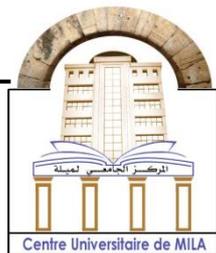


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

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 :**

**Screening phytochimique et activités biologiques de *Nerium oleander* L.**

**Présenté par :**

- **CHAMBI Sarra**
- **LATAFI Romissa**

**Devant le jury :**

<b>Présidente :</b>	<b>NOUICHI Sihem</b>	<b>MCB</b>	<b>Centre universitaire Mila</b>
<b>Examinatrice :</b>	<b>BENMAKHLOUF Zoubida</b>	<b>MCA</b>	<b>Centre universitaire Mila</b>
<b>Promoteur :</b>	<b>TALHI Fahima</b>	<b>MCB</b>	<b>Centre universitaire Mila</b>

**Année Universitaire : 2022/2023**

## *Remerciements*

*Nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant qui nous éclaire le bon chemin et de nous avoir accordé la puissance, la volonté et la santé pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promotrice, Mme TALHI Fahima, Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de Ce travail.*

*L'honorable jury composé du Mme NOUICHI Sihem et de Mme BENMAKHOUF Zoubida. Nous les remercions d'avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.*

*Nos collègues et les techniciens de laboratoire, tous les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie et tous les membres du Responsable de l'laboratoire des analyses médicale Dr. MIROUH.A à Ferdjioua.*

*Nous remercions particuliers à Mme BENSERRADJ Wafa et Mme AMMARI Salima pour leur aide.*

*Merci*

# *Dédicace*

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que*

*je dédie:*

*A mes chers parents: **Abderrezak, Malika***

*Qui m'ont tout donné sans rien en retour Qui ont toujours cru en moi*

*Je vous aime énormément.*

*A mes chères frères : **Ishak, Rabeh** et ma seule sœur : **Amel** et ses filles, **Ghezlan**  
et **Ghofran**, pour leur soutien physique et moral...pour moi.*

*A ma promotrice **TALHI Fahima***

*A toute ma famille*

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à  
l'université.*

*A mon binôme Sara*

*A tous ceux que j'aime*

*Merci*

**ROMISSA**

## *Dédicace*

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que*

*je dédie:*

*A mes chers parents: Abderrezak, Razika*

*Qui m'ont tout donné sans rien en retour qui ont toujours cru en moi*

*Je vous aime énormément.*

*A mon seul frère : Imad et mes sœurs : Bouchra, Meriem, Farah pour leur  
amour, soutien et encouragements*

*A mes neveux et nièces : Djoud, Djouri et sanad*

*A ma promotrice TALHI Fahima*

*A toute ma famille*

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours  
de mon cursus à l'université.*

*A mon binôme Romissa*

*A tous ceux que j'aime*

*Merci*

*Sara*

## Résumé

*Nerium oleander* L. est une plante appartenant à la famille des Apocyanaceae, c'est un arbuste à feuilles persistantes, largement utilisé à des fins médicinales. L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique et l'activité biologique de deux extraits des feuilles de *Nerium oleander* L.

L'extraction par des solvants organiques a mis en évidence deux extraits de polarité différente : l'extrait méthanolique et l'extrait chloroformique.

Le screening phytochimique réalisé sur les deux extraits a révélé la présence de quelques métabolites secondaires et l'absence de d'autres.

L'activité antioxydante des deux extraits a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus montrent que les deux extraits de *Nerium oleander* L. sont dotés d'une faible activité antioxydante.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits a été effectuée par la méthode de diffusion sur milieu solide contre des bactéries Gram positif et Gram négatif ; les résultats obtenus montrent que les deux extraits des feuilles de laurier-rose n'ont pas d'effet contre les bactéries *Bacillus cereus*, *E .coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

**Mots clés:** Activité antioxydante, *Nerium oleander* L., métabolites secondaires, screening phytochimie, activité antibactérienne.

## *Abstract*

*Nerium oleander* L. is a plant belonging to the Apocyanaceae family, widely used for medicinal purposes. The aim of our work is to study the phytochemistry and biological activity of two extracts of *Nerium oleander* L. leaves.

Extraction with organic solvents revealed two extracts of different polarity: the methanolic extract and the chloroformic extract.

Phytochemical screening of both extracts revealed the presence of some secondary metabolites and the absence of others.

The antioxidant activity of both extracts was assessed using the DPPH free radical scavenging method. The results obtained indicate that both *Nerium oleander* L. extracts have low antioxidant activity.

Evaluation of the antibacterial activity of the two extracts was carried out using the diffusion method on solid medium against Gram-positive and Gram-negative bacteria; the results obtained show that the two *oleander* leaf extracts have no effect against bacterial strains (*E. coli*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*).

Key words: antioxidant activity, *Nerium oleander* L., secondary metabolites, phytochemical screening, antibacterial activity.

## ملخص

*Nerium oleander L* هو نبات ينتمي إلى عائلة Apocyanaceae ، وهو شجيرة دائمة الخضرة، تستخدم على نطاق واسع للأغراض الطبية. الهدف من عملنا هو الدراسة الكيميائية النباتية والنشاط البيولوجي لاثنين من مستخلصات لأوراق نبات الدفلى *Nerium oleander L*.

أظهر الاستخلاص بالمذيبات العضوية عن مستخلصين مختلفين القطبية: مستخلص الميثانول ومستخلص الكلوروفورم.

كشف الفحص الكيميائي النباتي الذي أجري على المستخلصين عن وجود بعض المستقبلات الثانوية وعدم وجود البعض الآخر.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين بطريقة إزالة الجذور الحرة DPPH. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن مستخلصي الدفلى لهما نشاط مضاد للأكسدة ضعيف.

تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصين بطريقة الانتشار المتوسطة الصلبة ضد البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلصي أوراق الدفلى ليس لهما تأثير على السلالات البكتيرية (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* و *E.coli*)

الكلمات المفتاحية: نشاط مضادات الأكسدة ، *Nerium oleander L* ، المستقبلات الثانوية ، الفحص الكيميائي الخلوي ، النشاط المضاد للبكتيريا.

*Table des matières*

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

*Partie I : Synthèse bibliographique*

I - Les plantes médicinales.....	4
Introduction .....	4
1- L'histoire des plantes médicinales .....	4
2- Types de plantes médicinales .....	5
2-1- Plantes spontanées .....	5
2-2- Plantes cultivées .....	5
3- Modes d'utilisation des plantes médicinales .....	6
4- Caractéristiques des plantes médicinales.....	7
5- Importance des plantes médicinales .....	8
II- Généralité sur <i>Nerium oleander</i> L.....	9
1- Famille des Apocynaceae .....	9
2- Genre <i>Nerium</i> .....	9
3- L'espèce <i>Nerium oleander</i> L.....	10
4- Description botanique.....	11
5- Classification botanique .....	13

6- Synonymes .....	14
7- Origine et répartition géographique.....	14
8- Conditions de croissance .....	15
9- Les variétés de <i>Nerium oleander</i> L. ....	15
10- Composition chimique.....	16
11- Utilisations médicinales et traditionnelles à travers le monde .....	18
12- Propriété pharmacologique du genre <i>Nerium</i> .....	19
13- Toxicité du <i>Nerium oleander</i> L. ....	20
14- Les activités biologiques .....	20
a) Activité antimicrobienne.....	20
b) Activité immuno-modulatrice.....	21
c) Effet diurétique .....	21
d) Activité antidiabétique .....	21
e) Activité antioxydante .....	22
f) Activité anticancéreuse .....	22
g) Activité anti-inflammatoire.....	22
h) Activité larvicide.....	22
i) Activité toxique.....	23
j) Activité insecticide .....	23
III- Les métabolites secondaires.....	24
Introduction.....	24
1- Définition de métabolite secondaire .....	24
2- Classification des métabolites secondaires des plantes médicinales.....	24
2-1- Les composés phénoliques .....	24
2-2- Les Alcaloïdes .....	25
2-2-1- Classification .....	26
2-3- Terpènes.....	26
2-3-1- Classification de terpènes .....	27
3- Les métabolites secondaires de <i>Nerium oleander</i> L.....	28

---

IV - Le stress oxydatif.....	30
1- Les radicaux libres.....	30
1-1- Définition.....	30
2- Espèces réactives de l’oxygène (ERO).....	30
3- Dommages induits par les espèces réactives de l’oxygène (ERO).....	30
3-1- Oxydation des acides nucléiques.....	30
3-2- Oxydation des lipides.....	31
3-3- Oxydation des protéines.....	31
4- Stress oxydant.....	32
5- Antioxydants.....	32
6- Utilisations des antioxydants.....	32
7- Les antioxydants d'origine végétale.....	32
7-1- Vitamine C.....	32
7-2- Vitamine E ou tocophérol.....	33
7-3- Les composées phénoliques.....	33
7-4- Les caroténoïdes.....	33

*Partie II : Étude expérimentale*

I- Matériel et méthodes.....	35
1- Matériel végétal.....	35
1-1- Préparation du matériel végétal.....	35
2- Méthodes utilisées.....	36
2-1- Préparation des extraits organiques.....	36
2-2- Screening phytochimique.....	36
2-3- Activité antioxydante (méthode du DPPH).....	38
2-4- Activité antibactérienne.....	38
II- Résultats et discussion.....	41
1- Le screening phytochimique.....	41
2- Activité antioxydante par diphenyle-picryl-hydrazyl (DPPH).....	44

3- Activité antimicrobienne .....	45
Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	51
Annexes	

*Liste des abréviations*

<b>% :</b>	Pourcentage
<b>Abs :</b>	absorbance
<b>Asc :</b>	Acide Ascorbique
<b>BN :</b>	Bouillon nutritif
<b>DMSO :</b>	Diméthyle Sulfoxyde
<b>DO :</b>	Densité optique
<b>DPPH :</b>	2,2 diphényl-1-picryl hydrazyl
<b>ECh :</b>	Extrait chloroformique
<b>EMe :</b>	Extrait méthanolique
<b>ERO :</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>FeCl<sub>3</sub> :</b>	Chlorure ferrique
<b>h :</b>	Heure
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> :</b>	Acide sulfurique
<b>IC<sub>50</sub> :</b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>MH :</b>	Miller Hinton
<b>min :</b>	Minutes
<b>NaOH :</b>	Chlorure de sodium
<b>NO :</b>	Nerium oleander
<b>Sm :</b>	Solution mère
<b>UV :</b>	Ultra Violet
<b>Vit.C :</b>	Vitamine C

*Liste des figures*

<b>Figure N°01 :</b> <i>Nerium oleander</i> L.....	10
<b>Figure N°02 :</b> Feuille de <i>Nerium oleander</i> L. ....	11
<b>Figure N°03 :</b> Fleurs de <i>Nerium oleander</i> L.....	11
<b>Figure N°04 :</b> Fruits de <i>Nerium oleander</i> L. ....	12
<b>Figure N°05 :</b> Graines de <i>Nerium oleander</i> L. ....	12
<b>Figure N°06 :</b> Tige de <i>Nerium oleander</i> L. ....	13
<b>Figure N°07 :</b> Répartition géographique de <i>Nerium oleander</i> L. dans le monde.....	15
<b>Figure N°08 :</b> Structure de base des polyphénols.....	25
<b>Figure N°09 :</b> Exemples de quelques monoterpènes.....	27
<b>Figure N°10 :</b> Exemples de quelques sesquiterpènes.....	27
<b>Figure N°11 :</b> Situation géographique de la zone de prospection .....	35
<b>Figure N°12 :</b> Poudre des feuilles de laurier rose ( <i>Nerium oleander</i> L.) .....	35
<b>Figure N°13 :</b> Différentes étapes d'extraction.....	36
<b>Figure N°14 :</b> Ensemencement et dépôt des disques.....	40
<b>Figure N°15 :</b> Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de différents extraits de <i>N. oleander</i> L.....	44
<b>Figure N°16 :</b> Photos de sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits et au témoin positif (germination) et négatif (DMSO).....	46

*Liste des tableaux*

**Tableau I** : Les différentes variétés de Nerium ..... 16

**Tableau II** : Constituants chimiques des différentes parties de *Nerium oleander* L..... 17

**Tableau III** : Principales utilisations de *Nerium oleander* L. en médecine traditionnelle selon les Pays. .... 19

**Tableau IV** : Screening phytochimique des feuilles de *Nerium Oleander* L..... 41

**Tableau V** : Valeur de IC50 des extraits bruts et témoin déterminées par le test au DPPH. ..44

**Tableau VI** : Les résultats de tests de sensibilité des souches Bactériennes vis-à-vis des extraits. .... 45

# *Introduction*

## **Introduction**

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes comme médicaments pour soulager les symptômes et traiter les maladies. Il est fascinant de savoir que l'homme a utilisé près de 5 000 espèces de plantes différentes comme médicaments ou dans l'industrie médicale tout au long de l'histoire, ce qui représente environ 20 % des plantes vasculaires utilisées dans la médecine contemporaine, directement ou indirectement par l'homme (**Dardona et Shahabuddin, 2022**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des décennies dans les systèmes de soins traditionnels pour la composition des recettes médicinales (**Telefo et al., 2011; Lawin et al., 2016**). Actuellement, 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 Essou 2011**). Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales (**Akharaiyi et Boboye, 2010**). De nombreux pays en développement dans le monde sont dotés d'importantes ressources en produits naturels. Ce patrimoine prestigieux, qui comprend les plantes médicinales, est utilisé depuis des siècles par les populations indigènes comme médicaments pour soulager les maladies, comme produits de soins, comme parfums, comme arômes, comme édulcorants et comme produits de lutte contre les parasites (**Omara, 2020**). De ces nombreuses plantes médicinales on cite *Nerium oleander L.*

L'une des plantes médicinales les plus couramment utilisées est *N. oleander L.* de la famille des Apocynaceae, un arbuste avec de longues feuilles vert foncé et beaucoup de fleurs simples ou doubles qui peuvent parfois avoir un parfum fleuri (**Koeser et al., 2017**). Diverses études montrent que cette plante est originaire de la région méditerranéenne et du sous-continent indo-pakistanaï, et qu'elle peut être trouvée dans une variété de régions géographiques et environnementales (**Ebrahimi et al., 2018**). Les études pharmacologiques ont révélé que le laurier-rose possède des propriétés antioxydantes, anticancéreuses, antimicrobiennes, antiparasitaires, anti-inflammatoires, analgésiques dermatologiques, hypolipidémiques, antidiabétiques, cardiovasculaires et nerveux centraux. (**al-snafi, 2020**).

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude phytochimique sur deux extraits des feuilles de laurier rose, et de tester leurs pouvoir antioxydant et antibactérien.

Notre étude s'articule autour de deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique, elle contient des notions générales sur les plantes médicinales dans le premier chapitre, le deuxième chapitre est consacré à la botanique de la plante étudiée et les métabolites secondaires dans le troisième chapitre, et enfin le stress oxydant dans le quatrième chapitre.
- La deuxième partie est une étude expérimentale qui comprend un chapitre décrivant le matériel végétal utilisé, les méthodes et les protocoles expérimentaux utilisés, ainsi que le chapitre qui englobe les résultats obtenus et leurs discussions.

Le travail est clôturé par une conclusion dont laquelle on a met l'essentiel de notre travail et des perspectives pour les réaliser au future.

*Partie I :*  
*Synthèse bibliographique*

## **I - Les plantes médicinales**

### **Introduction**

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'elle est présentée pour ses propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Chabrier, 2010**).

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

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs substances; elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées comme médicaments, une croyance bien réponde est que toute plante soigne. Plus de 80 % des populations africaine ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé, le continent africain regroupe des plantes médicinales très diversifiées. En effet sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales. Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicinale moderne (**Salhi et al., 2010**).

### **1- L'histoire des plantes médicinales**

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies, elle utilise les feuilles, fleurs et sommités fleuries, racines ou plantes entières. L'utilisation des plantes se fait par ingestion interne ou application externe sous la forme de tisanes, gélules, alcoolats et teintures et d'extraits.

Il y a 60 000 ans, l'homme de Neandertal utilisait les plantes, et les chamans ont joué un rôle important dans la collection, l'apprentissage à l'utilisation et la transmission de la connaissance des plantes durant l'évolution d'*Homo Sapiens*. Les plantes étaient employées largement dans l'alimentation, la gestion de certaines maladies et aussi pour atteindre un

monde plus spirituel. Puis les Grecs avec Hippocrate, Aristote, Théophraste, Galien, Dioscoride et les Romains ont enseigné l'art de traiter par les plantes en colligeant les connaissances avec plus de 500 plantes médicinales répertoriées.

En 529, le pape Grégoire enseigna en France la médecine par les plantes, et ce n'est qu'aux alentours du début du IXe siècle que le Moyen-Orient, l'Afrique du nord et l'Espagne avec l'université de Cordoue ont repris l'enseignement de ces connaissances, puis Avicenne (980-1037) distilla les premières huiles essentielles (**Létard et al., 2015**)

Jusqu'au XIXe siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la «pharmacie du bon Dieu» pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du quinquina, la digitaline de la digitale, etc.). Poursuivant leurs recherches, au début du XXe siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques. Désormais, croyait-on, on allait prescrire exclusivement des médicaments issus des cornues, les plantes ne servant plus que de réserves à molécules chimiques utiles. Récemment, des médecins et des professeurs dynamiques ont créé des centres de formation en phytothérapie (**Larousse, 2001**).

## **2- Types de plantes médicinales**

### **2-1- Plantes spontanées**

Beaucoup de plantes médicinales importantes se rencontrent encore à l'état sauvage. Les plantes spontanées représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché. Leur répartition dépend du sol et surtout du biotope (humidité, vent, température et l'intensité de la lumière... etc.). Dans certain cas, certaines plantes se développent dans des conditions éloignées de leur habitat naturel (naturel ou introduite). Dans ce cas leur degré de développement est modifié, ainsi que leur teneur en principes actifs (**Chabrier, 2010**).

### **2-2- Plantes cultivées**

Pour l'approvisionnement de marché des plantes médicinales et la protection de la biodiversité floristique, le reboisement des plantes médicinales est indispensable :

- Disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la forêt pour détruire les espèces sauvages.
- Apports substantiels de revenus pour les paysans qui les cultivent.
- Disponibilité prévisible des plantes médicinales au moment voulu et en quantité voulue.

- Disponibilité et protection des plantes actuellement rares ou en voie de disparition dans la nature.
- Contrôle plus facile de la qualité, de la sécurité et de la propreté des plantes. La teneur en principes actifs d'une plante médicinale varie selon l'organe considéré, l'âge de la plante, l'époque de l'année et l'heure de la journée. Il y a donc une grande variabilité dont il faut tenir compte pour récolter au moment le plus opportun (**Bouacherine et Benrabia, 2017**).

### **3- Modes d'utilisation des plantes médicinales**

Les modes d'utilisation des plantes sont divers selon qu'elles sont prescrites : par voie interne (absorption orale, gargarisme, bains de bouche), ou externe (cataplasme, lotion, gargarisme, bain de bouche, bain injection cavités naturelles, fumigation).

Les principales modes d'extraction des éléments actifs les plus fréquemment employés sont :

**L'infusion** qui utilise l'eau, laquelle solubilise les sels minéraux, pectines, mucilages et alcaloïdes à l'état de sels. L'eau chaude solubilise partiellement les huiles essentielles. Elle permet l'extraction des principes actifs par mise en contact avec de l'eau chaude portée à ébullition de plantes sèches ou fraîches, puis refroidissement spontané. Les plantes plus ligneuses nécessitent un temps d'infusion prolongé.

**La fumigation** est l'utilisation des vapeurs ou fumées de l'ébullition des plantes ou de leur combustion.

**La teinture** est obtenue en laissant macérer 3 semaines les plantes dans de l'alcool à 95° (éthanol) avec décantation, pression et filtrage. Compte tenu de la teneur en eau des plantes, le titre alcoolique est ramené aux alentours des 70°. Le rapport final de la macération est de (1 :10), soit 10 g de teinture mère équivalant à 1 g de plante sèche. Il faut se méfier de l'alcool chez l'enfant et la posologie est de règle 1 goutte par kilo et par jour. La quantité d'alcool ingérée pour 100 gouttes par jour est équivalente à 2 ml d'alcool à 70° soit 10 ml de vin à 14°. On peut utiliser du vin (vin de gentiane) ou de l'huile (huile de serpolet) à la place de l'alcool dans certains cas. A partir de la teinture mère qui est diluée et dynamisée, sont produites les dilutions homéopathiques des plantes.

**Les extraits** fluides classiques ou glycéринés sont obtenus par extraction des principes actifs dans des mélanges successifs aux concentrations d'alcool croissantes, puis ils sont remis ou pas dans une solution neutre glycéринée.

**Les huiles essentielles** sont obtenues par distillation d'une plante dans de l'eau ou par entraînement à la vapeur d'eau. Elles contiennent une concentration très élevée de principe actif comparé à la plante fraîche mais ne contiennent pas le totum de la plante. Les hydrolats sont des sous-produits de la distillation d'une plante dans de l'eau lors de la production d'huile essentielle.

**La gélule** est une forme récente de prise d'un traitement phytothérapeutique avec des enveloppes 100% végétales ; elle permet une haute concentration de produits actifs avec des poudres micronisées ou des nébulisas. La quantité de plante dans une gélule est limitée à 500/750 mg de plante séchée, ce qui peut nécessiter la prise d'un nombre important de gélules.

**Les poudres** sont obtenues par séchage et broyage. La plante entière se conserve très bien après dessiccation, car la cellule végétale est adaptée à la carence en eau, le broyage quant à lui est susceptible d'altérer la stabilité des principes actifs dans le temps. La qualité du broyage est un élément important pour avoir une poudre de qualité, la plus fine possible (broyage par marteau, ciseau, disque) (Létard et al., 2015).

#### **4- Caractéristiques des plantes médicinales**

Les plantes médicinales ont de nombreuses caractéristiques lorsqu'elles sont utilisées comme traitement (Rasool et al., 2012)

- Médecine synergique: chaque plante a de nombreux composés qui peuvent interagir simultanément conduisant soit à se complètent ou endommagent les fonctions les unes des autres, ou neutraliser leurs éventuels effets négatifs.

- Soutien de la médecine officielle : les ingrédients des plantes peut être utilisés avec des produits chimiques pour obtenir le résultat souhaité.

- Médecine préventive : certains composants des plantes on s'est avéré efficace pour prévenir ou réduire le risque de certaines maladies (par exemple la grippe), et cela peut aider à réduire le fardeau et le coût de l'utilisation de remèdes chimiques (Ali haider, 2019).

#### **5- Importance des plantes médicinales**

Les plantes médicinales ont commencé à être considérées comme une source essentielle dans le traitement/la prévention de divers types de maladies. Chaque plante se compose de plusieurs ingrédients importants qui peuvent être utilisé dans le domaine médical, et peut être impliqué dans le développement de différents types de médicaments. Beaucoup de pays sous-

développés ou même de pays développés ont utilisé la phytothérapie pour maintenir le bien-être humain, état de santé personnel et le traitement de certains types de maladie (**Randrianasolo et al., 2015**).

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont une place primordiale dans la vie quotidienne de l'homme parce qu'elles sont utilisées pour se nourrir et se soigner. En Algérie à l'image de nombreux pays, se trouve une réserve de remèdes à base de plantes, de savoir et savoir-faire qui s'inscrivent dans le cadre de la médecine traditionnelle à usage humain contre plusieurs maladies à titre d'exemple, l'ail, le gingembre, la menthe, l'origan et l'absinthe sont utilisés pour des fins thérapeutiques et aussi pour usage vétérinaire (**Gherbi et al., 2015**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments; non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actif (**Decaux, 2002**).

## **II- Généralité sur *Nerium oleander* L.**

### **1- Famille des Apocynaceae**

La famille des Apocynaceae ou Apocynacées est une famille de plantes dicotylédones de l'ordre des Gentianales. Ce sont, pour la plupart, des lianes ou des plantes herbacées, quelques arbres ou arbustes, à latex, à feuilles persistantes, des régions tempérées à tropicales (**Judd et al., 2002**). La famille comporte plus de 180 genres et 1300 espèces, se développant principalement dans la zone intertropicale et répartis en 4 sous-familles (**Hostettman et al., 2000**).

Cette famille comprend de nombreuses plantes ornementales ainsi que des plantes médicinales. En Algérie on peut citer l'exemple du laurier rose.

### **2- Genre *Nerium***

*Nerium* est un genre appartenant à la famille des Apocynaceae comprenant une seule espèce *Nerium oleander* L. (**Kadrim et yahia, 2016**), que l'on trouve en Afrique du Nord, dans l'est du bassin méditerranéen et en Asie du Sud-Est, et dans les lits de rivières asséchées. (**Kadrim et yahia, 2016 ; Ayouaz et al., 2023**). Il pousse dans les zones humides le long des rivières jusqu'à 2000 m et se trouve dans de nombreuses régions du monde avec un climat méditerranéen ou subtropical (**Bañon et al., 2006**). On le trouve principalement sur les alluvions et les terrains rocheux, le long des oueds dans le nord du Sahara et dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (**Chopra et al., 1971**).

Le nom latin *Nerium* vient du grec "nerion" qui signifie "humide", indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides. Le nom spécifique de laurier-rose vient de l'italien "oleandro" qui vient du latin "olea" qui se réfère à l'olivier, en référence à la ressemblance du feuillage de laurier avec celui de l'olivier (**Sinha et Biswas, 2016**). Il est largement utilisé comme plante ornementale dans les paysages, les parcs et les jardins, et le long des routes en raison de sa floraison abondante qui dure longtemps et de sa rusticité modérée. Le laurier-rose est le plus répandu, et ses fleurs séduisantes le rendent particulièrement dangereux en cas d'ingestion accidentelle (**Farooqui et Tyagi, 2018**).

Une quantité considérable de travaux a été réalisée et l'isolement d'un certain nombre de métabolites secondaires a été rapporté à partir du genre *Nerium*. Bien que les triterpénoïdes soient les principaux constituants de ce genre, d'autres métabolites secondaires, tels que les prégnanes, les cardénolides (**Ekalu et al., 2019 ; Omara et al., 2020**), les glycosides

cardiaques (Ekalu et al., 2019) ont également été fréquemment isolés et caractérisés (Ayouaz et al., 2023).

### 3- L'espèce *Nerium oleander* L.

Le *Nerium oleander* L. (Syn. *N. indicum*), est un arbuste appartient à la famille des Apocynaceae, communément appelé laurier-rose (appelée localement Défla), en raison de sa ressemblance superficielle (non apparentée) avec l'olive *Olea*. De nombreux cultivars de *Nerium oleander* L. ont été sélectionnés et développés par des particuliers, des pépinières et des institutions publiques. Cette plante peut être propagée par graines mais, étant allogame et fortement hétérozygote, elle présente une grande variabilité dans les populations de semis (Ebrahimi et al., 2018).

Le *Nerium oleander* L. est une plante connue depuis des siècles pour son utilisation en médecine ou comme bois de chauffage. C'est une plante très toxique pour tous les mammifères.

A ce titre leur utilisation en phytothérapie est limitée à l'usage externe. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle chinoise, pour stimuler les muscles cardiaques, soulager les douleurs et comme insecticide ( ShanYu et al., 2004) (figure N°01).



**Figure N°01 : *Nerium oleander* L. (Originale, Centre universitaire Mila 2023)**

#### 4- Description botanique

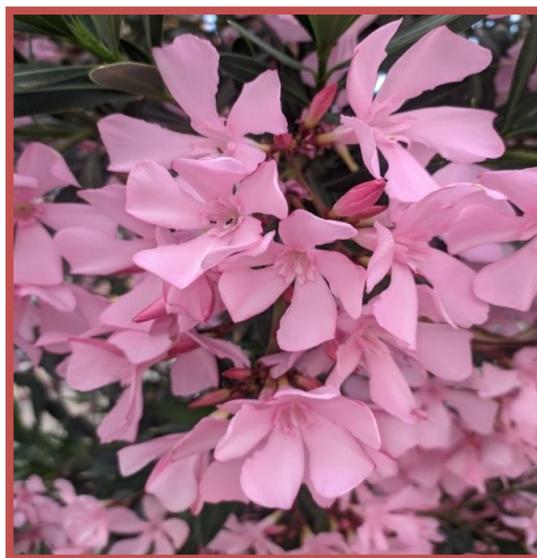
*N. oleander* L. est un petit arbuste à feuilles persistantes ou un arbre densément ramifié de 2-5 m de hauteur (Sinha et Biswas, 2016; Farooqui et Tyagi, 2018). Ses caractéristiques morphologiques sont les suivantes :

- **Les feuilles** : opposées ou verticillées par 3, longuement lancéolées (8-14 x 5-2.5cm), coriaces, à nervures secondaires pennées, très nombreuse, serrées (Figure N°02).



**Figure N°02 : Feuille de *Nerium oleander* L. (Originale, 2023)**

- **Les fleurs** : en corymbes terminaux, ont une corolle infundibuliforme à gorge rose s'évasant en 5 lobes étalés et ornés d'un appendice à 3-4 dents courtes ; elles s'épanouissent de juin à septembre, sont de teinte rose ou blanche, disposées en corymbe (Delille, 2007) (Figure N°03).



**Figure N°03 : Fleurs de *Nerium oleander* L. (Originale, Centre universitaire Mila 2023)**

- **Les fruits** : consiste en un follicule étroit de 7,5 à 17,5 cm de long et s'ouvre pour disperser des graines duveteuses (Sinha et Biswas, 2016) (Figure N°04).



**Figure N°04** : Fruits de *Nerium oleander* L. (Originale, Centre universitaire Mila 2023)

- **Les graine** : duveteuse, est surmontée d'une aigrette sessile qui en facilite la diffusion (Hussain et al., 2004) (Figure N°05).



**Figure N°05** : Graines de *Nerium oleander* L. (Originale, Centre universitaire Mila 2023)

- **Les tiges** : Sont érigées et nombreuses pouvant atteindre 5 m de haut (Figure N°06).



**Figure N°06 : Tige de *Nerium oleander* L. (Originale, Centre universitaire Mila 2023)**

- **Racines** : Ces plantes ont un système racinaire étendu et sont souvent utilisées pour stabiliser le sol dans les zones plus chaudes (**Zibbu et Batra, 2010 ; Sinha et Biswas, 2016**).

#### **5- Classification botanique**

Selon Linné (1753) *Nerium oleander* L. appartient au :

<b>Royaume</b>	Plantae
<b>Sous royaume</b>	Viridiplantae, Streptophyta
<b>Super division</b>	Embryophyta
<b>Division</b>	Tracheophyta
<b>Subdivision</b>	Spermatophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Superordre</b>	Asteranae
<b>Ordre</b>	Gentianales
<b>Famille</b>	Apocynaceae
<b>Genre</b>	<i>Nerium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Nerium oleander</i> L.

## 6- Synonymes

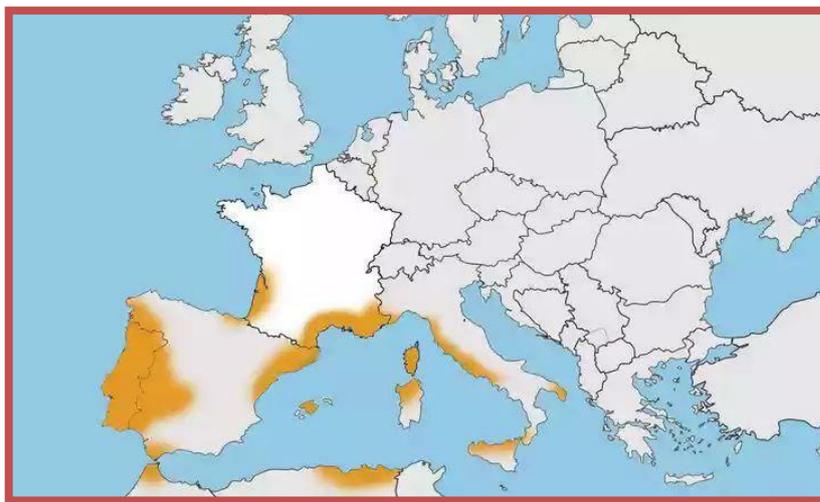
*Nerium oleander* L. est connu sous différentes dénominations communes selon les pays et les régions considérées (Al-Snafi, 2020):

Afrique	Selonsroos
Arabe	Difla, Ward Al-Hemar, Sim Al-Hemar
Anglais	Oleander, Rose bay, Rose laurel
Français	Oleander
Allemand	Oleander
Japon	kyōchiku-tō
Portugal	Espirradeira, oleandro
Espagne	Adelfa, Balandre, Laurel rosa, Pascua

## 7- Origine et répartition géographique

*Nerium oleander* L. est une plante originaire d'Europe et d'Afrique et elle se trouve couramment dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Cette plante est cultivée dans les régions plus septentrionales, elle pousse spontanément sur les berges rocheuses des rivières, parfois même dans les zones côtières, généralement dévolues à des espèces halophiles. Elle s'adapte à la sécheresse et est très décorative (Bruneton, 2001).

Cette plante se distribuait à l'origine dans la région subtropicale de l'Asie et de la Méditerranée, mais elle pousse maintenant dans de nombreuses régions du monde, notamment aux États-Unis, en Australie, en Chine, dans les pays du Moyen-Orient (Derwich et al., 2010) et dans différents lieux géographiques et écologiques. Elle était distribuée en Afrique (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie, Niger), en Asie (Émirats arabes unis, Afghanistan, Chypre, Iran, Irak, Palestine, Jordanie, Liban, Syrie, Turquie, Inde, Népal, Pakistan), et Europe (Albanie, Croatie, Grèce, Italie, Malte, France, Portugal, Espagne) et cultivé dans de larges zones (Sinha et Biswas, 2016) (Figure N°07).



**Figure N°07 : Répartition géographique de *Nerium oleander* L. dans le monde  
(Les Jardins de La Pascalinette ,2022)**

#### **8- 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. Il est très résistant à la sécheresse mais s'accommode aux climats tropicaux humides, il est sensible au froid (**Benston, 1984 ; Aubineau et al., 2002**). 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 (**Benston, 1984 ; Aubineau et al., 2002**).

#### **9- Les variétés de *Nerium oleander* L.**

Elle se caractérise par de nombreuses variétés ornementales qui se différencient par la couleur de ses fleurs ; on trouve des fleurs roses, rouges, blanches et jaunes et qui peuvent être simple ou complexe (**Huxley, 1992**). Les fleurs dégagent une odeur douceâtre à l'état frais et sont peu odorantes une fois séchées (**Jouve, 2009**) (**Tableau I**).

**Tableau I :** Les différentes variétés de Nerium (Huxley, 1992)

<p><i>Nerium oleander</i> '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>Neriumoleander</i> 'Cavalaire' syn. 'Mme Allen' syn. 'Mme Planchon' (4 à 6 m)</p>	

## 10- Composition chimique

Le dépistage phytochimique préliminaire montre que la plante est riche en métabolites primaires notamment les glycosides et les stéroïdes cardioactifs comme les glycosides cardiaques et les cardénolides qui sont les composants caractéristiques de cette plante. Les

graines contiennent des glucosides (oléandrine, odorosides, adigoside), l'écorce contient des glucosides (rosaginoside, nerioside, corteneroside) et les racines contiennent des stéroïdes (Al-Snafi, 2020).

La quantité maximale d'oléandrine se trouvait dans les racines, suivies des feuilles, des tiges puis des fleurs. Les concentrations d'oléandrine dans les parties de la plante variaient de 0,18 à 0,31mg/g de poids sec (10-18%) dans les feuilles, et de 0,120 à 23mg/g de poids sec (9-20%) dans la tige, et de 0,34 à 0,64mg/g de poids sec (10-18%) dans les racines (Tayoub et al., 2014).

Les études phytochimiques effectuées sur le *N. oleander* L. ont permis d'isoler également un grand nombre de métabolites secondaires tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des phénols, des saponines, des pregnanes, des triterpénoïdes et des triterpènes (Chaudhary et al., 2015).

Une grande quantité des polyphénols est présente dans les feuilles de *N. oleander* L. L'acide cinnamique est le composant phénolique principal. Les autres composants phénoliques sont l'épicatéchine, la catéchine et l'acide chlorogénique. L'acide oléandrique et un nouveau triterpène isolé des feuilles fraîches de *N. oleander* L. avec plusieurs flavones (0,5%) et huiles volatiles (Ebrahimi et al., 2018). Le tableau II résume la composition phytochimique des différentes parties de *N. oleander* L. selon plusieurs études effectuées.

**Tableau II :** Constituants chimiques des différentes parties de *Nerium oleander* L.

Partie de plante	Groupe de substance	Substances isolées
Feuilles	Cardénolides (Sinha et Biswas, 2016).	L'eneridiginoside, le nerizoside, le neritaloside , l'odoroside-H, roside-H, adynerin, folinerin, kaneroside, neriaside, oleandrin .
	Triterpènes (Farooqui et Tyagi, 2018)	Les acides nériucoumarique et isoneriucoumarique, et triterpènes de type ursane 1, oléane 2 et dammarane 15, l'acide 3beta-hydroxy-12-ursen-28-oïque, acideoléanolique, acide bétulinique, bétuline, taraxasterane, 20beta, 28-époxy-28 alphaséthoxytaraxasteran-3beta-ol et 20 beta, 28-époxytaraxaster-21-en-3beta-ol, ursane.

	Glycosides <b>(Farooqui et Tyagi, 2018)</b>	l'oléandrine, la nériine, les cardénolides, le gentiobiosyl et l'odoroside.
	Alcaloïdes <b>(Ebrahimi et al., 2018)</b>	Méthyle 6-dioxy-2-o méthyle, $\beta$ -d-allopyranoside, cycloheptasiloxane, tétradécaméthyle, cyclooctasiloxane, l'hexadécaméthyle, cyclononasiloxane, l'octadécaméthyle, cyclodécasiloxane, l'eicosaméthyle.
<b>Racines</b>	Cardénolides <b>(Paris et al., 1971 ; Hanson, 1985 ; Huq et al., 1999)</b>	neriumogenin- $\beta$ , neriumoside A-1, neriumoside A-2, neriumoside B-1, neriumoside B-2, neriumoside C-1.
<b>Graines</b>		oleandrin, odorosides
<b>L'écorce</b>		graciloside, neriodorein, neriodorin, odorobioside - K, odoroside-A, odoroside-B, 1-strophanthin.
<b>Graines</b>	Glycosides <b>(Zibbu et Batra, 2010)</b>	oléandrine, odorosides, adigoside.
<b>L'écorce</b>		rosaginoside, nerioside, corteneroside.
<b>Différent parties</b>	Flavonoïdes <b>(Hanson, 1985)</b>	campherol-3rhamnoglucoside, quercetin, quercetin-3-rhamnoglucoside, rutin.

## 11- Utilisations médicinales et traditionnelles à travers le monde

*Nerium oleander* L. est employée en médecine traditionnelle. Les feuilles de cette plante étaient extrêmement utilisées dans le traitement de certaines maladies chroniques et obstinées de la peau, notamment la lèpre et l'alopecie. La poudre des feuilles était utilisée comme tabac pour traiter l'épilepsie. La racine réduite en poudre avec de l'eau, et appliquée pour soulager les maladies vénériennes et pour le traitement des hémorroïdes **(Khare, 2004)**. Le tableau III résume les différents usages en médecine traditionnelle de *Nerium oleander* L. à travers le monde.

**Tableau III** : Principales utilisations de *Nerium oleander* L. en médecine traditionnelle selon les Pays.

Parties Utilisées	Pays	Indications / (références)
Feuilles ou séchages	Afrique du sud	Abortif ( <b>Adom et col., 2003</b> )
	Algérie	Nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre les caries dentaires ( <b>Maftah et al, 2003</b> )
	Iran	Cardiotonique et diurétique ( <b>Adom., 2003</b> ).
	Maroc	Antidiabétique, abortif, démangeaison, mal de tête ( <b>Bnouham et al., 2002</b> ), antigel, contre la chute des cheveux et l'eczéma ( <b>Oukal, 2008</b> ).
	Tanzanie et Turquie	Antibactérien ( <b>Erdemoglu et col., 2003 ; Adom, 2003</b> )
Différents organes	Cuba	Cuba ( <b>Adom et col., 2003</b> ).
	Inde et Bangladesh	Antibactérien ( <b>Adom et col., 2003</b> )

## 12- Propriété pharmacologique du genre *Nerium*

Les propriétés du laurier sont connues et utilisées à visées thérapeutiques et suicidaires depuis l'antiquité. (**Bourgeois et al., 2005; Ibrahim et al., 2007 ;Barbosa et al., 2008**). Dans certaines régions du Maroc, en Afrique, les feuilles sont utilisées en macération et en friction externe pour traiter la gale, la chute des cheveux, les poux, le diabète et les maux de dents. (**Lahsissene et al., 2009**). Les racines sont bouillies dans de l'eau et utilisées pour les affections cutanées, l'herpès et la teigne de *N.oleander* L. sont utilisés dans le traitement des ulcères et provoquent également l'avortement (**Hseini et Kahouadji, 2007**). L'écorce est amère et est utilisée comme cathartique, fébrifuge et contre la fièvre intermittente. L'huile préparée à partir de l'écorce de la racine est utilisée dans le traitement de la lèpre et des maladies de peau de nature squameuse. Les graines sont utilisées comme purgatif dans l'hydropisie et les rhumatismes. La racine est un puissant résolutif et est utilisée sous forme d'emplâtres et est appliquée sur les tumeurs en raison de sa nature toxique, elle n'est utilisée qu'en externe (**Farooqui et Tyagi, 2018**). Les feuilles et les fleurs de *Nerium* sont émétiques, cardiotoniques, diaphorétiques, expectorantes, sternutatoires, diurétiques, anticancéreuses,

antibactérien et antifongique. L'extrait hydro-alcoolique et aqueux des fleurs est anti nociceptif et cardiotonique (Zibbu et Batra, 2010 ; Sinha et Biswas, 2016 ; Farooqui et Tyagi, 2018).

En 2011, la **Fédérale Drug Administration (FDA)** a déclaré que l'extrait de laurier-rose pouvait être utilisé sans danger dans le traitement du cancer. Il a également constaté que les cancers de la vessie, colorectal, du sein, du pancréas et de l'appendice étaient traités avec succès, et que celui du pancréas et de l'appendice ont répondu favorablement à l'extrait avec très peu de réaction indésirable ou de cardiotoxicité.

### **13- Toxicité du *Nerium oleander* L.**

*Nerium oleander* L. est une plante toxique par ingestion depuis l'antiquité. Toutes ses parties, en particulier les graines et les racines, qu'elles soient fraîches, séchées ou bouillies, étaient rapportées toxiques. Les principaux composants toxiques sont les glycosides cardiaques. A leurs effets, même une petite quantité de *Nerium oleander* L. peut causer la mort en raison de ses effets sur le cœur (Turan et al., 2006). Il est commun que l'ingestion de *Nerium oleander* L. provoque des signes et des symptômes à la fois cardiaques, gastro-intestinaux et neurologiques : les signes gastro-intestinaux : nausées, vomissements, douleurs abdominales et diarrhée. Les principaux symptômes neurologiques sont: tremblements, somnolence et ataxie. Une hypotension et une perte de conscience peuvent également survenir et aussi des crises d'épilepsie ont été décrites. Les effets cardiaques des glycosides sont dus à une cardiotoxicité (Farkhondeh et al., 2020).

Les symptômes cliniques comprennent des coliques, de la diarrhée, une respiration laborieuse, des tremblements musculaires, de l'ataxie, une incapacité à se tenir debout, un pouls irrégulier et faible, des extrémités froides en raison de la diminution du débit cardiaque, et des convulsions. La consommation de cinq feuilles de *Nerium oleander* L. peut provoquer un empoisonnement mortel. Cependant, il a été signalé qu'une feuille de *Nerium oleander* L. avait des effets toxiques graves chez les enfants et les animaux (Al-Snafi, 2020).

### **14- Les activités biologiques**

#### **a) L'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne de *Nerium oleander* L. a été examinée contre différentes souches de bactéries Gram-positives et Gram-négatives, de levures et de virus (Ali et al., 2010). L'effet de l'extrait éthanolique de feuilles était significatif sur des souches bactériennes telles que *Bacillus subtilis* et *Nyctanthes arbortristis*. Les extraits éthanoliques floraux de *N.*

*oleander* L. ont montré une activité antifongique *in vitro* contre quatre champignons phytopathogènes : *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *F. solani* et *Rizoctonia solani*. L'huile essentielle des fleurs de *N. oleander* L. a montré une activité antibactérienne *in vitro* contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Sinha et Biswas, 2016). Les extraits chloroformique, éthanoliques et méthanoliques de l'écorce, les feuilles et la racine ont été testés contre *B. pumilus*, *B. subtilis*, *S. aureus* et *E. coli*. Les résultats montrent que ces extraits possèdent une activité antibactérienne puissante (Dey et Chaudhuri, 2014).

**b) Activité immuno-modulatrice**

L'effet *in vitro* de l'extrait aqueux de feuilles de *Nerium oleander* L. sur l'activité humorale et phagocytaire et la réponse immunitaire cellulaire *in vivo* ont été étudiés chez le lapin. Le traitement des lapins avec l'extrait à 75 mg/ kg de poids corporel par voie sous-cutanée a non seulement diminué la production d'anticorps, mais a également exercé une inhibition sur la réaction d'hypersensibilité de type retardé et l'activité phagocytaire, tandis que le traitement des lapins à 50 et 25 mg/ kg de poids corporel par voie sous-cutanée a provoqué une stimulation du système immunitaire. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux de feuilles exerce un effet immuno-modulateur marqué sur le système immunitaire des lapins (Al-Farwachi, 2007).

**c) Effet diurétique**

Le principal actif, l'oléandrine, stimule la fonction cardiaque et a également un effet diurétique. L'effet de l'odorine sur le cœur des lapins et des chiens est identique à celui du groupe digitalique, tandis que la nériodine est deux fois plus active que la digitoxine dans une action digitalique similaire à celle de l'oléandrine (Zibbu et Batra, 2010).

**d) Activité antidiabétique**

La capacité antidiabétique de l'extrait hydro-méthanolique standardisé (50 et 200mg/kg pc, pendant 20 jours) des feuilles de *Nerium oleander* L. a été étudiée dans le cadre d'un diabète induit par l'alloxan chez des souris. L'extrait possède une activité antihyperglycémique, il réduit la glycémie de 73,79 % après 20 jours de traitement. Le test de tolérance au glucose par voie orale a révélé une augmentation de la tolérance au glucose, comme en témoigne la diminution de 65,72 % de la glycémie 3 heures après le traitement. Le pourcentage de diminution des différents marqueurs enzymatiques du foie était significatif, de même que la diminution des taux de triglycérides et de cholestérol, ce qui démontre une

puissante activité antihyperlipidémique. L'activité de la peroxydase et de la catalase dans le foie, les reins et les muscles squelettiques a été significativement restaurée, en plus d'une réduction marquée de la peroxydation des lipides et d'une normalisation du niveau de glycogène hépatique chez les souris alloxanisées traitées par l'extrait (**Dey et al., 2015**).

**e) Activité antioxydante**

Les extraits de feuilles, des tiges et des racines de *N. oleander* L. possèdent une activité antioxydante efficace, qui comprend un pouvoir de piégeage et de réduction des radicaux libres ; cette activité a été corrélée avec la quantité de contenu phénolique total présent dans les différents extraits (**Farooqui et Tyagi, 2018**). Les fleurs de *N. oleander* L. se révèlent également être une source potentielle d'antioxydants naturels (**Mohadjerani, 2012**).

**f) Activité anticancéreuse**

L'extrait aqueux de *N. oleander* L. fait l'objet d'études cliniques en tant qu'agent anticancéreux. L'oléandrine et son aglycone, l'oléandrigénine, sont les composés actifs isolés de cette plante dont les propriétés anticancéreuses ont été démontrées (**Zibbu et Batra, 2010**). Il a été démontré que les extraits de *Nerium* stimulent le système immunitaire en stimulant la fonction et la capacité de sous-ensembles spécifiques de cellules mononucléaires et en stimulant spécifiquement les lymphocytes T et B, les systèmes immunitaires à médiation cellulaire et à médiation humorale.

**g) Activité anti-inflammatoire**

Des expériences d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire ont permis de vérifier que les composants liposolubles des fleurs peuvent avoir cette activité (**Zibbu et Batra, 2010**). Les extraits éthanoliques de feuilles séchées et de fleurs fraîches de *N. oleander* L. ont montré une activité anti-inflammatoire puissante contre le modèle d'œdème de la patte arrière induit par la carragénine chez les souris sans induire de dommages gastriques (**Farooqui et Tyagi, 2018**).

**h) Activité larvicide**

L'écorce, la tige, les feuilles, les fleurs et les racines de *N. oleander* L. possèdent des propriétés insecticides et anti-alimentation contre *plutella xylostella* (**Grainge et al., 1984**). Cette plante a également été signalée pour son activité larvicide contre *aedes aegypti* (**sinha et biswas, 2016**). L'extrait aqueux de ses feuilles a montré des propriétés ovicides et larvicides et l'activité ovicide et adulticide de cette plante contre *Anopheles stephensi* a été

également enregistrée. La mortalité larvaire de *Culex quinquefasciatus* a été testée par des extraits de fleurs bruts hexaniques et aqueux (Farooqui et Tyagi, 2018).

**i) Activité toxique**

Le laurier rose est un arbuste dangereux, toutes ses parties sont toxiques (feuille, fleurs ...). En cas d'ingestion, ils peuvent provoquer des accidents graves. Sa toxicité envers l'homme, l'animal et certains insectes a fait l'objet de plusieurs études (Adom, 2003 ; Almahy, 2006 ; Barbosa, 2008). Des tentatives de suicide au *N. oleander* L. sont régulièrement colligées par les toxicologues dans différentes parties du monde (Bourgeois, 2005).

**j) Activité insecticide**

*N.oleander* L. est utilisé d'une manière traditionnelle sous forme de boutures par les agriculteurs dans la région de Constantine pour limiter les dégâts des vers blancs (Madaci et al., 2008).

### **III- Les métabolites secondaires**

#### **Introduction**

Les métabolites secondaires désigne toute substance présente dans un organisme et ne participant pas directement à un processus essentiel d'une cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel 1891, qui l'a introduit à la place des métabolites primaires, directement impliqués dans les principales voies du métabolisme basal de la cellule. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent des dizaines de milliers de molécules différentes, souvent regroupées en superfamilles chimiques comme les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, etc. Ces métabolites secondaires sont souvent caractérisés par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (**Bourgaud, 2013**).

#### **1- Définition de métabolite secondaire**

Les métabolites secondaires sont des molécules telles que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïde et les alcaloïdes qui sont produits par des organismes en dehors des voies métaboliques nécessaires pour assurer la survie. Cette série de composés est bien développée dans les plantes et constitue un moyen de lutte contre les concurrents écologiques (allélopathie) ou les prédateurs (production de substances toxiques ou mauvais goût pour les herbivores) (**Benchacha, 2008**).

Ces molécules assurent des fonctions critiques dans la résistance aux contraintes biotiques (pathogènes végétaux, herbivores...) et abiotiques (UV, température...) (**Naboulsi et Aboulmouhadjir, 2018**). Ils ne sont pas essentiels à l'organisme, mais jouent nécessairement un rôle important dans la machinerie enzymatique complexe nécessaire à leur production. Ils ont un rôle écologique (xosomes, phéromones...). Ces molécules ont été sélectionnées au cours de l'évolution en fonction de leur interaction avec les récepteurs d'un autre organisme. En tant que tels, ils représentent une énorme source potentielle de médicaments thérapeutiques (**Thomas, 2009**).

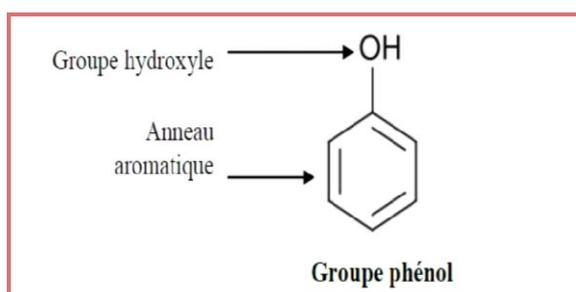
#### **2- Classification des métabolites secondaires des plantes médicinales**

Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent des dizaines de milliers de molécules différentes regroupées en familles chimiques comme les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes,... etc. (**Elkolli, 2016**).

### 1-1- Les composés phénoliques

Les molécules hydrosolubles sont présentes dans toutes les plantes, Ils sont issus bio génétiquement de deux voies de synthèse principales : les voies du shikimate et de l'acétate (Lugasi et al., 2003). L'élément structurel de base est un noyau benzénique auquel un ou plusieurs groupements hydroxyles sont directement attachés, libres ou participant à une autre fonction chimique (éther, méthyle, ester, sucre, etc.) (Bruneton, 1997). Ce sont des molécules bioactives largement utilisées en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antioxydants, anti-radicalaires et antibactériens (Djemai Zoughlache, 2008).

La structure chimique des polyphénols est comparable, caractérisée par un ou plusieurs cycles hydroxyle aromatiques (Figure N°08). Les polyphénols sont divisé en différents groupes selon le nombre de cycles aromatiques les combiner et les remplacer (Manallah, 2012).



**Figure N°08 : Structure de base des polyphénols (Manallah, 2012)**

### 1-2- Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés à faibles poids moléculaires, contenant de l'azote dérivés principalement d'acides aminés et trouvés dans environ 20% des espèces végétales (Roberts, 2013).

Les alcaloïdes sont des composés alcalins, parmi lesquels on trouve la morphine, la caféine, l'héroïne, la nicotine, la vinblastine, l'éphédrine et la cocaïne (Nabors, 2009).

Ils ont une activité pharmacologique et thérapeutique importante, notamment au niveau du système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire, et jouent un rôle écologique de défense contre les herbivores (Khenaka, 2011).

La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de :

Réactif silico-tungstique : réactif de Bertrand, Réactif Tétraiodomercurate de potassium, réactif de Valsler-Mayer, Iodobismuthate de potassium : réactif de Dragendorff (**kansole, 2009**).

### **2-2-1- Classification**

Ont distingué 3 types d'alcaloïdes qui peuvent être classés en fonction de leur structure chimique, de leurs activités biologiques et écologiques ou de leur voie de biosynthèse (**Yinyang et al., 2014**).

- **Les alcaloïdes vrais** : dérivent des acides aminés, comportant un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont toxiques et ont une grande activité biologique, même à faibles doses (**Yinyang et al., 2014**).
- **Les proto-alcaloïdes** : sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi des acides aminés (**Yinyang et al., 2014**).
- **Les pseudo-alcaloïdes** : dont le squelette carboné ne dérive pas d'acides aminés, mais résultat d'une transamination. (**Bouaziz, 2022**)

### **1-3- Terpènes**

Les terpènes, ou isoprénoïdes, ou terpénoïde sont l'une des classes les plus diverses de métabolites secondaires. Il a été répertorié plus de 30 000 composés dont la très grande majorité est spécifique du règne végétal et qui englobe les arômes et parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales, les lipides des membranes... (**Buckingham, 2004**).

Les terpénoïde des plantes sont beaucoup utilisés en raison de leurs qualités aromatiques. Ils Jouent un rôle dans les remèdes en herboristerie traditionnelle et font l'objet de recherche pour découvrir des effets antibactériens, antinéoplasiques ou autres effets pharmaceutiques (**Benchacha, 2008**).

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène de formule  $C_5H_8$  avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone...etc.) ; ils sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte ; leur formule brute est  $(C_5HX)_n$  dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). Ces composés sont majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**).

### 2-3-1- 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).

- **Monoterpènes** : Les monoterpènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>) sont constitués de deux unités d'isoprène liées (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Marmulla et Harder, 2014). Ils 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) (Figure N°9).

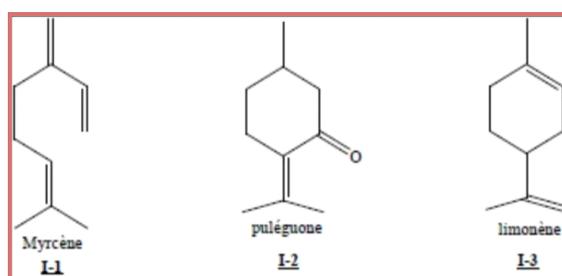


Figure N°09 : Exemples de quelques monoterpènes (Collin et Crouzet, 2011)

- **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 (Figure N°10).

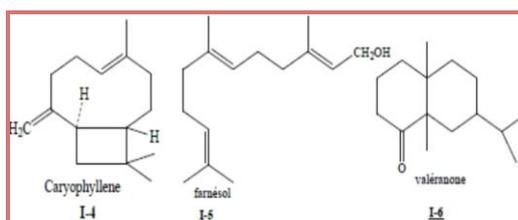


Figure N°10 : Exemples de quelques sesquiterpènes. (Collin et Crouzet, 2011)

- **Di terpènes** : Les di terpènes sont formés de quatre unités isoprènes (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>) (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 C<sub>30</sub> issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du scalène (Krief, 2003). Les stéroïdes sont dérivés

de triterpène est éterocycliques. Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens (**Hanson, 2003**).

- **Saponines (Groupes de stéroïdes)** : Ce sont des composés naturels dont la structure est d'hétérosides (glucides), de stérols ou triterpène, très abondants dans les végétaux. Les saponines sont des substances tensioactives, qui forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme le savon (en latin : *sapo* signifie savon) (**cheeke et al., 2005**). Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Wallace, 2004**).

## 2- Les métabolites secondaires de *Nerium oleander* L.

La plante a révélé la présence de métabolites médicalement actifs. Les feuilles de *NO* ont rapporté des glucides, des protéines, des alcaloïdes, des flavanoïdes, des térépénoïdes, des glycosides cardiaques, des tanins et des saponines (**Suganya, 2012**). L'extrait méthanolique de *NO* contient la plus grande quantité de composés phénoliques et présente une activité antioxydante maximale (**Garima, 2011**). Toutes les parties du laurier-rose contiennent des glycosides et des alcaloïdes hautement toxiques et mortels (**Barbosa et al., 2008**). Les principaux glycosides sont l'oléandrine, la nériine et les cardénolides, le gentiobiosyl et l'odoroside sont également présents (**Farooqui et Tyagi, 2018**). Les graines contiennent des glucosides (oléandrine, odorosides, adigoside). L'écorce contient également des glucosides (rosaginoside, nerioside, corteneroside) et les racines contiennent des stéroïdes (**Zibbu et Batra, 2010**). En outre, une variété d'autres composés pharmacologiquement actifs, y compris la folinerine, la rosagénine, la rutine et l'oléandomycine, ont été identifiés dans la plante (**Farooqui et Tyagi, 2018**). Peu d'études se sont intéressées à la fraction phénolique de *N. oleander* L. Il a été révélé qu'une grande quantité de polyphénols est présente dans les feuilles de *N. oleander* L. et que l'acide cinnamique est le composant principal, les autres composants étant l'épicatéchine, la catéchine et l'acide chlorogénique. La teneur totale en phénols de la fleur de *N. oleander* L. était de  $136,54 \pm 3,32$  mg d'équivalent d'acide gallique/g d'huile essentielle. La teneur phénolique totale des extraits aqueux, méthanol-eau, méthanolique et d'acétone des feuilles de *N. oleander* L. était respectivement de  $4,54 \pm 0,23$ ,  $4,25 \pm 0,23$ ,  $2,08 \pm 0,38$  et  $4,21 \pm 0,29$  et celle des fleurs de  $7,52 \pm 0,93$ ,  $7,15 \pm 0,43$ ,  $6,24 \pm 0,57$  et  $7,13 \pm 0,49$  µg d'équivalent acide gallique par 100 µg d'extrait (**Singhal et Gupta, 2012**). Le kaempférol, le kaempférol 3-O-β-glucopyranoside et l'acide chlorogénique ont été isolés à partir de

l'extrait éthanolique. l'acide chlorogénique a été isolés à partir du sous-extrait d'acétate d'éthyle de l'extrait éthanolique de la fleur de *N. oleander* L. (**Atay et al., 2018**).

Plusieurs flavones (0,5 %) et huiles volatiles (quantité négligeable), ainsi que du caoutchouc, des graisses, des sucres et de l'acide cyanhydrique peuvent être isolés à partir de ses feuilles. **Zibbu et Batra (2010)** et **Begum et al., (1999)** ont rapporté que la feuille de *N. oleander* L. contient des cardénolides responsables de l'activité insecticide.

## **IV- Le stress oxydatif**

### **1- Les radicaux libres**

#### **1-1- Définition**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes, ions ou molécules) possédant un électron célibataire (non apparié) sur leur couche périphérique (au niveau de ses orbitales externes). Un radical libre réagit spontanément avec d'autres atomes ou molécules pour former un nouveau radical provoquant ainsi des réactions en chaîne qui ne sont interrompues que lorsque deux radicaux libres réagissent entre eux, celle-ci sont des espèces instables très réactives *in vivo* (**Boubali, 2017**). Les électrons sont des corpuscules chargés électriquement et qui par un mouvement de rotation sur eux-mêmes, induisent un champ magnétique appelé «SPIN», cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (**Pillou, 2014**). Les radicaux libres présentent une grande instabilité et très réactifs, ont une durée de vie courte et sont capables de réagir avec de nombreux composés (**Peña-Bautista et al., 2019**).

#### **2- Espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (**Valko et al., 2007**). Les espèces réactives oxygénées (ERO) incluent les radicaux libres comme le radical hydroxyl (OH.), le radical superoxyde (O<sub>2</sub>•-) et sa forme protonnée (HO<sub>2</sub>.), le radical peroxy (ROO.) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et l'oxygène singulet (1O<sub>2</sub>) sont des molécules hautement réactives produites dans les organismes vivant sous des conditions physiologiques et pathologiques (**Patterson et al., 2019**).

#### **3- Dommages induits par les espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

La surproduction des radicaux libres et des différentes espèces réactives produits à partir des sources endogènes et exogènes peut conduire au dommage des composants cellulaires et à l'altération des fonctions cellulaires, de plus les effets toxiques des radicaux libres peuvent conduire à la mort cellulaire. Les cibles biologiques des radicaux libres sont en grande partie les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Carocho et al., 2018**).

#### **3-1- Oxydation des acides nucléiques**

Les acides nucléiques sont des molécules très sensibles à l'attaque des ERO. L'attaque radicalaire se manifeste soit directement en entraînant l'oxydation des bases et engendrant un

grand nombre de bases modifiées, soit elle cible la liaison entre la base et le désoxyribose créant un site abasique, soit cible le sucre lui-même créant une coupure de simple brin (**Van Houten et al., 2019**). Les bases composant l'ADN, particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation par les radicaux libres. La réduction de la guanine résulte de l'ouverture de sa structure cyclique formant le formamidopyrimidine. Son oxydation, cependant, conduit à la formation du 8-hydroxy-2' déoxyguanosine, un produit majeur dont la présence dans l'urine sert de bio-marqueur du dommage oxydatif de l'ADN et qui est capable d'induire des mutations spécifiques conduisant au développement du cancer (**Nemmar et al., 2016**).

### **3-2- Oxydation des lipides**

Les lipides membranaires sont les cibles les plus susceptibles à l'action des ERO et des radicaux libres à cause de la présence des lipides insaturés ; l'acide linoléique et l'acide arachidonique (**Zielinski et Pratt, 2017**). L'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir d'une molécule d'acide gras polyinsaturé initie le processus de la peroxydation lipidique. Un atome d'hydrogène est pris d'une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturé résultant en un nouveau radical libre (**Taso et al., 2019**). Ces radicaux peuvent déclencher une chaîne de réactions de peroxydation au niveau des acides gras des phospholipides membranaires, conduisant à l'altération de la membrane et la perte de l'organisation de sa structure de bicouche lipidique qui est nécessaire à la fonction des enzymes liées et des récepteurs (**Gavric et al., 2017**).

### **3-3- Oxydation des protéines**

Les radicaux libres sont capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes des protéines. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH), dont le site actif contient le groupement Fe-S sont également très sensibles à l'inactivation par l'O<sub>2</sub>•-, les modifications structurales des protéines et/ou l'altération de la fonction sont les conséquences majeures (**Hematyar et al., 2019**). Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzymes, canaux et récepteurs), et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (**Rosenfeld et al., 2018**). La modification de l'état redox de ces groupements conduit à la déformation de la cellule, la déplétion des réserves calciques et le changement de l'état d'ouverture des canaux potassiques et calciques. En addition, les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent les acides aminés aromatiques tels

que le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le OH•s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (**Hematyar et al., 2019**).

#### **4- Stress oxydant**

Le stress oxydant ou le stress oxydatif, est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant au sein d'un même organisme, ce qui conduit à des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (**Niki, 2018 ; Tu et al., 2019**).

#### **5- Antioxydants**

Un antioxydant est défini comme toute substance ou molécules capables de réduire les effets de l'oxygène, significativement retarde ou empêche l'oxydation (**Defraigne et Pincemail, 2008**). Les antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou en ions stables (**Favier, 2003**).

#### **6- Utilisations des antioxydants**

On peut utiliser les antioxydants dans plusieurs domaines comme :

- Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.

Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture (**Moussous, 2018**).

#### **7- Les antioxydants d'origine végétale**

##### **7-1- Vitamine C**

L'acide ascorbique ou vitamine C est hydrosoluble, même si la plupart des mammifères peuvent la synthétiser, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments. Les principales sources de vitamine C sont les fruits (en particulier les baies) et les légumes (**Ashor et al., 2016**). La Vitamine C est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés aussi bien hautement réactifs tels que les radicaux d'OH.et d'O2.-(**Smirnoff, 2018**). Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs de radicaux libres.

Elle peut aussi réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol (Xiong et al., 2017). Ce qui lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Ashor et al., 2016).

#### **7-2- Vitamine E ou tocophérol**

La vitamine E est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans les huiles végétales (ex : l'huile de palme, d'olive et de tournesol), elle va agir comme antioxydant contre les ERO (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La chaîne carbonée augmente en effet le caractère lipophile de la molécule et ainsi facilite la pénétration dans les bicouches lipidiques, et permet une action directe intracellulaire (Fabre et al., 2015).

#### **7-3- Les composées phénoliques**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal. Plusieurs études ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols (les fruits et les légumes) et le risque des maladies reliées à l'âge comme les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires (Hahn et al., 2017 ; Fraga et al., 2019). Cette relation est souvent attribuée aux puissantes activités antioxydantes des flavonoïdes et d'autres polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer ou capture les effets d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que de chélater les différents métaux de transition et inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase (Xu et al., 2017 ; Serino et Salazar, 2019).

#### **7-4- Les caroténoïdes**

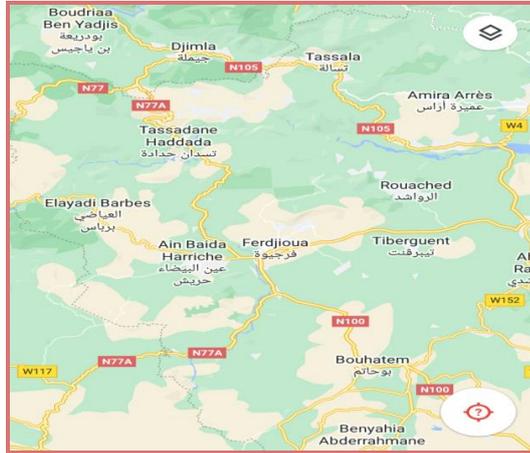
Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs des radicaux hydroxyles et peroxyyles ce qui les rend susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (Zuluaga et al., 2017). En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capter l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Eggersdorfer et Wyss, 2018).

*Partie II :*  
*Étude expérimentale*

## I- Matériel et méthodes

### 1- Matériel végétal

Notre étude est effectuée sur les feuilles de *Nerium oleander* L., La récolte est réalisée le mois de février 2023, dans la région Tassadane Hadada, wilaya de Mila Algérie.



**Figure N°11 : Situation géographique de la zone de prospection**

### 1- Préparation du matériel végétal

- Séchage et broyage

Une fois récoltées, les feuilles sont lavées à l'eau courante pour éliminer tous les débris, puis séchées à l'obscurité. Après le séchage, les feuilles sont finement broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis stockées dans des bocaux en verre jusqu'à leur utilisation pour la préparation des différents extraits.



**Figure N°12 : Feuilles et poudre de laurier rose (*Nerium oleander* L.)**

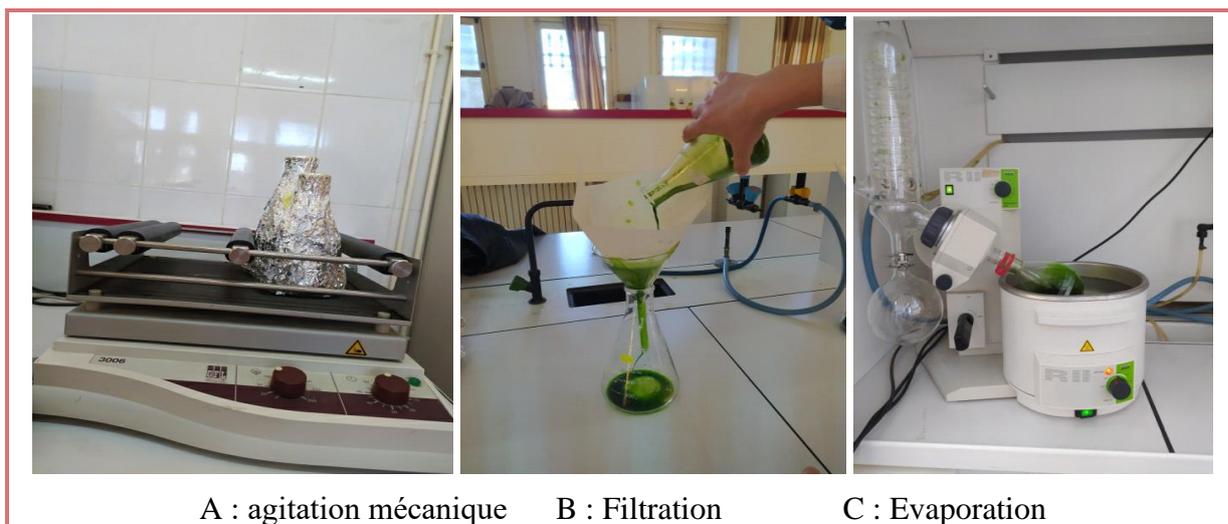
## 2- Méthodes utilisées

### 2-1- Préparation des extraits organiques

La méthode d'extraction utilisée est celle décrite par **Diallo et al** en **2004** avec quelques modifications. Elle est basée sur la macération par des solvants de polarité croissante. Dans notre cas on a utilisé le chloroforme et le méthanol. Chacun de ces solvants va entraîner un type spécifique de substances. L'extraction par le chloroforme permet d'obtenir un extrait riche en composés moyennement polaires, tandis que le méthanol extrait les composés polaires.

#### ➤ Protocole

Ont été extraits 50g de la poudre avec 250 ml du solvant organique (méthanol ou chloroforme) et placés sous agitation mécanique pendant 24 heures à température ambiante. Après filtration sur papier, l'extrait obtenu est concentré sous vide au rotavapor (type **BUCHI**) à température 40°C (Figure N°13).



**Figure N°13 : Différentes étapes d'extraction**

L'extrait obtenu a été conservé dans le réfrigérateur à 4°C jusqu'à son utilisation.

## 2- Screening phytochimique

Ce test permet une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en utilisant des réactifs spécifiques, en vue de mettre en évidence des substances chimiques contenues dans les feuilles de *Nerium oleander* L. Ce screening a été réalisé sur l'extrait méthanolique et chloroformique. Nous nous sommes servis des techniques analytiques décrites par **Tripathi et al., (2017)**.

- **Recherche d'alcaloïdes**

On a utilisé le test de Mayer qui consiste à mélanger 1 ml d'échantillon avec quelques gouttes de réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc ou jaune pâle indique la présence d'alcaloïdes dans l'échantillon.

- **Test pour les saponines**

Une petite quantité d'extrait a été secouée avec de l'eau et observée pour la présence de mousse.

- **Test pour les flavonoïdes**

Une fraction de l'extrait a été prélevée et traitée avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et l'observation d'une couleur orange indique la présence des flavonoïdes.

- **Test pour les résines**

1 ml d'extrait a été dissous dans de l'acétone, puis 1 ml d'eau distillée a été ajouté. La turbidité indique la présence de résine.

- **Test pour les tanins**

A 1 ml de l'extrait, on ajoute 2 ml de FeCl<sub>3</sub> à 5%, la couleur bleu foncé ou noir verdâtre est un test positif.

- **Test pour l'anthocyanine et la bétacyanine**

1 ml d'extrait végétal a été traité avec 1 ml de NaOH 2N puis chauffé. La formation d'une couleur bleu-vert indique la présence d'anthocyanine, tandis que la couleur jaune indique la présence de bétacyanine.

- **Test pour les glycosides**

A 1 ml d'extrait végétal, on ajoute 1 ml de FeCl<sub>3</sub> (5%), une quantité égale d'acide acétique, puis quelques gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La couleur bleu verdâtre indique la présence de glycosides.

- **Test pour les phénols**

1ml d'extrait végétal, traité avec quelques gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub>, donne une couleur bleu-vert et confirme la présence de phénols.

- **Test pour les terpénoïde**

A 1ml d'extrait végétal, 2ml de chloroforme et 3ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sont ajoutés. Un précipité brun rougeâtre à l'interface a confirmé la présence de terpénoïde.

### **3- Activité antioxydante (méthode du DPPH)**

➤ **Principe**

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picryl hydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme de radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à une longueur d'onde 517 à 520 nm (Bozin et al., 2008). Le DPPH, un radical libre de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires (Molyneux, 2004). On peut résumer la réaction avec l'équation suivante :



Ou (AH)<sub>n</sub> est un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune).

➤ **Protocole**

1 ml de chaque extrait (à différentes concentrations) est incubé à température ambiante et à l'obscurité (30 min) avec 1 ml de solution de méthanol DPPH (0,1 Mm). L'absorbance est lue à 517 nm (verrouillage de couleur du violet au jaune). L'activité antioxydante, qui indique la capacité de piéger les radicaux libres, a été évaluée avec la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = \{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}\} \times 100$$

**Abs contrôle** : Absorbance de la solution DPPH.

**Abs test** : Absorbance de l'extrait testé

Le contrôle consiste en une solution méthanolique de DPPH et l'acide ascorbique est utilisé comme standard.

### **4- Activité antibactérienne**

L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* a été réalisée au laboratoire d'analyses médicales privé MIROUHE de la région de Ferdjioua, et les souches bactériennes nous ont été apportées par docteur BENSERRADJ W enseignante chercheuse au centre universitaire de Mila.

- **Préparation des milieux**

Deux milieux ont été utilisés dans cette étude ; le premier est le bouillon nutritif (BN) utilisé pour vérifier la viabilité bactérienne et la réactivation des souches bactériennes, le seconde est la gélose Mueller-Hinton (MH) utilisé pour tester la sensibilité bactérienne vis-à-vis les extraits de la plante.

- **Préparation des disques**

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman à l'aide de l'emporte-pièce (diamètre de 6 mm).

- **Réactivation des souches bactériennes**

Trois souches bactériennes ont été testées : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif) et *Bacillus cereus* (Gram positif). Elles ont été réactivées dans un bouillon nutritif (BN). Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir de colonies jeunes en phase de croissance exponentielle. Chaque souche a été repiquée par la méthode des stries sur une gélose non inhibitrice (gélose nutritive) pour obtenir des colonies isolées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 h, pour obtenir une culture jeune.

- **Préparation de l'inoculum**

Après 24h, quelques gouttes de l'inoculum sont ajoutées à 5 ml d'eau physiologique stérile (à 0.9%) pour chaque souche. La densité optique des suspensions bactériennes doit être ajustée environ 0.5mf, L'inoculum peut être ajusté par l'ajout de la culture bactérienne si la DO est inférieur à 0.5mf, ou par l'ajout de l'eau physiologique stérile si la DO est supérieur à 0.5mf. Cette comparaison est mesurée à l'aide d'un densitomètre.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

Après l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, on a trempé un écouvillon dans la suspension bactérienne. L'inoculum fraîchement préparé est ensemencé en stries serrés à l'aide d'un écouvillon à la surface de la gélose Muller Hinton à 3 reprises, la boîte est tournée à environ 60° après chaque application. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) imprégnés de concentrations croissantes d'extraits repris (1ml ; 0.5ml ; 0.25ml ; 0.125ml) avec le diméthyle sulfoxyde (DMSO) à raison de 7µl par disque, ont été déposés délicatement à l'aide d'une

pince stérile sur la surface de la gélose. Des témoins imbibés seulement par le DMSO ont été réalisés comme témoin négatif alors que le témoin positif est préparé avec la gentamicine.



**Figure N°14 : Ensemencement et dépôt des disques**

- **Incubation des boîtes de pétries**

Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C. L'expérience est répétée trois fois pour les différentes concentrations de chaque extrait, et pour chaque espèce bactérienne.

- **Lecture des résultats**

Après incubation, la lecture des résultats est réalisée en mesurant les zones d'inhibition produites autour des disques à l'aide d'une règle, ou un pied à coulisse.

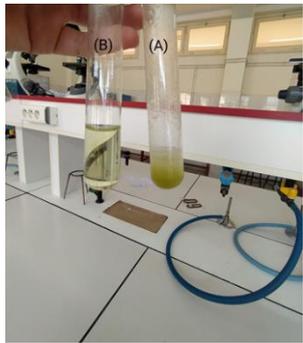
## II- Résultats et discussion

### 1- Le screening phytochimique

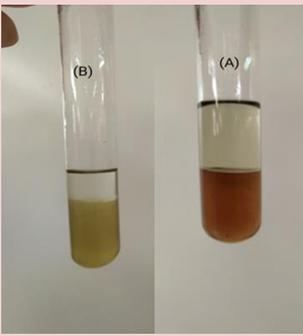
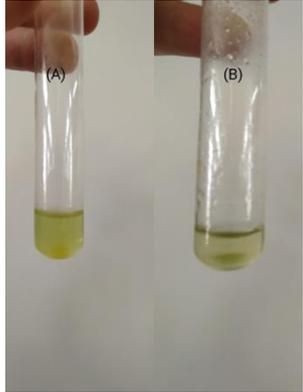
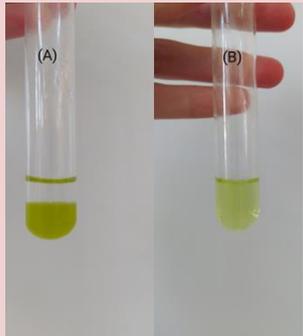
Le screening phytochimique, qui a pour but de rechercher les différentes classes des substances secondaires dans les extraits des feuilles de *Nerium oleander* L., nous a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de quelques métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponines, anthraquinones, terpénoïde, résines, glycosides).

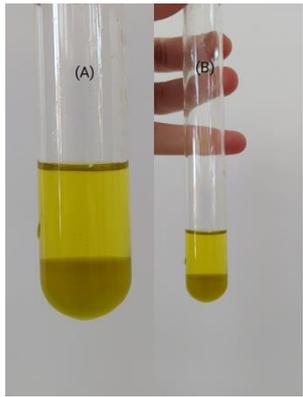
Les résultats des tests photochimiques réalisés sur les deux extraits la plante sont récapitulés dans le tableau N° IV.

**Tableau IV** : Screening phytochimique des feuilles de *Nerium oleander* L.

Métabolites secondaires	Extrait	Résultat	Résultats par photos
Polyphénols	ECh	+	
	EMe	+	
Alcaloïdes	ECh	+	
	EMe	+	
Saponines	ECh	+	
	EMe	-	

*Partie II : Etude expérimentale*

Tanins	ECh	-	
	EMe	-	
Flavonoïdes	ECh	+	
	EMe	-	
Terpèneoïde	ECh	+	
	EMe	-	
Anthocyanine et Bétacyanine	ECh	-	
	EMe	+	
Résines	ECh	+	
	EMe	-	

Glucides	ECh	+	
	EMe	+	

Les résultats ont été évalués comme suit :

+ : Présence de métabolite

- : Absence du métabolite

L'analyse phytochimique des extraits des feuilles de *Nerium oleander* L. vise à caractériser les différents groupes de composés renfermés dans les feuilles de la plante. Les résultats obtenus confirment la richesse de *Nerium oleander* L. en composés phytochimiques importants.

L'extrait chloroformique contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines, des terpénoïde, des polyphénols, des bétacynines, des résines et des glycosides ; mais il est dépourvu des tanins et des anthocyanines.

L'extrait méthanolique montre l'absence de plusieurs familles phytochimiques comme les saponines, les tanins, les flavonoïdes, les terpénoïde, et les résines, mais il est pourvu de quelques composés comme les alcaloïdes, les bétacynines, les glycosides et les polyphénols.

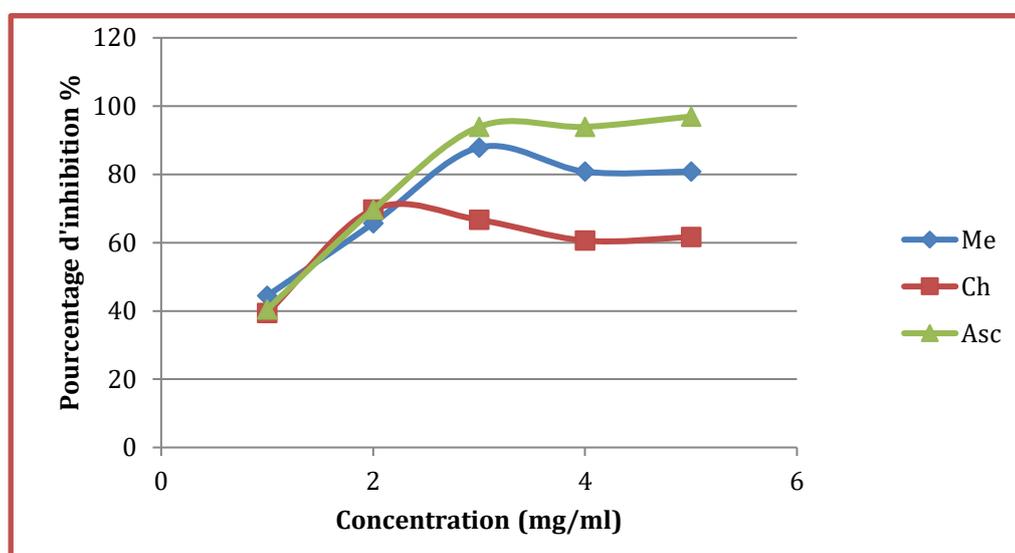
La recherche de métabolites secondaire dans les feuilles de *Nerium oleander* L. a été un sujet d'étude de plusieurs chercheurs pendant des années.

Les résultats que nous avons obtenus sont similaires à ceux obtenus dans la bibliographie (**Chaudhary et al., 2015 ; Bameta et al., 2017 ; Çilesizoğlu et al., 2022**).

Les travaux de **Phani et al en 2013** montrent la présence de tannins dans les extraits de *N oleander* L. ces composés sont absent dans nos extraits. Cette différence dans le résultat est probablement due aux protocoles expérimentaux utilisés pour la recherche des métabolites ou à l'origine géographique de la plante ou le mois de récolte.

**7-5- Activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)**

La méthode du DPPH est l'une des méthodes qui permettent d'évaluer l'activité antiradicalaire des extraits, elle est basée sur la mesure de l'inhibition des radicaux libres. La mesure de la densité optique a été effectuée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde égale à 517 nm. Les valeurs obtenues nous ont permis de calculer les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule mentionnée précédemment (partie matériel et méthodes). Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes de la figure N°15 qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des différents extraits.



**Figure N°15 :** Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de *N. oleander* L.

L'activité antioxydante est exprimée en concentration inhibitrice 50 (IC50) c'est-à dire la concentration de l'extrait susceptible de provoquer 50% d'inhibition, cette valeur a été déterminée graphiquement (Tableau V).

**Tableau V :** Valeur de IC50 des extraits bruts et témoin déterminées par le test au DPPH.

Extraits	EMe	ECh	Asc
IC50(mg /ml)	0,89	0,5	0,28

L'activité antiradicalaire des deux extraits a été évaluée par le test au DPPH, celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits des végétaux (**Yi et al., 2008**)

L'acide ascorbique à servir comme un standard pour élaborer la courbe d'étalonnage ; ainsi les composés ou les extraits qui sont capable à très faible concentration de changer la couleur du radical libre DPPH du violet au jaune sont considérés antioxydants (anti radicalaires) (**Hennebelle et al., 2006**).

D'après les résultats obtenus, on remarque que les deux extraits méthanolique et chloroformique avaient une tendance d'inhiber le DPPH, dont les IC50 ont été de l'ordre de 0,89mg/ml et 0,5mg/ml, respectivement. Cet effet anti-radicalaire est moins important à celui obtenu par le standard (Acide ascorbique) qui avait une IC50 = 0.28g/ml.

Comparativement à des études effectuées sur la même espèce, nos résultat sont similaires avec ceux obtenus par **Ali ridha en 2020, Namian et ces collaborateurs en 2013 et Alsnai et al., en 2019** sur les différents extraits de la plante, ils ont confirmé que l'extrait méthanolique et chloroformique des feuilles a une activité antioxydante élevée et peuvent piéger les radicaux libres, et que cette efficacité anti-radicalaire est attribuée à la présence de polyphénol dans cet extrait.

Les extraits des feuilles et de fleurs de *Nerium oleander* L. ont une activité antioxydante due à la présence de métabolites secondaires qui peuvent être produits dans toutes les parties ou dans certaines parties de la plante. L'activité antioxydante est due aux composés phénoliques qui diminuent la concentration des radicaux (**Namian et al., 2013**).

#### **7-6- Activité antimicrobienne**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits de *N.oleander* L. a été testée contre trois souches appartenant au Gram + et au Gram -, chacune de ces souches possède des structures cellulaires et des métabolismes particuliers. Le diamètre de la zone entourant le disque de papier va déterminer la sensibilité des bactéries aux différents extraits.

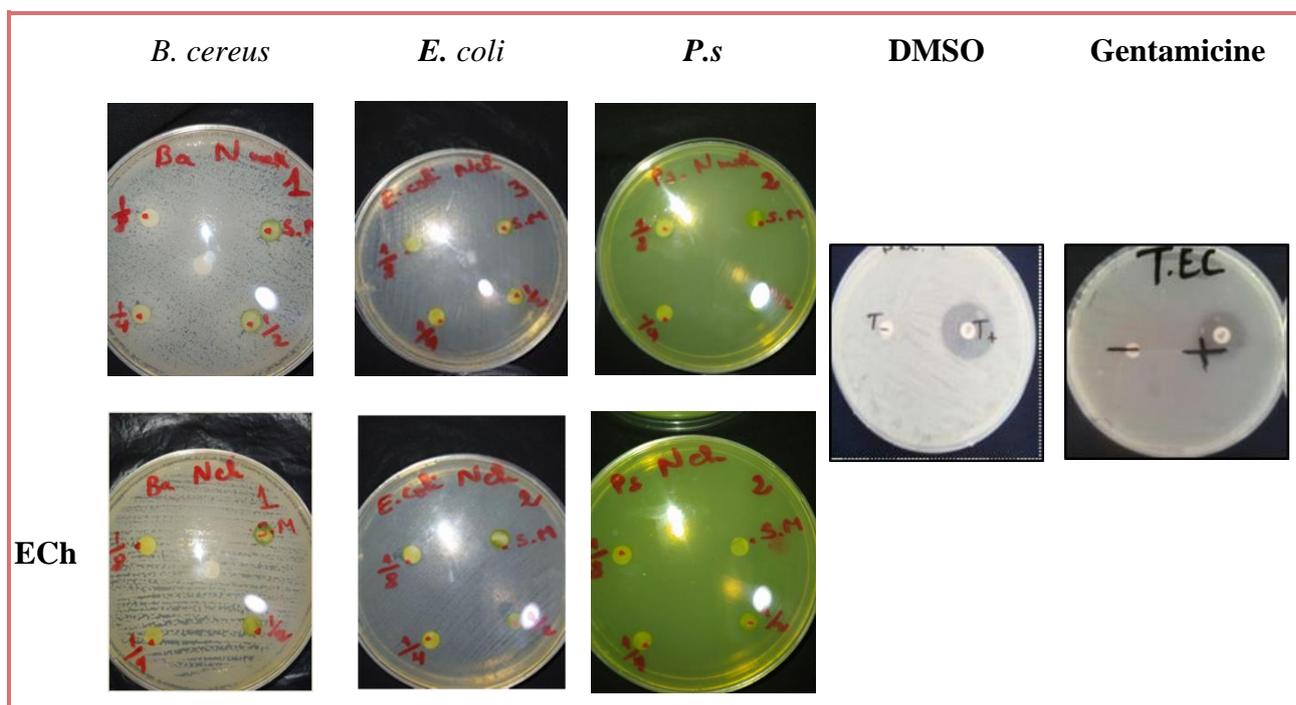
Le résultat obtenu a montré la résistance des souches (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*) aux différentes concentrations de ces extraits (absence de zone d'inhibition autour du disque (Tableau VI).

*Partie II : Etude expérimentale*

**Tableau VI :** Les résultats de tests de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des extraits.

Les souches	Dilutions	ECh	EMe	DMSO (témoin négatif)	Gentamicine (témoin positif)
<i>Bacillus cereus</i>	Sm	7.5	7.5	0	14.32
	1/2	7	7	0	17.16
	1/4	7	7	0	
	1/8	7	7	0	
<i>Escherichia coli</i>	Absence d'activité			23.55	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence d'activité			16.8	

Les observations des effets des différents extraits de *N. oleander* L. sur la croissance des souches bactériennes testées après 24h d'incubation sont représentées dans la figure N°16.



**Figure N°16 :** Sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits et au témoin positif (gentamicine) et négatif (DMSO)

L'extrait méthanolique de *N. oleander* L. n'a aucune activité contre les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *E.coli*, ces résultats sont en contradiction avec

ceux obtenus par (**Hussain et Gorski 2004**) et (**Bhuvaneshwari et al., 2007**) qui ont constaté qu'il y a une activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et chloroformique des feuilles de *N. oleander* L. sur ces souches.

La bactérie *bacillus cereus* (bactérie à Gram positif) montre une très faible résistance contre les deux extraits (une faible zone d'inhibition avec des diamètres allant de 7 à 7,5) ceci est du probablement à la grande sensibilité des bactéries à Gram positif par rapport aux bactéries à gram négatif (**Turkmen et al., 2007 ; Falleh et al., 2008**).

Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace; elle possède une couche se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Néanmoins, la présence des porines dans cette couche permettra la diffusion libre des molécules avec une masse moléculaire en-dessous de 600 Da. Cependant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram (-) a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent influencer sur l'intégrité de la cellule et la perméabilité de la membrane, telle que les faibles valeurs du pH et les concentrations élevées en NaCl (**Georgantelis et al., 2007**).

**Namian** et son collaborateur ont **2013** a trouvé que *bacillus cereus* a une activité antibactérienne contre l'extrait méthanolique mais avec des zone d'inhibition plus importantes que dans notre étude, ça due probablement à l'origine de la plante et aux concentrations utilisées.

# *Conclusion*

## Conclusion

Les composés chimiques actifs extraits des plantes médicinales et aromatiques ont fait l'objet de multiples projets de recherche ces dernières années. Ces plantes sont considérées pour les chercheurs comme une usine chimique naturelle dont il faut tirer le maximum de profit.

Cette étude a eu pour objectif de contribuer à une meilleure connaissance de la phytochimie et les activités biologiques de *Nerium oleander* L. qui fait partie à la famille des Apocynaceae, c'est une plante médicinale employée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies.

A l'issus de ce travail, le screening phytochimique réalisé a confirmé la richesse de notre plante en métabolites secondaires ; on a constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des terpenoïdes, des polyphénols, des pétaïcynines, des résines et des alcaloïdes.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre 1,1-diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH) a montré que l'extrait chloroformique a une activité moyenne, par contre l'extrait méthanolique à un faible pouvoir antioxydant.

La méthode de diffusion en milieu solide a été utilisée pour étudier l'activité antibactérienne des deux extraits. Les résultats obtenus montrent une résistance de les bactérie *Bacillus cereus*, *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* contre les deux extraits. Il est important de noter que le diamètre de la zone d'inhibition est en relation avec la concentration en extrait.

Les résultats obtenus dans cette étude sont encourageants. Cependant, ils restent préliminaires, et pour plus d'efficacité il est nécessaire d'encourager des études complémentaires et approfondies. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées:

- La réalisation d'une étude quantitative pour déterminer les quantités de chaque métabolite secondaire
- Réaliser des études à l'échelle moléculaire pour déterminer les composés qui peuvent être responsables des différentes activités.
- Effectuer d'autres tests biologiques: anti-tumoral, anticancéreux et anti-inflammatoire.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

## A

- Adom, R., Gachichi, J., Onegi, B., Tamal, J., Apio, S (2003).** The cardiotoxic effect of the crude ethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated guinea pig hearts. African health sciences. vol. 3, pp. 77-82.
- Afnor (2000).** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6ième édition. AFNOR, Paris.
- Akharaiyi, F., Boboye, B (2010).** Antibacterial and Phytochemical Evaluation of Three Medicinal Plants. J. Nat. Prod , 3: 27-34.
- Al-Farwachi, M (2007).** In vivo and in vitro Immunomodulatory Activities of *Nerium oleander*, Department of Internal Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Iraq, Journal of Animal and Veterinary Advances 6 (9): 1047-1050.
- Ali haider, M (2019).** Importance of the medicinal plants. Research in Pharmacy and Health Science, 5(2), 151. <https://doi.org/10.32463/rphs.2019.v05i02.01>.
- Almahy, H., Khalid, H (2006).** Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander*, Asian Journal of Plant Sciences3., vol. 2, pp. 177-180.
- Al-Snafi, A (2020).** Bioactive ingredients and pharmacological effects of *Nerium oleander*. Journal of pharmacy, 10(9), pp.19-32.
- Al-Snai, A (2019).** Pharmacological and therapeutic effects of *Lippia nodiflora* (*Phyllanthus nodiflora*). IOSR Journal of Pharmacy. 9(8):15-25.
- AMEENAH, G (2006).** Plantes médicinales: traditions d'hier et drogues de demain. Molecular Aspects of Medicine, 27(1), 1-93
- Ashor, A., Siervo, M., Mathers, J (2016).** Vitamin C, antioxidant status, and cardiovascular aging. In molecular basis of nutrition and aging. Academic Press. pp. 609-619.
- Atay, B., Gören, A., Kırmızıbekmez, H., Yesilada, E (2018).** Evaluation of the *in vitro* anti-inflammatory activity of *Nerium oleander* L. flower extracts and activity-guided isolation of the active constituents. Records of Natural Products. 12(2):128-141. doi: 10.25135/rnp.15.17.05.100.

**Aubineau, N., Bermond, A., Bougler, J., Ney, B., Estrade, J (2002).** Larousse Agricole. Le monde agricole au 21 èmesiècle .Ed. Larousse, Canada ,pp767.

**Ayouaz, S., Arab, N., Mouhoubi, k., Madani, K (2023).** *Nerium oleander* Lin: A Review of Chemical, Pharmacological and Traditional uses. J Biomed Res Environ Sci. Vol 4(4): 641-650.

## **B**

**Bameta, A., Kumari, A., Upadhyaya, A (2017),**Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Nerium oleander* L., International Journal of Biology Research ISSN: 2455-6548, Impact Factor: RJIF 5.22 ,Volume 2; Issue 3;pp:29-32.

**Bañon, S., Ochoa, J., Franco, J., Alarcón, J., Sanchez-Blanco, M (2006).** Hardening of *oleander* seedlings by deficit irrigation and lowair humidity. Environ. Exp. Bot. 56, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.12.004>.

**Barbosa, R., Fontenele-Neto, J., Soto-Blanco, B. (2008).** Toxicity in goats caused by oleander (*Nerium oleander*). Research in Veterinary Science. 85: 279–281.

**Bauer, W., Kirby, M., Sheris, C., Turck, M (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method.AM. J. Clin. Pathol. 45.P :493-496.

**Begum, S., Siddiqui, B., Sultana, R., Zia, A., Suria, A., (1999).** Bio-active cardenolides from the leaves of *Nerium oleander*. Phytochem. 50 (3), 435–438. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00523-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00523-8).

**Belghomari, R., Belakhdar, I (2020)-** Etude de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle de la plante médicinale *Lavandula dentata* de la région D’Ain T’émouchent- Diplôme de Master-Ain-Temouchent .15p

**BEN CHACHA, A (2008) :** Etude de l’effet allélochimique de l’extrait aqueux de quelques plantes médicinales et aromatiques sur la germination des grains des mauvaises herbes.5-23p

**BENISTON, N (1984).** Les fleurs d’Algérie .Ed.E.N.A.L, Algérie, pp: 359.

**Bhuvaneshwari, L., ArthyEAnitha, C., Dhanabalan, K., Meena, M(2007).** Phytochemical analysis & Antibacterial activity of *Nerium oleander*, Psg College Of Arts And Science Coimbatore. Vol :No.XXVI (4).p:24-28.

- 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.
- Bouacherine, R., Benrabia, H (2017).** Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de Ben Srour (M'sila). Mémoire de de master. Université Mohamed Boudiaf, M'sila. 95p.
- Bouaziz, A (2022).** Identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire. *Organes des sens.* Université Pierre et Marie Curie - Paris. p 21-5.
- Boubali, Z (2017).** Biomarqueurs du stress oxydatif, Université Mohammed V-Rabat, thèse Médecine et de Pharmacie.
- Boudjouref, M (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif.
- Bourgaud, F (2013).** Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, Unité Mixte de Recherche 1121 Université de Lorraine INRA, Nancy-Colmar), Fondateur de la société Plant Advanced Technologies, Nancy.
- Bourgeois, B., Incagnoli P., Hanna, J., Tirard, V (2005).** Traitement par anticorps antidigitalique d'une intoxication volontaire par laurier rose. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.* 24: 640–2.
- BozinBiljana, N., Isidora, S., Goran, T, Anačkov., (2008).** Phenolic as antioxidant in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry* 111(4):925-929.
- Bruneton, J (1993)** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed Tec&Doc. Paris. pp: 278-279.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed :Tec&Doc. Paris.
- Bruneton, J (2001).** Plantes toxiques :-végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, Lavoisier, Paris, France. 2ème édition, pp: 129-136.

- Bruneton, J (2009).** Menthe in : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., Tec & Doc, Paris, pp. 631-638. ISBN 978-2-7430-1188-8.
- Buckingham, J (2004).** Dictionary of Natural Products. Version 9.2 on CD-ROM. Chapman & Hall/CRC Press, London, New York.
- Carocho, M., Ferreira, I. C., Morales, P. & Soković, M. (2018).** Antioxidants and prooxidants: effects on health and aging. *Oxid Med Cell Longev*: 1472708.
- Caudhary, K., Prasad, D N., Sandhu, B (2015).** Preliminary pharmacognostic and phytochemical studies on *Nerium oleander* Linn. (White cultivar). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 4(1): 185-188.
- Chabrier, J (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, université henri poincaré-nancy1 (France): 165.
- Chan, E., Wong, S., Chan, H (2016).** Apocynaceae species with antiproliferative and/or antiplasmodial properties: a review of ten genera. *J Integr Med*.14(4):269-84. doi: 10.1016/S2095-4964(16)60261-3. PMID: 27417173.
- Cheeke, P., OTERO, R. (2005).** Yucca, Quillaja may have role in animal nutrition. *Feedstuffs*. 3: 11-14p.
- Chopra, L., Abrol, B., Handa, K (1971).** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique, première partie, recherche sur les zones arides XIII, ed. UNESCO, Rome, pp. 97.
- Çilesizoğlu, N., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K., Kuloğlu, S (2022).** Qualitative and quantitative phytochemical screening of *Nerium oleander* L. extracts associated with toxicity profile, *Scientific Reports*. 12:21421.
- Collin, S., Crouzet, J (2011) :** Polyphénols et procédés, Ed. TEK & DOC. Lavoisier. Paris, pp : 10-25.
- Cowan, M (1999).** Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*.12 (4): 564-582.
- Cristina, D., Cary, M., Lunceford, A., Clarke, C., Kenyon, C (2009).** A regulated response to impaired respiration slows behavioral rates and increases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS genetics*, 5(4), e1000450.

**D**

**Dardona, A., Shahabuddin, D (2022).** Evaluation Of Antimicrobial Activity Of Methanolic And Ethanolic Extracts Of Three Varieties Of *Nerium Oleander*, Universiti Sains Malaysia ,Journal of Pharmaceutical Negative Results, Vol13 P: 1821-1829.

**Decaux, I. (2002)** Phytothérapie: mode d'emploi, Ed : Le Bien Public, pp : 6-7.

**Defraigne, J., Pincemail, J (2008).**« Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités», Rev Med Liège, n°6, pp :10-19.

**Delille, L (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie, Berti éditions. Alger, pp. 141-142.

**Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A (2010).** Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil from flowers of *Nerium oleander*. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food chemistry 9(6): 1074–1084.

**Dessevi, L., Essou, J( 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.

**Dey, P., Chaudhuri, T (2014).** Pharmacological aspects of *Nerium indicum* Mill: A comprehensive review. Pharmacognosy Reviews. 8(16): 156-162.

**Dey, P., Saha M., Chowdhuri, S., Sen, A., Sarkar., M., Haldar, B, Chaudhuri, T (2015).** Assessment of anti-diabetic activity of an ethnopharmacological plant *Nerium oleander* through alloxan induced diabetes in mice. Journal of Ethnopharmacology. 161: 128-137.

**Djemai Zoughlache, S (2008),** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.

**E**

**Ebrahimi, F., Ghorbani Nohooji, M., Miri, S (2018).** Agronomic and pharmacological aspects of *Nerium oleander*: an important medicinal plant. In The First National Congress and International Fair of Medicinal Plants and Strategies for Persian Medicine that Affect Diabetes, pp. 9-11.

**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.

**Eggersdorfer, M, Wyss, A (2018).** Carotenoids in human nutrition and health. Arch Biochem Biophys. 652: 18-26.

**Ekalu, A., Ayo, R., James, H., Hamisu, I(2019).** A mini-review on the phytochemistry and biological activities of selected Apocynaceae plants. Preprint. 2019.

**Elkolli, M. (2016).** Structure et activités des substances naturelles : principes et applications.

## F

**Fabre, G.,et al. (2015).** « Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes », ChemCommun, vol. 51, n° 36, p. 7713-6.

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L. organs, and their biological activities. C. R. Biologies. 331: 372-9.

**Farkhondeh, T., Kianmehr, M., Kazemi, T., Samarghandian, S., Khazdair, M. R. (2020).** Toxicity effects of *Nerium oleander*, basic and clinical evidence: A comprehensive review. Human & experimental toxicology, 39(6), 773-784.

**Farooqui, S., Tyagi, T (2018).** *Nerium oleander*: it's application in basic and applied science: a review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 10(3): 1-4.

**Favier, A (2003).** Le stress oxydant.L'actualité chimique, 108p.

**Fraga, C., Croft, K., Kennedy, D., Tomás-Barberán, F (2019).** The effects of polyphenols and other bioactives on human health. Food Funct. 10(2): 514-528.

## G

**Garima, Z (2011).** *In vitro* and in vivo determination of phenolic contents and antioxidant activity of desert plants of apocynaceae family. Asian journal of pharmaceutical and clinical research, 5(1), 0974-2441.

**Gavric, J., Anđelković, M., Tomović, L., Prokić, M., Despotović, S., Radovanović, T., Pavlović, S., Sačić, Z (2017).** Oxidative stress biomarkers, cholinesterase activity and biotransformation enzymes in the liver of dice snake (*Natrix tessellata* Laurenti) during pre-hibernation and post-hibernation. Ecotoxicol Environ Saf. 138: 154-162.

**Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S.A (2007).** Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. Pp172-181.

**Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N (2011).** Flavonoids and phenolicacids:Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*.5(31) : 6697-6703.

**Gherbi, M., Kassa, B A. (2015).** Évaluation de l'activité antioxydante d'une plante.

**Graebe, J., (1987).**Gibberllin biosynthesis and control. *Annu. Ruv. Plant physiol.* Vol. (38): 419-465.

**Grainge, M (1985).** Plant species reportedly possessing pest-control properties: an EWC/UH database. Resource Systems Institute, East-West Center (EWC).

**Guingard, J. (1996).** Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192. UE PHR.

## *H*

**Hahn H.J., Kim K.B., An I.S., Ahn K.J. & Han H.J. (2017).** Protective effects of rosmarinic acid against hydrogen peroxide-induced cellular senescence and the inflammatory response in normal human dermal fibroblasts. *Mol Med Rep*. 16(6): 9763-9769.

**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.

**Hanson, J (1985).** The chemistry of natural products, (R. H. Thomson ed.), chapter 4. Blackie USA: Chapman et Hall, New York, pp. 42-92.

**Hanson, J(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.

**Hematyar, N., Rustad, T., Sampels, S., Kastrup, D. (2019).** Relationship between lipid and protein oxidation in fish. *Aquac. Res*. 50(5): 1393-1403.

**Hostettman, K., Marston, A., Ndjoko, K., Wolfender, J (2000).** The potential of Africa plants as source of drugs. *Current Organic Chemistry*., vol. 4, pp. 973-1010.

**Hseini, S., Kahouadji, A (2007).** Ethnobotanical study of medicinal flora in the region of Rabat (Morocco Western). *Lazaroa* 28: 79–92.

**Huq, M., Jabbar, A., Rashid, M., Hasan, C(1999).** Anovelanti bacteria land cardiac Steroid from the roots of *Nerium oleander*.Fitoterapia.,vol.70,pp.5-9.

**Hussain, M., Gors, M (2004).**Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn. Pakistan.Asian Journal of Plant Sciences 3 (2). P:177-180.

**Huxly, A; Griffiths, M., Levy. M. (1992).**the new rhdictionary of gardening.macmillanisbn 333-47494-5

**Ibrahim, A., Khalifa, S., Khafagi, I., Youssef, D., Khan, I., Mesbah, M. (2007).** Stimulation of oleandrin production by combined *Agrobacterium tumefaciens* mediatedtransformation and fungal elicitation in *Nerium oleander* cell cultures. Enzyme and MicrobialTechnology. 41:331-6.

**Iserin, P., Masson, M., Restellini, J (2007) :** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larouse, pp14.

## *J*

**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.

**Judd, W., Campbell, C., Kellogg, E., Stevens, P., (2002).** Botanique Systématique: Une Perspective Phylogénétique; Ed 1: Deboeck, P. 84-336.

## *K*

**Kadrim, M., Yahia, A (2016).** Contribution à l'étude de l'effet des facteurs environnementaux sur l'accumulation des glycosides chez *Nerium oleander* L. Journal of Bioresources Valorization, Vol. 1 (1): 23-27.  
<http://www.biolival.com/index.php/revue/archives-jvb>

**Kansole, M (2009):** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundiaopposstavahl* et *Orthosiphonpallidusroyle* ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

**Khare, C (2004).** Encyclopedia of Indian medicinal plants, Springer-Verlag-Heidelberg, pp; 328-330.

**Khenaka, K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Université Mentouri. Constantine. p81.

**Koeser, A., Friedman, M., Hasing, G., Franck A., Finley H, Schelb J (2017).** Trees: South Florida and the Keys. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences.

**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'histoire naturelle, ouganda. 49p.

**Kueny-Stotz, M (2008).** Contribution à la chimie des flavonoïdes : élaboration de squelettes flavylum sophistiqués, nouvelle voie d'accès aux flavan-3-ols et aux proanthocyanidines, Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur-Strasbourg, France.

## *ℒ*

**Lahsissene, H., Kahouadji, A., Hseini S (2009)** Catalog of medicinal plants used in the region of Zaer (Morocco Occidental). *Lejeunia* 186: 0457–4184.

**Lakhmili, S, Braim, S, Taourirte, M., Seddiqui, N., Amraoui, H (2014).** CHEMICAL ANALYSIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF “*NERIUM OLEANDER*” LEAVES *OnLine Journal of Biological Sciences* 14 (1): 1-7, (<http://www.thescipub.com/ojbs.toc>)

**Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., Carde, J., Bull, S (1994):** *Pharm. ZBordeaux*.13379.

**Larousse., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Nouv. éd. mise à jour. ed.

**Lawin I., Laleye O., Agbani O (2016).** Vulnérabilité et stratégies endogènes de conservation des plantes utilisées dans le traitement du diabète dans les communes de Glazoué et Savè au Centre-Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 10: 1069–1085.

**Létard, J., Canard J., Costil, V., Dalbiès P., Grunberg, B., Lapuelle, J (2015).** Commissions nutrition et thérapies complémentaires. *Phytothérapie – Principes généraux: Hegel* N° 1, 29-35.

**Lucchesi, M. ., (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72p.

**Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K., Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientis* 1-4: 119-125.

## M

**Malecky, M, (2007).** : Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins, thèse de doctorat, INR,UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231,Paris.

**Maftah, T., Sengui, R., Djennas, A (2003).** Programme UICN d'Afrique du Nord, cosmétologie au naturel, p. 11, Algérie.

**Malik, R., Bokhari, ., Siddiqui, M., Younis, U., Hussain, M., Khan, I (2015).** Antimicrobial activity of *Nerium oleander L.* and *Nicotianatabacum L.*: A comparative study. *Pak. J. Bot*; 47(4):1587-92.

**MANALLAH, A (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.*

**Mandal, S.M., Chakraborty, D., Dey, S. (2010).** Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant signaling & behavior* 5, 359-368.

**Marmulla, R., & Harder, J. (2014).** Microbial monoterpene transformations — a review. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1–14

**Mellouk, A (2017)** .Contribution à l'étude de l'effet antioxydant de l'extrait éthanoïques et méthanoïques de deux lavandes locales (*Lavandula multifida L.* et *Lavandula dentata L.*) – diplôme de master- Université Tlemcen – Tlemcen.3p.

**Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, N (2012).** Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130 :1036–1043.

**Mohadjerani, M.(2012).** Antioxidant activity and total phenolic content of *Nerium oleander L.* Grown in north of Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11(4): 1121-1126.

**Molyneux P (2004).**The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.*Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219.

**Monica, G., Sandra, V., Patricia, I., and Cesar, G. (2010):** *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 501(1) 23.

**Moussous K (2018).** Effets antioxydants et anti–enzymes du brunissement des extraits de Marrubium Vulgare L, thèse Master Sciences Biologiques, Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira.

## N

**Nabors, M., (2009).** Biologie végétale: structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies. Pearson Education.Paris.P 153-155.

**Naboulsi, I., Aboulmouhajir, A. (2018).** Plants extracts and secondary metabolites, their extraction methods and use in agriculture for controlling crop stresses and improving productivity. Acad. J. Med. Plants, 6(8) : 223–240.

**Namian, P., Germi, K., Shabani, F., Talebi, T (2013).** Screening of biological activities (antioxidant, antibacterial and antitumor) of *Nerium oleander* leaf and flower extracts. American J of Phytomed and Clinical Therap; 1(4): 378-384.

**Nemmar, A., Yuvaraju, P., Beegam, S., Yasin, J., Kazzam, E., Ali B (2016).** Oxidative stress, inflammation, and DNA damage in multiple organs of mice acutely exposed to amorphous silica nanoparticles. Int J Nanomedicine. 11: 919-928.

**Niki, E. (2018).** Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? Free Radic Biol Med. 124: 564.

**Nkhili, E (2009).** Polyphénols de l'alimentation : extraction , interaction avec les ions de fer et du cuivre . oxydation et pouvoir antioxydant , these de doctorat en sciences des aliments . université cadí ayyad, marrakech . maroc.

## O

**Omara, T ., Kiprof, A., Ramkat, R., Cherutoi, J., Kagoya, S., MoraaNyangena, D., AzezeTebo, T., Nteziyaremye , P., NyamburaKaranja, L., Jepchirchir, A., Maiyo, A., JematiaKiptui, B., Mbabazi, I., KiwanukaNakiguli, C., Nakabuye, B., ChepkemoiKoske M (2020).** Medicinal Plants Used in Traditional Management of Cancer in Uganda: A Review of Ethnobotanical Surveys, Phytochemistry, and Anticancer Studies. EvidBasedComplement Alternat Med.Mar 15; 2020:3529081. doi: 10.1155/2020/3529081. PMID: 32256639; PMCID: PMC7102457.

**P**

**Paris, R., Moyse, H (1971).** Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones (tome III), pp.32-52.

**Pascal M., Véronique, C (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Collection science et techniques agroalimentaires. Ed. Technique et Documentation. Paris, p 2-25.

**Patterson, J., Joughin, B., van de Kooij, B., Lim, D., Lauffenburger, D., Yaffe, M (2019).** ROS and oxidative stress are elevated in mitosis during asynchronous cell cycle progression and are exacerbated by mitotic arrest. *Cell Syst.* 8 (2):163-167.

**Peña-Bautista, C., Baquero, M., Vento, M., Chafer-Pericas, C (2019).** Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clin Chim Acta.* 491: 85-90.

**Phani, D., Bharadwaj, S., Yedukondalu, M., Methushala, C., Ravikumar, A (2013).** Phytochimicales evolution of *Nerium oleander* and catharathnusrosus. *India Journal in pharmacy and biotechnology*, 11(4): 333-338.

**Pillou, F (2014).** « Radicaux libres – Définition », *Journal des Femmes*.

**R**

**Randrianasolo, A., Rakotoarivelo, N., Rakotoarivony, Ramarosandratana, A., Jeannoda, V., Kuhlman, A., Bussmann, R (2015).** Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar. *J Ethnobiology Ethnomedicine*; 11(1):68.

**Rasool Hassan, B (2012).** Medicinal plants (importance and uses). *Pharmaceut Anal Acta*; 3:e139.

**Roberts, M (2013).** Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications. Springer Science & Business Media.

**Rosenfeld, M., Vasilyeva, A., Yurina, L., Bychkova, A (2018).** Oxidation of proteins: is it a programmed process? *Free Radic Res.* 52(1): 14-38.

**S**

**Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A (2010).** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Mediterranean Botany*, 31, 133.

**Sangwan, N., Farooqi, A., Shabih, F., Sangwan, R (2001):** *Plant Growth Regul.* 34-3.

**ShanYu, M., Wanilai, S., Funclin, K., Nianfang, J., Hungyuen, W., Chung, R (2004)** Characterization of polysaccharides from the flowers of *Nerium indicum* and their neuroprotective effects. *International Journal of Molecular Medicine.*, vol. 14, pp. 917-924.

**Serino, A., Salazar, G. (2019).** Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. *Nutrients*. 11(1): 53.

**Singhal, K., Gupta, G(2012).** Hepatoprotective and antioxidant activity of methanolic extract of flowers of *Nerium oleander* against CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats. *Asian Pac J Trop Med.* Sep;5(9):677-85. doi: 10.1016/S1995-7645(12)60106-0. PMID: 22805717.

**Sinha, S., Biswas, K (2016) .** A concise review on *Nerium oleander* L. An important medicinal plant. *Trop Plant Res.* (3):408-412.

**Smirnoff, N (2018).** Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med.* 122: 116-129.

**Suganya, R (2012).** Phytochemical screening of and antibacterial activity of *Nerium oleander* and evaluative of their plant mediated nanoparticle synthesis. *IR.JP*, 2012, 2230-8407.

## T

**Taso, O., Philippou, A., Moustogiannis, A., Zevolis, E., Koutsilieris, M (2019).** Lipid peroxidation products and their role in neurodegenerative diseases. *Ann Res Hosp* 3: 1-10.

**Tayoub, G., Sulaiman, H., Alorfi, M., (2014).** Analysis of oleandrin in oleander extract (*Nerium oleander*) by HPLC. *Journal of Natural Products* ; 7: 73-78.

**Telefo, P., Lienou, L., Yemele, M.D., Lemfack, M., Mouokeu, C., Goka, C., Tagne, S., Moundipa, F (2011).** Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of female infertility in Baham, Cameroon. *J. Ethnopharmacol.*, 136: 178–187

**Thomas, O (2009).** Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Université Nice Sophia Antipolis.

**Tripathi, R., Tiwari A (2017).** Investigation of Biologically Active Phytoconstituents present in selected Plants Material of Verbenaceae, Lamiaceae and Fabaceae family, Vol.5, P: 32-33.

**Tu, W., Wang, H., Li, S., Liu, Q., Sha, H (2019).** The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Disease*. 10(3): 637-648.

**Turan, N, Akgün-Dar, K., Kuruca, S., Kiliçaslan-Ayna, T., Seyhan, V., Atasever, B., ...Çarin, M. (2006).** Cytotoxic effects of leaf, stem and root extracts of *Nerium oleander* on leukemia cell lines and role of the p-glycoprotein in this effect. *J Exp Ther Oncol*, 6(1), 31-38.

**Turkmen, N., Velioglu, Y., Sari, F., Polat, G (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. Pp 484-496.

### V

**Valko, M, et al. (2007).** « Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease », In *Biochem Cell Biol*, n°39, p. 44-84.

### W

**Wallace, R.,(2004).** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society*. Vol. (63): 621–629.

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

### X

**Xiong, Y., Xiong, Y., Zhou, S., Sun, Y., Zhao, Y., Ren, X., Zhang, Y., Zhang, N. (2017).** Vitamin C and Ee supplements enhance the antioxidant capacity of erythrocytes obtained from aged Rats *Rejuvenation Res*. 20: 85-92.

**Xu, D.P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Li H (2017).** Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *Int J Mol Sci*.18(1): 96-107.

## Υ

**Yanardag, S., Akkoca, A., Çiçek, F., Ayaz, M. (2015).** Effect of distilled *Nerium oleander* extract on diabetic neuropathy: Animal model study. *Journal of Advanced Neuroscience Research*. 2: 16-21.

**Yi, Z.-B., Yu, Y., Liang, Y.-Z., Zeng, B. (2007).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids, *LWT-Food Science and Technology*. 4: 1000-1016.

**Yinyang, J., Mpondo E. M., Tchatat M., Ndjib R., Ottou P., Dibong S (2014).** Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*. 16(5): 650-612.

## Z

**Zibbu, G., Batra, A. (2010).** A review on chemistry and pharmacological activity of *Nerium oleander* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2(6): 351-358.

**Zielinski, Z., Pratt, D (2017).** Lipid peroxidation: Kinetics, mechanisms, and products. *J Org Chem*. 82(6): 2817-2825.

**Zuluaga, M., Gueguen, V., Pavon-Djavid, G, Letourneur, D. (2017).** Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts*. 7: 1-3.

# *Annexes*

## Annexes

## Annexe I : Matériel de laboratoire

Tableau I : le matériel de laboratoire

Verreries et matériel en plastique	Solvants
- Pipettes	- L'eau distillée
- Micro pipette (1000 µl, 200 µl)	- Acide chlorhydrique (HCl)
- Tubes à essai	- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Flacons	- chloroforme
- Erlenmeyer	- méthanol
- Bêchers	- Chlorure de fer (FeCl <sub>3</sub> )
- Spatule	- Hydroxyde l'ammonium (NH <sub>4</sub> OH)
- Tube en plastiques citratés	- Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
- Eprouvette graduées	- Folin-Ciocalteu
- Papier filtre	- Acide gallique
- Burette graduée	- Iodure de potassium
- Cuve en verre	- Aide ascorbique
- Tubes à essais	- L'eau physiologie
- Embouts	- DMSO
- Fioles	- Muller-Hinton.
- Tubes secs à bouchons	
- Flacons en verre ambré	
- Porte tube à essai	

<ul style="list-style-type: none"><li>- Papier d'aluminium</li><li>- Entonnoir en verre</li><li>- écoviont</li><li>-Réfrigérateur</li><li>-Boite de pétri</li><li>-Cuve en plastique</li><li>-Boites de pétri en verre</li></ul>	
--	--

**Annexe II: Appareillages de laboratoire**



Etuve



Balance



Spectrophotomètre



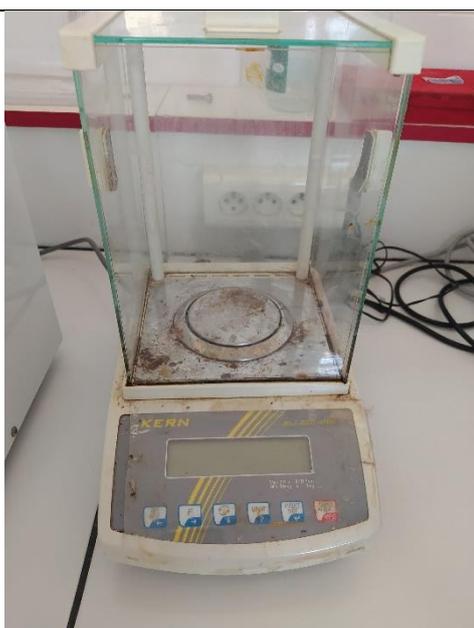
Autoclave



Agitateur



Agitateur magnétique chauffant



Balance à précision



Bec bunsen



Densitromètre



Rotavapor



Agitateur (Vortex)

**Annexe III**

➤ Préparation des solutions pour l'analyse biochimique DPPH

DPPH.....	0,004 g
Méthanol.....	100 ml

➤ Composition des principaux Milieux de culture utilisés

- Milieux liquides
  - Eau physiologique stérile

Chlorure de sodium (NaCL).....	0,9g
Eau distillée.....	100ml

- Milieux solides
  - Gélose Muller Hinton (MH)

Gélose Mueller Hinton poudre.....	38g
Eau distillée.....	1L

➤ Réactifs utilisés pour le screening phytochimique

- Réactif de MAYER :

Chlorure de mercure.....	1,36 g
Iodure de potassium.....	5 g
Eau distillée.....	100 ml