoires de Magister. Université d'Ouargla 2001, P, 15-17.
- **Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M.(2007).** : Dosage biochimique des composés
- **Bnouham. M., Mekhfi. H., Legssyer. A., Ziyat. A. (2002).** Ethno pharmacology forum.Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco.*Int. J. diabetes et Metabolism.*, vol.10, pp. 33-50.
- **Boisseau M.R,(1996).** Données actuelles sur l'hémostase. *Phlébologie*, 42 (2) ,p175 –186.
- **Boizot, N and Charpentier, J.P. (2006):**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008). P : 79-82.
- **Bonneau M., B.Souchier.(1994).** Pédologie, constituants et propriétés du sol.2^{ème} édition. T2.Masson.665p.
- **Boudjouref M.,(2011).** Etude de l'activitéantioxydante et antimicrobienne D'extrait d'*Artemisiacampestris*L. Thèse de Magister en Biochimie.Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- **Boukefl M.K.,(1986).** Les plantes et la médecine traditionnelle et pharmacopée tunisienne .Ed. Agence de coopération culturelle et technique, p.b 63-64
- **Bouquet A., (1972).** Plantes médicinales de Congo Brazzaville.Éd.O.R.S.T.O.M.
- **Brongniart, AD., Decaisne, J. (1873).**Annales Des Sciences Naturelles. Paris .librairie de G. Masson place de l'école de Médecine .260 p.
- **Bruneton J, (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3^{ème} Edition. Lavoisier, Paris, p : 199- 915-388.
- **Bruneton J.,(1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed.
- **Bruneton. J. (2001).** *Plantes toxiques :-végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*, 2^{ème} édition, pp.129-136.

C

- **Caen, J., Lrrieu, M.J., Samama, M. (1975)** :L'hémostase : méthodes d'exploration et diagnostic pratique (2éme éd), Expansion Scientifique Francaise (Paris), p15-20.
- **Cambus JP, (2002)**. Physiologie de l'hémostase, p 2- 3.
- **Caquet R., (2004)** : 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation (9éme Ed), Masson (Paris); p 388-389.
- **Chaouch N. (2001)**.Etude des alcaloides dans le coloquinte *Colocynthisvulgaris* (L). Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya d'Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla 2001, 44.
- **Charnot A.(1945)**. La toxicologie au Maroc. Mémoires de la société des sciences naturelles du Maroc.P:475–479.
- **Chopra. L.C., Abrol. B. K., Handa. K. L. (1971)** *Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique*. Première partie, pp. 45-50.
- **Colvin B.T., (2004)**. Physiology of haemostasis. *VoxSanguinis*, 87(1): 43-46.
- **Connolly jd.,Hill Ra., (1992)**.dictionnaire of terpenoids. Ed. Chapman And Hall. CRC Press, New York. USA. (2156).p.
- **Cowan n. m.,(1999)**,plant products as anti microbial agents. *clinical microbiology reviews*. vol. 12(4): 564-582
- **Cutler et al. (2008)**. Plant anatomy. Blackwell *Quercus sp.* publishing Ltd, Malden.

D

- **Dahou N., K., Yamki, S. Tahrouch, L. M. IdrissiHassinietGmira N., (2003)**. screeningchimiqued'uneendémiqueIbéroMarocaine*Thymelaelythroides*.Bull.Soc .pharm.Bordeaux.

- **Dang Khan T., Huu Hong N., Dang Xuan T. & Min Chung I. (2005).** Paddy weed control by medicinal and leguminous plants from Southeast Asia. *Crop Protection*.**24**:421-31.
- **Delaveau, P. (1974).** Plantes agressives et poisons végétaux. Copyright horizons de France.
- **Delille. L. (2007)** *Les plantes médicinales d'Algérie*, Berti éditions, pp. 141-142. Alger.
- **Desai Umesh.R.(2000).**Cardiac glycosides.Virginia Commonwealth University School of Pharmacy.
- **Dessevi, L.M., Essou J.P. (2011).** Utilisation de quelque plante médicinale en alimentation humaine et/ou animale au sud Benin. Journal de la recherche scientifique de l'université de Lomé : 13.
- **Dif, M .,Benali-Toumi. F.,Benyahia, M.(2015).**Enquête sur l'utilisation phytothérapique de 11 plante médicinales poussant dans le Tessala. Lavoisier ;3 :295-297.

E

- **Edenharder R., Grünhage D., (2003)**Free radical scavenging abilities Of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tertbutylHydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* Vol. (540): 1–18.
- **Elalamy, (2012)** .Héparine : structure, propriétés pharmacologiques et activités. Elsevier Masson SAS 13-022 D10.
- **Engel F.M.,(1984)** . Plantes Vénéneuses – Vertus Et Dangers.Ed.Sliva,Zurich, 37p.
- **EunJeong. S.,(2001).** Effects of the sap of the common oleander *Nerium indicum*(Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta*.*The Journal of Experimental Biology.*, vol. 204, pp. 3935-3942.

F

- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdely C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331: 372-9.
- **Frohne D et Pfander H.J, (2005)** .Poisonous plante, 2nd edition. A handbook for doctors, pharmacists ; toxicologists, biologists and veterinarians, Manson publishing, Londres , 469.

G

- **Galati E.M., Monforte M.T., Kirijavines S. (1994)** . Biological effect of hesperidin , a citrus flavonoid, (Note I): anti-inflammatory and analgesic ; 40 : 709-49.
- **Gausсен. H., Leroy. J.-F., Ozenda. P. (1982)** . *Précis de botanique : 2. Végétaux supérieures*, 2^{ème} édition, pp.393-395
- **Gazengel Jm., Orecchioni Am., (2013).** Le préparateur en pharmacie – Guide théorique et pratique. 2^{ème} ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. (1443). p.
- **Ghabrier J. Y., 2010.** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. thèse de doctorat en pharmacie, université henri poincaré-nancy1 (France): 165.
- **Ghazi, F., Sahraoui S. (2005):** Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantboucht et Hamraia, mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach.
- **González A.G., Barrera J.B., García T.Z., Rosas F.E., (1984).** Sesquiterpene lactones from *Centaurea* species. *Phytochemistry*. Vol. 23(9):(2071).(2072).
- **Gorham J., (1977).** Lunularic acid and related compounds in liverworts, Algae and hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253.
- **Graebe J.E., (1987).** Gibberellin biosynthesis and control. *Annu. Rev. Plant physiol.* Vol. (38): 419-465.
- **Guignard JI., (1996).** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.

H

- **Hanson J. R., (2003).** Natural products : the secondary metabolites. Ed.Royaume-Uni : Royal society of chemistry, Italy. 137 p.64. **HARBORNE J.B., 1980-** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. *New series*. Vol. (8): 329-402.
- **Hanson. J. R. (1985)** *The chemistry of natural products*, (R. H. Thomson ed.), chapter 4. Blackie USA: Chapman et Hall, New York, pp. 42-92.
- **Harborne J.B., (1980)** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. *New series*. Vol. (8): 329-402.
- **Harborne,J.B.and William.CA.(1995).**Naturel product Report.639
- **Hart K.J., Yáñez-Ruizd R., Duvals M., Mcewann R., Newboldc J.,(2008)** Plant extracts to manipulate rumen fermentation.*Animal feed science and technology*. Vol. (147) : 8–35.
- **Hartmann ,T. (2007).** From waste products to ecochemicals : fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* ; 68: 2831-2846.
- **Hartmann T.,(2007)** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism.*Phytochemistry* 68: 2831 - 2846.
- **Haslam E., (1998).** Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press,Cambridge. UK. 422p.
- **Hellalz., (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibacteriennes et Antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application
- **Heller W., Forkmann G., (1993).** The flavonoids. Advances in research
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F.,(2004)** . Polyphénols végétaux,Sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.*Phytothérapie*. Vol (1): 3-6.
- **Hernandez-Ochoa L.R., (2005).**Subtitution de solvants et matières actives De synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat stitut national plytechniques, Toulouse. France. 255p.
- **Hess m.,(2002).** alkaloids, nature's curse or blessing 1ére édition. Ed. Wiley- Vch, new york. Usa. 297 p.
- **Hirasa, K; Takemasa, M ;(1998).** Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.

- **Hostettman. K., Marston. A., Ndjoko. K., Wolfender. J. L. (2000).** The potential of Africa plants as a source of drugs. *Current Organic Chemistry.*, vol. **4**, pp. 973-1010.
- **Hostettmann k., (1992).** les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. ed. zyma sa, nyon. switzerland. 25 p.
- **Hoult j.r. s., paya m., (1996).** pharmacological and biochemical actions
- **Huang W.Y., Cai Y.Z., Hyde K.D., Corke H. & Sun M. (2007).** Endophytic fungi from *Nerium oleander* L (Apocynaceae): main constituents and antioxidant activity. *World J.Microbiol. Biotechnol.* **23**:1253-63.
- **Hugues T.,Amoult M.,Beaub N., Yaici K., Mélandri P., SaoudiN.,Gibelin P.(2012).**Intoxication volontaire au laurier rose ;cas clinique et revue de la littérature .Annales de cardiologie et d'Angiologie ;61 :128-131.
- **Hussain. M. A et Gorssi. M.S. (2004).** Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn. *Asian Journal of Plant Sciences*3., vol. **2**, pp. 177-180.
- **Huxly ,A; Griffiths. M. and Levy. M. (1992),**the new rhdictionary of gardening.macmillanisbn 333-47494-5.

I

- **Ibrahim. K. A., Khalagi. S., Youssef. D., Khan. I., Mesbah. M. (2007).** Stimulation of oleander in production by combined *Agrobacterium tumefaciens*mediated transformation and fungal elicitation in *Nerium oleander* cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology.*, vol. **41**, pp. 331-336.
- **Inchem,(2005).***Nerium oleander* L.(PIM 366).IPCS Inchem.
- **Iserin p., Masson M .,Restellini J P.,(2007).** Larousse des plantes Médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France.

J

- **Jiofack T, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V, Fongzossie E, Nkongmeneck BA, Mapongmetsem PM, Tsabang N, (2010).** Ethnobotanical uses of medicinals plants of two

ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences* 2 (3): 60-79.

- **Jouve, c, (2009)** .Contribution a l'élaboration d'un site Internet de toxicologie végétale chez les remuants: monographies des principales plantes incriminées d'après les données du cnidien p149-154.

K

- **Kalla A,(2012)**. Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthosscoparius, Rantheriumadpressumet Traganumnudatum*. Thèse de doctorat en phytochimie université de Constantine .P86-87.
- **Kansole, M.M.R.** (2009): Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundiaoppositavahl* et *Orthosiphonpallidusroyle* ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- **Khanbabaek ., Ree T.R., (2001)**.Tannins:Classification and Defenition.*Journal of Royal Society of Chemistry*. Vol. (18): 641-649.
- **Kortchinsky T.,vigue B. et Samama C., (2013)** .Antagonisation des héparines et des nouveaux anticoagulants Reversal for heparins and new anticoagulant treatments ,37- 49.
- **Kortchinsky, T.,Vigue, B. et Samama, C.(2013)**.Antagonisation des héparines et des nouveaux anticoagulants Reversal for heparins and new anticoagulant treatments ,37- 49.
- **Krief S., (2003)**. métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzes (*pan Troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat. Museum national D'histoirenaturelle, ouganda. 49p.

L

- **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. et Lee C. Y., (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J. Agric. Food chem.* 51, 7292-7295.
- **Lendvai B ; Zelles T ; Rozsa B ; Vizi Es.(2002).** Vincaalkaloidenchangesmorphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain*
- **Lewonczuk W.,(2004).**Intoxication des animaux par le laurier rose (*Nerium oleander*),Etude de cas clinique ,thèse de doctorat vétérinaire ,université Paul Sabatier ,Toulouse,74p

M

- **Maftah. T., Sengui. R., Djennas. A. K. (2003).** *Programme UICN d'Afrique du Nord, cosmétologie au naturel*, p. 11, Algérie.
- **Malo, N.(1991).** 10ième Journées Internationales HE, Digne-Les-Bains 5-6-7; pp. 28.
- **Manallah ,A.(2012) .** Activités antioxydant et anticoagulante des poly phénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* thèse doctorat université Ferhat Abbas – Sétif p17.
- **Marouf ,A., Joel R.(2007).** La botanique de A à Z.EditionDunod.Paris :66-82.
- **Mccalley D.V., (2002).** Analysis of the Cinchona alkaloids by highperformance Liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A.* Vol (967): 1–19.
- **Mellouk K.,(2007).** Etude ethnobotanique d'une plante Médicinale *Chysanthemumfuscatum*. Mémoire de Magistère.Dprt de Chimie. univ Annaba.
- **Mieszczak M, Barclay J, (2004).** Properties of native P2X receptors in rat trigeminal mesencephalic nucleus neurones: lack of correlation with known, heterologously expressed P2X receptors. *Neuropharmacology* 40: 96–105, 2001
- **Mohadjerani M.(2012).** Antioxidant Activity and Total phenolic Content of *neriumpleanderL.*Grown in North of Iran;11(4):1121-1126.

N

- **Nacoulma AP.,(2012).** Reprogrammation métabolique induite dans les Tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*:
- **Newman D.J., Cragg G.M., (2012).** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.
- **Nkhili e-z., (2009)** ,polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. thèse de doctorat en sciences des aliments. université cadi ayyad, marrakech. maroc.

O

- **Oloyede O.I. (2005)** :Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, **4**,p: 379-381
- **Oukal. Z. (2008).** les principales plantes toxiques chez les animaux domestiques au Maroc. (Thèse de Doctorat), Maroc.

P

- **Paris M., Hurabielle., (1981)** Abrégé de matière médicale.Pharmacognosie. Tome 1. .Ed. Masson, Paris. France. 339 p.
- **Paris. R.R et Moyse. H. (1971).** Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones (tome III), pp.32-52
- **Patel G.,Nayak S., Shrivastavas . (2010).** Physical evaluation and quantitative chemical evaluation of methanolic extract of *Nerium indicum* . *International Journal of Current Trends of science and technology*; 1(2):32-36.
- **Paul ,S et Jean,D.(1999).**bactériologie. 4^oed ,dunod.paris.p415
- **Pauwels, L. (1979).** *Revue de recherche scientifique*, spécial : médecine traditionnelle au Zaïre, volume unique, pp. 185-188. Institut de recherche scientifique.
- **Pearn,J.(1987).**Oleander poisoning.toxic plants & animals.a guide for Australia Brisbane.Queensland Museum.pp37-49.

- **Peeking A., Picand B., Hacene K., Lokiec F., Guerin P.,(1987)** oligimèresprocyanidoliques (endotélon) et système lymphatique. *artères et veines. publications médicales agcf.* vol. (6): 512-513.
- **Peguych.p. (1989).** « *Jeux et enjeux du climat* » p 28, pratique de la géographie MASSON édi. P.252.
- **PhaniD., Bharadwaj S., Yedukondalu M., Methushala C., A.Ravikumar .(2013)** Phytochemical evolution of Nerium Oleander and Catharathnusrosus.Indian journal in pharmacy and Biotechnology ;11(4): 333-338.
- **Pierangeli A, Gentile M, Di Marco P,et al.,2009.**Detection and typing by molecular techniques of respiratory viruses in children hospitalized for acute respiratory infection in Rome, Italy. J Med Virol: 79:463- 68.
- **Podlech D., (1988) .**Gross plan- les plantes de santé.Ed.Nathan,Paris ,p,b 120-121.
- **Podsdek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT. 40:1-11.
- **Popenoe. J. (1975) .**Oleander cultivars at the Fairchild tropical garden. *Florida state horticultural society*, p.426.

R

- **Reynolds,J .E.F.(1989).**Martindal.The Extra pharmacopoeie.The pharmaceutical press London .England pp778.
- **Ribéreau-Garyon.P. (1968):** Les composés phénoliques des végétaux.EditionDunodParis,p 254.
- **Ribereau-Gayon J., Peynaud E.,(1968) .** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Édition dunod, paris. France. 254 p.
- **Ridings. W. H. (1976)** Sphaeropsis witches' broom of *Nerium oleander*.Proc. Fla. State Hort. Soc., vol. **89**, pp. 302-303.

- **Rira m., (2006)** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
- **Roux D., Catier O., (2007).** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie.
- **Rufini L., Sampaolo G., (1977).** plants off. aromi. saponi., cosmétol. aerosol. vol.

S

- **Samaï. A. (2006).** Criblage de plantes a la recherche de substances molluscicides et antidermatophyte Centre universitaire LARBI BEN M'HIDI, pp. 42. (Mémoire de magister), Oum El- Bouaghi.
- **Sanago r., 2006.** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- **Schauenberg P., Paris F., (2005).** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2ème édition. Ed. DelachauxEtNiestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.
- **Schved J. F., (2007).** Physiologie de l'hémostase. MB7 : Hématologie. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes.p3.
- **Seenivasan p., (2006).** In vitro antibacterial activity of som plant essential Oils. *Jornal of complementary and alternative medicine*. Vol. (9): 6-39.
- **Siddiqui. S., Begum. S., Siddiqui. B. S., Hafeez. F. (1989)** kanerin and 12, 13-dihydrousolic acid, two new pentacyclitriterpenes from the leaves of *nerium oleander*. *journal of natural products.*, vol. **52**, pp. 57-62.
- **Sijelmassi A.(1981).** Les plantes médicinales du Maroc. Edition la Vernec (2ème éd.) 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 p.
- **Silbernacl.S.,Lang.F.(2003).** Atlas de poche de physiopathologie. Edition: Flammarion. Médecine science .P :62.
- **Silva S, Gomes L, Leitão F, Coelho A.V, and L. Vilas Boas, (2005).** Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Apartado 12-2780-901 Oeiras, Portugal, ISSN: 1082-0132.

- **Silverthorn. D.U., William. C. O., Claire. W.G., Andrew. C.S., Bruce. R.J.(2007)**,physiologie humaine, 4thedition par Pearson Education France. Since. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant Physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- **Solfo R. , (1973)**. Etude d'une plante médicinale Malgache *Baxusmadagascarica Bail* et ses variétés Ed.O.R.S.T.O.M.Sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie,Technique et Documentation. 3éme ed, Paris. France. 1120p.

T

- **Tiwari. S et Singh. A. (2003)** .Control of common freshwater predatory fish, *Channapunctatus*, through *Neriumindicum*leaf extracts.*Chemosphere.*, vol. **53**, pp. 865-875.
- **Tresse E et Evans W.C.(1987)**. PharmacognosyBilliaire. Ed. Tindall, London, 13,p:61-62.

V

- **Verpoorte R., Alfermann A.W., (2000)**. Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht. Netherlands. 286 p.
- **Verpoorte R., Van der Heijden R. Ten Hoopen H. J. G., Memelink J. (1999)**. Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnol. Lett*, 21: 467-479.

W

- **Wallace r.j.,(2004)**. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society*. Vol. (63) : 621–629.
- **Wang, S., Melnyk, J. P., Tsao, R., Marcone, M.F. (2011)**.How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Research International*, 44: 14-22.
- **Wilsonf.v.,(1909)**.oleander poisoning of liver tock.univ.ariz .agric.exp.sn.bull.,n°59pp 383-397.

- **Wink M., (2003).** Evolution Of Secondary Metabolites From An Ecological And Molecular Phylogenetic Perspective. *Phytochemistry*. Vol. (64): 3-19.

γ

- **Yamauchi.T., Abe. F., Tachibana. Y., Atal. C. K., Sharma. B. M., Imre. Z. (1983).** quantitative variations in the cardiac glycosides of oleander.*phytochemistry.*, vol. **22**, pp. 2211-2214.
- **Youmbai. A, (2015).** Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien).Mémoire magister de l'Université KasdiMerbahOuargla.

z

- **Ziegler J., Facchini P.J.,(2008).**Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769.

Site web:




- 1- https://www.plantes-botanique.org/biologie_03_0_les-tissus-vegetaux.
- 2- [https://www.universalis.fr/.../tissus-vegetaux/1-les-techniques-de-l-histologie-vegetale\(1\)](https://www.universalis.fr/.../tissus-vegetaux/1-les-techniques-de-l-histologie-vegetale(1)).
- 3- https://www.viamichelin.fr/web/Cartes-plans/Carte_plan-Mila-Algerie









Annexes


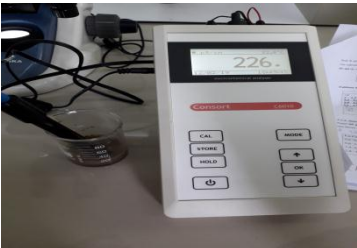
Matériel de laboratoire

A /L'appareillage

Nom	L'appareil
Balance	
Etuve	
Bain marée	

<p>Rota vapeur</p>	 A photograph of a Rota vaporizer, a laboratory instrument used for the controlled evaporation of volatile liquids. It features a glass chamber, a condenser, and a collection flask, all housed within a metal frame with various control knobs and a digital display.
<p>Agitateur mécanique</p>	 A photograph of a mechanical shaker, used for mixing or agitating samples. It consists of a motorized base with a control panel and a platform where a sample container, such as a beaker or flask, is placed.
<p>Plaque chauffante.</p>	 A photograph of a heating plate, a common laboratory tool for warming samples. It has a flat, rectangular top surface and a control panel with two large rotary dials for temperature and power settings.
<p>Spectrophotomètre</p>	 A photograph of a spectrophotometer, an analytical instrument used to measure the absorbance of light by a sample. It features a dark, rectangular body with a control panel that includes a small LCD screen and several buttons.

<p>Vertex</p>	
<p>PH mètre</p>	
<p>Coagulomètre</p>	
<p>Microscopique</p>	

Centrifugeuse	
Conductimètre	

B /Les verrerie

Flacons ; bécher ; entonnoir ; tubes à essai ; Papier filtre ; barreau magnétique ; spatule ; pipettes ; Portoirs ; verres à montre, micros pipettes, boites de pétries en verre.

C/ Les produits chimique et réactif

Méthanol ; éthanol ; éther de pétrole; acide gallique ; folin ciocalter ; iodure de potassium ; iode ; Acide chlorhydrique (HCL) ; Hydroxyde d'ammonium ; L'éther diéthylique ;Alcool chlorhydrique ; Copeaux de magnésium ; Alcool iso-amylique ; Chlorure ferrique (FECL₃) ; Liqueur de Fehling ; KOH ; NAOH ; NH₄OH ; H₂SO₄ ;KCL ;NH₄OH ; l'hypochlorite de sodium ; Anhydride acétique ; Chloroforme ; Carbonate de sodium;Phynolftaline ;Céphalinekaolin ; d'acide acétique ; Rouge Congo ; Vert de méthyle ;Chlorure de calcium, Thromboplastine calcique

D /Tableau

Group chimique	Réactifs d'identification	Indicateur
Alcaloïdes	-Gouttes de réactif de wagner	-Rouge Brune -Marron chocolat,
Anthocyanes	-H ₂ SO ₄ -NH ₄ OH	- coloration bleu-violacée
Anthraquinones	-NH ₄ OH à (10%).	- Anneau rouge
Cardinolides	-CHCl ₃ -C ₂ H ₅ OH, -CH ₃ COOH glacial -FeCl ₃ -H ₂ SO ₄	- Coloration vert bleu
Coumarines	-KOH (10%) - HCl (10%)	- Précipitation rouge brune
Flavonoïdes	-Acide chlorhydrique à 1 % NH ₄ OH	- Coloration jaune
Glycosides	-L'eau distillée -Liqueur de Fehling	- Précipité rouge brique
Leuco-anthocyanes :	- Alcool chlorhydrique (éthanol/HCl)	- Couleur rouge cerise
Polyphénols	-Chlorure ferrique FECL ₃ (2%)	- Coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins fonces
Quinones libres	-NaOH (1%)	- Coloration vire au jaune, rouge ou violet
Saponosides	-Indice mousse >1 cm	- Apparition d'un mousse persistante
Tanins	- Alcool éthylique 50% -FECL ₃ 1%	- Coloration verdâtre
triterpènes et stéroïdes	-Chloroforme -Acide sulfurique	Anneau rouge brunâtre

E/Les solutions

1/ Réactif de Wagner

2g de KI et 1,27 g de I sont dissous dans 75 ml d'eau distillée, puis ajustés à 100ml avec d'eau distillée.

2 /Rouge Congo

1 g à dissoudre dans 1 litre d'eau déminéralisée

3/ Vert de méthyle

10 g puis compléter à 1 liter avec de l'eau déminéralisée

4 /Réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10)

1ml de Folin-Ciocalteu + 9ml de l'eau

Universitaire : 2018 /2019

Présenté par : BENSIALI Salima

BOUAFIA Amel

Thème :

Etude histologique et caractérisation chimique de laurier rose : *Nerium oleander* L. Dans la région Ferdjioua (MILA).

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : Biotechnologie Végétale

Résumé :

Le but de cet projet consiste à une étude pédologique, histologique et chimique d'une plante médicinale de la famille des Apocynacée, il s'agit de *Nerium oleander* L. cette dernière récoltée à la région de Ferdjioua wilaya de Mila.

L'étude de pédologie montre que le sol est Alcalin, peu salé, Argilo limoneuse et riche en calcaire. L'étude histologique à partir des observations microscopiques après la technique de la double coloration illustre les différents tissus végétatifs qui caractérisent les trois parties de laurier rose.

Les tests préliminaires sur la poudre et l'infusé reflètent que la plante est riche en composé polyphénol, flavonoïde, terpènes et stérols, les tanins alcaloïde, cardinolides, glucoside, et les saponoside dans les racines et les feuilles, par contre nous avons constaté l'absence des saponoside (tige) et des anthocyanes, leuco-anthocyanes, coumarine, et anthraquinones dans les trois parties.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux des feuilles de l'espèce étudiée montrent que les extraits méthanoliques et aqueux sont riches en polyphénols totaux.

L'activité anticoagulante des polyphénols de la feuille de laurier rose a été également évaluée in vitro en utilisant les tests du temps de céphaline-kaolin (TCK) et du temps de Quick (TQ). Les temps de coagulation obtenus sur un plasma normal en présence de ces polyphénols indiquent qu'ils exercent une grande activité anticoagulante sur les deux voies de la coagulation.

Mots-clés : *Nerium oleander* L. polyphénols, activité anticoagulante, étude histologique, pédologie, et chimique.

Laboratoires de recherche : laboratoire du Centre Universitaire Abdelhafide Boussouf Mila ; laboratoire d'analyses médicales : Dr. Mirouh.A à Ferdjioua.

Jury d'évaluation :

Président du jury : BOUSBIA Sabri

Examineur : BOUASSABA Karima

Rapporteur : SAHLI Mohamed

Date de soutenance : 13 /07/2019

