

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

013

université de Jijel

BC. 03. 2003

Faculté des Sciences

01  
02

# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieurs en biologie

Option : Biochimie

Thème

Contribution à l'Etude  
de l'Effet de l'Extrait brut  
de la Plante *Daphne gnidium*. L  
Sur Les Rates Gestantes



Les Membre de Jury

- Président : BOUHOUS Mostapha
- Examineur : LAHOUL Messbah
- Encadreur : HENDIS M<sup>ed</sup> Essadek

Réalisé par:

- GHICHI Nora
- AISSANI Affaf
- KENNOUCHE Fairouz

Année Universitaire 2002/2003



# REMERCIEMENTS

*Avant tous nous remercions Dieu, le tout puissant et le prion de nous accorder tout au long de notre future profession volonté et persévérance*

*Nous lui demanderons de nous accorder la foie et la tolérance afin que nous puissions dans la mesure du possible exercer notre profession comme il se doit.*

*Nous tenons , en particulier, à adresser nos vives remerciements à :*

*M<sup>r</sup>. HENDIS Mohamed Essadek, pour son aide et sa patience ,  
à M<sup>r</sup>. LAHOUAL. M et M<sup>r</sup>. BOULDYARDA pour leur aides*

*Nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire, principalement les techniciennes de laboratoire et à leur tête : M<sup>me</sup> Massika*

*Nous remercions également tous nos collègue de la promotion  
(Biochimie 2003)*

*Ces quelques lignes ne sont qu'un humble hommage*

*A tous ces merveilleux gens*

**AFFAF**

**FAIROUZ**

**NORA**

✓

# Sommaire

<b>INTRODUCTION</b>	01
<b>ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I : La plante Daphne gnidium.L</b>	02
<b>I-1. Généralités</b>	02
<b>I-1-1. Nominalisation</b>	02
<b>I-1-2. Définition et description</b>	02
<b>I-1-3. Classification</b>	02
<b>I-1-4. Distribution géographique</b>	03
<b>I-1-5. Ecologie</b>	03
<b>I-1-6. Caractères reproducteurs</b>	03
<b>I-2. Toxicologie</b>	03
<b>I-2-1. Endroit où se trouve le poison</b>	03
<b>I-2-2. Type de poison</b>	04
<b>I-2-3. Symptômes</b>	04
<b>I-2-4. Structure des substances bioactives</b>	05
<b>Chapitre II :Physiologie de la reproduction chez la ratte</b>	06
<b>II-1. Reproduction</b>	06
<b>II-1-1. Gamétogenèse</b>	06
<b>II-1-2. Rapprochement sexuel et fécondation</b>	08
<b>II-1-3. Condition de la fécondation</b>	08
<b>II-1-4. Ovoimplantation et placentation</b>	09
<b>II-1-5. La gestation</b>	09
<b>II-1-6. Parturition</b>	09
<b>II-1-7. Lactation</b>	10
<b>II-2. Régulation de fonction génitale chez la ratte et modification</b>	
b hormonales au cours de la gestation	10
<b>II-2-1. Régulation de la fonction génitale chez la ratte</b>	10
<b>II-2-2. Les modifications au cours de la gestation</b>	12

<b>Chapitre III Matériels et Méthodes</b> .....	13
<b>III-1. Matériels utilisés</b> .....	13
<b>III-2. Méthodes</b> .....	14
<b>III-2-1. L'extraction</b> .....	14
<b>III-2-2. Les étapes d'extraction</b> .....	14
<b>III-2-2-1. Collection des échantillons</b> .....	14
<b>III-2-2-2. Dessiccation</b> .....	14
<b>III-2-2-3. Pulvérisation</b> .....	15
<b>III-2-2-4. Dissolution</b> .....	15
<b>III-2-3. Préparation des animaux</b> .....	16
<b>III-2-3-1. L'entretien des animaux</b> .....	16
<b>III-2-3-2. Provocation de la gestation</b> .....	16
<b>III-2-4. L'évaluation de l'effet de l'extrait de Daphne gnidum.L sur les</b> <b>rattes gestantes.</b> .....	18
<b>Chapitre IV : Résultats et Interprétation</b> .....	19
<b>Chapitre V : Discussion</b> .....	24
<b>CONCLUSION</b> .....	26

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

*Daphne gnidium*.L appartient à la classe Dicotylédones, famille Thymelacées. Elle est très répandue dans la région méditerranéenne surtout dans la wilaya de jijel. Traditionnellement, elle est connue par sa toxicité surtout sur les poissons, et son action avortive spécialement chez les ruminants.

Dans le cadre de la préparation de mémoire de fin de cycle et dans souci de montrer les effets toxique de *Daphne gnidium*.L , nous nous sommes proposés à faire un travaille qui se divise en deux parties :

- une partie bibliographique qui met le point sur taxonomie du *Daphne gnidium*.L, et la physiologie de la reproduction des mammifères notamment les rongeurs.
- Une partie expérimentale qui porte sur la préparation d'un extrait brute du trois parties de la plante par infusion aux l'eau d'une part, et d'autre part une extraction à l'aide du solvant organique (éthanol) puis leur administration au rattes gestantes.

# *Analyse bibliographique*

# CHAPITRE I

## La Plante *Daphne gnidium* L



## **I-1. Généralités :**

### **I-1-1. Nominalisation :**

Daphne gnidium L, garou, Daphne saint-bois [4], sainbois (nom français), flax-leaved Daphne, mediteranean mezereon (nom Anglais), Gnidio ( nom Italien) Torvisco, Matapollo, Bufalaga, Matapulgas, Matagallina, Torbisca, Trovisco ( nom Espagnol), ( nom locale : Ellezzaz)[24].

### **I-1-2. Définition et description :**

Daphne gnidium L, est un arbrisseau vivace atteignant 0,6 à 1,2 ( jusqu'à 1,5m) de hauteur [26],[23] d'altitude 0 à 800m [23],[20] à rameaux cylindriques et lisses, à jeunes branches mollement pubescentes [14].

Les feuilles épaisses très lancéolées, cassantes, glabres, persistantes et qui couvrent entièrement le rameau [24]. En été de mai à septembre la plante donne des petites fleurs de 8 mm blanches et odorantes en courtes grappes à l'extrémité des tiges [26]. Les fruits mûrs sont ovoïde et rouge [20].

### **I-1-3. Classification : [27] [16]**

Embranchement :	Végétaux
Sous-Emb :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Dialypétales
Ordre :	Myrtales
Famille :	Thyméléacées
Genre :	Daphne
Espèce :	<i>Daphne gnidium</i> .L

#### **I-1-4. Distribution géographique :**

méditerranéenne avec enclave atlantique dans les dunes littorales du nord de la Gironde à Noimoutier [24].

#### **I-1-5. Ecologie :**

plante de frange forestière et de sous-bois sur sables plus ou moins carbonatés[26]. Elle préfère le milieu riche en matières organique et sol argileux, elle peut pousser au sol pauvre, et préfère aussi le milieu acide, neutre et basique, elle peut pousser dans un milieu demi ombragé ou nom ombragé[27] .

elle associe souvent à un insecte, un papillon qui y pond ses larves : lobesia botrana [24].

#### **I-1-6. Caractères reproductif :**

la plante donne des petites fleurs hermaphrodite ( contient des organes male et femelle ensemble) [19]. Elles se composent d'un calice gamosépale à 4 lobes, d'une corolle en tube terminé également par 4 lobes et de 8 étamines insérées sur deux rangs [26].

Donc la formule florale c'est :  $(4) S + 4 p + 4 - 8 E + 1 C$ .

Sépales pétaloïdes colorés et pétales souvent absents ou réduits étamines soudées au calice, ovaire supère à 1 loge, 1 style à 1 stigmate [19],[23]. Les fleurs couvrir en pollen par les abeilles, mouches et lipedoptère [27].

## **I-2. Toxicologie**

Malgré sa toxicité *Daphne gnidium* L cultivé dans les jardins à des fins ornementale grâce à leur belles fleurs odorantes et baies rouge .

### **I-2-1. Endroit ou se trouve le poison :**

Toutes les parties du *Daphne gnidium* L contiennent des toxines, mais les concentrations les plus élevées se trouvent dans les racines et l'écorce, le suc , grains et les baies [22]. La dessiccation n'amoindrit pas la toxicité de la plante [21].

### **I-2-2. Type de poison :**

Plusieurs espèces de genre *Daphne* doivent leur toxicité à des esters ditèrpinique de structure complexe de type, ingénane, tigliane, Daphnane ou phorbol [25] . Les diterpènes forme un vaste ensemble de composé en C<sub>20</sub> issus du métabolisme du 2E, 6E, 10E- géranylgeranylpyrophosphate (GGPP). Ce dernier considère comme précurseur des substances toxique : la Daphnetoxine ( écorce et racine ) et mézeréine (graines[12]. Ce sont des toxines extrêmement actives [22] purgatifs violentes ils déclenchent, par contact avec la peau ou les muqueuses, une réaction inflammatoire intense[12]. ce sont aussi des agents co-cancérogènes. En présence de faible doses de composé cancérogènes [22].

### **\* mode de cyclisation du GGPP :**

La cyclisation du GGPP précurseur induite par le départ du groupe pyrophosphate, formation d'un carbocation et alkylation d'une double liaison par celui-ci il s'agit le plus souvent de celle de l'isopropylidène terminal, ce qui conduit à la formation d'un macrocycle, le cation macrocyclique poly-insaturé est très réactif ( ex : élimination d'un proton, formation de cembrene) ou, et c'est fréquent, conduire à une structure polycyclique par substitution nucléophile intramoléculaire : taxane, tigliane, daphnane, ingénane.[12].

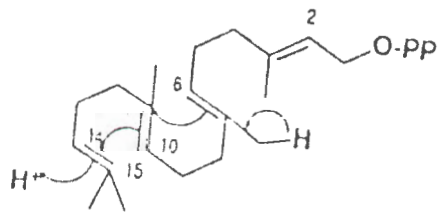
### **I-2-3. Symptômes :**

A l'heure actuelle, les centres spécialisés connaissent surtout des intoxications liées à l'ingestion des pseudo-fruits par les jeunes enfants qui sont attirés par les couleurs voyantes. Très fréquemment, la graine (qui contient les principes toxiques) est ingérée nom mâchée ou recrachée ( son contenu est très amer)[12]. Les intoxication des animaux ou de l'homme sont donc très rare [20]. L'intoxication annoncée par des signes digestifs ( nausées, vomissements, colique violentes et diarrhées ...). On peut voir aussi des gastrique aiguë ou des brûlure interne des muqueuses digestives, les troubles gastriques peuvent se prolonger de

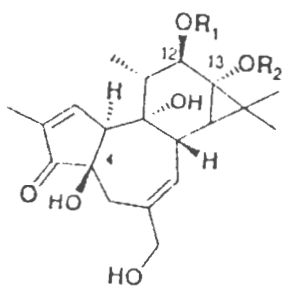
nombreux mois après l'intoxication)[20],[28],et Neurologiques (tremblements, vertiges ...) est caractérisé par de l'hypotension et des troubles du rythme cardiaque, en cas d'ingestion massive l'évolution peut être très rapide ( coma, crise convulsive, collapsus cardiovasculaire ) [12].

Si la victime tombe dans le coma, la mort peut suivre [22].

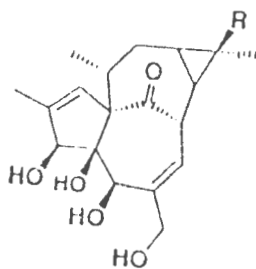
#### I-2-4. Structure des substances toxiques : [13]



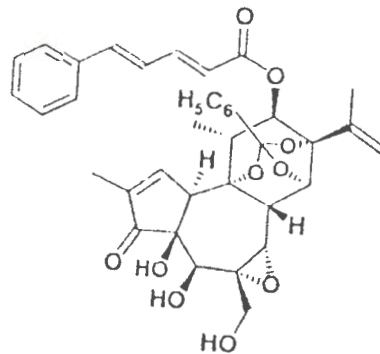
2E, 6E, 10E-GGPP



esters du phorbol  
R<sub>1</sub> = tétradécanoate,  
R<sub>2</sub> = acetate . TPA



ingenol et  
17-hydroxy ingenol



mezequine



*Daphne gnidium*

*Linné*

## CHAPITRE II

# Physiologie de la reproduction chez la ratte

## **II. Physiologie de la reproduction chez la ratte :**

Le rat de laboratoire fait partie de la famille des muridés, famille qui peut être divisée en 4 sous-famille d'importance inégale.

Les muridés comprennent plus de 70 genres, les plus connus sont : rattus, mus, souris, spodenus, mulot, micromys. Le rat de laboratoire, rattus norvegicus est une forme albinos du sur mulot. [11].

### **II-1. Reproduction :**

Reproduction sexuée : entraîne un mélange dans les groupes de gènes et des variations génétiques, mais elle consomme beaucoup d'énergie, les gamètes haploïdes ( spermatozoïdes et ovocytes) sont produits par méiose, la fusion lors de la fécondation aboutie à un zygote. La plupart des animaux sont gonochoriques (sexes séparés) [15].

Les gamètes : sont formés dans les gonades, celle-ci ont également des fonctions hormonales, les spermatozoïdes et l'ovocyte sont des cellules sexuelles spécialisées qui contiennent la moitié du nombre normal de chromosomes. [5] [18]

#### **II-1-1. Gamétogenèse :**

Est un délicat processus de maturation, que l'on appelle : spermatogenèse chez les mâles et ovogenèse chez les femelles[5].

##### **a) spermatogenèse :**

Spermatogenèse ou transformation d'une cellule souche ou (spermatogonie) en spermatozoïdes [5]. Elle s'effectue dans les testicules souvent de manière cyclique, après réduction méiotique, les spermatogonies et les cellules de sertoli sont rencontrées dans le tube séminifère du testicule. A la puberté se développent sous l'influence des gonadotropines. La division mitotique d'une spermatogonie forme des spermatocytes primaires, une méiose ultérieure donne des spermatocytes secondaires, puis, des spermatides qui mûrissent sans autre division en spermatozoïde [6][7]. La maturation finale et le stockage se font

dans l'épididyme. Le sperme est composé de sécrétions additionnées aux spermatozoïdes en suspension et passe dans les gonaductes [15].

Chez le rat le transfert du sperme le long de l'épididyme est lié à un processus continu. Le nombre totale du spermatozoïdes par éjaculât et environ de  $300 \times 10^6$  [11].

#### b) **Ovogenèse :**

L'ovogenèse comprend une phase de prolifération et de croissance de l'ovogonie l'amenant au stade de l'ovocyte. Celui-ci reste dans cette état sans se diviser pour augmenter de volume au fur et à mesure qu'évolue le follicule cavitaire. La première mitose de maturation ou réduction méiotique qui réduit de moitié le nombre de chromosomes, s'achève immédiatement avant l'ovulation. Elle donne naissance d'une part à une minuscule cellule, le premier globule polaire, et d'autre part à l'ovocyte de deuxième ordre. Une seconde mitose de maturation, équationnelle sur le plan chromosomique, a pour résultats d'une part l'ovule mûr, d'autre part un second globule polaire [7],[17].

#### c) **Le cycle oestral**

la ratte présente une activité génitale ininterrompue avec des cycle de 4-5 jours [11], [1]. Le cycle sexuel est caractérisé par des modification périodiques du tractus génital et du comportement. Le cycle oestrier normal de la ratte s'établit ainsi :

-oestrus (rut) période où se situent le rapprochement sexuel et l'ovulation (durée 13,7h).

-Post œstrus : succède à l'ovulation, stade intermédiaire entre l'œstrus et le dioestrus durant lequel les corps jaunes s'épanouissent dans l'ovaire (durée 12-20h) .

-Dioestrus : représente la phase la plus longue du cycle et correspond à une période d'inactivité sexuelle et de régression des corps jaunes (durée 1-2 jours).

Proestrus : précède l'œstrus, période où croissent les follicules ovariens ( durée 1 journée) [11].



## **II-1-2. Rapprochement sexuel et fécondation :**

La fécondation est l'union des gamètes mâles (spermatozoïdes) et des gamètes femelles (ovocytes) pour former des zygotes[17],[6]. L'acceptation du mâle par la femelle survient durant l'œstrus. L'union des gamètes se fait dans l'ampoule tubaire. La pénétration des spermatozoïdes dans l'ovocyte déclenche un phénomène non spécifique « d'activation » qui entraîne la segmentation[17]. La formation du pronucleus femelle commence immédiatement : les chromosomes se regroupent pour former une masse compacte. Au niveau de la tête du spermatozoïde une transformation analogue s'établit avec au bout de 20h une fusion nucléaire de deux gamètes. Les premiers stades du développement embryonnaire sont indissociables de la fécondation et se déroulent aussi dans l'oviducte. C'est une morula qui franchit la jonction utéro-tubaire environ 48 à 60h après l'ovulation. L'œuf séjourne à la jonction ampoule- isthme. Vers la 60h, l'œuf pénètre dans l'utérus. L'exaltation du péristaltisme tubaire par les oestrogènes accélère le transit tubaire. L'œuf ne franchit la jonction utéro-tubaire qu'après avoir perdu les cellules de la granulosa. La nidation est de 6 jours [11],[18].

## **II-1-3. Condition de la fécondation :**

-Ejaculation de bonne qualité : viscosité normale du liquide séminal, sperme aseptique, PH normale, nombre et qualité des spermatozoïdes.

- Glaire cervicale de bonne viscosité et PH alcalin.
- Spermatozoïdes présentes dans les voies génitales femelles depuis moins de 3-4 jours au moment de l'ovulation ( durée de survie des spermatozoïdes).
- Réalité de l'ovulation (il y a des cycles anovulatoires) et perméabilité des trompes .
- Absences d'infection des voies génitales femelles. [5].

#### **II-1-4. Ovoimplantation et placentation :**

L'œuf est au stade de blastocyte dans la cavité utérine où arrivent les produits de sécrétion des glandes endométriales riches en mucopolysaccharides, l'endomètre subit une hyperplasie gestationnelle sous l'influence du corps jaune gestatif. Le placenta est la zone des échanges foeto-maternelles, l'amnios entoure le fœtus et l'allantoïde est reliée à la vessie fœtale par le canal de l'ouraque [11][17].

#### **II-1-5. La gestation**

Elle dure 21-22 jours avec présence d'un œstus post-partum < 48h. Le fœtus est fixé à la paroi utérine telle une homogreffe.

L'utérus subit une augmentation du nombre et de la dimension des fibres du myomètre : 15x250µm en fin de gestation au lieu de 4x50µm au début. L'augmentation de la masse sanguine est l'élément essentiel de l'adaptation gravidique. En fin de gestation le débit cardiaque diminue, le débit respiratoire augmente de 40%, ainsi que la clairance de l'acide para-amino-hippurique et de l'inuline qui croissent de 30%. L'organisme gravide présente un taux élevé d'hormones d'origine placentaire dans le sang et dans l'urine.

Le taux de progestérone est augmenté ( en corrélation entre la croissance du placenta et l'excrétion de prégnadiol). Le placenta réalise la transformation des androgènes en oestrogènes sans précurseur stéroïdique [11] [17] .

#### **II-1-6. Parturition**

Avant la mise-bas la mère prépare son nid (1-2 jours avant ) la mise bas se produit en dehors de toute innervation extrinsèque et la relaxine pourrait jouer un rôle important. L'organisme maternel met en œuvre des effets actifs, comprenant les contractions utérines et les efforts expulsifs, et des effets passifs représentés par la dilatation des voies génitales. La tension exercée par la masse fœtale sur l'utérus se modifie au fur et à mesure que la gestation avance. Notons qu'après la mise bas ( durée de 5-60mn) la mère mange le placenta. Pendant toute la durée de l'acte, il

convient de ne pas déranger les animaux qui, par peur, pourraient dévorer leur progéniture [11],[17].

### **II-1-7. Lactation**

La lactation est une fonction discontinue, propre à la classe des mammifère, destinée à permettre l'adaptation du nouveau né à la vie autonome. Elle est d'autant plus longue que la vie fœtale été brève et présente 03 phases essentielles : le développement des possibilités sécrétoires au mammogenèse, la montée laiteuse ou lactogenèse et l'entretien de la sécrétion lactée ou lactopoïese.[17] au cours de la lactation , la cycle ovarien suspendu ( après mise-bas : oestrus post- partum). La prolactine stimule l'activité des corps jaunes (présence de progestérone, alsence d'œstrogène) nidation retardée de la ratte gravide et lactante la ratte allaitant présente une—hyperthermie son comportement alimentaire est modifié ( faims sélective) [11].

### **II-2.Régulation de la fonction génitale chez la ratte et modification hormonales au cours de gestation :**

Par sa position, l'hypothalamus est sensible à toutes les informations internes transmises dans le sang et à toutes les information externes du systèmes nerveux central : il permet d'intégrer l'activité sexuelle à celle de l'organisme et l'adapte aux besoins du moment [9].

#### **II-2-1. Régulation de la fonction génitale chez la ratte :**

Chez tous les être vivants , l'activité sexuelle est contrôlée par des facteurs externes et internes [9]

##### **a) Contrôle hypothalamique :**

Parmi les neurones de cet hypothalamus, certains tout en gardant toute les propriétés de cellules nerveuse sont capable d'élaborer des polyamines qui sont assimilées à des neurohormones et si ces polyamines sont stimulantes, ils permettent la libération d'une hormone hypophysaire, le contrôle hypothalamique est assuré par GRH ( Gonodo Releasing Hormon / ou Gonadolibérine (LHRH) :

contrôle les sécrétion de FSH ou LH le PIF ( Prolactine Inhibitor Factor) et le PRF (Proloctin Releasing Factor) hormones de régulation de la sécrétion de prolactine[9]

#### **b) Contrôle hypophysaire :**

L'hypophyse antérieure est stimulée par l'hypothalamus élaborant 3 gonadostimulines.

- F.S.H. : (Follicule Stimulating Hormon ) : stimule la multiplication des cellules de la granulosa ( riches en récepteurs FSH) et contrôle le développement de la zone pellucide .
- L.H. : ( la luteinizing hormone) : qui permet la différenciation des cellules de la thèque interne en cellules stéroïdogènes et favorise le développement du système vasculaire.
- Prolactine : contrôle avec L.H. la sécrétion de progestérone par les cellules l'utéales [9]

#### **c) Les hormones ovariennes :**

Ce sont des hormones stéroïdes qui sont élaborées par les cellules endocriniennes de l'ovaire, stimulées par L.H. ou F.S.H., elle sont élaborées à partir du cholestérol, elle contrôlent l'ovogenèse .Ils sont nombreuse, les plus importantes sont : l'œstrogène et le progestérone [9].

Les oestrogènes ont une influence sur les variation cyclique des éléments musculaire et de l'epithélium de la trompe de fallop de l'endomètre et de l'epithélium vaginal, ils stimulent les contraction spontanées du myomètre.[10][9]

Le progestérone : prépare la muqueuse utérine à la nidation croissance et sécrétions des glandes utérine, apparition du glycogène mais ils agissent en synergie avec les oestrogènes, leur action ne peut s'exercer que sur un endomètre préparé par les œstrogènes, ils inhibent la contraction du myomètre [18][9].

## **II-2-2. les Modification au cours de gestation :**

Le développement fœtale s'accompagne de modification physique et comportementales de l'organisme maternel, en particulier à proximité du terme lorsque la croissance fœtale est rapide l'équilibre hormonal de la gestation est caractéristique. de l'espèce en fonction de la participation plus ou moins importante du placenta dans la sécrétion de progestérone et de la participation cortico-surrénale aux stéroïdes sexuels (ratte) .

Les modifications hormonales en particulier l'inondation de l'organisme maternel par les oestrogènes et la progestérone, sont importante mais variable selon le stade de la gestation. Le taux des gonadotrophines n'est pas modifié au cours de la gestation. Le cortisol fœtal dont la production augmente au cours des cinq dernier jours de la vie intra- utérine ainsi de celle d'A.C.T.H. contrôle la fin de la gestation. La perfusion de cortisol provoque la diminution de la production de progestérone et l'augmentation de celle des oestrogènes qui précèdent normalement la mise bas.[17]

## CHAPITRE III

# Matériels & Méthodes

### III-1. matériels utilisés :

- Echantillon :les trois partie de la plante Daphne gnidiom.
- Les rats : 14 femelles et 7 mâles .
- L'eau distillé ( lavage des échantillons et matériels).
- L'eau de robinet (lavage des échantillons et matériels)
- L'eau de javel pour déterger la paillasse et les matériels .
- Mortier en céramique : pour broyer la plante .
- La balance pour peser le poids sec des échantillons.
- Spatule.
- Etuve 55 °C ( Dessiccation des échantillons).
- Rotavapor : en évaporant l'éthanol et l'eau .
- Papiers filtres : pour la filtration de l'extrait de la plante.
- Seringues :pour l'administration de l'extrait.
- Biberon : pour l'administration de l'extrait.
- Microscope optique : pour la révélation des spermatozoïdes dans les prélèvement vaginales des femelles.
- Pipette : pour le teste du bouchon vaginal.
- Des lames : pour le teste du bouchon vaginal .
- Solvant : éthanol
- Solution de Nacl (9‰)
- Flacons stériles (06).

## **III-2. Méthodes**

### **III-2-1. L'extraction**

Elle consiste à extraire en une seule opération le maximum de soluté en solution dans un solvant choisi selon son grand pouvoir dissolvant.

Le but à atteindre est d'extraire la plus grande quantité possible d'une substance aussi pure que possible [13].

### **III-2-2. Les étapes d'extraction :**

#### **III-2-2-1. Collection des échantillons :**

La prise des échantillons a été faite au niveau des hauteurs de la région de Settara de la wilaya de jijel .

Dans notre travail, nous avons utilisés les trois parties de la plante étudiée :

- Racine
- Ecorce des Tiges
- Les feuilles .

Après la collection, le triage et l'élimination des parties inutiles des échantillons, et après un lavage avec l'eau de robinet puis avec l'eau distillée.

#### **III-2-2-2. Dessiccation :**

Pour l'extraction d'une substance active, la dessiccation est une étape pratiquement toujours indispensable.

La dessiccation ou séchage a pour but d'enlever totalement ou partiellement l'eau contenu dans un produit, en outre cette opération permet généralement d'éliminer toute substances volatile contenus dans l'échantillon[3].

La dessiccation de notre échantillon a été faite de la manière suivante : séchage à l'air libre sur la paille puis dans l'étuve à 55°C durant 24h.



### III-2-2-3. Pulvérisation :

Après la dessiccation, la pulvérisation est une étape pratiquement obligatoire pour utiliser un principe actif qu'il soit d'origine végétale ou qu'il provient de substances chimiques naturelles, elle a pour but de fractionner des substances en particules de taille réduite.

Le broyage des échantillons est réalisé dans le mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, en particules presque homogène. Les poudres obtenus sont pesés on obtient :

- 40 g de poudre des racines.
- 40 g de poudre des feuilles
- 40 g de poudre d'écorce des tiges.



### III-2-2-4. Dissolution :

La dissolution est une opération qui consiste à diviser une substance à l'état moléculaire au sein d'un liquide, elle conduit à une préparation homogène appelée : solution cette dissolution est plus ou moins longue selon les substances à dissoudre et les solvants utilisés.

#### 1) Utilisant l'éthanol :

Puisqu'il est considéré comme un bon solvant qui répond à deux critères principaux :

- Il doit avoir un grand pouvoir dissolvant à fin non seulement d'extraire quasi totalement la substance mais encore à opérer ce transfert dans un volume réduit à fin de réaliser une concentration.
- La seconde qualité fréquente souhaitable, et la volatilité du solvant extractif [13][8].
- La dissolution se fait dans des flacons stériles. On ajoute le solvant au poids sec de chaque extrait sous forme dissoute dans 10 ml de solvant.

On les laisse 24 h sur la pailleuse puis on les met dans le rotavapor jusqu'au séchage afin d'obtenir un extrait brut pour chaque partie de la plante.

## **2) l'infusion dans l'eau :**

la dissolution se fait selon la formule suivante :

1g du poids sec dissoudre dans un volume de 10 ml d'eau bouillante, on les laisse 1 heure sur la pailasse puis on les filtre à fin d'obtenir des extraits bruts des différents parties de la plante.

### **III-2-3. Préparation des animaux :**

#### **III-2-3-1. entretien des animaux :**

Les essais ont été réalisés sur des rats Wistar de souche albinos provenant de l'institut Pasteur d'Alger, ces animaux sont élevés dans des cages avant et durant le traitement, leur alimentation est constituée des croquettes et l'eau, quant à l'animalerie elle est soumise à une photopériode qui dure entre 12 et 24 heures maintenue d'une température entre 20 et 25 °[2].

#### **III-2-3-2. Provocation de la Gestation :**

Une sélection préalable des mâles et des femelles sera établie, sélection de part le poids et de part l'aspect physique, la fertilité maximale est obtenue chez les femelles âgées de 120-180 jours [11] .

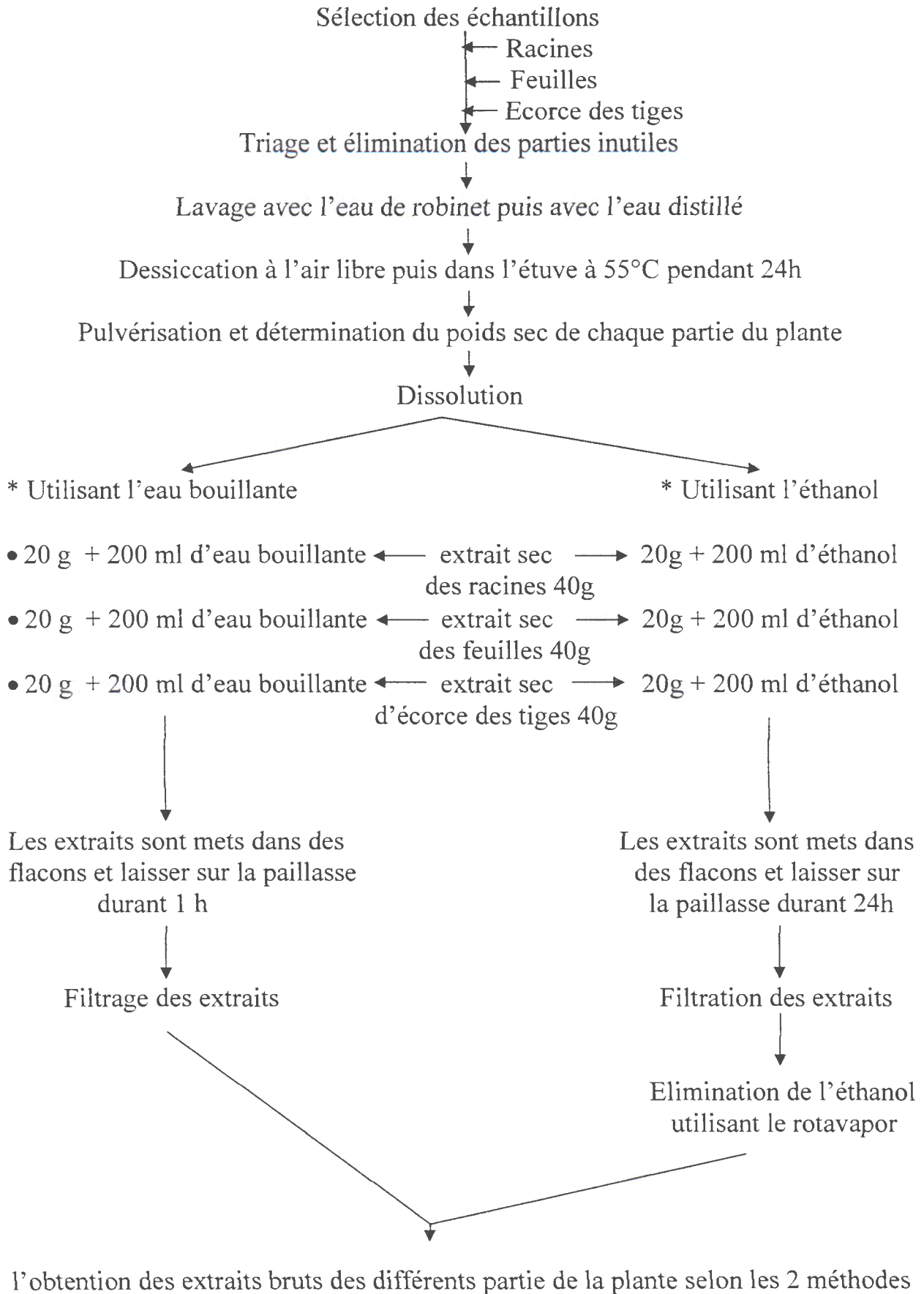
Après l'étape de sélection, chaque femelle est introduite dans la cage d'un mâle le matin le lendemain matin on pratique un prélèvement vaginal afin de déterminer la présence du bouchon vaginal ( spermatozoïdes) .

#### **\* Teste du bouchon vaginal**

On pratique un prélèvement vaginal à l'aide d'une pipette et utilisant une goutte de NaCl (9‰) puis étalernent sur une lame et observation microscopique.

La présence des spermatozoïdes signe la présence d'un couplement et ainsi noté comme 1<sup>er</sup> jour de gestation.

**Protocole de l'extraction des substances bio actives à partir de *Daphne gniduum*.L :**



### **III-2-4. L'évaluation de l'effet de l'extrait du *Daphne gnidium*.L sur les rattes gestantes :**

Après les méthodes de dissolution, on obtient à la fin, un extrait brut de chaque partie de la plante selon la méthode utilisé contenant les substances bio actives.

Alors, on a une question à posé : est- ce que ces substances bio actives ont vraiment une action avortive sur les rattes gestantes ?.

C'est pour cela , qu'on propose ce protocole expérimentale .

#### **a) Le Protocole Expérimentale :**

Dans notre travaille, on utilise 14 rattes qui sont répartie en 07 lots de deux (02) rattes chaque une

- Lot 0 : lot témoin : reçoit l'eau de robinet

Les 06 lots traitées sont divisés en deux (02) groupes .

\* 1<sup>ere</sup> groupe reçoit l'extrait brut résulte de l'extraction à laide du solvant organique (éthanol).

- Lot 1 : l'extrait des feuilles diluée aux l'eau distillé 50%
- Lot 2 : l'extrait d'écorce des tiges diluée aux l'eaux distillé 50%
- Lot 3 : l'extrait des racines diluée aux l'eau distillé 50 %

\* 2<sup>eme</sup> groupe : reçoit l'extrait brut préparé par infusion aux l'eau :

- Lot 4 : l'extrait des feuilles .
- Lot 5 : l'extrait d'écorce des tiges.
- Lot 6 : l'extrait des racines.

#### **b) Voie d'administration :**

Le traitement est réalisé à la fin du 2<sup>eme</sup> semaine de gestation (15<sup>eme</sup> jours), elle se fait par voie orale selon 02 méthodes :

-Gavage gastrique pour administré l'extrait brut aux rattes du 1<sup>er</sup> groupe, elle se fait chaque jour durant 3 jour avec 2 administration par jour chaque une de 2 ml

- utilisant les bilons pour administré l'extrait brut aux rattes de 2<sup>eme</sup> groupe à la place d'eau pendant 3 jour.

## *CHAPITRE IV*

# *Résultats et Interprétation*

Notre étude , évalué l'effet toxique du Daphne gnidium.L sur les rattes gestantes suivant le protocole expérimentale aboutie aux résultats présentes dans les tableaux 1 et 2. et les figure 1 et 2 .

La comparaison entre les résultats obtenu et celui du témoin montre que l'extrait du plante Daphne gnidium.L a un effet toxique considérable sur les foetus des rattes gestantes.

Le degré de la toxicité différant selon, de part la Méthode de l'extraction et d'autre part la manière de l'administration .

**Tableau 1 : Administration utilisant les biberon**

<b>N°= du lot</b>	<b>La partie du plante utilisés</b>	<b>Observation</b>	<b>Pourcentage de mortalité</b>
Lot 0	L'eau de robinet	Mis-bas normale	0%
Lot 4	Racines	Mis-bas normale avec un mort parmi 10	10%
Lot 5	Ecorce des tiges	Mis-bas normale ( 9 rats )	0%
Lot 6	Feuilles	Mis-bas normale (7 rats )	0%

D'après le tableau 1 On observe une mis-bas normale, mais cette fois avec un taux de mortalité de 10 % pour l'extrait des racines et 0 % pour l'extrait des écorces des tiges et des feuilles .

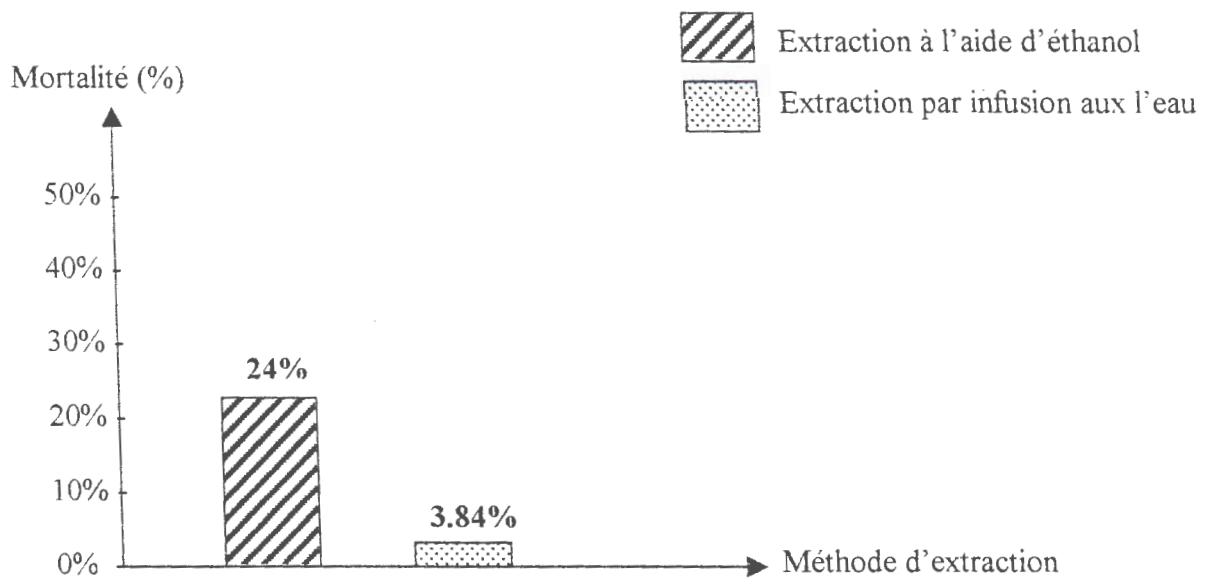
**Tableau 2 : Administration par gavage gastrique .**

<b>N°= du lot</b>	<b>La partie du plante utilisés</b>	<b>Observation</b>	<b>Pourcentage de mortalité</b>
Lot 1	Racines	Mis-bas normale avec 4 rats morts parmi 12	33%
Lot 2	Ecorce des tiges	Mis-bas normale avec 2 rats morts parmi 8	25%
Lot 3	Feuilles	Mis-bas normale (5 rats)	0%

D'après le tableau 2 On observe une mis-bas normale c'est à dire après les 21 jours de gestation. Mais cette mis-bas normale n'écarte pas la présence d'un effet toxique de *Daphne gnidium.L* sur les nouveaux nés. cette effet est visualisé dans la mortalité des foetus due aux traitement avec l'extrait du *Daphne gnidium.L*.



Ainsi que les extraits préparés à l'aide du solvant organique donnent un pourcentage de mortalité égale à 24 % et celui l'extrait préparés par l'infusion dans l'eau donne un pourcentage égale à 3,84% ( fig 2 )



**Fig (2) Le pourcentage de mortalité selon la méthode d'extraction**

CHAPITRE V

Discussion

## V. DISCUSSION :

Plusieurs espèces végétales doivent leur toxicité à des esters diterpéniques de structure complexe. Ces composés ont une distribution restreinte à deux familles, les thymelacées et les euphorbiacées[12]. Dans le cas de thymelacées les substances toxiques sont la Daphnetoxine présentes dans (l'écorce et les racine) et la mezérine présente dans les graines. Le contact des écorces avec la peau ou les muqueuses entraîne une irritation importante .l'intoxication annoncée par des signes digestifs , et neurologique est caractériser par de l'hypotension et des troubles du rythme cardiaque.[12]

*Daphne gnidium*.L comme étant l'un des plantes de la famille thymelacées a aussi une teneur en Daphnetoxine et mezérine, donc engendre les mêmes symptôme d'intoxication .

Notre étude montre que le traitement par les extraits de différentes parties de la plante *Daphne gnidium*.L n'induit pas l'avortement des rattes gestantes, n'écarte pas la présence d'une toxicité à ce niveau, qui est visualisé dans les taux de mortalités qui peut être lié ou non aux toxines présentes dans la plante entière.

En effet les extraits préparés à l'aide du solvant organique donnent un meilleur résultats que celle préparés par infusion dans l'eau. Ceux-ci basé sur le taux de mortalité obtenue après le traitement qui sont : 24% et 3.84% successivement.

donc, l'extraction à l'aide de l'éthanol permet d'obtenir une concentration des éléments bioactifs meilleure que celle par infusion dans l'eau. ce qui confirme les éléments bioactifs contenus dans la plante diffusent mieux dans le solvant organique que dans l'eau.( Fig 2)

De plus nous avons constaté que les concentration des toxines sont différents selon la partie de la plante utilisée parce que les taux de mortalité obtenues après l'administration de l'extrait sont estimés à : 22,72% pour l'extrait racine, 11,76% pour l'extrait d'écorce des tiges ,0% pour l'extrait des feuilles. ceux-ci ne signifie

pas l'absence des substances bioactifs dans les feuilles, mais que les concentrations sont très faibles ou tolérables. (fig.1)

En effet, l'action de ces substances bioactives peut être potentialisée par l'obtention d'avortement.

En tenant compte de quelques paramètres à savoir, la dose, le potentiel de l'effet toxique, la phase embryonnaire la plus sensible à l'égard des toxines et les facteurs nerveux qui peuvent avoir une influence sur le comportement.

*Conclusion*

## CONCLUSION :

*Daphne gnidium*.L appartient à la famille du Thyméléacées, elle est connue par sa grande toxicité surtout sur les tissus muqueux des systèmes respiratoire et digestif[12].

Nous avons montré que l'extrait des racines de cette plante engendre un taux de mortalité de près de 22,72%.

Le degré de la toxicité est différent selon d'une part; l'origine de l'extraction (racine, écorces des tiges, feuilles), d'autre part selon la méthode de l'extraction de l'extrait contenant les éléments bioactifs ainsi que selon leur voie d'administration.

A partir des résultats obtenus dans notre étude la toxicité peut se classer selon l'origine de l'extraction, on trouve en premier lieu l'extrait des racines avec une toxicité de 22,72% , extrait d'écorce de tige qui est évaluée à 11,76%. La toxicité de l'extrait des feuilles est tolérable.

Le domaine d'étude et de recherche reste ouvert afin de préciser les concentrations les plus toxiques, déterminer les différents paramètres d'évaluation des substances toxiques surtout la  $DL_{50}$ , et de préciser les phases embryonnaires les plus sensibles pour un maximum d'effet de ces substances bioactives.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- موفق شريف جنيد-1998-علم الجنين. منشورات جامعة عمر المختار-البيضاء رقم الإيداع:97/3022  
ص: 113
- 2-Benkhalff Aïda : Bouazz Dounia : Djaaboub Nadia :  
Etude de l'activité anti-coagulante de l'extrait flavonoïque de Ranunculus repus 1 . En  
vue de l'obtention du diplôme en biologie option Biochimie 2002, centre universitaire  
Jijel.
- 3- Aiche M-1, et Renoux-R-1955- Initiation à la connaissance Parin Milan Barcelone,  
pages :82, 114.
- 4- Anne Marie, Pierre Delaveau -1983 - guide des plantes dangereuses. Imprimerie de  
Compiègne - ZAC de mercières, rue Nicéphore Niepce- 60200 compiègne. N° édition  
1606. Paris.
- 5- Ben Pansky -1986- Embryologie humaine. éditions Marketing, Imprimerie des  
Aubin à Poitiers / Ligugé, France, page : 8
- 6- Didier Rabineau -1989- précis d'embryologie humaine. Aubin imprimeur. Ligugé,  
Poitiers. France. Pages : 11, 15
- 7- Fautrez .J -1967- élément d'embryologie causale.  
L'imprimerie A. Bontemps, limoges France.
- 8- Fleuv-M.B -1996- cours de chimie analytique, équilibre en solution. Impression :  
Europe média duplication S.A F53110 lassay- les châteaux. Pages :( 94, 100 ).
- 9- Germigon.T -1991- Embryologie générale humaine. achevé d'imprimer sur les  
presses de l'office des publications universitaires.1, place centrale Ben-Aknoun-  
Alger. Pages : ( 62, 74 ).
- 10- Giroud.A, Lelièvre.A -1965- Eléments d'embryologie. l'imprimerie nouvelle 53,  
quai de la seine, paris N° d'éditeur : 171.
- 11- Guy jadot -1981- le rat de laboratoire. Edition Masson, 120, Bd St-Germain 75280  
paris. Imprimé en France. page : (34, 41 )

- 12- Jean brumeton –1997- pharmacognosie phytochimie- plante médicinales. Edition tec et doc. page : (511,523).
- 13- Mhuzierg, et autre –1999- chimie analytique tome II. Méthode de séparation, 3<sup>ème</sup> édition Masson, boulevard Saint-Germain paris. page : 24
- 14- Oleg Polunin, Anthong Huxley –1972- fleurs de bassin Méditerranéen. imprimé en France, N° éditeur :n° 16176 ( A.C.V. II). Page : 171, 172.
- 15- Richard D.Jurd –1999- L’essentiel en biologie animale. édition Berti. imprimé en France –Jouve. 18, Rue Saint Denis. page : 275
- 16- Roger Caratinie –1984- les plantes. imprimé en Italie.
- 17- Ruckebusch.Y -1981 – physiologie pharmacologie thérapeutique animales. Imprimerie de Compiègne, rue Nicéphore Niepce, ZAC de mercières, 60200 compiègne. Malouine S.A, éditeur, rue de l’école de Médecine 75006 Paris. page : (274, 290).
- 18- Tuchman.H, Duplessis –1975- Embryologie travaux pratiques. et enseignement dirigé. Edition Masson et C<sup>ie</sup>. imprimé en France. page : (2,13)

### **Sites Internet :**

- 19-[http://crdp.ac-besancon.fr/ressourc/Flore/flore/Thymeleaceae/especes /daphne\\_gnidium .htm](http://crdp.ac-besancon.fr/ressourc/Flore/flore/Thymeleaceae/especes /daphne_gnidium .htm)
- 20- <http://bioeco.free.fr/photos/source/daphne1.htm>
- 21- [www.botanical-online.com/fotosdahpne.htm](http://www.botanical-online.com/fotosdahpne.htm)
- 22- [www.dict.die.net/daphne\\_gnidium/](http://www.dict.die.net/daphne_gnidium/)
- 23- [www.inra.fr](http://www.inra.fr)
- 24- [www.cnerta.fr](http://www.cnerta.fr)
- 25- [www.blackwell-science.com](http://www.blackwell-science.com)
- 26- [www.plantes.fr](http://www.plantes.fr)
- 27- [www.perso.wanadoo.es/antguasch/especies/ plantes/dicotil/matapoll.htm](http://www.perso.wanadoo.es/antguasch/especies/ plantes/dicotil/matapoll.htm)
- 28- [www.édition-verdier.fr/banquet/97/n31/essencee.htm](http://www.édition-verdier.fr/banquet/97/n31/essencee.htm)



## Les fautes d'orthographe :

Page	Ligne	Le faux	La correction
P 01	3	Toxique	Toxiques
P 01	11	Brute	Brut
P 03	11	Hermaphrodite	Hermaphrodites
P 04	26	Brûlure	Brûlures
P 06	04	Rattus, mus	Rattus-mus
P 06	09	Variation	Variations
P 07	18	Modification	Modifications
P 13	01	gnidiom	Gnidium
P 14	12	Racine	Racines
P 18	27	Bilons	Biberons
P 24	01	Diterpéthiques	Diterpéniques
P 24	15	N'écarte	Ça n'écarte
P 24	25	Concentration	Concentrations
P 24	27	L'extrait racine	L'extrait des racine
P 25	05	Quelque	Quelques
P 26	12	Tige	Tiges
P 26	15	Concentration les plus toxique	Concentrations les plus toxiques
P 26	17	Substance	Substances
P 20 , 21		Mis - bas	Mise - bas



**Thème : Contribution à l'Etude de l'Effet de l'Extrait brut de la Plante *Daphne gnidium*.L  
Sur Les Rates Gestantes**

**المقدمة**

نبات *Daphne gnidium* L. ينتمي إلى عائلة Thymelacées المعروفة بسميتها على الأنسجة المخاطية للجهاز الهضمي والجهاز التنفسي. دراسة حول تأثير المستخلص الخام لهذه النبتة على الجردان الحوامل بينت أن الأجزاء الثلاثة للنبات (جنور، قشرة الساق، أوراق) لها درجات مختلفة من السمية على أجنة هذه الحيوانات. كما أن طريقة الاستخلاص سواء بالماء أو باستعمال مذيب عضوي (ethanol) تأثير كبير على درجة سمية المستخلص. نتائجا مشجعة لكنها تبقى بحاجة إلى دراسات معمقة لمعرفة الجرعات المميتة وعلى أي مستوى من الحياة الجنينية يكون تأثيرها.

**RESUME**

La plante *Daphne gnidium*.L appartient à la famille du Thymelacées connue par sa toxicité pour les muqueuses des systèmes digestif et respiratoire.

Notre étude sur l'effet d'extrait brut de cette plante sur les rates gestantes montre que les trois parties de la plante ( feuilles, écorces du tige, racines) ont des différents degrés de toxicité sur les foetus de ces animaux.

Ainsi que la méthode d'extraction, soit par infusion dans l'eau, soit par les solvants organiques (éthanol) à une influence sur le degré de toxicité de l'extrait.

Nos résultats sont encourageants, cependant le domaine de recherche reste ouvert afin de déterminer les concentrations les plus toxiques et de préciser les étapes embryonnaires où intervient cette toxicité.

**SUMMARY:**

The plant *Daphne gnidium*.L belongs to the family of the thymelacées known by its toxicity for the mucous of systems digestive and respiratory.

Our survey on the effect of raw excerpt of this plant on rateses gestanteses shows that the three parts of the plant ( leaves, peels of the stem, roots) have the different degrees of toxicity on foetuses of these animals.

As well as the method of extraction, either by brewing in water, or by the organic solvents (ethanol) to an influence on the degree of toxicity of the excerpt.

Our results are encouraging, this counterpart the domain of research remains opened in order to determine concentrations most poisonous and to specify the embryonnaires stages where intervene this toxicity.

**Mots clés :** *Daphne gnidium*.L - gestation - toxicité - Daphnetoxine - mezereine - la mortalité - avortement.

**Laboratoire de recherche :**

Faculté des sciences, université de Jijel