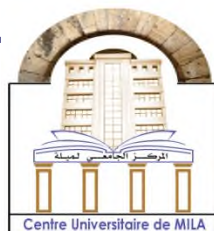


N° Ref : .....



## 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 : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Option : Biotechnologie Végétale et Amélioration des Plantes

Thème :

## Etude des substances actives chez *Nerium oleander L.*

Présenté par : - Boudraa Aicha

- Choufi Saida

Devant le jury composé de :

- Présidente: M<sup>elle</sup> Bouassaba K.

Grade : Maitre-assistant A

- Examinatrice: M<sup>me</sup> Himour S.

Grade : Maitre-assistant A

- Promoteur: Mr Yahia A.

Grade : Professeur

Année Universitaire: 2015/2016



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سب





## *Remerciement*

*Tout d'abord Nous remercions dieu le tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a aidé à mener ce travail à sa Fin.*


*Nos vifs remerciements vont également à notre promoteur Mr **Yahia Abdelouahab**, professeur.*

*Au centre Universitaire de Mila  
Pour avoir dirigé ce travail et pour sa  
Grande patience, sa disponibilité et ses conseils judicieux,  
Nous remercions également **M<sup>elle</sup> Bouassaba Karima**,  
Maître assistant A au centre universitaire de Mila pour avoir  
Accepté de présider le jury.*

*Nous remercions **M<sup>me</sup> Himour Sara**, Maître assistant A au  
Centre universitaire de Mila pour sa participation  
à l'évaluation du travail présenté.*

*Nous remercions tous les membres du  
« Laboratoire de biologie du centre universitaire de Mila »*

*Nos remerciements vont également à tous ceux  
qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce  
travail.*





# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail et une très profonde gratitude  
A mes parents: Mon cher papa et ma tendre maman pour leurs  
encouragements et leur soutien durant toute ma période d'étude et  
pour leur patience et leur amour qui je dois tout et sans qui je*

*Ne serais rien*

*A mes chers sœurs Farída, Naïma, Moufída, Roukia et mon frère*

*Houcine*

*A mes chers les fils de mes sœurs*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis*

*Et à tous mes Enseignants.*

*AICHA*



*Je dédie ce modeste travail et une très profonde gratitude*

*A mes parents: Mon cher papa et ma tendre maman pour leurs  
Encouragements et leur soutien durant toute ma période d'étude  
Et pour leur patience et leur amour qui je dois tout et sans qui je*

*Ne serais rien*

*A mes chères sœurs Naïma, Rîma, Rachîda et mes frères Toufik,*

*Rabeh*

*A mes chers Maya, Yakoub les fils de ma sœur*

*A mon fiancé ZAKI pour leur soutien et encouragement*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis*

*Et à tous mes Enseignants.*

**SAIDA**

# Sommaire

**Remerciement**

**Dédicace**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction**

## **Partie bibliographique**

### **Chapitre 1: Généralités sur *Nerium oleander* L.**

I.1. Les plantes médicinales.....	02
2. Présentation de la plante étudiée.....	02
2.1. Famille Apocynaceae.....	02
2.2. Genre <i>Nerium</i> .....	03
2.3. Espèce <i>N.oleander</i> .....	04
2.3.1. Taxonomie.....	05
2.3.2. Description botanique.....	05
2.3.3. Les variétés de <i>N.oleander</i> .....	06
2.3.4. Distribution géographique.....	08
2.3.5. Utilisations traditionnelles dans le monde.....	08
2.3.6. Importance médicinal.....	09
2.3.7. Importance économique.....	10
2.3.8. Toxicité.....	10

### **Chapitre 2 : Les substances bioactives.**

II. Métabolites secondaires.....	12
1. Substances végétales bioactives.....	13
1.1. Glycosides.....	13
1.1.1. Types et classification des glycosides.....	13
1.1.2. Fonctions de glycosides dans la plante.....	14
1.1.3. L'activité pharmacologique.....	14
1.1.4. Caractérisation.....	15
1.2. Flavonoïdes.....	15
1.2.1. Rôles des flavonoïdes.....	15

1.2.2. Localisation.....	16
1.2.3. Structure et classification.....	16
1.3. Tanins.....	17
1.3.1. Localisation et distribution.....	18
1.3.2. Classification.....	18
1.3.3. Utilisation des tanins.....	19
1.3.4. Effets biologiques des tannins.....	19
1.4. Saponosides.....	20
1.4.1. Le rôle biologique des saponosides.....	20
1.5. Alcaloïdes.....	21
1.5.1. Localisation.....	21
1.5.2. Fonction .....	22
1.5.3. Classification.....	22
1.5.4. Bioactivité.....	22
1.6. Huiles essentielles.....	23
1.6.1. Répartition, localisation.....	23
1.6.2. Caractéristiques et propriétés physiques.....	23
1.6.3. Fonction.....	24
1.6.4. Classification.....	25

## **Patrie expérimentale**

### **Chapitre 3 : Matériels et méthodes**

III. Matériels et méthodes.....	27
1. Matériel végétal.....	27
2. Les tests phytochimique.....	27
2.1. Test des glycosides .....	27
2.2. Test des flavonoïdes.....	29
2.3. Test des tanins.....	29
2.4. Test des saponosides.....	30
2.5. Test des alcaloïdes .....	30
2.6. Test des huiles essentielles.....	31
2.7. Test des cardinolides.....	31

## **Chapitre 4 : Résultats et discussions**

➤ Résultats des glycosides .....	33
➤ Résultats des flavonoïdes.....	35
➤ Résultats des tanins .....	36
➤ Résultats des saponosides.....	37
➤ Résultats des alcaloïdes.....	38
➤ Résultats des huiles essentielles.....	39
➤ Résultats des cardinolides.....	41
➤ Screening phytochimique des métabolites secondaires de <i>N. oleander</i> .....	42

**Conclusion.**

**Annexes.**

**Références bibliographiques.**

**Résumés.**

## *Liste des abréviations*

**%:** Pourcentage.

**°C:** Degré Celsius.

**FeCl<sub>3</sub>:** Chlorure de fer

**g:** Gramme.

**h:** Heure.

**HCl:** Acide hydrochlorique.

**I:** Iode.

**KI:** Iodure de potassium

**KOH:** Hydroxyde de potassium.

**mg:** Milligramme.

**ml:** Millilitre.

**NH<sub>4</sub>OH:** Hydroxyde d'ammonium.

***N. oleander:*** Espèce *Nerium oleander*

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Feuille de <i>N. oleander</i> .....	05
<b>Figure 02:</b> Fleur de <i>N. oleander</i> .....	05
<b>Figure 03:</b> Fruits de <i>N. oleander</i> .....	06
<b>Figure 04:</b> Les graines de <i>N. oleander</i> .....	06
<b>Figure 05:</b> Les grandes voies de synthèse des métabolites secondaires et relations avec le métabolisme primaire.....	12
<b>Figure 06:</b> Structure de base des flavonoïdes.....	16
<b>Figure 07:</b> Structures des différentes classes de flavonoïdes.....	17
<b>Figure 08:</b> Structure des principales classes de tanins.....	19
<b>Figure 09:</b> Structure des saponines du ginseng.....	20
<b>Figure 10:</b> Structure chimique de certains monoterpènes.....	25
<b>Figure 11:</b> Structure chimique de certains composés aromatiques.....	26
<b>Figure 12:</b> Condensateur red et rota vapor.....	28
<b>Figure 13:</b> Solution Fehling et bain marie.....	28
<b>Figure 14:</b> KOH et papier pH (pH-FIX 0-14).....	29
<b>Figure 15:</b> Chlorure de fer.....	30
<b>Figure 16:</b> Réactif de Wagner .....	31
<b>Figure 17:</b> Appareil de distillation.....	31
<b>Figure 18:</b> Chlorure de fer et l'acide sulfurique.....	32
<b>Figure 19:</b> Résultat de test de sucre réducteur.....	34
<b>Figure 20:</b> Résultat de test de kitose.....	34
<b>Figure 21:</b> Résultat de test des flavonoïdes.....	35
<b>Figure 22:</b> Résultat de test des tanins.....	37
<b>Figure 23:</b> Résultat de test des saponosides.....	38
<b>Figure 24:</b> Résultat de test des alcaloïdes.....	39
<b>Figure 25:</b> Résultat de test des huiles essentielles.....	40
<b>Figure 26:</b> Résultat de test des cardinolides.....	41

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Famille des Apocynacées dans le monde.....	03
<b>Tableau II:</b> les différentes dénominations communes de <i>N. oleander</i> selon les pays.....	04
<b>Tableau III:</b> Les différentes variétés de <i>N. oleander</i> .....	07
<b>Tableau IV:</b> Principales utilisations de <i>N. oleander</i> en médecine traditionnelle selon les pays.....	09
<b>Tableau VI:</b> Résultats de recherche des glycosides dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	33
<b>Tableau VII:</b> Résultats de recherche des flavonoïdes dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	35
<b>Tableau VIII:</b> Résultats de recherche des tanins dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	36
<b>Tableau IX:</b> Résultats de recherche des saponosides dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	37
<b>Tableau X:</b> Résultats de recherche des alcaloïdes dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	39
<b>Tableau XI:</b> Résultats de recherche des huiles essentielles dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	40
<b>Tableau XII:</b> Résultats de recherche des cardinolides dans les différentes parties de <i>N.oleander</i> .....	41
<b>Tableau XIII:</b> Inventaire chimique primaire des résultats de métabolisme secondaire de <i>N.oleander</i> .....	42

# Introduction

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments **(Maurice, 1997)**.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve laurier-rose (*Nerium oleander* L.) est un arbuste de la famille Apocynacées, originaire de la rive sud de la mer méditerrané, et connue sous le nom el-defla, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions humides.

La toxicité de *Nerium oleander* L. a été démontré par plusieurs auteurs aussi bien sur l'homme, sur les animaux que sur les oiseaux et les insectes. Il suffit de 80 g de poudre de laurier rose pour tuer un bœuf et 10 g pour tuer une oie **(Alfonso et Sanchez, 1994)**.

Mais malgré sa toxicité établie, cette espèce est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de la gale et de réduire les gonflements...etc. Et également utilisée comme anti cancéreux (les ulcères cancéreux, le carcinome, tumeurs ulcéreuses ou dures) **(Valnet, 1976)**, parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques comme les flavonoïdes, les tanins, les glycosides.....etc.

Dans notre étude, Le cœur de ce travail a principalement porté sur la caractérisation des métabolites secondaires les plus répandues d'espèce *N. oleander* L. et ce mémoire est composé de deux parties:

-La première partie propose une mise au point bibliographique qui rassemble deux chapitres.

- ❖ Le premier chapitre est présenté des données essentielles sur *N. oleander* L. (laurier rose).
- ❖ Le second chapitre traite les différentes substances bioactives (glycosides, flavonoïdes.....etc.)

-la deuxième partie réservée à l'étude expérimentale présente aussi deux chapitres.

- ❖ Le premier chapitre a résumé les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de l'étude phytochimique des différents extraits de *N. oleander* L.
- ❖ Le second chapitre contient les résultats obtenus et les discussions.

Partie

bibliographique

# **Chapitre 1**

## **Généralité sur N. oleander**



## I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une de leurs parties possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). Elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Environ 35000 espèces de plantes sont employées à travers le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Ces plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**). L'action phytothérapique des plantes repose sur les milliers de substances chimiques actives (métabolites secondaires) qu'elles contiennent (**Iserin et al., 2001**). La recherche de telles molécules et leur séparation est devenu, actuellement, une priorité en industrie pharmaceutique, dans le souci de développer des médicaments efficaces et sans effets secondaires négatifs.

## 2. Présentation de la plante étudiée

Laurier rose appelée par les algériens "Defla" est un arbuste à feuilles lancéolées regroupées en trois dans un cornet, à pédicelle court, linéaire, vert foncé et luisantes. Les fleurs de *N. oleander* sont parfumées et d'une couleur rouge, rose ou blanche. Les fruits possèdent deux (2) follicules linéaires soudés. Elle pousse spontanément dans toute la région méditerranéenne, principalement près des cours d'eau (lits d'Oueds). Cet arbuste préfère les milieux humides et ensoleillés.

Toutes les parties de la plante du laurier rose contiennent des glycosides et des alcaloïdes extrêmement toxiques qui peuvent causer la mort par paralysie du cœur (**Johnson et Franz, 2002**). Cette plante est principalement utilisée comme plante ornementale. (**Ghoneum et al., 2006**).

### 2.1. Famille Apocynaceae

Les Apocynacées sont connues pour leur importance comme source de substances médicamenteuses de première importance (ex. Vincristine, Vinblastine, Vincamine,...) (**Hostettman et al., 2000**). La famille comporte plus de 180 genres et 1300 espèces, se développant principalement dans la zone intertropicale (**Bruneton, 2001; Shriff et al., 2006**) répartis en 4 sous-familles (**Gaussen et al., 1982**) (tableau I).

**Tableau I:** Famille des Apocynacées dans le monde (Gaussen et al., 1982).

Sous-famille	Genre	Distribution géographique
Apocynoideae	<i>Apocynum</i>	Amérique du Nord, Mexique
	<i>Nerium</i>	De la méditerranée au Japon
	<i>Strophanthus</i>	De la l' Afrique à la Malaisie
	<i>Adenium</i>	Xérophytes charnues d'Afrique
	<i>Pachypodium</i>	Madagascar
Plumériodeae	<i>Allamanda</i>	Amérique tropicale
	<i>Landolphia</i>	Madagascar
		Sud-américaines
	<i>Rauwolfia</i>	Tropique
	<i>Ochrosia</i>	Paléotropicale, absent d'Afrique
	<i>Plumeria</i>	Amérique chaude
	<i>Catharanthus</i>	Tropique, particulièrement Madagascar
<i>Vinca</i>	Méditerranée et Eurasie	
Tabernaemontanoideae	<i>Tabernaemontana</i>	Tropique
	<i>Vacanga</i>	Paléotropical
Cerbéroideae	<i>Thevetia</i>	Amérique tropicale
	<i>Cerbera</i>	Madagascar

## 2.2. Genre *Nerium*

Le genre *Nerium* regroupe dans le monde deux espèces (Popenoe, 1975; Yamauchi et al., 1983):

- *Nerium oleander* L.
- *Nerium indicum* Mill (syn: *N. odorum* Sol.) Originaire de l'Asie du sud-est.

L'espèce *Nerium indicum* Mill. (Syn. : *Nerium odorum* Sol.) , est une espèce d'Iran, de l'Inde (Paris et al., 1971), répandue de l'Arabie au Pakistan, à la Chine. Elle est aussi signalée au Japon. Introduite en Europe au XVIIe siècle, on la cultive souvent sur la côte atlantique, au sud de la Loire. Ses pétales ont un appendice divisé presque jusqu'à la base en franges filiformes (Bruneton, 2001).

2.3. Espèce *N. oleander* L.

Le *Nerium oleander* L. (appelée localement Défla) est un arbuste appartenant à la famille des Apocynaceae. Le nom latin *Nerium* vient du grec *nerion* signifiant «humide», indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (Paris et al., 1971). Nom spécifique *oleander* vient de l'italien de «oleandro» qui vient du latin «olea» qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages. *Nerium oleander* est connu sous différentes dénominations communes selon les pays considérés (tableau II).

**Tableau II:** les différentes dénominations communes de *Nerium oleander* selon les pays

Pays	Synonymes
Puerto Rico, Spain	Adelfa
Puerto Rico	Alheli Extranjero
Catalunya-Spain	Baladre
Bazille	Loureiro rosa, Loandro, Flor de Sao Jose, Espirra deira
Argentina Uruguay	Laurel rosa. Laurel de jardín
France	Laurier rose
Hawaii	Oleana, Oliwa
Bazille, UK, USA	Oleander
Mexico	Rosa Laurel
Cuba	Rosa Francesa
UK	Rose bay
Algérie, nord d'Afrique	الدفة, الدفلى
Pays de golf	الدفة أو التقلة أو ورد الحمار أو الغار الوردي
China	Jiazhutao

### 2.3.1. Taxonomie

Selon (Cécile, 2006), le *Nerium oleander* est classé comme suit : Classification:

Division	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Dicotyledoneae</i>
Ordre	<i>Gentianales</i>
Famille	<i>Apocynaceae</i>
Genre	<i>Nerium</i>
Espèce	<i>Oleander</i> L.

### 2.3.2. Description botanique

Arbuste dressé atteignant 3-4m de hauteur, possédant :

- feuilles: opposées ou verticillées par 3, longuement lancéolées (8-14 x 5-2.5cm), coriaces, à nervures secondaires pennées, très nombreuses, serrées (**Figure 01**) (Paul, 1991; Michel, 1992).



**Figure 01:** feuille de *Nerium* (Kadri, 2015)

- 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 (**Figure 02**) (Delille, 2007).



**Figure 02:** fleur de *Nerium* (Kadri, 2015)

• fruit: comporte deux follicules allongés (8-16 x 0.5- 1.5cm), soudés jusqu'au début de la déhiscence (**Figure 03**) (**Huxley, 1992**).



**Figure 03:** fruits de Nerium (**Kadri, 2015**)

• graine: duveteuse, est surmontée d'une aigrette sessile qui en facilite la diffusion (**Figure 04**) (**Paris et al., 1971; Bruneton, 2001; Hussain et al., 2004**).



**Figure 04:** les graines de Nerium (**Kadri, 2015**)

### 2.3.3. Les variétés de *Nerium oleander*

On distingue différents variétés de Nerium selon la couleur, nous les trouvent rose, rouge, blanc et jaune, il peut être aussi simple ou complexe, comme indiqué dans le **tableau(III)**, (**Huxley, 1992**)

Tableau III: Les différentes variétés de *Nerium oleander*

L'aspect	Longueur	Forme	Famille	Nom commune	Nom latin
	2 - 6 m	Rose simple	Apocynaceae	Laurier Rose	<i>Nerium Oleander</i>
	3 - 4 m	Jaune simple	Apocynaceae	Laurier Rose	<i>Nerium oleander 'Luteum'</i>
	5 - 6 m	Blanche simple	Apocynaceae	Laurier Rose	<i>Nerium Oleander 'Mont blanc'</i>
	2 - 3 m	Rose jaunâtre Simple	Apocynaceae	Laurier Rose	<i>Nerium Oleander 'Petite Salmon'</i>
	4 - 6 m	Rose complexe	Apocynaceae	Laurier Rose	<i>Nerium oleander 'Cavalaire'</i> syn. 'Mme Allen' syn. 'Mme Planchon'
	5 - 6 m	Rouge complexe	Apocynaceae	Laurier Rose	<i>Nerium oleander 'Tamouré'</i>

### 2.3.4. Distribution géographique de la plante

Le *Nerium oleander* se développe notamment dans des pays du pourtour du bassin méditerranéen. Il serait originaire du Proche-Orient (**Paris et al., 1971**).

L'espèce croît spontanément sur les berges rocailleuses des rivières, par fois même dans les zones littorales, habituellement dévolues aux espèces halophiles. Adaptée à la sécheresse, le *N. oleander* L. est très décoratif pour la beauté de ses fleurs (**Paris et al., 1971; Bruneton, 2001**).

En Afrique du Nord, le *N. oleander* est assez commun dans la zone steppique. En Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocailloux.

Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (**Chopra et al., 1971**).

Le *N. oleander* se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...). (**Ridings, 1976; Siddiqui et al., 1989**). Il est fréquemment cultivé comme ornemental (**Ridings, 1976; Delille, 2007**).

### 2.3.5. Utilisations traditionnelles dans le monde

Le *Nerium oleander* est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (**Adom et al., 2003; Almahy et al., 2006**).

Les usages traditionnels des différents organes de *Nerium oleander* selon les pays sont décrits dans le **tableau IV** :

**Tableau IV:** Principales utilisations de *Nerium oleander* en médecine traditionnelle selon les pays.

Parties Utilisées	Pays	Indications / (références)	Mode d'emploi
Feuilles fraîches ou séchées	Afrique du Sud	Abortif ( <b>Adomet <i>al.</i>, 2003</b> )	*
	Algérie	nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre les caries dentaires ( <b>Maftah <i>et al.</i>, 2003</b> ).	Décoction
	Iran	cardiotonique et diurétique ( <b>Adom <i>et al.</i>, 2003</b> ).	Infusion
	Maroc	antidiabétique, abortif, démangeaison, male de tête ( <b>Bnouhamet <i>al.</i>, 2002</b> ), antigale, contre la chute des cheveux et l'eczéma ( <b>Oukal, 2008</b> ).	Décoction, infusion, macération
	Tanzanie et Turquie	antibactérien ( <b>Erdemoglu <i>et al.</i>, 2003; Adom <i>et al.</i>, 2003</b> ).	Décoction
Différents organes	Cuba	médecine de folklore ( <b>Adom <i>et al.</i>, 2003</b> ).	*
	Inde et Bangladesh	antibactérien ( <b>Adom <i>et al.</i>, 2003</b> )	*

\* non précis

### 2.3.6. Importance médicinale

Les feuilles et les fleurs sont cardiotonique, diaphorétique, diurétique, anticancéreux, antibactériens, anti fongique et expectorant (**Chopra *et al.*, 1986**). Une décoction de feuilles a été appliquée à l'extérieur dans le traitement de la gale et de réduire les gonflements. Ceci est une plante très toxique, contenant une puissante cardiaque toxine et ne doit être utilisée qu'avec une extrême prudence. La racine est puissamment résolutive, est utilisée dans la forme de pansements et est appliquée à des tumeurs en raison de sa nature toxique, elle est utilisée seulement à l'extérieur. Elle est battue dans une pâte avec de l'eau et appliquée à la lésion et des ulcères sur le pénis (**Marchioni and Calio Distefano, 1989**).

L'écorce est amère et est utilisée comme purgatif, fébrifuge et dans le cas de la fièvre intermittente. L'huile préparée à partir de l'écorce de la racine est utilisée dans le traitement des maladies de la lèpre et de la peau de nature écaillée. Les graines sont toxiques, abortifs et alternative. Ils ont été utilisés comme purgatif dans l'hydropisie et les rhumatismes. La plante entière est dite avoir des propriétés anticancéreuses (**Abe and**

**Yamauchi, 1992**). *Nerium oleander* a également été utilisé dans le traitement du cancer (**Valnet, 1976**), les fleurs, les feuilles, jus de feuilles ou de latex, l'écorce et les racines ont été utilisés contre les cors, les verrues, les ulcères cancéreux, le carcinome, tumeurs ulcéreuses ou dures.

### 2.3.7. Importance économique

La plante est utilisée comme poison de rat et d'un insecticide. Les feuilles pilées et l'écorce sont utilisées comme un insecticide. Un colorant vert est obtenu à partir des fleurs. La plante est couramment utilisée pour couverture informelle en Méditerranée. Les feuilles contiennent de petites quantités de latex qui peut être utilisé pour fabriquer du caoutchouc, bien que la quantité soit trop faible pour une utilisation commerciale. Les plantes ont un système racinaire étendu et sont souvent utilisés pour stabiliser le sol dans les régions chaudes (**Kirtikar and Bassu, 1999**).

### 2.3.8. Toxicité

Les feuilles peuvent être à l'origine de graves intoxications particulièrement chez les enfants. Toutes les parties de la plante et le latex qu'elles contiennent peuvent provoquer des accidents chez l'homme ou les animaux. (**Paris et Moyse, 1971**). Des accidents graves ont été observés avec les feuilles et les rameaux du laurier-rose. Les eaux dans lesquelles baignent les racines de cet arbuste deviendraient elle-même toxiques. Une simple sieste à l'ombre de l'arbuste pourrait même entraîner des malaises généraux avec courbatures, vertiges et sueurs froides. (**Debelmas et Delaveau, 1983**).

- Les signes d'intoxication chez l'animal, décrits pour la première fois au Maroc par **Charnot (1945)**, sont: digestifs (hypersalivation, vomissements, gastro-entérite, anorexie, ballonnements) ; signes d'atteinte du système nerveux central, des signes généraux (marche vacillante, troubles visuels, frissons, convulsion, paralysie, ralentissement et irrégularité du pouls, puis troubles respiratoires, dépression respiratoire, et mort par asphyxie et arrêt cardiaque au bout de 36h jusqu'à 12jours, selon les doses).
- Les signes d'intoxication chez l'homme décrits pour la première fois au Maroc par **Charnot (1945)**, sont: Signes digestifs (vomissements et diarrhées soit un tableau de gastro-entérite aiguë généralement fébrile): signes d'atteinte du système nerveux central et signes généraux (sensation de faiblesse, extinction de voix, hyperthermie,

confusion mentale et, parfois, troubles de la vigilance, jusqu'au sommeil profond, convulsion, épisodes de syncope coïncidant avec une bradycardie et des troubles du rythme cardiaque, avec, pour résultat, un pouls faible et intermittent; jusqu'à la mort par arrêt cardiaque). Bellakhdar ajoute: " L'ingestion d'une dizaine de feuilles peut être mortelle pour un adulte. " **Debelmas et delaveau (1978, 1983)** signalent: " Le laurier-rose passe pour provoquer des dermites [inflammations ou irritations de la peau] Chez des sujets très sensibles."

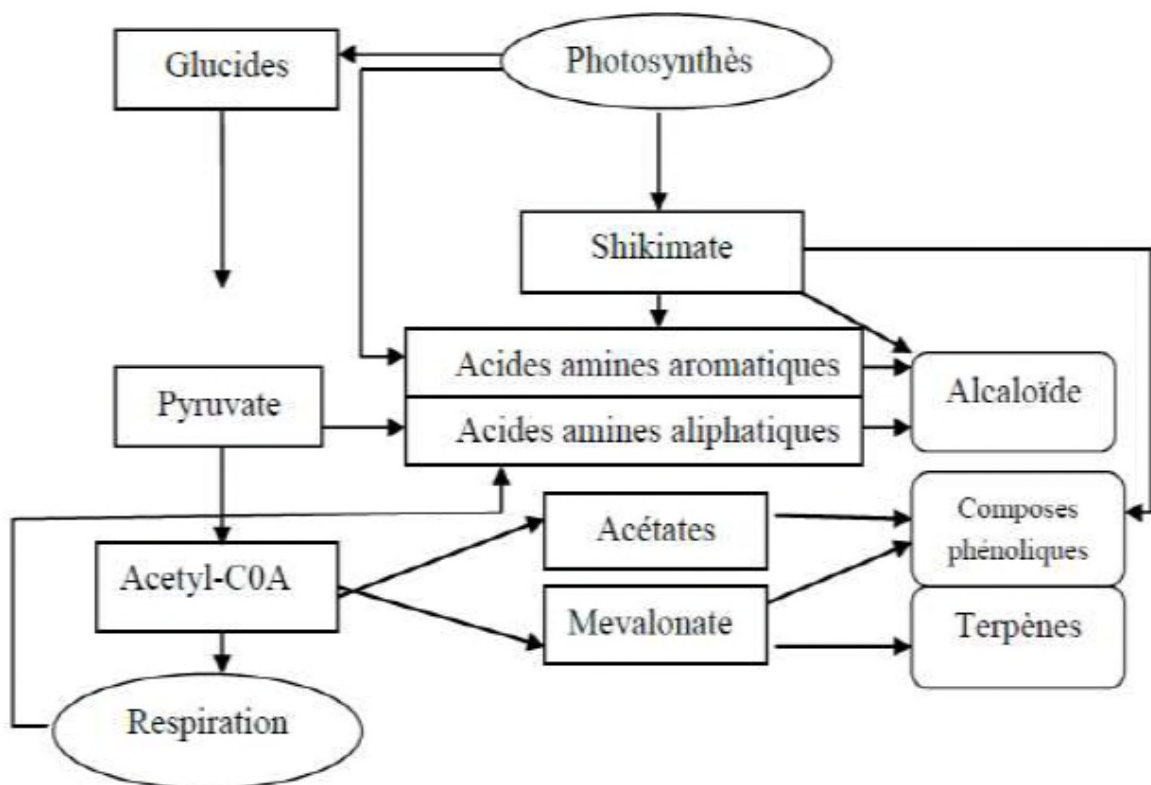
# **Chapitre 2**

## **Les substances bioactives**

## II. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des produits dérivant du métabolisme général et ne jouent apparemment aucun rôle vital; ils sont propres à chaque espèce, ils sont l'expression de la diversité du monde vivant. Se sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes, mais plutôt, elles interviennent dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction. Elles varient en fonction des espèces (**Buchanan, 2006**).

Un métabolite secondaire est une molécule ,telle que les acides phénoliques les flavonoïdes, les térpenoïdes et les alcaloïdes, que produisent les organismes en dehors des voie métaboliques strictement nécessaires à assurer la survie (on parle de métabolisme primaire dans ce cas) (**Figure 05**), cette gamme de composés est très développée chez les végétaux et constitue un moyen de lutte contre des concurrents écologiques (allélopathie) ou des prédateurs (production des substances toxiques ou des mauvais goût contre un Herbivore) (**Benchacha, 2008**).



**Figure 05:** Les grandes voies de synthèse des métabolites secondaires et relations avec le métabolisme primaire (**Regnault-Roger, 2008**).

Ils dérivent principalement des métabolismes primaires via les molécules charnières comme l'acide Shikimique, l'acetyl-CoA et l'acide mevalonique, et il existe donc des liens étroits entre la grande fonction physiologique des végétaux (photosynthèse et respiration) et la production de métabolites secondaires, potentiellement allélopathiques. Leur importance quantitative chez les végétaux est extrêmement variable et contrôlée par des facteurs aussi bien génétiques qu'environnementaux. Ainsi, leur apparition et/ou accumulation coïncide souvent avec une étape de développement, et seront modulées par les conditions environnementales (**Regnault-Roger, 2008**).

## 1. Substances végétales bioactives

Chaque espèce végétale contient diverses substances présentant souvent des structures complexes et qui sont classées selon leur appartenance chimique (**Judd et al., 2002**). Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques (les flavonoïdes, les tanins, les saponosides ...) les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

### 1.1. Glycosides

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine) (**Bruneton, 1993**).

Il est généralement accepté que les glycosides présentent une plus grande hydro solubilité que leurs aglycones respectifs (**Kren, 2001**). C'est pourquoi, dans la plante, les glycosides jouent un rôle essentiel dans les phénomènes d'accumulation, d'entreposage et de transport des substances hydrophobiques. En effet, l'attachement d'une section saccharidique à une molécule donnée augmente sensiblement son hydrophilicité (**De Roode, 2003**).

#### 1.1.1. Types et classification des glycosides

La nature des glycosides est très diverse, tant en raison du mode de liaison entre la génine et le (s) ose(s) :

-O-hétérosides : liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement hydroxyle (alcoolique ou phénolique) de l'aglycone.

-S- hétérosides : liaison entre fonction réductrice de l'ose et un thiol.

-N-hétérosides: liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement aminé.

-C-hétérosides: chez quelques oses, la liaison entre la génine et l'ose se fait de carbone à carbone (**Guignard et al., 1985**).

### 1.1.2. Fonctions de glycosides dans la plante

Une variété de fonctions a été suggérée pour les glycosides de la plante. Certains chercheurs ont interprété les faits glycosides sont le plus souvent trouvés dans les graines et écorces pour signifier que ces composés représentent des réserves alimentaires stockées (réserves de sucre). Les plantules dépendent de la libération lors de l'hydrolyse pour soutenir leurs activités jusqu'à ce qu'ils sont établis dans le sol ou un autre substrat.

Glycosides, ou tout au moins certains d'entre eux, peuvent jouer un rôle de réglementation importante dans les plantes et peuvent partager la responsabilité de la maturation physiologique des tissus racinaires.

Ils peuvent servir de moyens de détoxification de nombreuses substances en les transformant à glycoside, ou pour réguler l'osmose ou pour stabiliser des substances labiles ou régler la fourniture de substances d'importance dans le métabolisme. Les plantes possèdent, par leur capacité à combiner des composés hydroxyles insolubles avec des sucres, un moyen de rendre ces composés diffusible.

La formation de glycoside peut bien être une méthode pour stocker certains composés organiques e. g. phénols dans une forme dans laquelle ils ne gênent pas les mécanismes cellulaires plus vitaux. Il a également été suggéré que certains glycosides ont un rôle de défense contre l'invasion des tissus par des micro-organismes suivants à la blessure, puisque de nombreux aglycones sont antiseptiques et donc bactéricide caractère. En amande, lorsque la semence est pénétrée, l'amygdaline est hydrolysé et l'acide cyanhydrique libéré empêche l'action bactérienne (**Balbaa et al., 1981**).

### 1.1.3. L'activité pharmacologique

En général, l'action physiologique de glycosides, est intimement associé à et en raison de l'aglycone. Le rôle du sucre dans la molécule est normalement une de stabilisation et de solubilisation, bien que la variation résultante des propriétés physiques peut, dans certains cas, modifier les propriétés pharmacodynamiques de l'aglycone. Pour l'administration, notamment par voie orale en tant qu'agent médicinal, la portion sucre du

glycoside est dans la plupart des cas nécessaire de porter l'aglycone vers le site d'action à un organe ou un tissu particulier, lorsque l'action pharmacologique est destinée (**Balbaa et al., 1981**).

#### 1.1.4. Caractérisation

La faible teneur habituelle en hétérosides cardiotoniques interdit la mise en œuvre directe des différentes méthodes de caractérisation: il est nécessaire de préparer des extraits purifiés et concentrés. La technique habituelle (mais elle est incompatible avec la présence de dérivés formylés) pour préparer ces extraits est celle de la «défécation plombique»: extraction de la plante pulvérisée par un mélange d'éthanol à 50 % et de solution d'acétate de plomb. Après ébullition puis refroidissement et élimination du marc par centrifugation, les hétérosides cardiotoniques présents dans le liquide surnageant sont extraits par du chloroforme. C'est sur cette solution chloroformique que sont réalisées les réactions de caractérisation et les analyses chromatographiques (**Bruneton 2009**).

### 1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques extractibles par l'alcool ou par l'eau chaude ; ils sont peu solubles dans l'eau froide. Les flavonoïdes sont d'origine strictement végétale; mais ils ne sont pas présents chez les micro-organismes, champignons et lichens. On les retrouve dans les fruits, les légumes, le thé et le vin (**Bossokpi, 2002**). On désigne sous le terme de flavonoïdes plusieurs groupes des substances telles que les flavonols, les flavanones, les anthocyanidols, pouvant être rattachées par leur structure à la flavone. Les pigments flavonoïdes sont hydrosolubles, associés souvent à la vitamine C au sein des végétaux et responsables de la coloration de nombreuses fleurs et de leurs fruits, et parfois des feuilles, jeunes ou sénescents (**Archier, 1992 ; Alonso et al., 1986**).

#### 1.2.1. Rôles des flavonoïdes

Leur rôle biologique est mal connu. Cependant, ils jouent un rôle très important dans le traitement des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies, des affections bactériennes (**Anderson et al., 1996**). On pense qu'ils pourraient intervenir dans les chaînes d'oxydoréduction, et par là exercer une influence, mise en évidence dans certains cas, sur la respiration, la croissance et la germination. Ils ont un rôle anti-oxydant important et des études récentes montrent qu'une

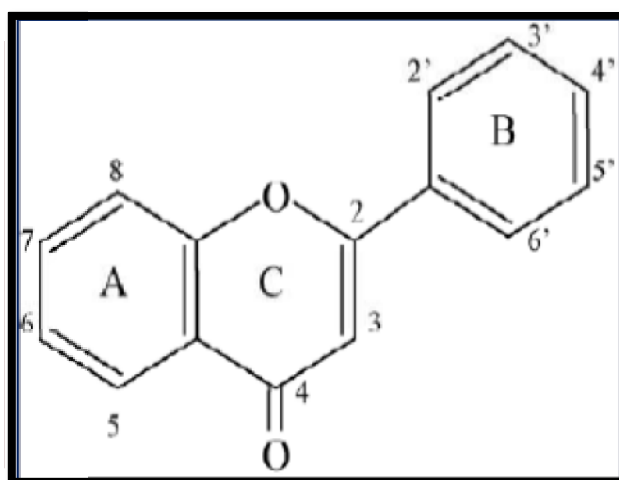
consommation fréquente de ces substances (dans les fruits, agrumes, légumes, thé) réduit la fréquence des pathologies cardio-vasculaires (Masquelier, 1992).

### 1.2.2. Localisation

Les formes hétérosidique des flavonoïdes, hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espèces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle (mais ces deux tissus peuvent accumuler spécifiquement des structures différentes, comme cela a été démontré chez certaines céréales). Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques. Lorsque les flavonoïdes sont présents au niveau de la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyle. Cela concerne surtout des plantes de régions arides ou semi-arides, souvent pourvues de structures sécrétrices (Bruneton, 2009).

### 1.2.3. Structure et classification

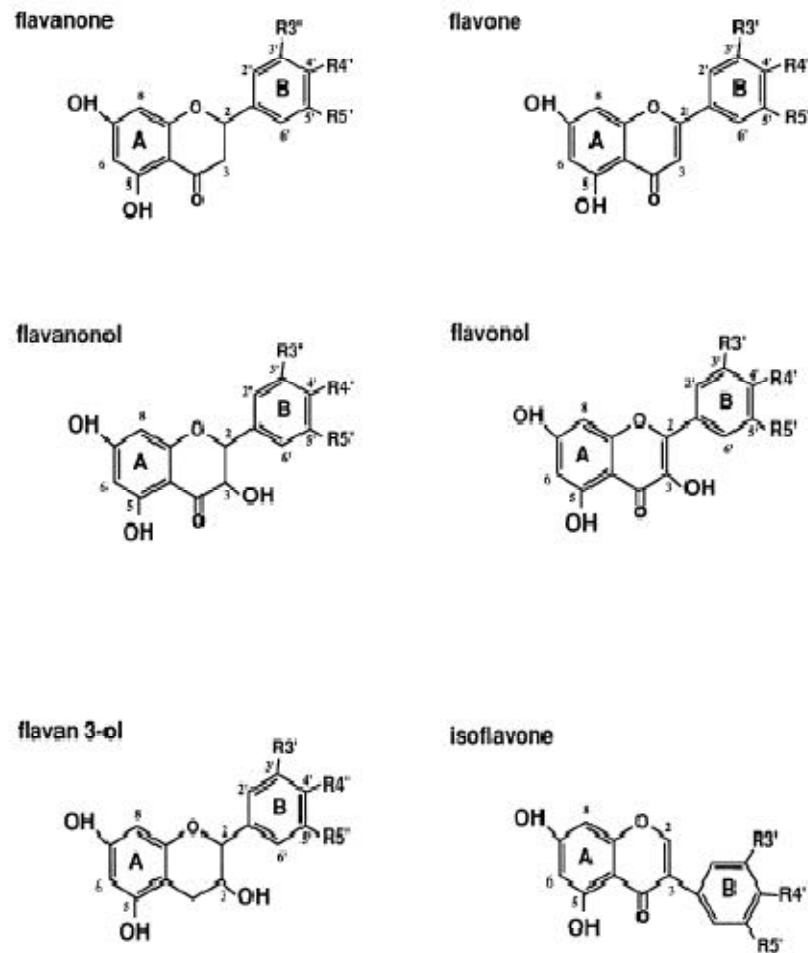
Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne (Skerget et al., 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (Dacosta, 2003) (Figure 06).



**Figure 06:** Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo et al., 1999).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (Dacosta, 2003).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (**Figure 07**).



**Figure 07:** Structures des différentes classes de flavonoïdes (Gamet-Payrastreet *al.*, 1999).

### 1.3. Tanins

Les tanins sont un groupe diversifié de métabolites secondaires des plantes qui ont deux caractéristiques communes: tous sont des polyphénols et tous ont la capacité de fixer les protéines. Cependant, l'étude des effets nutritionnels des tanins est complexe parce que les plantes contiennent une grande diversité de tanins. Certains tanins produisent des effets toxiques tandis que d'autres bénéficient de la santé et de la nutrition (Harvey, 2006). Les tanins, sont des constituants naturels du thé vert, vin rouge, et d'autres produits végétaux (Keil *et al.*, 2004).

### 1.3.1. Localisation et distribution

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les rosacée (**Ghesterm et al., 2001**). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Ree, 2001**).

### 1.3.2. Classification

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**) (**Figure 08**).

#### a-Tanins hydrolysables

Selon **Paris et Hurabielle, 1981** les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques.

#### a-1-Tanins galliques (Gallo tanins)

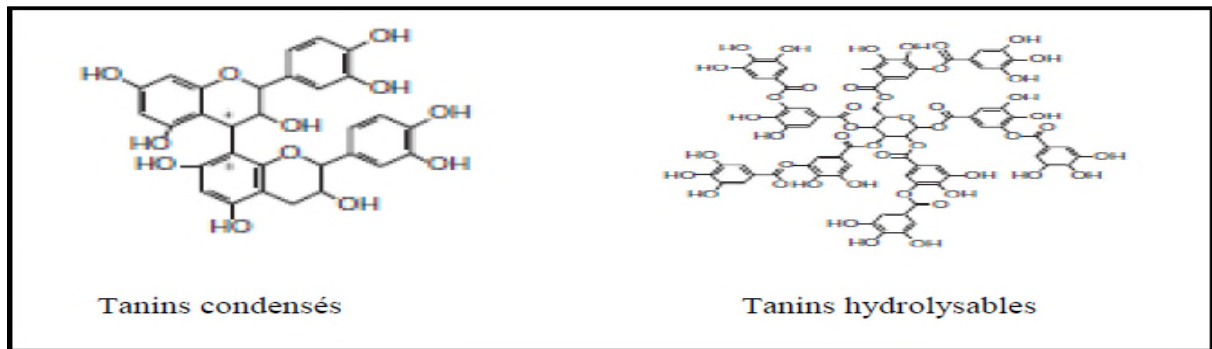
Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

#### a-2- Tanins ellagiques (Ellagitanins)

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique.

#### b-Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (**Khanbabaea et Ree, 2001**). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Paris et Hurabielle, 1981**).



**Figure 08:** Structure des principales classes de tanins (**Paolini et al., 2003 ; Pascale et véronique, 2006**).

Une troisième classe de tanins a été décrite par certains auteurs ce sont:

### c- Les phlorotanins

Les phlorotanins se trouvent dans les algues brunes, ils ne possèdent pas les groupes ortho-phénoliques typiques des tanins condensés et hydrolysables (**Hagerman, 2002**).

### 1.3.3. Utilisation des tanins

#### a)- En pharmacie

Grâce à leurs astringente les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes (**Paris et Hurabielle, 1981**).

#### b)- Dans l'industrie

Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans celle des vernis et peintures (**Paris et Hurabielle, 1981**).

### 1.3.4. Effets biologiques des tannins

Les tanins ont un effet anti diarrhéique; ils sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides, ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles, et

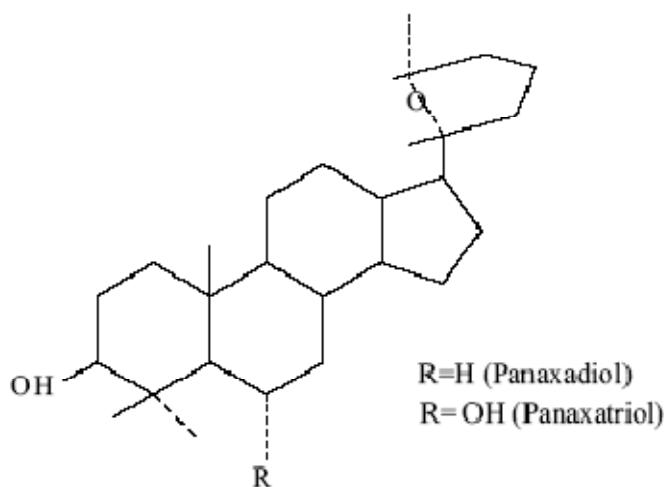
les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (**Bruneton, 1999**). Certains sont aussi antioxydants, ils permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (**Nowitz et Bottet, 2000**).

#### 1.4. Saponosides

On désigne sous ce nom une vaste famille de glycosides triterpéniques ou stéroïdiens qui se trouvent dans de nombreuses plantes. Ils sont composés de deux parties :

- Une partie hydrophile, formée d'un ou de plusieurs sucres, eux-mêmes de nature variée
- Une partie aglycone et lipophile (dite sapogénine), qui est soit un résidu de triterpène, soit un résidu de stéroïde.

On trouve les saponines dans le soja, l'ail, les haricots blancs, les épinards, les tomates, les pommes de terre, les graines d'avoine, la luzerne (**Dacosta, 2003**).



**Figure 09:** Structure des saponines du ginseng (**Packer, 2001**)

##### 1.4.1. Le rôle biologique des saponosides

La présence des saponosides est largement commune chez les plantes médicinales, plus de 100 familles en contiennent. Ce sont des substances naturelles à large spectre d'activité biologique: ils ont une action protectrice sur le système veineux d'où leur effet veinotrope. Ils sont utilisés en thérapeutique comme: antitumoreux, antimicrobiens,

antiappétants, anti-inflammatoires et cicatrisants notamment au niveau des plaies cutanées. Ils donnent naissance à des mousses généralement stables qui présentent une activité hémolytique. En effet, ils provoquent la lyse des érythrocytes qui entraîne une toxicité à l'égard des animaux à sang froid et principalement les poissons (**Bruneton, 1999**).

### 1.5. Alcaloïdes

Le terme d'alcaloïdes a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des *alcalis* (de l'arabe *al kaly*, la soude et du grec *eidos*, l'aspect). Il n'existe pas de définition simple des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels (**Brunton, 2009**).

Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative; pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé (**Brunton, 2009**).

Ces éléments caractérisent ce que l'on peut appeler les alcaloïdes vrais. Nombre d'auteurs distinguent par ailleurs les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

#### 1.5.1. Localisation

Chez le végétal, les alcaloïdes existent sous la forme, soluble, de sels (citrates, malates, tartrates, méconates, isobutyrate, benzoates) ou sous celle d'une combinaison avec les tanins. La microchimie permet de montrer que les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, tégument des graines, etc. La basicité et les actions antimétabolites de la plupart de ces molécules imposent leur compartimentation : elles sont normalement stockées dans les vacuoles cellulaires, que ces dernières soient spécifiques (dans les laticifères) ou non. Le plus souvent la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de sites précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage (**Bruneton, 2009**).

### 1.5.2. Fonction

Comme pour beaucoup d'autres métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien de rôle dans les végétaux. Certains pourraient intervenir dans les relations plantes-prédateurs en protégeant les premières contre l'agression des seconds: si l'on admet que la diversité structurale est le reflet d'une adaptation constante, cette hypothèse s'en trouve confortée. Si certains auteurs estiment que ce sont des métabolites terminaux, des déchets inutilisables, c'est très peu probable: dans plusieurs cas il a été montré qu'ils se comportent comme des métabolites intermédiaires. Substances de réserve ? Régulateurs de croissance? La question reste sans réponse (**Bruneton, 2009**).

### 1.5.3. Classification

Les alcaloïdes sont divisés en trois classes : Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga, 2011**). Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga, 2011**). Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoides (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (**Cyril, 2001**). Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (**Badiaga, 2011**).

### 1.5.4. Bioactivité

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

- \*Antitumoraux: vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine.
- \* Antalgiques: morphine, codéine.
- \* Spasmolytiques: tubocurarine et papaverine.
- \*Vasodilatateurs: vincamine et ajmalicine.

- \* Emétiques : émétine.
- \* Antitussifs : codéine.
- \* Antiarythmiques : quinidine et ajmaline.
- \* Antipaludiques: quinine.
- \* Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

### 1.6. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters, les cétones.... (**Isman, 2002**).

Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (**Csesk et kaufman, 1999**).

Les huiles essentielles sont composées de molécules volatiles odorantes, majoritairement issues de la famille des trapénoïdes. Elles s'accumulent dans des glandes et tissus spécialisés des végétaux tels que les cellules épidermiques des pétales chez les Rosaceae et les Oleaceae, les glandes épidermiques des Lamiaceae, les proches sécrétrices des Rutaceae ou canaux sécréteurs des Apiaceae (anciennement Umbellifereae) (**Gilly, 1997**).

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (**Bakkali et al., 2008 ; Tajkarimi et al., 2010**).

#### 1.6.1. Répartition, localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Il y aurait, selon Lawrence 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité de familles : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Opiacée, Cupressacées, Zingibéracées, Pipéracées ...etc.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: des fleurs, des feuilles, des écorces, des bois, des racines et des rhizomes.

Dans le cas le plus simple, les huiles essentielles se forment dans le cytosol des cellules où, soit elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophyle de nombreux pétales (**Gehard ,1993**). D'autres structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante sont impliquées dans l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures regroupent les poils et canaux secteurs et les poches sécrétrices (**Bruneton, 1999**).

### 1.6.2. Caractéristiques et propriétés physiques

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévie la lumière polarisée (optiquement active) (**Bruneton, 1999; Rhayour, 2002; Desmares et al., 2008**).

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (**Bernad et, 2000**).

Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (**Rhayour, 2002; Benini, 2007; Benayad, 2008**). Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels (**Bruneton, 1999**).

### 1.6.3. Fonction

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont une fonction écologique. À l'appui de cette hypothèse, on remarquera que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales (agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de germination) que dans celui des interactions

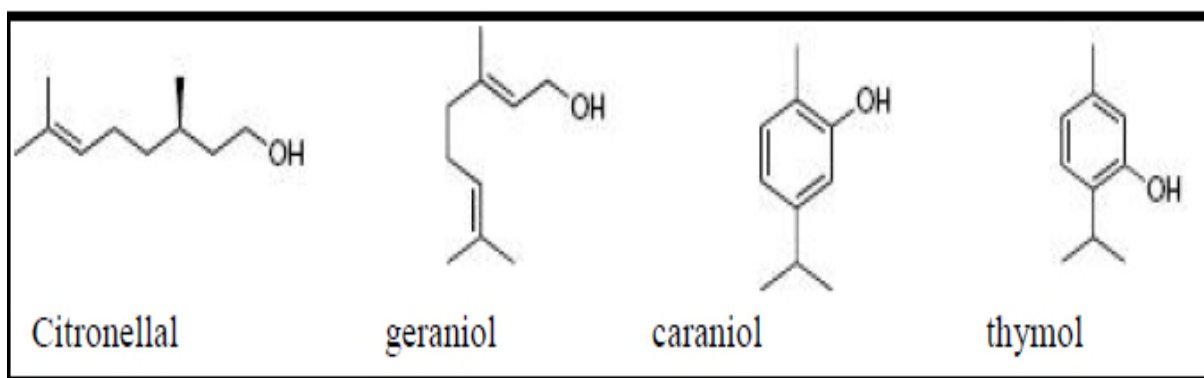
végétal-animal : protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs. Pour quelques auteurs, ils pourraient constituer des supports à une communication et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de message biologique sélectifs (Bruneton, 2009).

#### 1.6.4. Classification

Les huiles essentielles se répartissent en deux groupes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

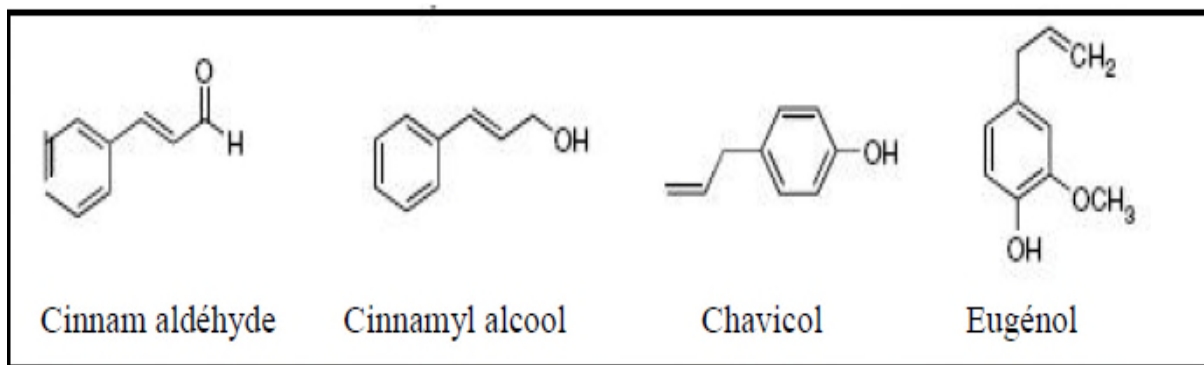
\*Les terpénoïdes sont constitués par polymérisation d'unités d'isoprène (C<sub>5</sub>). Ils se distinguent des autres classes de métabolites secondaires par leur origine commune et leur nature hautement lipophile (hydrophobe) (abderrazak et Joel, 2007).

Les plus simples de la série (monoterpènes) sont formés par couplage de deux unités isopréniques (C<sub>10</sub>) (Figure 10). Ils représentent 90 % des molécules des huiles essentielles et sont de nature chimique variable : alcools (géranol,  $\alpha$ -terpinéol, bonéol, trans-transfarnésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone,  $\beta$ -vertivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéol) (Bruneton, 1999).



**Figure 10:** Structure chimique de certains monoterpènes (Bruneton, 1999).

\*Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) (Figure 11) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont des allyles, des propénylphénols et parfois des aldéhydes (Bruneton, 1999).



**Figure 11:** Structure chimique de certains composés aromatiques (Bruneton, 1999).

# Partie Expérimentale

# **Chapitre 3**

## **Matériels et méthodes**



### III. Matériels et méthodes

#### 1. Matériel végétal

Le matériel végétatif utilisé dans cette étude consiste en différents parties de *N.oleander* (racines, tiges, feuilles et fleurs).

La récolte du matériel végétal a été réalisée au mois de juillet 2015 sur l'Oued de Béni Wekden Ferdjioua wilaya de Mila entre 15:00 à 16:00 h. Les divers parties récoltées ont été séchées à l'abri du soleil, puis entreposées dans un endroit ventilé, dans des sacs en papier.

Les matières végétales récoltées et séchées sont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur. On a utilisée de 200 g de la poudre obtenue, pour chaque partie de la plante, pour réaliser les différents tests phytochimiques.

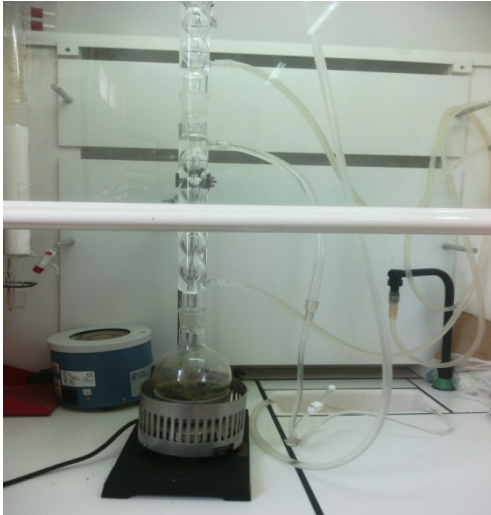
Toutes les expériences de cette étude ont été effectuées au sein du laboratoire de biologie au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila. Les matériels et les produits utilisés sont reportés en **Annexe**.

#### 2. Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques (*Screening*) sont des tests qualitatifs qui permettent de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques au niveau du matériel végétal séché et broyé.

##### 2.1. Test des glycosides (Gonzloezet Delgado, 1962)

Prendre 10g de poudre séchées à l'air libre pour chaque parties de la plante étudiée séparément et mélanger avec 50ml de 2% l'acide tartrique dans l'éthanol puis le mélange est chauffé sous condensateur red (**Figure 12**) pendant 12 h. Filtrer l'extrait net et le vaporiser dans un Rota vapor leur température 60°C (**Figure 12**), après dissoudre le sédiment dans un moins quantité de l'eau distillé chauffé , puis la réalisation des tests suivants sur l'extrait aqueux.



Condensateur red



Rota vapor

**Figure 12:** Condensateur Red et Rota vapor

### 1-Sucres réducteurs

Prendre environ 2ml de la solution aqueuse de chaque partie de la plante dans un tube à essai et faire bouillir avec une solution Fehling dans un bain marie (**Figure 13**), la réduction de la solution Fehling indique la présence des sucres réducteurs dans les différents membres étudiée.



Solution Fehling



Bain marie

**Figure 13:** Solution Fehling et Bain marie

## 2-Test de Kitose

Mélanger 2 ml de l'extrait avec 2ml de molybdate ammonium  $\text{NH}_4\text{OH}$  Plus 1ml d'acide acétique glacielle puis bouillonné dans un bain marie. L'apparition d'une coloration bleu foncé indique la présence des Kitoses.

### 2.2. Test des flavonoïdes (Tadros, 1979)

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à peser 10 g de poudre de chacune des parties de la plante étudiée mettre dans des flacons nommés, ajouté à chaque flacon 150 ml d'acide hydrochlorique HCl 1%, laisser reposer pendant une nuit entière, puis filtré et le filtrat a été réalisé par le test suivant:

Prendre 10 ml de l'extrait et rendre alcalin par des gouttes d'hydroxyde de potassium (KOH) (**Figure 14**), l'apparition d'une coloration jaune claire indique la présence des flavonoïdes.



KOH



Papier pH (pH- Fix 0-14)

**Figure 14:** KOH et papier pH (pH- Fix 0-14)

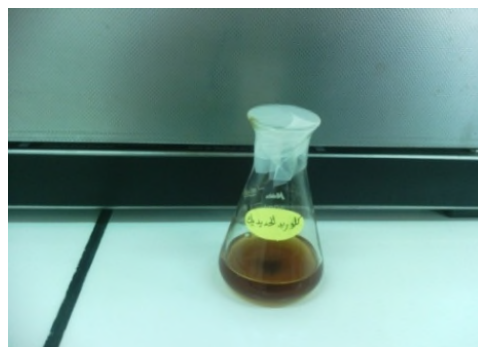
### 2.3. Test des tanins (Balbaa et al., 1981)

Prendre 10g de poudre séchées à l'air libre pour chaque parties de la plante étudiée séparément, et extractibles par l'éthanol 70% et le filtrat a été réalisé par le test suivant :

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait éthanolique et ajouter quelques millilitres de solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  (**Figure 15**), En présence de tanins, il se développe une coloration vert foncé.



Chlorure de fer  
(Poudre)



Chlorure de fer  
(Solution)

**Figure 15:** Produit chimique (Chlorure de fer)

#### 2.4. Test des saponosides (Balbaa *et al.*, 1981)

Prendre 2g de poudre séchées à l'air libre pour chaque parties de la plante étudiée séparément, et faire bouillir avec 80 ml d'eaux distillé jusqu'à 100°C durant 10 minutes puis laisser la solutions jusqu'à refroidissement et après la filtration de chaque parties, Dans une série de 4 tubes à essai nommés, introduire respectivement quelque millimètres de la solution avec un tube de l'eau distillée (témoin). Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer 5 minutes et marquées la mousse produite dans chaque tube.

#### 2.5. Test des alcaloïdes (Balbaa *et al.*, 1981)

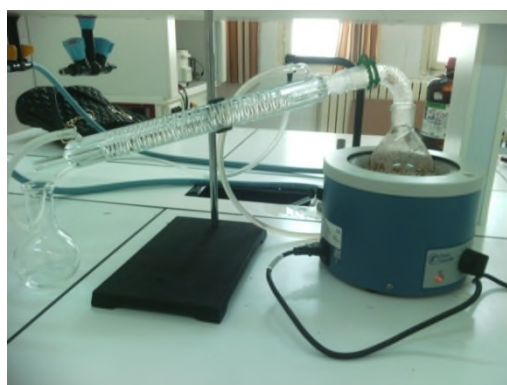
Prendre 10g de poudre séchées à l'air libre pour chaque parties de la plante étudiée séparément, extractibles par l'acide hydrochlorique dilué, Filtrer le mélange et le filtrat rend alcalin par quelques gouttes d'une solution de Hydroxyde de potassium (KOH), puis extraire par chloroforme trois fois a chaque fois avec 20 ml ,collecte l'extrait chloroformique est évaporé à sec, puis dissoudre le sédiment dans 2 ml d'acide hydrochlorique dilué, et révèle des alcaloïdes par réactif de Wagner (2g de KI et 1.3 g I sont dissous dans 75ml d'eau distillée, puis ajustés à 100ml avec l'eau distillée), l'apparition de la couleur brune indique leur présence (**Figure16**).



**Figure 16:** Réactif de Wagner

### 2.6. Test des huiles essentielles (The Egyptian pharmacopeia, 1963)

Prendre environ 10g de poudre séchées à l'air libre pour chaque parties de la plante séparément et placés dans un flacon, puis ajouter 0.5L de l'eau distillée et relie le flacon avec un appareil de distillation (**Figure 17**) pendant quatre à cinq heures, la note des huiles essentielles dans l'extrait distillée indique leur présence.

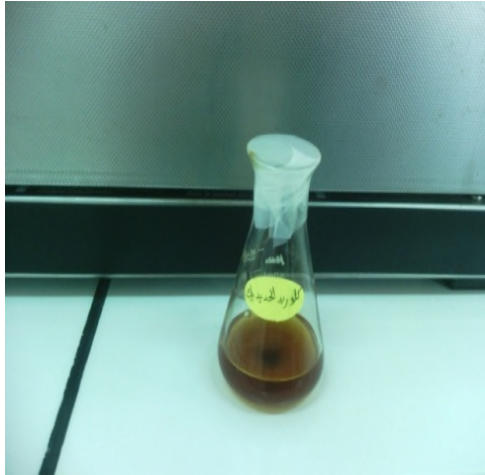


**Figure 17:** Appareil de distillation

### 2.7. Test des cardinolides (Tadros, 1979)

Prendre 1g de poudre séchées à l'air libre pour chaque partie de la plante séparément, mettre chacun poudre dans un flacon et ajouté 20ml de l'eau distillée, laisser reposer pendant une nuit entière. Filtrer l'extrait. Prélever 10ml du filtrat et Mélangé avec 10ml d'un mélange de chloroforme et d'éthanol (1:1), la Couche organique évaporé jusqu'à la sécheresse, Et le sédiment se dissout dans 3 ml de l'acide acétique glacié. Transféré dans un tube à essai et ajouté des gouttes de chlorure de fer, puis 1ml d'acide

sulfurique concentré (**Figure 18**) Sur la paroi du tube et de manière très professionnelle, l'apparition d'un couleur vert bleuâtre dans la couche acide indique la présence des cardinolides.



Chlorure de fer



L'acide sulfurique

**Figure18:**Chlorure de fer et acide sulfurique

# **Chapitre 4**

## **Résultats et discussion**

#### IV. Résultats et discussion

##### Etude phytochimique de *N. oleander* L.

L'étude phytochimique a pour but de révéler les différents groupes de substances bioactives existants dans les différentes parties (racines, tiges, feuilles et fleurs) de la plante étudiée en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie des métabolites secondaires.

Les résultats de ces tests phytochimiques sont reportés dans les tableaux (V, VI, VII, VIII, IX, X, XI) Les résultats ont été évalués comme suit:

++: Fortement positif ; +: Moyennement Positif ; -: Négatif.

##### ➤ Glycosides

Les résultats de la mise en évidence des sucres réducteurs à l'aide de la réaction de Fehling et les kitoses dans les différentes parties sont résumés dans le **tableau (V)**.

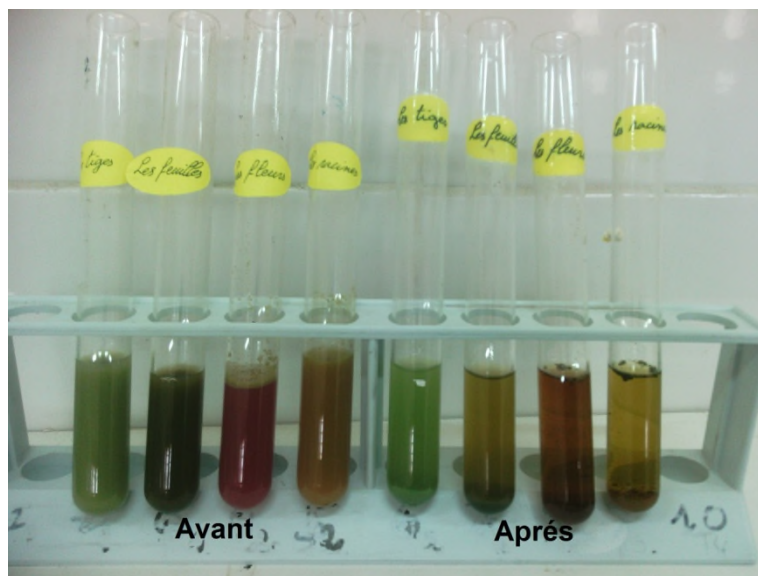
**Tableau V: Résultats de recherche des glycosides dans les différentes parties de *N.oleander* L.**

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
- Sucres réducteurs	Réactif de Fehling	Réduction de solution Fehling	++	++	++	++
- kitoses	Molybdate ammonium + acide acétique glacial	Couleur bleu foncé	++	++	++	++

Tous les résultats prouvé que l'extrait de *N. oleander* (racines, tiges, feuilles et fleurs) est très riche aux glycosides.

- **Sucre réducteur**

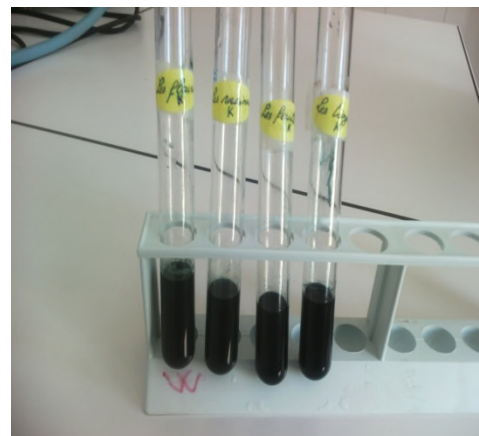
La réduction de la couleur dans l'extrait émerge la présence des sucres réducteurs.



**Figure 19: Résultat de test de sucre réducteur  
(Réduction de la couleur)**

- **Kitoses**

La présence de la couleur bleu signifié que le *N. oleander* contient les kitoses



**Figure 20: Résultat de test de kitose  
(La couleur bleu foncé)**

Le même résultat obtenu par (Langfordet Poor, 1996), où il a été constaté que la plante de *N. oleander* est très toxique. Donc elle est mortelles pour les humains et en

particulier pour les enfants jeunes et les animaux, et cela est dû aux nombreux composés toxiques dans les parties entières, ces composés sont des glycosides cardiaques, notamment oléandrine et Niriin (goetz, 1998).

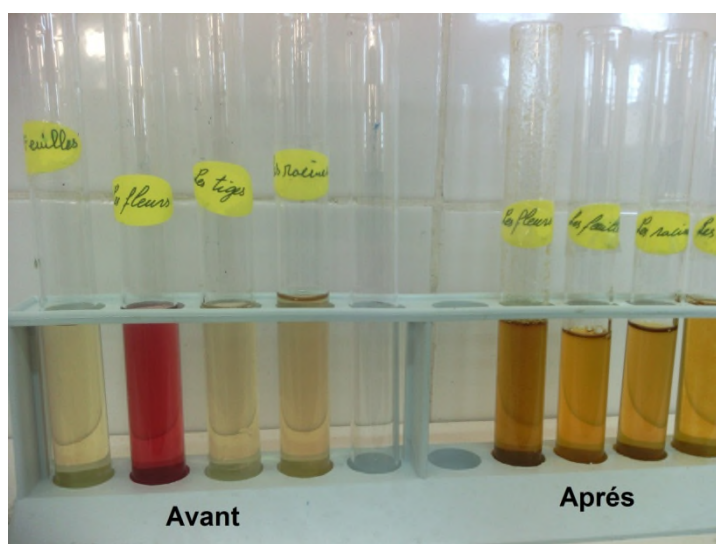
### ➤ Flavonoïdes

Le test de recherche des flavonoïdes dans les différentes parties de *N. oleander* à donner des réactions positives. Les résultats de cette étude phytochimique sont reportés dans le **tableau (VI)**.

**Tableau VI: Résultats de recherche des flavonoïdes dans les différentes parties de *N.oleander* L.**

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			racines	tiges	feuilles	Fleurs
<b>Flavonoïdes</b>	KOH	Couleur jaune claire	++	++	++	++

Les résultats de ce tableau montre que les diverses organes de laurier rose très riche en flavonoïdes.



**Figure 21: Résultat de test des flavonoïdes**

L'apparition d'une couleur jaune claire émerger en les quatre parties de *N. oleander* prouve la présence des flavonoïdes. Selon (Andrew, 2001) Les flavonoïdes sont des

pigments jaunes; ce sont des composés phénoliques fréquemment présents sous la forme hétérosidique, hydrosoluble.

Ces résultats parallèles avec celle de (**Michel Hayek, 1992**) et (**Pearn, 1987**) où il a confirmé que le *N. oleander* contient des flavonoïdes, y compris:

- Rutine, qui lui est imputable diurèse
- Kampferol-3-O-bêta-D-glucopyranosyl- (1-2) -bêta-D-glucopyranosyl-7-O-bêta-D-glucopyranoside.

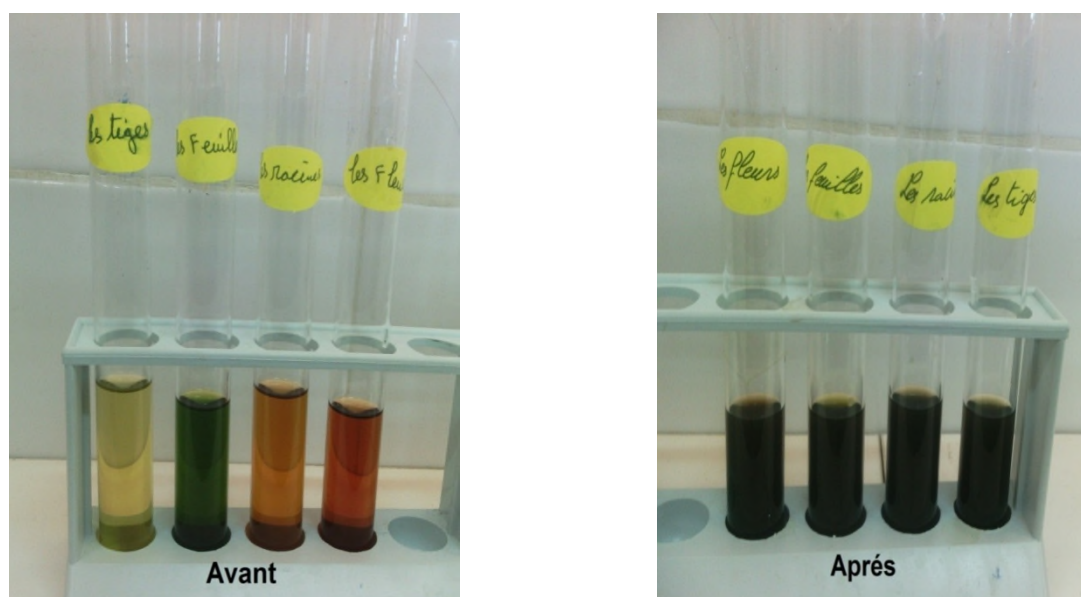
#### ➤ Les Tanins

L'intensité de la coloration verte foncé donnée suite à la réaction des tanins des différentes parties avec le Chlorure de fer aqueux est mentionnée dans le **tableau (VII)**.

**Tableau VII: Résultats de recherche des tanins dans les différentes parties de *N.oleander* L.**

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
<b>Tanins</b>	Gouttes de FeCl <sub>3</sub>	Couleur vert foncé	++	++	++	++

On remarque que toutes les parties (racines, tiges, feuilles et fleurs) de la plante présente une teneur relativement élevée en les tanins.



**Figure 22: Résultat de test des tanins  
(La couleur vert foncé)**

La présence de la couleur vert foncée explique que le test des tanins est positif, même résultat obtenu par (Kadri, 2015) où ils ont prouvé que le *N. oleander* sont très riche aux tanins, par contre dans littérature il ya des plante ne contient pas des tanins comme les résultats obtenu par (Gilani et al., 2008), où ils ont révélé que l'extrait de *F.Carica* ne contient pas des tanins.

#### ➤ Saponosides

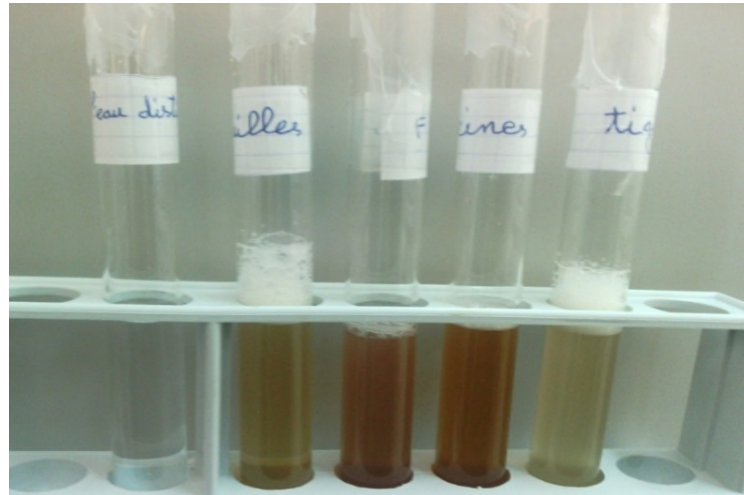
Après agitation, la mousse persistante dans les tubes pour plus d'un quart d'heure et avec une hauteur plus d'un cm indique la présence de saponosides dans les différentes parties de la plante étudiée (tableau VIII).

**Tableau VIII: Résultats de recherche des saponosides dans les différentes parties de *N.oleander* L.**

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
Saponosides	L'eau distillée	Mousse persistante	+	++	++	+

Nous avons enregistré la présence des saponosides en teneur très abondant dans les deux parties (tiges, feuilles) et une teneur moyen dans les racines et les fleurs.

Les résultats sont présentés dans la figure suivante (**figure 23**).



**Figure 23: résultat de test des saponosides**

C'est résultats convient on compatible de celle de (**Michel Hayek, 1992**) et (**Samai, 2006**) qui montre que la plante est riches en saponosides.

Selon (**Benwqhi, 2001; Chaouch, 2001**) l'apparition d'une mousse dans le milieu prouve la présence des saponosides. Ils sont constitués un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux et caractérisent par leurs propriétés tensioactives. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. (**Bruneton, 1999**).

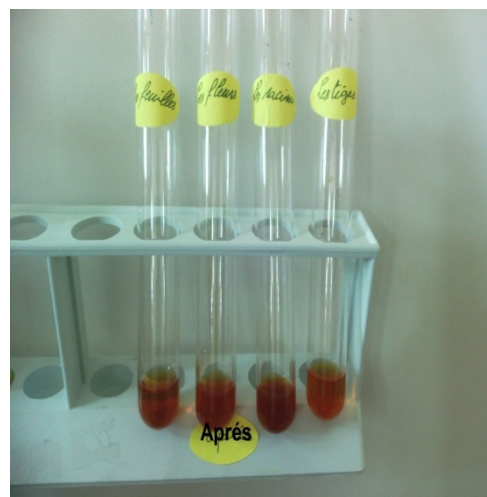
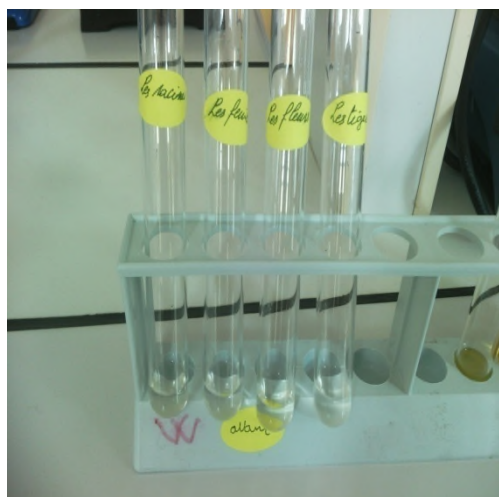
#### ➤ **Alcaloïdes**

L'examen de **tableau (IX)** fait ressortir que les alcaloïdes dont la mise en évidence de leur présence est confirmée par l'apparition d'un couleur brune en contact avec le réactif de wagner.

**Tableau IX: Résultats de recherche des alcaloïdes dans les différentes parties de *N.oleander L.***

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
Alcaloïdes	Réactif de Wagner	Couleur brune	++	++	++	++

Ces alcaloïdes sont fortement présents dans les extraits de toutes les parties de *N. oleander*.

**Figure 24: Résultat de test des alcaloïdes**

Ces résultats similaires avec celles de (Kadri, 2015) et (Mohiédine, 2000) a confirmé que le laurier-rose contient un pourcentage des alcaloïdes est à vinblastine et vincristine.

Les alcaloïdes sont des substances toxiques, son gout mordant, alors leur présence dans le *N. oleander* pour les protéger contre les insectes par exemple.

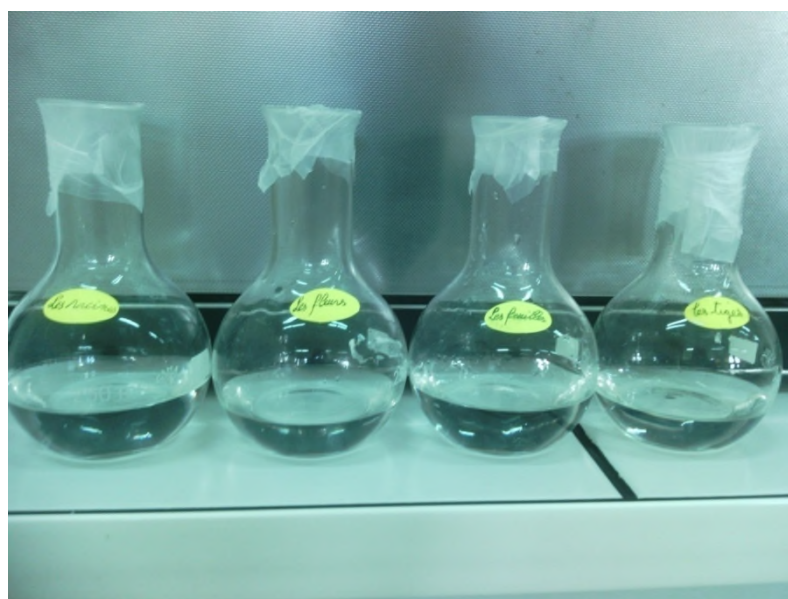
#### ➤ Huiles essentielles

Les réactions caractéristiques des huiles essentielles ont été révélées dans l'extrait de *Nerium oleander*, les résultats sont réunis dans le **tableau X**.

**Tableau X: Résultats de recherche des huiles essentielles dans les différentes parties de *N. oleander* L.**

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
<b>Huiles essentielles</b>	L'eau distillée	L'apparition des huiles	-	+	+	+

On remarque que les parties aériennes présentent une teneur faible des huiles essentielles, par contre enregistré l'absence totale dans la partie racinaire.



**Figure 25: Résultat de test des huiles essentielles**

Ces résultats semblable avec celle de (Dorsaf et al., 2006), où il a prouvé que laurier rose sont riches en huiles, y compris: Acide linoléique, l'acide oléique, l'acide cyanhydrique. Par contre avec résultat de (Kadri, 2015) sur l'extrait de toutes les parties de *N. oleander* L.

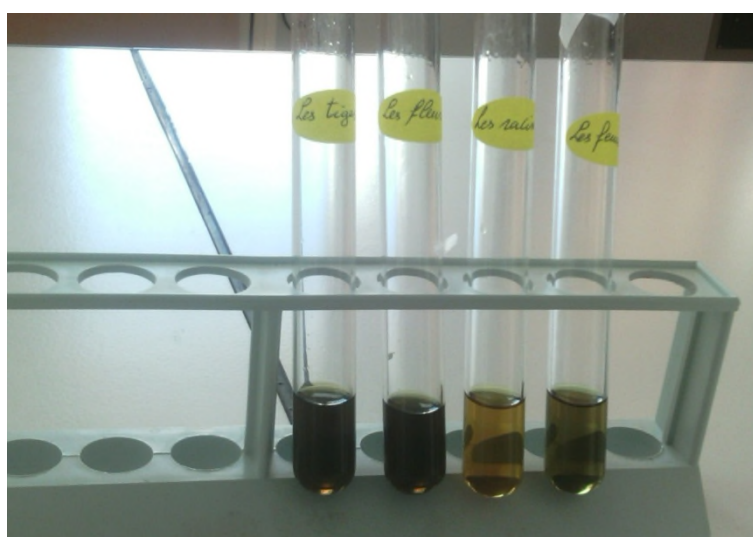
➤ **Cardinolides**

Les résultats de la composition physicochimique ont montré que les Cardinolides très abondant dans les deux parties (tiges, fleurs). Une teneur moyen dans les feuilles et l'absence des Cardinolides dans les racines.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant (**tableau XI**).

**Tableau XI: Résultats de recherche des cardinolides dans les différentes parties de *N.oleander L.***

Substance bioactive	Réactif utilisée	L'observation	Résultats			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
<b>Cardinolides</b>	Gouttes de Chlorure de fer+ Acide sulfurique	Couleur vert bleuâtre	-	++	+	++



**Figure 26: résultat de test des cardinolides**

L'apparition d'un couleur vert bleuâtre dans l'extrait indique la présence des cardinolides. Les résultats des organes (tiges, feuilles, fleurs) identique avec celle de (Kadri, 2015) sur l'extrait de *N. oleander*, et (Yahia, 1989) sur l'extrait de *H. albus*. Par contre les deux enregistré l'absence des cardinolides dans les racines.

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que le *Nerium oleander* L. est très riche en métabolites secondaire: glycosides, flavonoïdes, tanins, saponosides, alcaloïdes, huiles essentielles et cardinolides dans tous les parties, (racines, tiges, feuilles, fleurs). Mais ces deux derniers ne se trouvent pas au niveau des racines. Et le tableau XII résumé le screening phytochimique des métabolites secondaires de *N. oleander* L.

**Tableau XII: Screening phytochimique des métabolites secondaires de *N. oleander* L.**

La matière qui on veut tester	Les réactifs utilisés	L'observation	Parties de plante séchée			
			Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
<b>Saponosides</b>	L'eau distillée	Mousse stable	+	++	++	+
<b>Flavonoïdes</b>	KOH	Couleur jaune claire	++	++	++	++
<b>Tanins</b>	Gouttes de Chlorure de fer	Couleur vert foncé	++	++	++	++
<b>Alcaloïdes</b>	Réactif de Wagner	Couleur brune	++	++	++	++
<b>Huiles essentielles</b>	L'eau distillée	L'apparition des huiles	-	+	+	+
<b>Glycosides - ketoses</b>	Réactif de Fehling	Réduction de solution fehling	++	++	++	++
	Molybdate ammonium + acide acétique glacial	Couleur bleu foncé	++	++	++	++
<b>Cardinolides</b>	Gouttes de Chlorure de fer+ Acide sulfurique	Couleur vert bleuâtre	-	++	+	++

Conclusion

## **Conclusion**

Le cœur de ce travail a principalement porté sur la caractérisation des métabolites secondaires les plus répandues d'espèce *N. oleander* L. Ce dernier est une plante médicinale appartient à la famille des Apocynacées qui constituent une vaste subdivision de règne végétal. Cette famille est connue également par sa richesse en métabolite secondaires bioactifs. Pour connaître ces substances actives nous avons utilisé plusieurs tests phytochimiques sur les différentes parties de la plantes.

Les principaux résultats de ces tests montre la présence des substances bioactives tels que les glycosides, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les alcaloïdes, les huiles essentielles et les cardinolides, Mais ces deux derniers ne se trouvent pas au niveau des racines. d'où l'intérêt de leur utilisation dans le pharmacologique et autre domaine.

# *Annexe*

## Annexe

### **Annexe 1: Solvants et réactifs**

#### ➤ **Solvants utilisés**

- Eau distillée
- Ethanol
- Acide tartrique
- Acide sulfurique
- Acide acétique glacière
- Molybdate Ammonium
- Hydroxyde de sodium
- Chlorure de fer
- Chloroforme
- Acide hydrochlorique

#### ➤ **Réactifs utilisés**

##### **-Réactif de Wagner**

2g de KI et 1.3 g d'iode (I<sub>2</sub>) sont dissous dans 75ml d'eau distillée, puis ajustés à 100ml avec l'eau distillée

##### **-Solution du Liqueur de Fehling**

## **Annexe 2 : Appareillage et verreries**

### **➤ Appareillage**

- Rota-vapor (Büchi R-134)
- Balance électrique
- Bain-marie
- Condensateur red
- Plaque chauffante
- Appareil de distillation

### **➤ Verrerie**

- Les flacons
- Erlenmeyers
- Tubes à essai
- La fiole jaugée
- Les pipettes
- Poire propipette
- Béchers
- Papier filtre
- Entonnoirs
- Ampoule à décanter
- Ballon pour le rota- vapor

# *Références*

## *Bibliographique*



## Référence bibliographique

- Abe, F. and T. Yamauchi. (1992). *Phytochemistry* 31 (7): pp. 2459-2463.
- Abderrazak M. et Joel R., (2007). *La botanique de A à Z 1662 définitions*. Ed. Dunod, Paris, p 9-298.
- Adom. R. O., Gachichi. J. W., Onegi. B., Tamale. J., Apio. S. O. (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.
- Alfonso H.A. and Sanchez .L.M., (1994). *Veterinary and human toxicity*. The British library. Document supply center, p 47.
- Almahy. H. A et Khalid. H. E. (2006) Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander* *International journal of tropical medicine.*, vol. 1, n°. 2, pp. 58-61.
- Alonso E., Revilla E. & Estrella M.I., (1986). Méthodologie pour l'étude des flavonols du vin, *Bulletin de Liaison Groupe Polyphénols*, 13 : 413-415.
- Anderson C.M., Hallberg A., & Hogberg T., (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28, 65-180.
- Andrews J.M., (2001). BSAC standardized disc susceptibility testing method .J. *Antimicrob Chemother* 4: pp 43-57.
- Archier P., (1992). Etude analytique et interprétation de la composition polyphénolique des produits de *vitisvinifera*. Thèse de doctorat ès sciences chimie organique ; Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille III-Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme. France.
- Balbaa S.I., Hilal S. H., Zaki A.Y. (1981). *Médicinales utilisation de 400 plantes*. Poul shau en burg. Ferdinande. Paris, pp. 254-255.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M., (2008). Biological effects oils. A review *Science Direct. Food and Chemical Toxicology*. Vol 46: 446-475.
- Bediaga M., (2011). Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako. p 10.
- Benayad N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat. p63.

- **Benchacha. 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. P. 5-23.
- Benini C. (2007).** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles Essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux. p 109.
- Benwqhi K, (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodonDactylon-L Chiendent, mémoire de magister. Université d'Ouargla, pp15 – 17.
- Bernadet M. (2000).** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed, Dangles.
- Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A., (2001).** Larousse des plantes médicinales: identification, préparation, soins. Ed. Larousse. pp. 10 – 16.
- Bnouham. M., Mekhfi. H., Legssyer. A., Ziyyat. A. (2002)** Ethno pharmacology forum.Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. Int. J. diabetes et Métabolisme, vol.10, pp. 33-50.
- Bossokpi I.P.L., (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.
- Bruneton. J. (1993).**Plantes toxiques: végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2<sup>ème</sup> édition, pp.129-136-268-277-278-279.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3<sup>ème</sup> Ed Techniques et documentations. Paris. pp. 101-310-314-494.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> édition Tec et Doc Lavoisier. Paris. pp. 368-567-570-877-944.
- BUCHNAN. (2006).** Métabolisme secondaire.
- **Cécile L, (2006).** Les plantes toxiques. Editions Jean- paul Gisserot, p 118.
- Chaouch N, (2001).** Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte colocynthis vulgaris (L) Schrad (Cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), Mémoire de magister; Université de Ouargla, p 44.
- **Charnot, A., (1945).** La toxicologie au Maroc, Mémoire de la société de Sciences Naturelles du Maroc, Rabat, n° XLVII, nov. p 826.
- **Chopra. L.C., Abrol. B. K., Handa. K. L. (1971).** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Première partie, pp. 45-50.

- **Chopra. R. N., Nayar. S. L. and Chopra. (1986).** I. C. *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi. pp : 15.
- **Csek. J. et Kaufman P.B., (1999).** How and why these compounds are synthesized by plants. CRC Press, Boca Raton FL. pp: 37-90.
- **Cyril, T. (2001).** étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. p 28.
- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. p317. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Debelmas, A. M. & P. Delaveau. (1983).** Guide des plantes dangereuses, Paris, 2<sup>ème</sup> édition.
- **Degryse A.C., Voinier M.A., Delpla I. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP, p 87.
- **Delille. L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie, Berti éditions, pp. 141-142. Alger.
- **De Rood B M., (2003).** Franssen M .C; Vander padt, A., boom, R. M. perspectives for the industrial enzymatic production of glycosides. *Biotechnology. Pro.* p19.
- **Desmares C, Laurent A, Delerme C. (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France. p18.
- **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F. (1999).** Flavonoides: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci.* **65 (4):** 337-53.
- **Dorsaf oubira; Thouraya. S; Sami B; Hedi. Z. (2006).** Etude physico –chimique des graines du fruit et des fleurs du *Nerium oleander*.
- **Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D., (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Communication affichée (A18). Département de Biologie. Faculté des Sciences. Université IBN TOFAIL. Kenitra, Maroc.
- **Erdemoglu. N., Kûpeli. E., Yesilada. E. (2003).** Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. **89**, pp. 123-129.
- **Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D. et Guo Z., (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, **64 (2):** 159 - 164

- **Gamet-Payrastre L., Manenti S., Gratacap M.P., Tulliez J., Chap H et Payrastre B., (1999).** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*. P 32: 279-286.
- **Gausсен. H., Leroy. J.-F., Ozenda. P. (1982).** Précis de botanique : 2. Végétaux supérieures, 2<sup>ème</sup> édition, pp.393-395
- Gerhard K. H., Przemeck., Jim Mattsson., Christian S. , Hardtke Z., Renee Sung.and -Thomas B. (1993).**Studies on the role of the *Arabidopsis gene* monopectins in vascular development and plant cell axialization .*Journal of physiological plant* .vol11 1p165-170
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2<sup>ème</sup> édition TEC&DOC. Paris. pp275. (Cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- **Ghoneum, M., H. Ozel and S. Gollapudi. (2006).** Su.82.*Nerium Oleander* Leaf Extract (Noe-4) Sensitizes Human Burkett Cell Lymphoma (Raji) to Human Cytotoxicity Mediated By Natural Killer Cells. *Clinical Immunology* 119(1):S188.
- Gilani A.H., Mehmood M.H., Janbaz K.H., Khan A.U., Saeed S.A., (2008).** Ethno pharmacological studies on antispasmodic and antiplatelet activities of *Ficus carica*. *J. Ethnopharmacol*; 119:1-5.
- **Gilly G., (1997).** Les plantes à parfum et huiles essentielles à grasse. Ed: L'Harmattan. P 97- 104.
- Goetz,J.(1988).**Indiana Plants Poisonous to Livestock and Pets. Cooperative Extension Service, Purdue University.
- Gonzloez and delgado,J. N. (1962).**J. PHARA. SCI., 51, 8, 786.
- **Guignard J.L., Cosson L., Henry M., (1985).** Abrégé de phytochimie. Ed Masson : pp 175-203.
- **Hagerman A.E., (2002).** Tannin Handbook.2<sup>ème</sup> édition. Miami University. Oxford, USA, p 116.
- **Harvey Mueller,(2006).** Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health, *J. Sci. Food Agric*: 86, pp. 2010–2037.

- **Hostettman. K., Marston. A., Ndjoko. K., Wolfender. J. L. (2000).** The potential of Africa plants as a source of drugs. *Current Organic Chemistry.*, vol. **4**, pp. 973-1010.
- **Hussain. M. A et Gorski. M.S. (2004)** Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn. *Asian Journal of Plant Sciences* 3., vol. **2**, pp. 177-180.
- **Huxly, A; Griffiths. M. and Levy. M. (1992).** The New RHS Dictionary of Gardening. Macmillan I SBN 333-47494-5.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle-Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A., (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed. Larousse. pp. 10 - 16
- **Isman M.B., (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*. Vol. 19: 603-608.
- **Johnson. C. B. and C. Franz, (2002).** Breeding research on aromatic and medicinal plants. Haworth Press, New York. P 122.
- **Judd W.S., Campbell C S., Kellogg E.A. et Stevens P.F., (2002).** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1<sup>ère</sup> édition. De Boeck Université, Paris, p 383.
- **Kadri M., (2015).** 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, pp 23-27.
- **Keil Claudia, Petermann Eva, Shiao Li Oei. (2004).** Tannins elevate the level of poly (ADP-ribose) in HeLa cell extracts, *Archives of Biochemistry and Biophysics* Volume 425, Issue 1. pp. 115-121.
- **Khanbabae K and Ree T.R. (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. pp. 641-649. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Kirtikar, K.R. and B.D. Bassu. (1999).** Indian medicinal plants. International book distributors, Dehradun, India
- **Kren V; (2001).** Martinkova, L. glycosides in medicine: "the role of glycoside residue in biological activity". *Curr-Med. chem.* pp. 1313-1338
- **Langford, S. D; Boor. P.J. (1996).** Oleander toxicity: an examination of the human and animal toxic exposures. *Toxicology* 109. pp 1-13

- **Maftah. T., Sengui. R., Djennas. A. K. (2003).** Programme UICN d'Afrique du Nord, cosmétologie au naturel, p 11.
- **Marchioni, A.R. and F. CalioDistefano. (1989).** *Nerium oleander* L. Le piante medicinali della Sardegna-Guida pratica per il riconoscimento di 102 specie (in Italian). (Medicinal plants of Sardinia-practical guide-book for 102 species recognition). Ed. della Torre. pp.156-157.
- **Martin, S., Andriambelason, R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium .Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium Annales de cardiologie et d'angéiologie. (51). pp. 304-315.
- **Masquelier J., (1992).** La vigne, plante medicinale Naissance et essor d'une therapeutique. Bulletin de l'O.I.V. pp.733-177-196.
- **Maurice N. (1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris. pp. 12-14.
- McCalley D.V., (2002).**Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid Chromatography and other separation techniques, *Review. Journal of Chromatograph*, **967** (1): 1-19
- Michel Hayek. (1992).** Encyclopédie des plantes médicinales le premier lexique, Bibliothèque de Liban.
- **Middleton, E. (2000).** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.* **52(4)**.673-751.
- Mohiuddin. (2000).** Trésors de plantes médicinales à Medina RR 22.23.
- **Nowitz T., Bottet J., (2000).** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.
- **Oukal. Z. (2008).** Les principales plantes toxiques chez les animaux domestiques au Maroc. (Thèse de Doctorat), Maroc.
- **Packer L., (2001).** Flavonoids and other polyphenols. Ed Academic Press,California, p 483
- **Paolini V., Dorchie P. et Hoste H., (2003).** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri.* pp. 17-19.

- **Paris M et Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. pp. 102-103-104-107.
- **Paris. R.R et Moyse. H. (1971).** Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones(tome III), pp.32-52
- **Pascal M. et Véronique Ch., (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Collection science et techniques agroalimentaires. Ed. Technique et Documentation. Paris, pp. 2-25.
- Paul Ozenda, (1991).** Flore et vegetation du Sahara. Troisieme Edition, CNRS Edition. p368
- Pearn, J. (1987).** Oleander poisoning toxic plants & animals. a guide for Australia Brisbane. Queensl and Museum.pp37-49.
- **Popenoe. J. (1975)** Oleander cultivars at the Fairchild tropical garden.
- **Regnault-Roger C., Philogene B. JR et Vincent CH., (2008).** Biopesticides d'origine végétale .Ed.TEC&DOC, Paris. p. 51-60
- Rhayour K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc. p 170.
- **Ridings. W. H. (1976).** Sphaeropsis witches' broom of *Nerium oleander*.Proc. Fla. State Hort. Soc., vol. **89**, pp. 302-303.
- Samai amal. (2006).**Criblage de plantes à la recherche de substances molluscicide et antidermatophyte. Mémoire de magistère-Oum-Bouaghi.
- **Shriff. N., Saudarshana. M. S., Umesha. S., Hariprasad. P. (2006)** Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. Africa journal of biotechnology., vol. **5**, n°. 10, pp. 946-950.
- **Siddiqui. S., Begum.S., Siddiqui. B. S., Hafeez. F. (1989).** Kanerin and 12, 13-dihydrourosolic acid, two new pentacyclic triterpenes from the leaves of *Nerium oleander*. Journal of Natural Products, vol. **52**, pp. 57-62.
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin. M., Hras A.R., and SimonicM., Knez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food chem. **89**: 191-198.
- **Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. et Stöckigt D., (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary

electrophoretic-electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. Review Journal of Chromatographya, **967**: 85–113

-**Tadros S. H. (1979)**. Pharmacognostical study of *entolobium cyclocarpum* griseb growing in egypt. Ph. D. thesis.Faculty of pharmacy. Cairo university.Florida state horticultural society, p426.

- **The Egyptian pharmacopeia, (1963)**.

-**Tajkarimi M.M, Ibrahim S.A. &Cliver D.O., (2010)**. Animicrobiol herb and spice compounds in food.Food control.Vol 21: 1199-1218.

- **Valnet, J. (1976)**. Oleandro, Fitoterapia-cura delle malattie con le piante (in Italian).(Oleander, phytotherapy-diseases cure with plants). Aldo Martello-Giunti, Firenze, Italy: pp. 332-333.

-**Yahia A, (1989)**. Etude botanique et chimique de *HyoscyamusAlbus* L. qui répanus dans la zone de constantine. Mémoire de magister. Université de constantine.

- **Yamauchi. T., Abe.F., Tachibana.Y., Atal. C. K., Sharma. B. M., Imre. Z. (1983)**. Quantitative variations in the cardiac glycosides of oleander.Phytochemistry., vol. **22**, pp. 2211-2214.

## ملخص :

يعتبر نبات الدفلة *Nerium oleander L.* من النباتات الطبية المستعملة في الطب التقليدي، تنتمي إلى العائلة الدفلية (Apocynaceae)، تنتشر بصفة خاصة في المناطق الرطبة، تعرف بغناها بالمواد الفعالة المختلفة، ولهذا الغرض قمنا بالمسح الكيميائي لمختلف أعضائها بإجراء اختبارات الكشف، ومن خلالها توصلنا إلى أنها تحتوي في جميع أعضائها على الجلوكوسيدات، الفلافونويدات، التانينات، الصابونيات، القلويدات، الزيوت الطيارة و الكاردينوليدات إلا أن هذين الأخيرين لم يظهر في الجذور.

**الكلمات المفتاحية:** نبات الدفلة، النباتات الطبية، العائلة الدفلية، المواد الفعالة، المسح الكيميائي.

## Résumé:

Le *Nerium oleander L.* compte parmi les plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle elle appartient à la famille des apocynacées qui sont réparties surtout dans les zones humides. Il est connu par sa richesse en diverses substances bioactives. Et pour cela, nous avons fait le screening phytochimiques pour diverses parties de la plante et procédé à divers tests pour la détection. Nous sommes parvenues au fait qu'il contient dans toutes ses parties des glycosides, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des huiles essentielles et des cardinolides. Mais ces deux derniers ne se trouvent pas au niveau des racines.

**Les mots clés:** *Nerium oleander L.*, Plantes médicinales, Apocynaceae, Substances bioactives, Screening phytochimiques.

## Summary:

The *Nerium oleander L.* among the medicinal plants used in traditional medicine and belongs to the family Apocynaceae that are distributed mainly in wetlands. It is known for its rich variety of bioactive substances. And for that, we did the phytochemical screening for various parts of the plant and conducted various tests for detection. We reached the fact that it contains in all its parts glycosides, flavonoïdes, tannins, alkaloïdes, essential oils and cardinolides. But these two are not found in the roots.

**Keywords:** *Nerium oleander L.*, Medicinal plants, Apocynaceae, Bioactive substances, Phytochemical screening