

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie.

Département : Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Sciences
de la Nature et de la Vie**

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Biochimie.

Thème :

**Evaluation de la bioactivité des extraits des
bourgeons et des fleurs de *Nerium oleander in vivo*
et *in vitro*.**

Membres de jury :

Présidente : Dr. Azzouz.Ouassila

Examinatrice : Dr. Khelfellah.Amina

Encadrante : Dr. Lahouel Asma

Présenté par :

BOUBEKRI Ibtissam

MECHID Bochra

BOUCHEKARA Faiza

Année Universitaire : 2022/2023.

Numéro d'ordre (Bibliothèque) :.....

Remerciements

Tous d'abord nous tenons à remercier le bon Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail

*Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre encadrant de mémoire Mme **ASMA LAHOUEL** pour sa patience, et conseils afin de donner le meilleur de nos mêmes et pour son suivi durant la période de préparation de notre mémoire de fin d'étude.*

*Nous remercions très sincèrement, les membres de jury **Dr. Azzouz.wassila** et **Dr. Khelfellah.Amina**.*

Nous adressons nos remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation

Nous remercions les ingénieurs de laboratoire pour Leur disponibilité et leur aide tout le long de ce modeste travail,

Un grand merci aux collègues du travail des laboratoires, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral

Nous remercions nos familles qui nous ont toujours encouragés et soutenus durant toutes nos études

Enfin, Nous remercions toutes les personnes qui font partie du prestige ou de loin à la réalisation de ce travail

Merci à tous et à toutes.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Mes très chers **parents** : Ma mère **Ghania** la flamme de mon cœur et ma vie mon père **Abd Al Azize** pour leur amour, leurs conseils et leurs encouragements durant toutes mes études.*

*A mes très chères **sœurs** : **Houda, Imen et meriem**, je vous souhaite une longue vie et bonne santé.*

*A mon cher **frère** unique : **Réda** j'espère que Dieu vous garde.*

*A mes petits **jumeaux** : **Iyad et Djaouad**.*

A moi-même.

*A mes chères amies avant d'être trinômes **Ibtissem et Faiza**, pour l'amitié et les souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble. je souhaite un avenir radieux plein de réussite.*

A toute ma famille : Mes oncles, tantes, à mes cousines

A tous mes collègues d'étude, depuis la période primaire jusque 'a la période universitaire.

*Et une spéciale dédicace à mes deux chères amies **Bahdja et Ibtissem** pour la meilleure amitié.*

Sans oublier mon chère ami "A".

A toutes les personnes qui m'ont encouragé ou aidé tout au long de mes études.

BOCHRA

Dédicaces

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie ce modeste travail :

*Aux personnes les plus chères au monde à mes yeux et dans mon cœur, qui sans leur soutien et leur générosité, je n'aurais pu atteindre mes objectifs. A ceux qui, durant toutes ces années ont fait mon existence, A mon **PERE** et **MERE**, Vous êtes les meilleures personnes dans ma vie. J'espère que vous êtes fiers de moi, Que Dieu vous bénisse.*

*Ma chère et unique sœur **Dalila**, la meilleure des sœurs, Tu as toujours été un modèle pour moi et je suis tellement fier de toi.*

*A mes chers frères : **Fatah, Lamine** et surtout **Zino**, sans oublier les petite de la famille « **Sidra et Siradj** » ; je vous aime tellement*

A mon très cher fiancé qui m'a beaucoup encouragé, ton aide et ton attention me pousse vers la réussite tu es un très beau cadeau du Dieu. J'espère que Dieu vous garde.

*A la future femme de mon frère **samira**.*

*A mes amies sans exception, spécialement à : **wissam, siham bija, bochra, bessma, lamia, anissa, khadija, djihane, Asma, saida, y.***

*A ma trinômes **bochra et Faiza** que j'aime beaucoup, ainsi que pour leur patience et leurs disponibilités tout au long de ce travail.*

A toute ma famille

Sans oublier tous les gens qui me considèrent proche. À tous ceux qui j'aime et qui m'aiment

Ibtissam

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A ceux qui ont consacré leur vie pour mon éducation, et ma réussite,
Mes très chers parents, mon père **Azzedine** et ma mère **Yamina**, les deux
Meilleurs mots que j'ai prononcés, vous êtes la source de l'amour, la tendresse,
Le courage et l'espoir ; pour vous je porte tout mon amour dans que dieu me
vous gardes.*

A mes chères grandes mères : pour leurs prières et leur bénédiction.

*A mes chères sœurs ; **Manal, Assia, Rima** et mes chers frères ; **Hicham** et
Mohammed qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au
long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.
A mon petit neveu ; **Saïd** et ma petite adorable nièce **Tamani** ; **Bahadinne** et
Baradinne qui sont toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute
la famille.*

*A mes chères amies et trinômes ; **Bochra** et **Ibtissem** je vous remercie pour ce
modeste travail et pour ton soutien.*

*A mes chères amies ; **Amani, Fereil, Nessrine, Widad, Amina, Iness, Ilham,**
Karima, Racha, Marwa Avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.
A toute ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.*

Faiza

Sommaire

Remerciement.....	
Dédicace.....	
Table des matières	i
Liste des abréviations	v
Liste des figures	vii
Liste des tableaux.....	ix
Introduction générale	01

SECTION I : PARTIE THEORIQUE

Chapitre I. *Nerium oleander*

1.Introduction sur <i>Nerium oleander</i>	02
2.Distrubution géographique de <i>Nerium oleander</i>	03
3. Noms communs de <i>Nerium oleander</i>	03
4.Classification taxonomique de <i>Nerium oleander</i>	04
5.Description botanique de <i>Nerium oleander</i>	04
6. Usage traditionnelles de <i>Nerium oleander</i>	06
7.Toxicité de <i>Nerium oleander</i>	07
7.1. Cas d’empoisonnement par <i>Nerium oleander</i> chez l’homme et animal	08
7.2. Procédures thérapeutiques.....	10

Chapitre II. Phytochimie et bioactivité *Nerium oleander*

1. Généralités sur les métabolites secondaires	11
2. Composition chimique de <i>Nerium oleander</i>	11
3. Bioactivité de <i>Nerium oleander</i>	13
3.1. Activité anticancéreuse	14
3.2. Activité antimicrobienne	15
3.2.1. Activité anti bactérienne.....	15
3.2.2.Activité antivirale	15
3.2.3. Activité antifongique.....	16
3.3. Activité antiinflammatoire	16

3.4. Activité antioxydante	17
3.5. Acticité antidiabétique	18
SECTION II : ETUDE PRATIQUE	
Chapitre I. Matériel et méthodes	
1. Matériel et méthodes	19
1.1 Matériel végétal	19
1.2 Matériel animal	19
2. Etude phytochimique.....	19
2.1 Préparation de matériel végétale	19
2.2 Préparation des extraits de la plante	20
2.2.1 Préparation de l'extrait aqueux	20
2.2.2 Préparation de l'extrait méthanolique	20
2.2.3 Détermination de rendement d'extraction	20
3. Caractérisation phytochimique.....	21
3.1. Dosage des polyphénols	21
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	21
3.3. Dosage des alcaloïdes.....	22
4. Études des activités de <i>Nerium oleander in vitro</i>	23
4.1. Test de la capacité antioxydant totale (TAC).....	23
4.2. Test de DPPH.....	23
4.3. Détermination de l'activité chélatrice du fer.....	24
4.4. Test d'inhibition de la trypsine.....	24
5. Études des activités de <i>Nerium oleander in vivo</i>	25
5.1 Activité anti inflammatoire	25
5.1.1 Protocole expérimental.....	25
5.2 Activité hypoglycémiant	26

5.3 Effet curatif et préventif de l'extrait des bourgeons sur la toxicité induite par le bichromate de potassium sur le foie et les reins	27
5.3.1 Induction de la toxicité	27
5.3.2 Sacrifice et dissection.....	28
5.3.3 Préparation de la fraction cytosolique de foie et des reins.....	28
5.3.4 Evaluation de la peroxydation lipidique (MDA).....	28
5.3.5 Dosage de GSH	29
5.3.6 Quantification des protéines.....	29

Chapitre II : Résultats et discussions

1.Rendement des extraits	31
2.Teneurs en polyphénols totaux	31
3.Teneurs en flavonoïdes totaux.....	32
4.Teneurs en alcaloïdes totaux	32
5.Études des activités de <i>Nerium oleander in vitro</i>	33
5.1. Capacité anti oxydante totale	33
5.2. Test de réduction du radical DPPH.....	34
5.3. Activité chélatrice de FER	36
5.4. Test d'inhibition de la trypsine	36
6. Études des activités de <i>Nerium oleander in vivo</i>	37
6.1 Activité anti inflammatoire	37
6.2 Activité hypoglycémiant	38
6.3 Activité de l'extrait des bourgeons sur la toxicité induite par le bichromate de potassium sur le foie et les reins	39
6.3.1 La peroxydation lipidique	39
6.3.2 Le taux de GSH.....	41

Discussion	43
Conclusion	47
Références bibliographiques	48
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ARNm : Acide ribonucléique messenger

BSA : Sérum albumine de bœuf

CD4 : Cluster de différenciation 4

CRP : C-réactive protéine

CK-MB : Créatine Kinase-MB

CAT : Catalase

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DTNB : Dithio-bis-2-nitrobenzoïque

EC50 : Concentration effectrice de 50%

EQ : Equivalent Quercitine

EAT : Equivalent d'acide gallique

FeCl₃: Chlorure ferrique

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

FGF2 : Facteur de croissance de fibroblaste

GBM : Glioblastome multiforme

Gp120 : Glycoprotéine d'enveloppe virale

GSH : Glutathion réduit

GPx : glutathion peroxyde

HT29 : Human colon adénocarcinome

HE : Huiles essentiels

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

IL : Interleukine

LDH : Lactate déshydrogénase

MDA : Malone-dialdéhyde

Na : Sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

O₂•- : Radical superoxyde (anion superoxyde)

OH• : Radical hydroxyle

Panc-1 : Cancer de pancréas

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase

RT : Transcriptase inverse

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SOD : Super oxyde dismutase

SRAS-COV-2 : Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

TNF α : Interférons- α (Tumor necrosis factor alpha)

TP : Tampon phosphate

TBA : Acide Thiobarbiturique

TCA:Trichloroacide Acétique

Liste des figures

Figure		Page
1	<i>Nerium oleander</i> .	03
2	Description botanique de <i>Nerium oleander</i> .	04
3	Préparation de matériel végétale.	19
4	Dosage des flavanoides des différents extraits.	22
5	Dosage des alcaloïdes des différents extraits.	22
6	Évaluation de l'activité anti-inflammatoire de <i>N. oleander</i> chez les souris.	25
7	Mesure de la glycémie par glucomètre (Vital Chek) de la méthode glycosylase.	26
8	Induction de la toxicité par l'administration de bichromate de potassium par voie sous-cutanée.	27
9	Dissection et prélèvement des organes.	28
10	Capacité antioxydante totale de référence et des extraits testés à différentes concentrations.	34
11	Pourcentage de réduction du radical libre DPPH par l'extrait des fleurs, des bourgeons aqueux et des bourgeons méthanoliques à différentes concentrations.	35
12	Pourcentage d'inhibition de l'activité de la trypsine par les différents extraits des fleurs et des bourgeons aqueux et méthanolique à différentes concentrations.	36
13	Pourcentage d'augmentation d'inflammation et le pourcentage d'inhibition d'inflammation chez les souris témoins et par l'extrait BA ou diclofénac.	37
14	Tolérance au glucose chez les souris traitées par l'extrait des bourgeons aqueux et traité par le médicament (GLR) pendant 2 h.	38
15	Concentrations de MDA dans le foie.	39

16	Concentrations de MDA dans les reins.	40
17	Variation des taux de GSH cytosolique de foie <i>in vivo</i> .	41
18	Variation des taux de GSH cytosolique des reins <i>in vivo</i> .	42

Liste des tableaux

Tableau		Page
1	Description botanique des différentes parties d' <i>oleander</i> .	05
2	Utilisations traditionnelles des différentes parties d' <i>oleander</i> à travers le monde.	06
3	Doses toxiques (DT) et mortelles (DM) d' <i>oleander</i> chez l'animal et l'homme.	08
4	Cas d'empoisonnement chez l'homme et animal par <i>oleander</i> .	08
5	Métabolites secondaires de <i>oleander</i> dans les différentes parties de la plante et leurs effets pharmacologiques.	13
6	Rendement de différentes méthodes d'extraction des feuilles et des bourgeons d' <i>oleander</i> .	31
7	Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>oleander</i> .	31
8	Teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits d' <i>oleander</i> .	32
9	Teneur en alcaloïdes totaux dans les différents extraits d' <i>oleander</i> .	32
10	La capacité antioxydante totale qui correspondent l'absorbance à 0,5 nm.	33
11	Le pouvoir antioxydant (exprimé par EC50 en µg/ml) de référence et des extraits.	35

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme a fait un effort d'exploiter la nature pour ses besoins nutritionnels et médicaux, et au cours du développement des civilisations, il a exploité les plantes pour usage médicinal (**Rhattas et al., 2016**).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) révélait une augmentation continue de l'utilisation des herbes et des médicaments à base des plantes. Cette approche de traitement est largement sous l'égide de la médecine traditionnelle (**Sarris et al., 2021**).

La phytothérapie utilise des produits biologiques qui ont une pharmacodynamie capable de provoquer des événements toxiques très importants. En effet, la valeur médicinale des plantes réside dans leurs composés phytochimiques bioactifs, mais leur intoxication peut conduire à des urgences toxicologiques (**Saha et Honnesh., 2021**).

Sur le plan scientifique, de nombreux travaux ont été menés, notamment des expérimentations ethnobotaniques, biochimiques et cliniques sur les plantes médicinales dans le but d'améliorer ce patrimoine culturel et d'en apporter une justification scientifique (**Zerbo et al., 2011**). Il existe environ 500 000 espèces de plantes sur terre (**Rhattas et al., 2016**), une large gamme des plantes possèdent une gamme d'utilisations médicinales dans l'humanité dont 80 000 ont des propriétés médicinales (**Benkhniqie et al., 2011**).

Nerium oleander est considérée comme une plante toxique en raison des toxines qu'elle contient. Cette plante possède également de nombreuses propriétés médicinales, et donc ses différentes parties sont utilisées comme remèdes externes (**Rubini et al., 2019**). Les fleurs de *N. oleander* sont la partie la plus riche en polyphénols et la moins concentrée en glucoside cardiaques qui sont les métabolites les plus toxique de cette plante. Ainsi ce travail vise à évaluer la bioactivité de l'extrait aqueux et méthanoliques des bourgeons et fleurs de *Nerium oleander in vitro* et *in vivo*.

Ce travail se divise en deux parties : La partie bibliographique relative à la plante *Nerium oleander* et ses caractéristiques et la deuxième partie expérimentale consacré à l'étude des activités biologique des extraits des bourgeons et des fleurs de *Nerium oleander*.

PARTIE I. Rappels bibliographiques

Chapitre I. *Nerium oleander*

1. Introduction sur *Nerium oleander*

Nerium oleander, ou communément appelé laurier-rose, décrit et nommé par Carl von Linné en 1753 ; connu dans les textes anciens sous le nom de “rose du désert”, les références historiques montrent l’utilisation d’*oleander* dès le 15^{ème} siècle avant J-C. Le nom *Nerium* vient du mot grec « *neros* » qui signifie humide et *oleander* du latin « *olea* » faisant allusion aux feuilles semblables à celles de l’Olivier (Azmal, 2023). **Figure 1**

Nerium oleander est une plante ornementale grâce à sa belle fleur, de la famille *Apocyanaceae* (Shafiq et al., 2021) et sous - famille *Apocynoideae* ; elle s'agit de la seule espèce du genre *Nerium*. Cette espèce est connue localement sous le nom de (el-defla) et parfois appelée *Oleander* (Madaci et al., 2020). Elle peut être multipliée par des graines (Kadri et Yahia, 2016) mais, étant allogame et fortement hétérozygote, elle présente une grande variabilité dans les populations de semis (Azmal, 2023).

Oleander est une plante très répandue dans le monde (Becam et Carvelli, 2020), généralement trouvée dans un habitat humide sur des sites bien exposés au soleil, et surtout le long des rives des ruisseaux (Azmal, 2023). Elle est utilisée comme aménagement pour paysager le long des routes (Becam et Carvelli, 2020). Elle est à croissance rapide et densément ramifiée, ce qui en fait un ajout populaire à de nombreux paysages terrestre (Suchard et Greb, 2020). Elle est caractérisée par son adaptation aux sols avec une faible concentration en nutriments ; elle pousse dans une large gamme de pH (5-8,3) et tolère les conditions climatiques difficiles telles que la chaleur, la sécheresse et la richesse en sel (Azmal, 2023).

Oleander est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés pharmacologiques multiples comme l’activité antibactérienne, anti-inflammatoire (Verma et al., 2018) anti-tumorales, anti-prolifératives et même des propriétés antivirales (Sinha, Biswas 2016). D’autre part elle est connue de sa toxicité importante. Toutes les parties de la plante sont toxiques (Zibu et Batra, 2010). Plusieurs preuves cliniques de toxicité par *Nerium oleander* ont été documentées (Dey, 2020).

2. Distribution géographique de *Nerium oleander*

Oleander est distribuée à l'origine dans l'Asie subtropicale et la région méditerranéenne, mais pousse maintenant dans de nombreuses régions du monde, notamment aux États-Unis, en Australie, en Chine et dans les pays de Moyen-Orient (Sehr et al., 2020) et assez abondante dans la zone steppique de l'Afrique du Nord (Kadri et Yahia, 2015). En Algérie, sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et terrains rocailloux. Dans la Sahara du nord elle se retrouve dans les montagnes du tassili et du Hoggar (Madaci, 2020).

3. Noms communs de *Nerium oleander*

Nom Botanique: *Nerium oleander*

Nom Hindi: Kaner, kanail

Nom Anglais: Oleander, Rose-bay

Nom Afrikaans: selonsroos

Nom Arabe: Defla, Ward Al-Hemar, Sim Al-Hemar (Ayouaz et al., 2023).

Synonyms: Soland, lorier bol, rosebay, Laurie rose, kaner, Karavira, Viraka, Ashvamarka, Hayamaara, auripushpa, Siddhapushpa (blanc variété de fleurs), Raktapushpa, Raktaprasava, Ravipriya (variété à fleurs rouges) (Ebrahimi et al., 2018).



Figure1: *Nerium oleander* (Farooqui, Tyagi., 2018)

4. Classification taxonomique de *Nerium oleander* (Chaudhry et Prasad, 2014)

<u>Phyllum</u>	<u>Plantae</u>
Classe/ Sous-Phyllum	Angiospermes
Série	Eudicots
Ordre	Gentianales
Famille	Apocyanacées
Genre	<i>Nerium</i>
Espèce	<i>Oleander</i>

5. Description botanique de *Nerium oleander*

Oleander est un arbuste dont la taille et les propriétés varient considérablement selon les régions qu'il habite. La floraison a lieu à la fin du printemps (Mai-Juin) (Genouxet al., 2021). La description botanique de *N. oleander* est représentée dans la **Figure 2** et le **Tableau 1**.



Figure 2 : Description botanique de *Nerium oleander* (Stursa, 2001)

Tableau 1 : Description botanique des différentes parties de *N. oleander*.

Feuilles	Les feuilles sont linéaires et coriaces de couleur vert foncé à vert gris, avec des veines jaunâtres claires distinctes. Ils sont longs de 5 à 20 cm, étroit, avec un limbe vert foncé coriaceus aiguës, (Bandara et al., 2010) rigides, à 40-70 paires de nervures secondaires très fines et parallèles (Verma et al., 2018).	
Fleurs	Les fleurs sont en forme d'entonnoir et parfumés (Zibu et Batra, 2010). Elles sont produites en grappe terminale d'environ 5 cm de diamètre avec 5 pétales étalés et différentes couleurs varient. Les fleurs sont blanches à roses à rouge foncé (Sinha et Biswas, 2016).	
Fruits	Les fruits sont constitués d'un follicule étroit de 7,5 à 17,5 cm de long et s'ouvrent pour se disperser (Verma et al., 2018) secs, cylindriques, contiennent de nombreuses graines munies d'une aigrette et à poils soyeux (Sinha et Biswas, 2016).	
Bourgeons	Les bourgeons floraux sont semblables à une torche, se déroulent en fleurs odorantes, groupées à l'extrémité des rameaux, soudés jusqu'à mi-hauteur en un tube cylindrique, libres au-delà, doubles d'une couronne interne frangée (Hammiche, 2013).	

6. Usage traditionnel de *Nerium oleander*

Oleander est utilisée comme plante médicinale traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies dans différentes régions du monde (**Fatemeh et al., 2018**) (Tableau 2). Les propriétés thérapeutiques d'*oleander* sont connues depuis l'antiquité (**Azzalini et al., 2019**). Les feuilles et les fleurs sont utilisées comme cardiotoniques, diurétiques, pour la prise en charge des calculs rénaux et vésiculaires, de l'asthme, le cancer, et ulcères (**Sehr et al., 2020**). Néanmoins, *oleander* est connue de sa toxicité importante, et ne doit être utilisée qu'avec extrême prudence (**Farooqui et Tyagi, 2018**).

Les racines sont utilisées sous forme de pansements sur les tumeurs en raison de sa nature toxique, elles ne sont pas utilisées qu'extérieurement. L'huile préparée à partir de l'écorce des racines est utilisée pour traiter des maladies cutanées. Elles sont utilisées aussi comme purgatif dans l'hydropisie et les rhumatismes (**Zibbu et Batra, 2010**). Les jus des feuilles, de l'écorce et des racines sont utilisés comme traitement des ulcères cancéreux, les carcinomes, les tumeurs ulcéreuses ou dures (**Bakkali et al., 2010**). Le tableau 2 résume l'utilisation thérapeutique traditionnelle d'*oleander* à travers le monde.

Tableau 2 : Utilisations traditionnelles des différentes parties d'*oleander* à travers le monde.

Pays	Utilisations traditionnelles	Parties utilisés
Algérie (Hammiche, Maiza., 2006)	-Maladies de la peau dermatoses, démangeaisons. - Perte des cheveux, fièvre, maux de tête, abortive, eczéma, mal des dents.	Feuilles
Bangladesh (Nat. Prod., 1999)	-Antibactériennes, anticancéreuses, antidotes, antilépreuses et cardiotoniques.	Racines
Iran (Adome et al., 2003)	- Cardiotonique et diurétique dans l'œdème.	Feuilles séchées
Maroc (Rhattas et al., 2016)	-Le diabète, les démangeaisons et les maux de tête.	Feuilles
Cuba (Adome et al., 2003)	-Médecine folklorique.	Différentes parties de la plante.

7. Toxicité de *Nerium oleander*

La phytotoxicité est un problème important concernant les applications cliniques des plantes médicinales (**Becam et al., 2020**). *Oleander* est potentiellement mortelle après l'ingestion, est considérée comme une plante vénéneuse (**Chaudhary et Prasad, 2014**). Elle est responsable d'empoisonnement volontaires ou accidentel chez les adultes, mais surtout chez les enfants et certains animaux domestiques (**Moulsma et al., 2000**). Les cas d'intoxications volontaires par *oleander* sont rares comparés aux expositions accidentelles. Ces dernières surviennent le plus fréquemment chez l'enfant et sont la plupart du temps graves (**Becam et al., 2020**). Des tentatives de suicides par *oleander* sont régulièrement rapportées par les toxicologues dans différentes parties du monde (**Bourgeois et al., 2005**).

La dose toxique se varie en fonction de plusieurs facteurs ; tels que la quantité, la partie de la plante et la concentration de toxine dans la partie de plante ingérée, l'âge et l'état de santé du patient au moment de l'ingestion (**Siham et al., 2020**). Cette plante est très toxique, contenant une puissante toxine cardiaque et ne doit être utilisée qu'avec extrême prudence (**Hammiche et al., 2013**).

L'intoxication par *oleander* est similaire à celle aux substances digitaliques en raison de la présence des hétérosides cardiotoniques dont le principal est l'oléandrine dans toutes les parties de cette plante (les fleurs, les feuilles, les tiges et les racines) (**Huguese et al., 2011**) qu'elles soient fraîches, séchées ou bouillies, (**Turan et al., 2006**), et que ce soit par ingestion ou inhalation de fumer. De même, des cas de toxicités ont été rapportés suite à la consommation de viande cuite sur des branches d'*oleander* (**Huguese et al., 2011**), l'ingestion d'eau contaminée par cette plante, ou l'ingestion de miel produit par les abeilles qui auraient butiné des fleurs de laurier rose (**Hammiche et al., 2013**).

Adome et al. (2003) ont testé l'extrait éthanolique des feuilles d'*oleander ex vivo* à différentes concentrations sur le cœur des porcs. Les résultats indiquent que l'effet de cet extrait est similaire à l'effet de la digoxine (**Adome et al., 2003**) à cause de sa richesse en cardénolides. L'activité cytotoxique de ces derniers est principalement liée à l'inhibition de pompe Na^+/K^+ -ATPase (**Dey, 2020**) ce qui augmente la concentration de Na^+ et par conséquent augmente la concentration intracellulaire de Ca^{2+} des muscles cardiaques provoquant ainsi la contraction musculaire (**Shridhar, 2022**).

La gravité des intoxications par *oleander* est en fonction de la quantité ingérée ce qui est souvent difficile à évaluer ; Le tableau 3 résume les doses toxiques d'*oleander* chez l'animal et l'homme. Les manifestations cliniques sont habituellement observées en l'espace de 2 à 6

heures, mais plus rapidement en cas de consommation sous forme d'infusion et d'ingestion d'extraits des racines ou des feuilles (Hofer et Weiler, 2019). Les symptômes cliniques importants d'empoisonnement consistent au vomissements, nausées, douleurs abdominales, diarrhée (Melo et al., 2020). Le tableau 4 présente plusieurs cas documentés d'empoisonnement par *oleander*.

Tableau 3 : Doses toxiques (DT) et mortelles (DM) de *oleander* chez l'animal et l'homme (Hammiche et al., 2013).

Animal						Homme	
Souris	Chien	Mouton	Ruminant	Oiseux	Autres espèces	Enfant	Adulte
DT : 50mg/kg.	DT : 3g.	DT : 3 à 14 g/kg.	DM : 110 g/kg.	DM : 0,12 à 0,7 g.	DL : 0.5 mg/kg.	Une seule feuille pourrait entraîner la mort.	3 à 10 feuilles.

Tableau 4 : Cas d'empoisonnement chez l'homme et animal par *oleander*.

	Les informations	Les cas toxiques	Les symptômes et les résultats
1 (Daflaoui et al., 2021)	_Patient de 21 ans sans antécédent pathologique.	_ Une application directement par frottement la racine d' <i>oleander</i> . au niveau des joues et du menton, sans notion d'ingestion orale.	_ Six heures après : un placard érythémateux œdémateux mal limité avec prurit intense, surmonté de vésiculo-bulles.
2 (Azzalini et al., 2019)	_ Une femme de 58 ans. _ La femme ne souffrait pas de dépression ni d'aucune autre maladie et elle ne prenait aucun médicament.	_ La femme est suicidée par des feuilles d' <i>oleander</i> .	_ L'autopsie, pratiquée trois jours après la mort de la femme. _ Une pétéchie sur la surface profonde de la cuir chevelu, congestion de plusieurs organes et œdème pulmonaire.

<p>3 (Rodríguez et al., 2007)</p>	<p>_ Une femme de 55 ans ayant des antécédents de cirrhose alcoolique et des troubles dépressifs.</p>	<p>_ La femme a avalé un litre d'infusion préparée à base de fleurs de la plante.</p>	<p>_ Après quelques heures, apparition de nausées et vomissements, présentant un syncopal. _ Les analyses ont été normal, sauf pour le potassium de 5,9 mmol/l. _ L'électrocardiogramme a révélé un bloc sino-auriculaire. Un dosage de la digoxinémie dont le résultat était de 2,5 ng/ml (taux thérapeutique inférieur à 2 ng/ml).</p>
<p>4 (Vallé et al., 2012)</p>	<p>_ Un détenu de 60 ans antécédents connus de dépression.</p>	<p>_ Il a cueilli des feuilles d'<i>oleander</i> du jardin de la prison et les a consommées dans le but de se suicider.</p>	<p>_ Des douleurs abdominales et de sueurs froides, d'inconfort gastro-intestinal, de nausées. _ Une hyperkaliémie à 5,8 mmol/. Les concentrations de sodium et de magnésium étaient normales.</p>
<p>5 (Bourgeois et al., 2005)</p>	<p>_ Homme de 44 ans.</p>	<p>_ Le patient disait avoir absorbé 100 g de feuille de plante.</p>	<p>_ Après quatre heures le patientes a devenu somnolent, confus dysarthrique et présentait des vomissements verdâtres avec fragments de feuilles.</p>
<p>6 (Aslani et al., 2004)</p>	<p>_ 92 bovins.</p>	<p>_ La présence de feuilles d'<i>oleander</i> dans le rumen dans tous les cas.</p>	<p>_ Les troubles de la locomotion, la diarrhée, la dépression et la mort subite.</p>

7 (Barbosa et al., 2008)	_ Six moutons mâles.	_Ingestion des feuilles séchées d' <i>oleander</i> .	_Après 30 minutes : une diminution de la fréquence cardiaque suivie de pauses cardiaques et de tachyarythmies, atonie ruminale, tympanie légère à modérée, douleurs abdominales, polyurie.
8 (Schwartz et al., 1974)	_ Des singes capucins (<i>Cebus apella</i>).	_Des feuilles d' <i>oleander</i> séchées et broyées ont été administrées à des intervalles de 48 h à des doses de 30, 7,5 et 3 mg/kg.	_Vomissements, salivation, polyurie, bradycardie, hémorragie vaginale, avortement, anorexie, constipation, perte de poids, narcose, agitation, faiblesse et respiration superficielle et rapide.
9 (Soto-Blanco et al., 2006)	_Deux jeunes chevaux.	_Toxicité par <i>oleander</i> _Présence de oléandrine dans le gastro-Intestinal et de la digoxine dans le sérum.	_Léthargie, l'anorexie et les arythmies cardiaques.
10 (Ceci et al., 2020)	_50 vaches.		_Malaise avec dépression, anorexie, manque de rumination et hypogalaxie ; la diarrhée.

7.1. Procédures thérapeutiques

Il y a aucun traitement spécifique d'empoisonnement par *oleander* (Pellet et al., 2015) mais il y a des procédures thérapeutiques dans un cas d'urgence médicale par un poison de plante qui sont : l'élimination gastro-intestinale des toxines non absorbées par un lavage gastrique et l'administration de médicament charbon actif et des solutions physiologiques (Prashar et al., 2014). Un traitement de la tachycardie par blocage adrénérger à l'aide des β bloquant est également décrit. Ces procédures sont notamment efficaces dans les premiers temps d'empoisonnement (Soto-Blanco et al., 2006).

Chapitre II

Phytochimie et bioactivité de

Nerium oleander.

1. Généralités sur les métabolites secondaires

La technique phytochimique s'applique principalement au contrôle de la qualité et de la phytothérapie de divers composants chimiques trouvés dans les plantes, fournissant des avantages pour la santé humaine (Zibbu et Batra, 2010).

Les métabolites secondaires sont spécifiques aux espèces et peuvent être différents en qualité et en quantité selon les conditions environnementales (Ayouaz et al., 2021).

Les études phytochimiques effectuées sur *oleander* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires (Velavan, 2015).

2. Composition chimique de *Nerium oleander*

Oleander contient différents composés phytochimiques (Velavan, 2015). Elle est riche en métabolites secondaires comme les glycosides cardiotoniques, les alcaloïdes, les composés phénoliques y compris les flavonoïdes et les tanins, les stéroïdes, les triterpènes et les saponines (Al-Snafi., 2020) (Tableau 5)

Les glycosides cardiaques également définis comme cardénolides (Carfora et al., 2020) qui sont des composés végétaux ou animaux naturels dont les actions comprennent à la fois des effets bénéfiques et toxiques sur le cœur. *Oleander* contient plus de 30 glycosides cardiaques toxiques (Rubini et al., 2019). Toutes les parties de la plante contiennent des glycosides avec les graines et les racines contenant le pourcentage le plus élevé ; L'oléandrine et la nérine sont les plus puissants (Galton et al., 2020).

L'oléandrine a été identifiée comme entité chimique principale et potentiellement active de *oleander* (Kanwal et al., 2020). L'oléandrine est également le principal constituant actif de médicaments à base de plantes bien connu pour le traitement des maladies cardiaques (Gayathri et al., 2011). Elle est présente dans les graines, les racines, les tiges, les feuilles, les bourgeons, les fleurs et la sève de la plante. Les feuilles présentent la concentration la plus importante d'oléandrine au sein de la plante, environ 0,1% (Becam et al., 2020). Les graines renferment de l'oléandrine et des composés voisins : odorosides, adigoside, gluco-strospéside... etc (Bruneton, 2001). D'autre part, la nérine l'une des glycosides cardiaques les plus toxiques (Langford et Boor, 1996) a été isolée de toutes les parties de la plante (Akhtar et al., 2014).

Les fleurs d'*oleander* sont riches en alcaloïdes, phénols, flavonoïdes, tanins, coumarines et triterpène (**Molyneux et al., 2007**). Les alcaloïdes sont les substances les plus importantes et les plus actives trouvées dans la plante après les glycosides cardiotoniques (**Al-Hakak et al., 2019**).

L'acide chlorogénique est parmi les composés phénoliques majoritaires d'*oleander* (**Achakzai et al., 2009**) ; il se trouve dans toutes les parties de la plante et s'accumule particulièrement dans les bourgeons floraux et les fruits (**Paris et Duret, 2014**).

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Paris et Duret, 2014**), ce sont des composés phénoliques et se composent de flavones, flavanols, flavanone. Les flavonoïdes appartiennent au type flavanol existent à tous les stades de végétation et dans tous les organes d'*oleander* sauf les racines. Les graines contiennent des dérivés de types variés. La composition en glycosides flavonoïques de type flavanols est assez homogène dans les différentes parties de la plante avec une teneur maximale dans les bourgeons floraux. Le kaempférol est un flavonoïde de type flavanol avec un large spectre de bioactivité (**Ibrahim et al., 2008**). Les dérivés de kaempférol sont relativement importants dans la fleur. Ces composés représentent une fraction importante des métabolites secondaires dans la plante et ont montré qu'ils possèdent des effets remarquables sur la santé (**Saranya et al., 2017**).

Tableau 5 : Métabolites secondaires d’*oleander* dans les différentes parties de la plante et leurs effets pharmacologiques.

Métabolites secondaire	Formule Chimique	Présence dans les parties de la plante				Effet Pharmacologie
		Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs	
Glycoside cardiaque : oléandrine	C ₃₂ H ₄₈ O ₉	+	+	+	+	Anticancer, antiinflammatoire et antioxydant (Goraksh et al., 2017).
Flavonoïde : Kaempférol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	+	+	+	+	Anti-athérogénique, anti-inflammatoires et anti-dépressives (IBRAHIM et al., 2008).
Alcaloïde: [5,9-Dimethyl-1-(3-phenyloxiran-2-yl)-deca-4,8-dienylidene] -(2-phenyl-aziridin1-yl) – amine	C ₂₈ H ₃₄ N ₂ O	-	-	+	+	Anticancer (Goraksh et al., 2017).
Stéroïde : Cardénolides	C ₂₃ H ₃₅ O ₂	+	-	-	+	Anticancer (Nawaz et al., 2023).
Phénol : P-crésol	C ₇ H ₈ O	-	+	+	+	Antioxydant. (Saranya et al., 2017)

3. Bioactivité de *Nerium oleander*

Oleander possède une large gamme d’activités pharmacologiques (**Germi et al., 2013**), les plus importantes sont : l’activité anticancéreuse, antioxydant, antidiabétique, anti inflammatoire, antimicrobienne ... (**Ayouaz et al., 2021**)

3.1. Activité anti-cancéreuse

L'extrait méthanoliques des feuilles d'*oleander* (oléandrine) possède une activité cytotoxique sur les cancers de sein, le carcinome hépatocellulaire et la leucémie myéloïde chronique. Des études *in vitro* ont montré que l'oléandrine induit la mort apoptotique (**Germi et al., 2013**) par l'activation des caspases, élévation des taux de Bax, la libération cytochrome C dans le cytosol, l'activation des récepteurs de mort tel que Fas (**Kanwal et al., 2020**).

Dans une autre étude, l'extrait PB1-05204 au CO₂ des feuilles d'*oleander* possèdent une activité anti tumorale sur le cancer de pancréas (Panc-1) *in vivo* (souris) et *in vitro*. L'efficacité de cet extrait est plus élevée que la gemcitabine (médicament pour traiter le cancer). Les résultats montrent que l'extrait cible les composants de la voie (PI3K, AKT, mTOR) pour l'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses et l'induction de l'apoptose (**Yong Pan., 2014**). Le même extrait possède aussi une autre activité sur le glioblastome multiforme (GBM). La combinaison de son administration avec la radiothérapie améliore l'activité antitumorale (dans les modèles précliniques murins de GBM) par les mécanismes de transition de l'autophagie à l'apoptose et la modulation des dommages d'ADN par la réduction de sa réparation (**Colapietro et al., 2022**).

D'autre part, **Siham et al. (2020)** ont rapporté que l'extrait phénolique des feuilles d'*oleander in vitro* a une action cytotoxique sur HT29 (Human colon adénocarcinome) parce qu'il contient l'acide chlorogénique, la rutine, et la quercétine qui sont capables d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses et capables d'induire l'apoptose. De plus la rutine peut inhiber l'angiogénèses et les métastases dans les lignées colorectales (**Siham et al., 2020**). Dans une étude récente des même auteurs **Siham et al. (2023)**, les extraits des fleurs ont révélé également une activité antitumorale considérable (**Siham et al., 2023**).

Des études *in vitro* sur un autre extrait riche en glycosides cardiaques d'*oleander* (Anvirzel) ont montré que ce dernier possède une activité antitumorale sur les lignées cellulaires de cancer de la prostate par l'inhibition de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase et donc l'inhibition de la libération du facteur de croissance de fibroblaste (FGF2) qui est exprimé à des niveaux accrus dans le cancer de la prostate humaine et favorise la motilité et la prolifération cellulaires, augmente l'angiogénèse tumorale et inhibe l'apoptose (**Polnaszek et al., 2003**).

De plus, l'extrait d'huile des fleurs d'*oleander* possède *in vivo* une activité antitumorale sur les carcinomes Ehrlich ascites car cette huile est capable d'inhiber la croissance de cette ligné cellulaire (**Farooqui et Tyagi, 2018**).

3.2. Activité anti microbienne

L'activité anti microbienne d'*oleander* inclut l'activité antibactérienne, l'activité anti fongique (Zibbu et al., 2010) et l'activité anti viral (Efferth et al., 2019).

3.2.1. Activité anti bactérienne

Almana et al. (2021) ont rapporté que les huiles essentiels (HE) des feuilles d'*oleander* possède une activité antibactérienne contre les biofilms de la bactérie *P. auriginosa* (Almana et al., 2021). D'autre part les bactéries gram-positives (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) sont plus sensibles aux HE d'*oleander* que les bactéries gram-négatives (*E. coli* et *Salmonella typhimurium*) car leur membrane externe est plus perméable à ces derniers. Ces HE sont capables de perturber la perméabilité de de la membrane cellulaire et la perte de contrôle chimiosmotique ce qui en résulte comme la raison la plus probable de leur effet létal (Ali et al., 2010). L'extrait éthanolique des fleurs d'*oleander* (OEE) contient des composés phytochimiques multiples (Carbohydrates, Alcaloïdes, Flavonoïdes, Stéroïdes, Glycosides cardiaques, Protéines, Acides aminés, Triterpénoïdes et Tannins) a révélé une activité antimicrobienne considérable contre plusieurs souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* qui sont de gram négatives et, *Staphylococcus aureus* qui est de gram positif). Cette activité était même plus efficace que l'activité de ciprofloxacine (antibiotique) standard (Nitave et al., 2016). OEE possède une grande affinité aux lipopolysaccharides de la membrane bactérienne ce qui conduit à des lésions cellulaires et donc l'inhibition de la croissance des bactéries (Shafiq et al., 2021).

3.2.2. Activité antivirale

Oleander ayant une activité antivirale très efficace sur les virus enveloppés (Plante et al., 2021) principalement grâce à sa richesse en glucosides cardiaques. Les glucosides cardiaques altèrent les différentes étapes du cycle de vie viral essentiellement via la perturbation de l'équilibre ionique, l'autophagie de la cellule hôte ou par le déclenchement des diverses cascades de signalisation apoptotique (Skubník et al., 2021). L'oléandrine est actif contre le VIH-I et le SRAS-CoV-2 (Saha, Honnesh., 2021). Il réduit l'expression de la protéine enveloppé (gp120) de VIH quelle est le principal médiateur de l'infection (Ebrahimi et al., 2018). De plus l'oléandrine est capable d'inhiber la réplication du VIH (Newman et al., 2020). Des recherches récentes ont montré que même à de faible concentration l'oléandrine était

capable de réduire la charge virale de Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) (Newman et al., 2020) par l'inhibition de Na⁺/K⁺ATPase en bloquant le site de liaison à ATP nécessaire pour l'activité de ACE2(enzyme de conversion de l'angiotensine 2) qui s'est maintenant révélé être un récepteur d'entrée pour le SRAS-CoV-2 (Mombeni et al., 2020).

3.2.3. Activité anti fongique

L'extrait éthanolique (Carbohydrates, Alcaloïdes, Flavonoïdes, Stéroïdes, Phénols, Protéines, Triterpénoïdes, Saponines et Tannins) des fleurs d'*oleander in vitro* possède une activité antifongique (Sinha et al., 2016) contre les champignons suivants *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigate* et *Rhizopus*, les chercheurs ont utilisé la nystatine comme médicament de référence pour étudier l'activité antifongique. L'extrait éthanolique a montré la plus grande activité par rapport aux nystatines. Les plus grandes zones d'inhibition ont été signalées contre *Aspergillus flavus*, *Rhizopus*, mais une activité minimale a été signalée contre les autres espèces étudiées (Saranya et al., 2017).

3.3. Activité Anti inflammatoire

Plusieurs mécanismes antiinflammatoires d'*oleander* ont été rapportés. L'extrait aqueux des fleurs d'*oleander* contenant des composés phénoliques tel que les flavonoïde, tanins et des composés phénoliques possède une activité anti inflammatoire, par la diminution de dénaturation de l'albumine (l'une des causes des maladies inflammatoires est la diminution de l'albumine) (Mary et al., 2017). L'injection intramusculaire de l'extrait de décoction de feuilles d'*oleander* a induit diminution de l'expression du gène de l'IL-6 (est une importante cytokine médiatrice de la phase aiguë de l'inflammation) (Hassan et al., 2018).

Les extraits de chloroforme et éthanolique des feuilles et des fleurs respectivement d'*oleander in vivo* possèdent une activité antiinflammatoire contre l'œdème de la patte des rats par mécanisme d'inhibition de la voie cyclooxygénase, qui conduit à l'inhibition des prostaglandines² et l'expression de l'ARNm de COX-2 (Kumar et Anand, 2010). De plus NOEE a montré une inhibition de la formation de granulome et a normalisé les niveaux de TNF- α et IL-1 β . Il a également montré une réduction très significative du nombre total de leucocytes et des taux de protéine C-réactive (Shafiq et al., 2021) avec augmentation significatives de taux de CRP, ALAT, LDH, CK et CK-MB (Rania et al., 2019).

Les réponses inflammatoires sont induites par L'IL-8 qui interagit avec ses récepteurs pour induire l'endocytose (**Ebrahimi et al., 2018**). L'oléandrine est un inhibiteur de L'IL8 par l'inhibition de liaison de l'IL8 avec ces récepteurs (**Kanwal et al., 2020**).

3.4. Activité antioxydante

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production des radicaux libres (Les radicaux oxygénés, comme le superoxyde radical (O₂⁻), radical hydroxyle (OH)) et le système antioxydant enzymatique telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GPx) et non enzymatique tel que le glutathion réduit (GSH) et les vitamines. (**Sudha et Vinayagam, 2011 ; Carrière et al., 2006**). Il contribue à la pathogénèse de diverses maladies comme le cancer, le diabète et les maladies inflammatoires. Les antioxydants d'origine végétale sont d'une grande importance pour lutter les maladies associées au stress oxydatif (**Kumar et al., 2013**).

Oleander a une activité antioxydante considérable par plusieurs mécanismes due à la présence des composés phénoliques et alcaloïdes (**Germi et al., 2020 ; Achakzai et al., 2009**).

Les flavonoïdes sont connus par leur activité antioxydante à mécanismes multiples (**Devi et al., 2012**).

Germi et al. (2020) ont étudié la capacité antioxydante des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*oleander* par le test de DPPH). Les résultats ont montré que les extraits avaient des activités antioxydantes importantes grâce à la présence des métabolites secondaires qui sont principalement des composés phénoliques (rutine, catéchine, quercétine ...) (**Germi et al., 2020**).

Des études *in vivo* ont révélé que l'extrait méthanolique des fleurs d'*oleander* possèdent des effets hépato-protecteurs par l'inhibition de la peroxydation lipidique (**Kumar et Ghanshyam, 2012**) et l'augmentation du niveau de la superoxyde dismutase indiquant ainsi une réparation du système de défense antioxydant (**Gangwar et al., 2020**).

Des études récentes rapportent aussi que l'huile essentielle d'*oleander* possède une activité antioxydante significative par rapport aux antioxydants synthétiques (**Esmail et al., 2022**) tel que l'hydroxyanisole butylé (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT) qui sont couramment utilisés dans les aliments transformés et ils possèdent des effets secondaires (**Mohadjerani., 2012**).

3.5. Activité anti diabétique

Des travaux de **Wafy et Yassin (2007)** ont comparé entre l'activité antidiabétique de l'extrait des feuilles de *N. oleander* avec celle d'un médicament synthétique sulfonyleure glimépirides sur des rats diabétiques insulino-dépendant. L'extrait d'*oleander in vivo* pourrait agir sur les cellules β des îlots pancréatiques pour induire la sécrétion d'insuline (**Wafy et Yassin, 2007 ; Dey et al., 2014**). L'extrait a amélioré également les niveaux de glucose dans le sang par inhibition de l'enzyme amylase afin de bloquer la dégradation des glucides et retarder l'absorption intestinale (**Dey et al., 2014**). L'extrait d'*oleander* a amélioré également les activités des enzymes hépatiques par l'inhibition de deux enzymes primaires du catabolisme des glucide complexe et le ralentissement de la décomposition des glucides en monosaccharide et la diminution de l'absorption du glucose (**Dey et al., 2014**).

D'autre étude sur les rats insulino-résistants ou non insulino-dépendant (diabète type 2) ont montré que *oleander* augmente la sensibilité des tissus à l'insuline et diminue le taux de l'insuline (**Levent Bas et al., 2012**).

PARTIE II :
Étude pratique

Chapitre I :

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Afin de comparer la composition et la bioactivité des fleurs dans les différents stades de développement, ce travail a été réalisé sur les fleurs et les bourgeons de *Nerium oleander*. Ces derniers ont été récoltés en mois d'Avril et Mai 2023 de la région l'Aouana à la Wilaya de Jijel, Algérie.

1.2. Matériel Animal

Les expérimentations animales ont été réalisées sur des souris mâles et femelles *NMRI albinos* provenant de l'institut pasteur d'Alger. Les animaux ont été logés dans des cages et maintenus dans des conditions standard à température ambiante avec accès libre à l'eau et la nourriture. Les animaux ayant un poids moyen de 36.31 g. Tous les animaux ont été autorisés à s'acclimater aux conditions de l'animalerie pendant sept jours avant la réalisation des expérimentations.

2. Etude phytochimique

2-1. Préparation du matériel végétale

Après récolte, les fleurs et les bourgeons d'*oleander* ont été lavées avec l'eau de robinet et séchées à l'air libre et à l'abri pour préserver au maximum l'intégrité des composés.

Les fleurs et les bourgeons ont été placées dans l'étuve à température de 50c° pendant 48h. Les fleurs et les bourgeons d'*oleander* ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre et conservée à l'obscurité dans des boites en verre pour utilisation ultérieure. (Figure 3)



Figure 3 : Préparation du matériel végétal.

2.2- Préparation des extraits de la plante

Les extraits obtenus à partir de la poudre d'*oleander* ont été préparés selon les procédés classiques de préparation d'extraits utilisant : la décoction et la macération (**Bentabet et al., 2014**).

2.2-1 Préparation de l'extrait aqueux

La décoction a été effectuée selon la méthode décrite par (**Dehpeur et al., 2012**) avec modification. 10g de poudre des fleurs ou des bourgeons d'*oleander* ont été mélangées séparément avec 400ml d'eau distillé, puis bouillé sur la plaque chauffant pendant 4 heure à 150C°. Le mélange a été filtré par le papier filtre et le filtrat a été récupéré et concentré sur la paque chauffante. Le résidu sec obtenu a été pesé et conservé dans des boites en verre jusqu'à utilisation ultérieure.

2.2_2 Préparation de l'extrait méthanolique

La macération a été réalisé selon la méthode de (**Budić-Leto et al., 2005**) avec modification. 1.5 g des bourgeons ont été macérés dans 50ml de méthanol avec agitation pendant 24h à température ambiante. Le mélange a été filtré et le filtrat récupéré a été évaporé sous vide ; Le résidu obtenu a été pesé et conservé dans des boites en verre jusqu'à utilisation ultérieure.

2.2-3 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des différentes extractions est exprimé en pourcentage massique d'extrait par rapport à la quantité de matière sèche utilisée selon l'équation :

$$R (\%) = [M1 / M0] \times 100$$

R % : Rendement des extraits.

M1 : Masse de l'extrait sec obtenu exprimée en g.

M0 : Masse initiale de la poudre sèche exprimée en g.

3. Caractérisation phytochimique

3.1. Dosage des polyphénols

La méthode utilisée est celle utilisant le réactif de Folin - Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Khadhri et al., 2013**). La coloration produite dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 765nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénol présente dans les extraits végétaux (**Arous., 2012**).

Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode de (**Singleton et al., 1999**) avec modification. 50ul de chaque extrait ont été ajoutés à un mélange de 250 µl de réactif Folin-Ciocalteu (10%Folin dilué dans l'eau distillée) et incubés pendant 15 min à température ambiante, après 0,8 ml de carbonate sodium (Na_2CO_3 à 7 %) et 3ml de H_2O ont été ajoutés et incubés à l'ombre de la lumière pendant 30 min. La densité optique a été mesurée à la longueur d'onde 765nm. La concentration des extraits en polyphénols a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard au concentrations (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,063 ; 0,031 mg/ml).

3. 2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon la méthode de (**Djeridane et al., 2006**) avec modification. La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et les atomes d'oxygène présentes sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes, qui développent une coloration jaune (**Rachidi et al., 2018**). (**Figure 4**)

Le milieu réactionnel contient 0,5 ml de chaque extrait ou de la quercétine comme un standard et 0,5 ml de $AlCl_3$. Après une heure d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesuré par spectromètre à longueur d'onde 420 nm. La concentration des extraits en flavonoïdes a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme standard aux concentration (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,063 ; 0,031 mg/ml).



Figure 4 : Dosage des flavanoides des différents extraits.

3.3. Dosage des alcaloïdes

Le dosage des alcaloïdes a été réalisé selon la méthode de **(Duriket al., 1950)** avec modification. Afin de doser les alcaloïdes, 0,3 ml de chaque extrait ont été ajoutés à 2,5 ml de tampon phosphate (PH=5.2) et 2,5 ml de violet de bromocresol (20 mM) et incubés pendant 30 min. Une extraction successive de la phase organique du mélange a été réalisée par le chloroforme. A cette phase 3 ml de NaOH 0.1 M ont été ajoutés et incubés pendant 1 heure.

(Figure 5)

Cette fois ci la phase aqueuse de couleur violette contenant le complexe alcaloïde/pourpre de bromocresol a été récupérée pour mesurer l'absorbance à la longueur d'onde 470 nm.

La concentration des extraits en alcaloïdes a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions en utilisant la nicotine comme standard aux concentrations (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,063 ; 0,031 mg/ml).

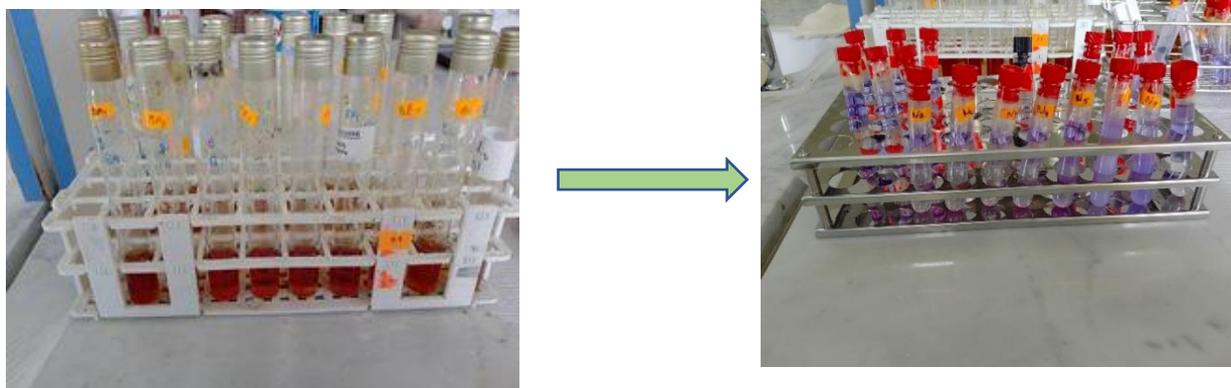


Figure 5 : Dosages des alcaloïdes des différents extraits.

4. Etude des activités d'*oleander in vitro*

4.1. Test de la capacité antioxydante totale : (Test de réduction de molybdate d'ammonium)

Ce test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence d'un agent antioxydant. Cette réduction se manifeste par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ Mo (V) à un pH acide (**Prieto et al., 1999**)).

Bref, un volume de 0,1 ml de chaque extrait méthanolique à différentes concentrations (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,063 ; 0,031 mg/ml) ou de l'acide ascorbique comme référence ont été mélangés avec 0,9 ml de solution composée de 0,6 M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium. Les tubes ont été incubés dans le bain marie pendant 90 min à 95°C. Après le refroidissement des tubes, l'absorbance a été mesurée à 765 nm.

Les résultats sont exprimés en absorbance en fonction de concentrations. A partir des courbes obtenus les concentrations correspondantes à l'absorbance 0,50 pour l'acide ascorbique et les différents extraits ont été également calculées.

4.2. Test de DPPH

Cette méthode consiste à mesurer l'activité antiradicalaire par la technique de piégeage du radical DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle (**Bohui et al., 2018**).



Le DPPH a été dissous dans l'éthanol avec agitation pendant 4h à l'ombre.

50 µl de chaque extrait ou de l'acide ascorbique comme standard à différentes concentrations (1000,500,250,125,63,31 µg/ml) ont été ajoutés à 0,45ml de DPPH et incubés pendant 45 min à l'ombre. La mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde 517 nm (**Brand et al., 1995**). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange selon l'équation :

$$\text{PI} = (\text{DO Blanc} - \text{DO extrait} / \text{DO Blanc}) * 100$$

PI : pourcentage d'inhibition (ou **CI50**)

DO blanc : absorbance de DPPH seul.

DO extrait : absorbance de DPPH avec l'extrait.

4.3. Détermination de l'activité chélatrice du fer

La ferrozine forme avec le fer libre présent dans un milieu réactionnel un complexe ferrozine-Fe²⁺ de couleur violette intense. Donc plus la coloration de la solution contenant l'extrait testé est claire, plus le pouvoir chélateur de l'extrait est important. (**Khadari et al., 2013**)

Selon le protocole effectué par (**Dinis et al., 1994**) avec modification, un volume de 100µl des extraits ou de l'EDTA comme référence ont été ajoutés à 20µl de FeSO₄ (4mg/ml) et 20µl de ferrozine (1mg/ml). Le volume a été complétés par le tampon phosphate (100mM, pH 5.4) jusqu'à 1,5ml. Après incubation 1h à température ambiante, l'absorbance a été mesurée immédiatement à 562 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

4.4. Test d'inhibition de la trypsine

La capacité des extraits à inhibé l'activité de la trypsine a été évalué selon la méthode de (**Mohan et al., 2018, Truong et al., 2019**) avec modifications. Le milieu réactionnel a été constitué de 0.1 ml de différents extraits ou de l'acide salicylique et mélangé avec 0,2 ml de tampon phosphate (pH 9) et 2.5 ml de la trypsine à la concentration de 1mg/ml. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 15 min à 37C°. A la fin de l'incubation, 0,4 ml de la caséine (0.25g diluée dans 25 ml de tampon phosphate et incubée préalablement à 100C° pendant 90min), ont été ajoutés et incubés une deuxième fois pendant une heure à 37C°. A la fin de l'incubation 0.2 ml de TCA 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. Le mélange a été centrifugé pendant 20 min à 16000g pour faire précipiter les grandes molécules. La DO du surnageant contenant seulement les acides aminés a été mesurée par le spectrophotomètre à 280nm.

$$\% \text{ Activité d'inhibition} = \left(\frac{\text{Densité optique de control} - \text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique de control}} \right) \times 100$$

5. Etude de l'activité d'*oleander in vivo*

5.1. Activité anti-inflammatoire

5.1.1. Protocole expérimental

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'*oleander* a été réalisée sur le modèle de l'œdème de patte induit par injection de la caragénin chez les souris (Shafiq et al., 2015).

(Figure 6)

Des souris males (n=15) ont été divisées en 3 lots de cinq souris par cage (groupes 1 témoin reçoit de l'eau, groupe 2 traité avec diclofénac à la dose de 50mg/kg et groupe 3 traité avec l'extrait des bourgeons aqueux à la dose de 100mg/kg par gavage oral). Après 30 min de gavage, les trois groupes ont été injectés par 50 µl de caragénin par voie sous cutané sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite de la souris. L'œdème induit par cet agent sera traduit en volume et mesuré par un pied de coulisse à affichage électronique, ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire qui est déterminé à 0 h (avant injection de caragénin) et après chaque 30 min. Le volume de la pâte a été mesuré jusqu'à trois heures.



(A)

(B)

(C)

Figure 6 : Evaluation de l'activité anti inflammatoire de *N. oleander* chez les souris.

(A) : Administration de l'extrait et de diclofénac par gavage oral. (B) : la mesure de l'œdème par le pied de coulisse. (C) : Injection de caragénin par voie sous cutanée.

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation a été calculé selon l'équation :

$$\% \text{ d'inhibition d'inflammation} = [(V_t - V_0) \text{ témoin} - (V_t - V_0) \text{ traité}] * 100 / (V_t - V_0) \text{ témoin}$$

Le pourcentage d'augmentation de l'inflammation a été calculé selon l'équation :

$$\% = ((V_t - V_0) / V_0) * 100$$

V_t : Volume de la pâte à différent temps.

V₀ : Volume de la pâte à temps 0, avant l'injection de la caragenine.

5.2. Activité hypoglycémiante

Test de Tolérance au glucose chez les souris

Des souris males sains et adultes ont été mises à jeun pendant 16 heures. Les souris ont été divisées en 3 lots : Les souris de groupe témoin (T-) ont reçu 0,3ml de l'eau physiologique. Le groupe (GLR) a reçu 10mg/kg de médicament hypoglycémiant Glurenor. Le groupe (EXT) a reçu 100mg/kg de l'extrait des bourgeons par voie orale. Après 30 min de l'administration de l'extrait ou de médicament, les trois groupes de l'étude ont reçu une dose de charge de glucose (4g/kg) par voie orale. La glycémie à jeun, après 30 min de l'administration de l'extrait ou le médicament et chaque 30 min après l'administration de glucose a été mesurée à l'aide de glucomètre (Vital CheK) (Jagannathan et al., 2020). (Figure 7)



Figure 7 : Mesure de la glycémie par glucomètre (Vital CheK) .

5.3. Effet curatif et préventif de l'extrait des bourgeons sur la toxicité induite par le bichromate de potassium sur le foie et les reins

5.3.1. Induction de la toxicité

Des souris femelles saines et adultes ont été divisées en 3 lots (n=5) : Les souris de groupe témoin (T-) ont reçu 100 µl de l'eau physiologique par voie sous cutanée. La toxicité a été provoqué chez les deux groupes qui restent par le bichromate de potassium administré par voie sous cutanée à la dose de 25mg/kg (**Figure 8**). Après 3 jours de l'administration de bichromate de potassium, pour évaluer l'effet curatif de l'extrait aqueux des bourgeons, un des deux groupes a été traité par l'extrait des bourgeons à la dose de 100 mg/kg pendant 07 jours (groupe EXT'), l'autre groupe était considéré comme témoins de la néphrotoxicité ou hépatotoxicité(T+').

Pour évaluer l'effet préventif de l'extrait, deux autres groupes des souris femelles (n=5) ont reçu deux injections de bichromate de potassium (15mg/kg) à l'intervalle de 3jours entre les deux injections. Un des deux groupes a été traité par l'extrait aqueux des bourgeons (100mg/kg) à partir de premier jour de la première injection de bichromate de potassium pendant 07 jours (groupe EXT), le deuxième groupe était considéré comme témoins + (T+) (**Salama et al., 2022**).



Figure 8 : Induction de la toxicité par administration de bichromate de potassium par voie sous cutanée.

5.3.2. Sacrifice et Dissection

A la fin de la période du traitement, les souris femelles ont été sacrifiées le matin à jeun. Après le sacrifice, la dissection des souris femelles a été effectuée immédiatement pour prélever le foie et les reins (**Figure 9**). Ces organes ont été conservés à -20 C° jusqu'à utilisation ultérieure.



Figure 9 : Dissection et prélèvement des organes.

5.3.3. Préparation de la fraction cytosolique de foie et des reins

La préparation de la fraction cytosolique a été effectuée selon la méthode de (**Sanmugapriya et Venkataraman, 2006**). Le foie et les reins ont été rincés avec le tampon phosphate (pH=7,4), ensuite 500mg de foie et 100mg de reins ont été homogénéisés en ajoutant 5ml de tampons phosphate contenant de KCl (1.17%), puis l'homogénat a été centrifugé à 7000g pendant 15 min. Le surnageant ainsi obtenu a été récupéré puis conservé à -32°C jusqu'à utilisation ultérieure.

5.3.4. Evaluation de la peroxydation lipidique

Le stress oxydant peut-être évalué par la mesure du produit terminal de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde (MDA). Ce biomarqueur constitue une méthode de mesure simple de la peroxydation lipidique, il réagit avec le TBA (l'acide 2-thiobarbiturique), générant un adduit rouge et fluorescent (**Janero., 1990**) selon la réaction:

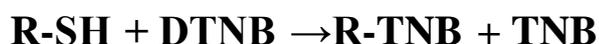


Le milieu réactionnel a été constitué de 0,6 ml TBA 0,125% (préparé dans le TCA 10% et Hcl 0,5%) ajouté à 0,3 ml de l'homogénat et 0,2 ml de tampon phosphate (pH =7,4). Après incubation pendant une heure dans le bain marie à température 100 C°, le mélange a été refroidi et centrifugé à 4000g pendant 10min. La mesure de la densité optique du surnageant récupéré a été effectuée à la longueur d'onde 532 nm. La concentration de MDA dans les échantillons a été déduite à partir de facteur d'extinction de l'MDA-TBA selon l'équation :

$$\text{MDA} = \text{DO} \times 10 / 1.56$$

5.3.5. Dosage du GSH

Le principe de ce test repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, produit de couleur jaune mesurable à la longueur 412nm. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5.5-dithio-bis-2- nitrobenzoïque (DTNB) (réactif d'Ellman) par les groupements (-SH) du glutathion (GSH) (Ellman, 1959).



Le milieu réactionnel a été constitué de 300 µl d'homogénat et 100 µl de TCA (10%) et incubé pendant 15min. Après incubation, 100 µl de surnageant ont été ajoutés à 250 µl de DTNB (0,6mM) et 600 µl de tampon phosphate et incubés pendant 30 min. La mesure de densité optique a été effectuée à la longueur d'onde 412 nm. Le GSH a été utilisé comme standard à différentes concentrations (100 ;70 ;50 ;30 ;20 ;10 µg/ml) préparés dans les mêmes conditions pour tracer la courbe d'étalonnage.

5.3.6. Quantification des protéines

Les protéines ont été quantifiées par la méthode de Bradford (Bradford, 1976). La concentration des protéines a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions en utilisant le BSA comme standard à différentes concentrations (0,2 ; 0,155 ; 0,075 µg/ml). La mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde 595 nm.

Etude statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD). L'analyse statistique des moyennes a été réalisée à l'aide du test de l'analyse de la variance ANOVA suivi par une multi comparaison -tukey- par rapport au groupe de référence. Le degré de signification a été déterminé à ($P < 0,05$). Les logiciels Excel et Graph Pad ont été utilisés pour la réalisation des différentes calculs et tests statistiques.

Résultats et discussion

1. Rendement des extraits

Les valeurs obtenues du rendement des différents extraits sont présentées dans le tableau (6).

Tableau 6 : Rendement de différentes méthodes d'extraction des feuilles et des bourgeons d'*oleander*.

		Masse initial séché (en gramme)	Masse finale d'extrait sec (en gramme)	Rendement %
Fleurs aqueux		10	2,2	22%
Bourgeons	Aqueux	10	0,99	9,9%
	Méthanoliques	1,5	0,03	2,5%

La préparation de l'extrait des fleurs aqueux a donné un rendement de l'ordre de 2,2 g, ce qui correspond à un pourcentage de 22% de la matière sèche de départ. D'autre part l'extrait aqueux et méthanoliques des bourgeons ont présenté des rendements largement inférieurs à celui des fleurs et qui correspondent à 9,9% et 2,5% respectivement.

2. Teneurs en polyphénols totaux

Les concentrations en polyphénols des différents extraits sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d'*oleander*.

Les extrait	Polyphénols totaux en $\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$
Bourgeons aqueux	121,23 \pm 5,06
Fleurs aqueux	106,95 \pm 4,05
Bourgeons méthanoliques	130,74 \pm 6,78

La concentration la plus élevée des polyphénols a été enregistré dans l'extrait méthanoliques d'*oleander* avec un taux de $(130,74 \pm 6,78 \mu\text{g EAG/mg})$, suivi par la concentration de l'extrait des bourgeons aqueux $(121,23 \pm 5,06 \mu\text{g EAG/mg})$, tandis que l'extrait des fleurs aqueux a présenté un taux relativement faible $(106,95 \pm 4,05 \mu\text{g EAG/mg})$.

3. Teneurs en flavonoïdes totaux

Les concentrations en flavonoïdes des différents extraits sont exprimés en microgramme d'équivalent de la quercitine par un milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) (**Tableau 8**)

Tableau 8 : Teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits d'*oleander*.

Les extrait	Flavonoïdes totaux en $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$
Bourgeons aqueux	$33,74 \pm 0,43$
Fleurs aqueux	$29,82 \pm 0,07$
Bourgeons méthanoliques	$64,14 \pm 1,31$

La concentration la plus élevée des flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait méthanolique d'*oleander* avec un taux de $(64,147 \pm 1,312 \mu\text{g EQ/mg})$, suivi par la concentration de l'extrait des bourgeons aqueux $(33,744 \pm 0,431 \mu\text{g EQ/mg})$, tandis que l'extrait des fleurs aqueux a présenté un taux relativement faible $(29,824 \pm 0,075 \mu\text{g EQ/mg})$.

4. Teneurs en alcaloïdes totaux

Les concentrations en alcaloïdes des différents extraits sont exprimés en microgramme d'équivalent de la nicotine par un milligramme de l'extrait ($\mu\text{g Enico/mg d'extrait}$) (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Teneurs en alcaloïdes totaux dans les différents extraits d'*oleander*.

Les extraites	Alcaloïdes totaux en $\mu\text{g Enico/mg d'extrait}$
Bourgeons aqueux	$21,26 \pm 0,12$
Fleurs aqueux	$21,46 \pm 0,23$
Bourgeons méthanoliques	$21,43 \pm 0,37$

Le **tableau** (9) présente la teneur en alcaloïde totaux des différents extraits. On note que les différents extraits étudiés ont présenté des concentrations similaires en alcaloïdes qui varie entre $21,26 \pm 0,12$ et $21,46 \pm 0,23$ μg Enico/mg.

5. Etude de l'activité d'*oleander in vitro*

5.1. Capacité antioxydante totale

On a mesuré l'augmentation de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant.

Tableau 10 : La capacité antioxydante totale qui correspondent l'absorbance à 0,5 nm.

Les échantillons	[C] \pm Ecart type (ug/ml) qui correspondent à DO=0,5nm
Acide ascorbique	120,23 \pm 0,65
Bourgeons aqueux	797,50 \pm 0,019
Fleurs aqueux	557,13 \pm 0,005
Bourgeons méthanoliques	862,16 \pm 0,013

D'après les résultats obtenus dans le **tableau (10)**, la capacité antioxydante total de l'acide ascorbique atteignait l'absorbance 0,5nm à la concentration de $(120,23 \pm 0,65 \text{ug/ml})$. On remarque que les extraits ont présenté des différents niveaux d'activité de manière concentration dépendante mais largement inférieur à l'activité de l'acide ascorbique ; l'extrait des fleurs aqueux atteignait l'absorbance 0,5 à la concentration de $(557,13 \pm 0,005 \text{ug/ml})$, tandis que les l'extrait des bourgeons aqueux et méthanoliques ont accédé cette absorbance aux concentration $(797,50 \pm 0,019 \text{ug/ml})$, $(862,16 \pm 0,013 \text{ug/ml})$ respectivement.

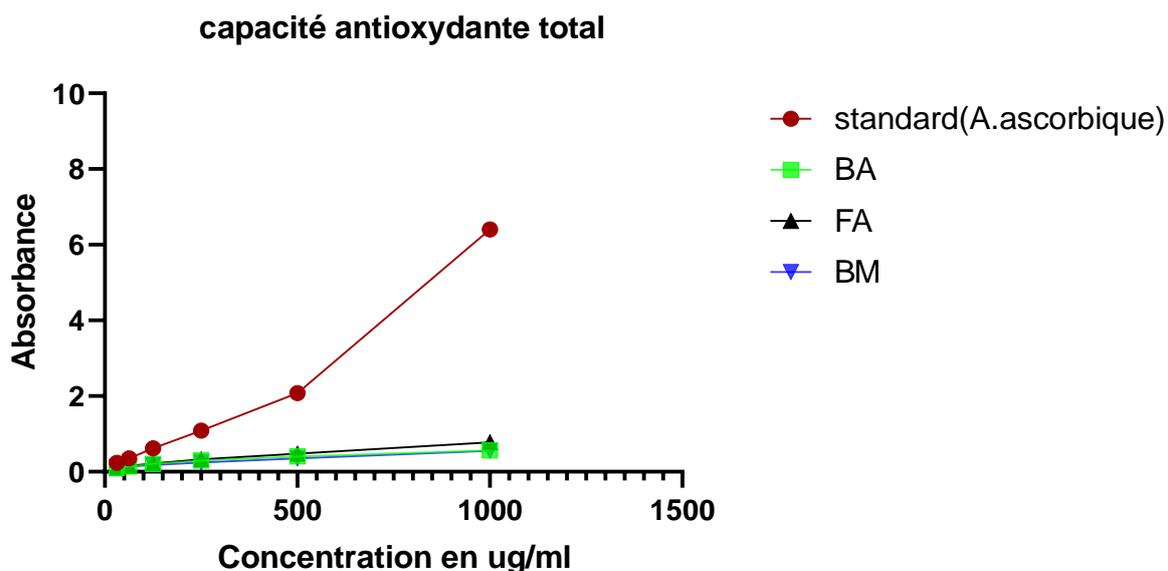


Figure 10 : Capacité antioxydante total de référence et des extraits testé à différentes concentrations.

5.2. Test de réduction du radical DPPH

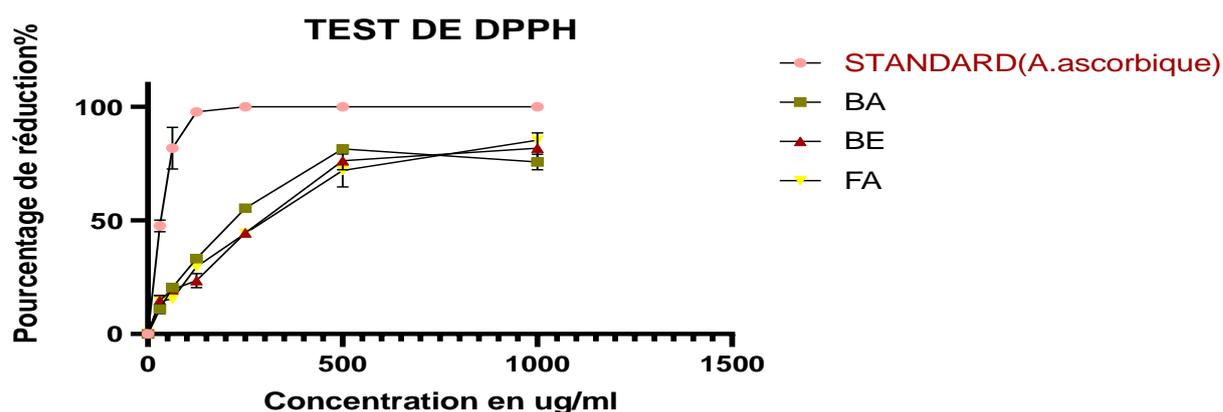
Les valeurs de pourcentage de pouvoir antiradicalaire de DPPH par l'extrait des fleurs aqueux, bourgeons aqueux et méthanoliques, et l'acide ascorbique comme standard à différentes concentrations sont présentées dans le tableau (11). Nous avons déterminé également pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH (EC50).

Tableau 11 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par EC50 en $\mu\text{g/ml}$) de références et des extraits.

Les échantillons	EC50 \pm Ecart type (En $\mu\text{g/ml}$)
Acide ascorbique	45,67 \pm 4,80
Bourgeons aqueux	184,14 \pm 1,10
Fleurs aqueux	216,44 \pm 1,56
Bourgeons méthanoliques	262,88 \pm 1,87

Comme figurant dans le tableau ci-dessus l'antioxydant standard (acide ascorbique) a montré une activité antioxydante puissante avec une EC50 de l'ordre de (45,67 \pm 4,80 $\mu\text{g/ml}$) par rapport aux extraits.

Les trois extraits d'*oleander* ont présenté une activité considérable de réduction de DPPH. A la concentration 1mg/ml, l'extrait aqueux des bourgeons semble être le plus actif parmi les extraits étudiés avec une EC50 de l'ordre de (184,14 \pm 1,10 $\mu\text{g/ml}$), cependant cette valeur est largement faible par rapport à l'EC50 de l'acide ascorbique (45,67 \pm 4,80 $\mu\text{g/ml}$). Les deux autres extraits fleurs aqueux et les bourgeons méthanoliques ont montré une faible activité anti-radicalaire avec (216,44 \pm 1,56 $\mu\text{g/ml}$) et (262,88 \pm 1,87 $\mu\text{g/ml}$) respectivement.

**Figure 11** : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH par l'extrait des fleurs, bourgeons aqueux et bourgeons méthanoliques à différentes concentrations.

5.3. Activité chélatrice du fer

A la concentration 1mg /ml tous les extraits testés de *N. oleander*, n'ont exprimé aucune activité de chélation de fer alors que l'EDTA à la même concentration a présenté une activité de 100%.

5.4. Test d'inhibition de la trypsine

Les pourcentages d'inhibition de l'activité de la trypsine par les différents extraits d'*oleander* à la concentration 1000ug/ml et 500ug/ml sont présentés dans la **figure** (12) :

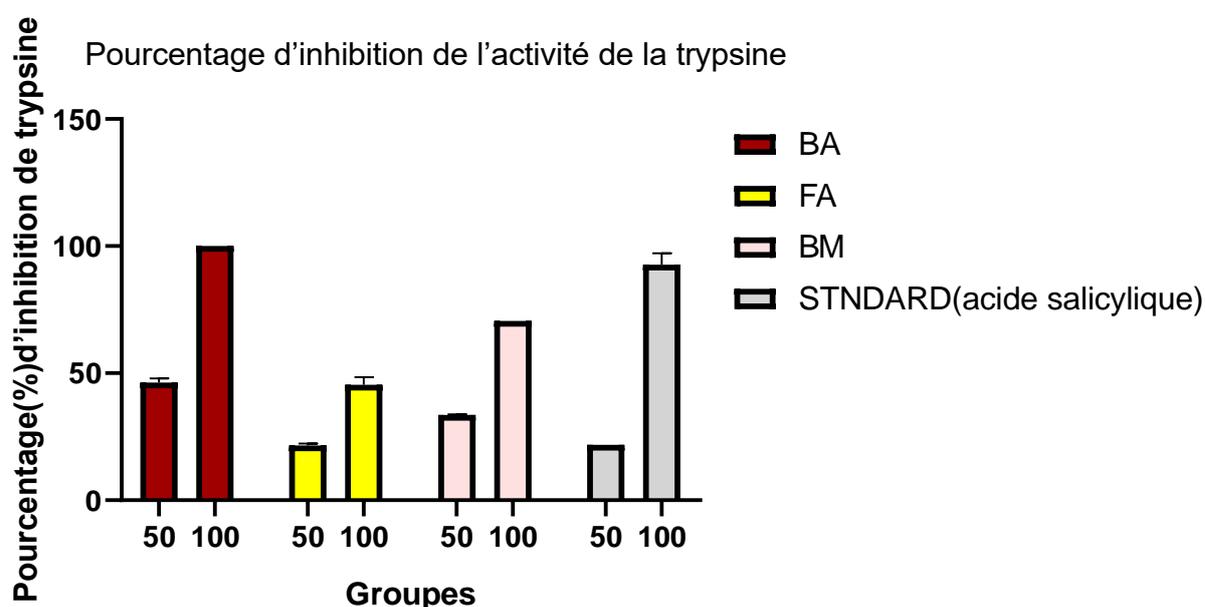


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition d'activité de la trypsine par les différents extraits des fleurs et bourgeons aqueux, bourgeons méthanoliques à différentes concentrations 50µg/ml 100µg/ml.

Les résultats montrent que la concentration de 100µg/ml a exercé une meilleure inhibition de la trypsine par rapport à la concentration de 50µg/ml. On constate que les trois extraits FA, BA et BM possèdent un effet inhibiteur de la trypsine concentration dépendant. Cet effet est similaire à celui de l'acide salicylique pour les extraits FA et BM ($P > 0.05$). Par contre les bourgeons aqueux ont exercé un effet inhibiteur de la trypsine très hautement significatif ($p < 0.0001$) par rapport à celui de standard et des extraits BM et FA ou on a constaté une activité inhibitrice de 100% à la concentration 100µg/ml par rapport à (89,62%) ;(70,56%) ;(47,54%) pour l'acide salicylique et les extraits FA et BM respectivement.

6. Etude de l'activité d'*oleander in vivo*

6.1. Activité antiinflammatoire

Les valeurs de pourcentage d'inhibition de l'inflammation et le pourcentage d'augmentation de l'inflammation des souris par l'extrait des bourgeons aqueux et diclofénac sont exprimés par les moyennes et l'écart types. Les résultats obtenus ont été graphiquement représentés dans la figure (13).

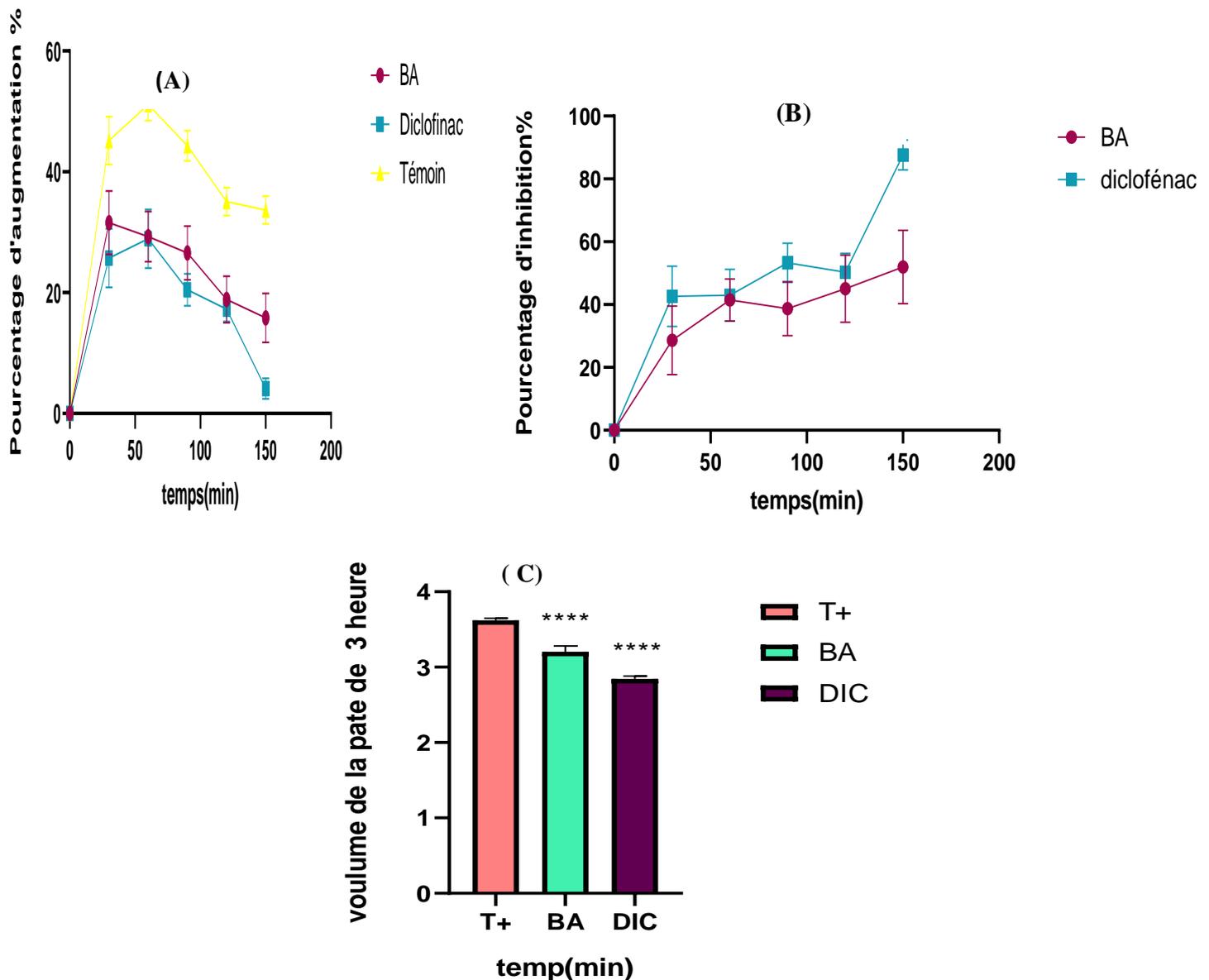


Figure 13 : Pourcentage d'augmentation d'inflammation et poucentage d'inhibition d'inflammation chez les souris. **(A) :** Pourcentage d'augmentation d'inflammation chez les souris témoins et traités par l'extrait BA ou diclofénac. **(B) :** Pourcentage d'inhibition d'inflammation chez les souris par l'extrait BA et diclofénac. **(C) :** Volume de la pâte après 3-ème heure de traitement par l'extrait et diclofénac.

Les résultats dans la figure (13) : (A) montrent que l'œdème induit par la caragénin (T+) augmente progressivement avec le temps et atteint une valeur maximale ($51,10 \pm 2,64$) au bout de 1h et reste augmenté par rapport aux lots traités tandis que l'œdème chez le groupe diclofénac et le groupe bourgeons aqueux ont atteint une valeur maximale réduite par rapport au T+, ($28,91 \pm 4,87$) ; ($31,57 \pm 5,23$) respectivement. Diclofénac a entraîné une diminution considérable du volume de la patte des souris à partir de 1h 30 min par rapport aux témoins + suivi par l'extrait aqueux des bourgeons qui a entraîné aussi une diminution de volume de la patte des souris à partir de 1h 30 min. Cependant son effet était significativement inférieur à celui de diclofénac ($P < 0,05$).

D'après les résultats obtenus dans la figure (B), le pourcentage maximal d'inhibition de l'inflammation se situe à la 3ème heure pour le diclofénac ($87,66 \pm 4,79$) et pour l'extrait BA ($51,97 \pm 11,66$). La figure (C) montre que l'œdème chez les souris témoins (T+) après la 3ème heures est plus volumineux ($3,62 \pm 0,028$) par rapport aux groupes des souris traitées par diclofénac ou l'extrait. ($2,845 \pm 0,035$) ; ($3,206 \pm 0,0752$) respectivement ($P < 0,05$).

6.2. Activité hypoglycémiante

Tolérance au glucose

Les valeurs de la glycémie des souris témoins négative, souris traitées par l'extrait des bourgeons aqueux et traitées par le médicament (GLR) sont exprimés par les moyennes et l'écart types ($1,17 \pm 0,11$), ($1,452 \pm 0,09$) et ($1,59 \pm 0,33$) pour le médicament, l'extrait et le T (-) respectivement, les résultats obtenus ont été graphiquement représentés dans la figure (14).

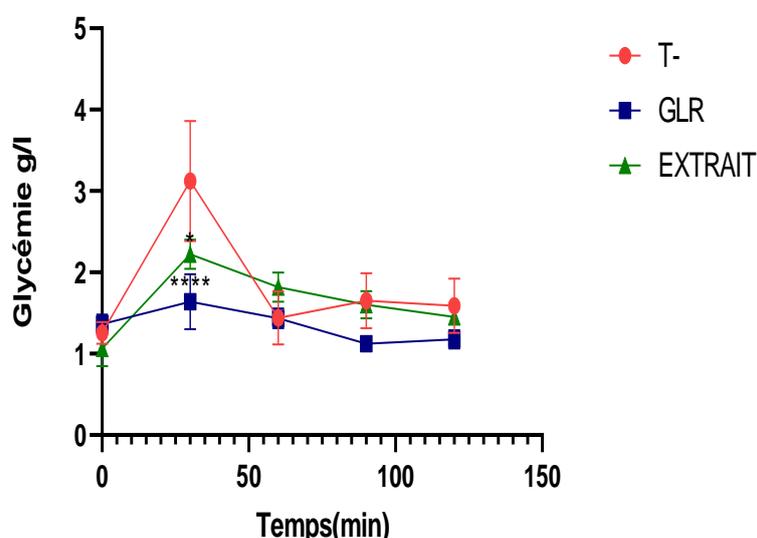


Figure 14 : Tolérance au glucose chez les souris traitées par l'extrait des bourgeons aqueux et traitées par le médicament (GLR) pendant 2 heures.

Chez le lot T (-) la glycémie augmentait de façon rapide jusqu'à atteindre un pic de $(3,12 \pm 0,73)$. Chez le lot traité par l'extrait des bourgeons ont engendré un pic significativement réduit à 30 minute par rapport aux T (-) ($P < 0,0001$). Après 2 heures d'administration, la glycémie a établi sa norme chez les trois lots $(1,17 \pm 0,11)$, $(1,452 \pm 0,09)$ et $(1,59 \pm 0,33)$ pour le médicament, l'extrait et le T (-) respectivement.

6.3. Activité de l'extrait des bourgeons sur la toxicité induite par le bichromate de potassium sur le foie et les reins

6.3.1. Peroxydation lipidique

a-Peroxydation lipidique de foie

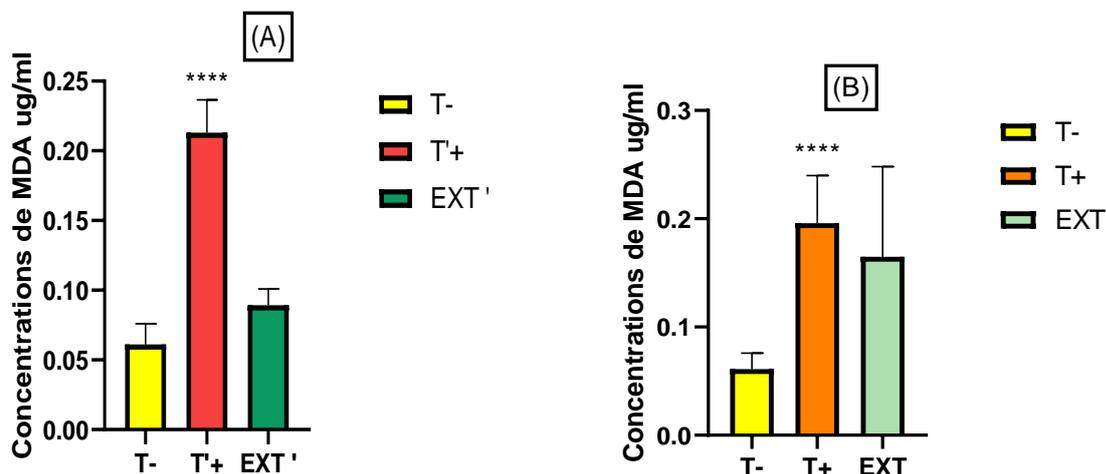


Figure 15 : Concentrations de MDA dans le foie. (A) Modèle curatif (B) Modèle préventif.

Dans le model curatif, d'après les résultats obtenus dans la figure (15) on constate que le traitement par EXT' a diminué le taux MDA $(0,08 \pm 0,01)$, par rapport au T (-) ($P > 0,05$). Alors que la concentration de MDA de groupe T'(+) est significativement plus élevée par rapport à la valeur normale de MDA chez le groupe T(-) $(0,21 \pm 0,02)$ et $(0,06 \pm 0,01)$ respectivement, ($p < 0,0001$).

Dans le model préventif, le traitement par EXT a diminué également le taux de peroxydation, mais d'une façon statistiquement non significative par rapport au T+ $(0,16 \pm 0,08 ; 0,19 \pm 0,04)$ respectivement ($P > 0,05$).

b-La peroxydation lipidique des reins

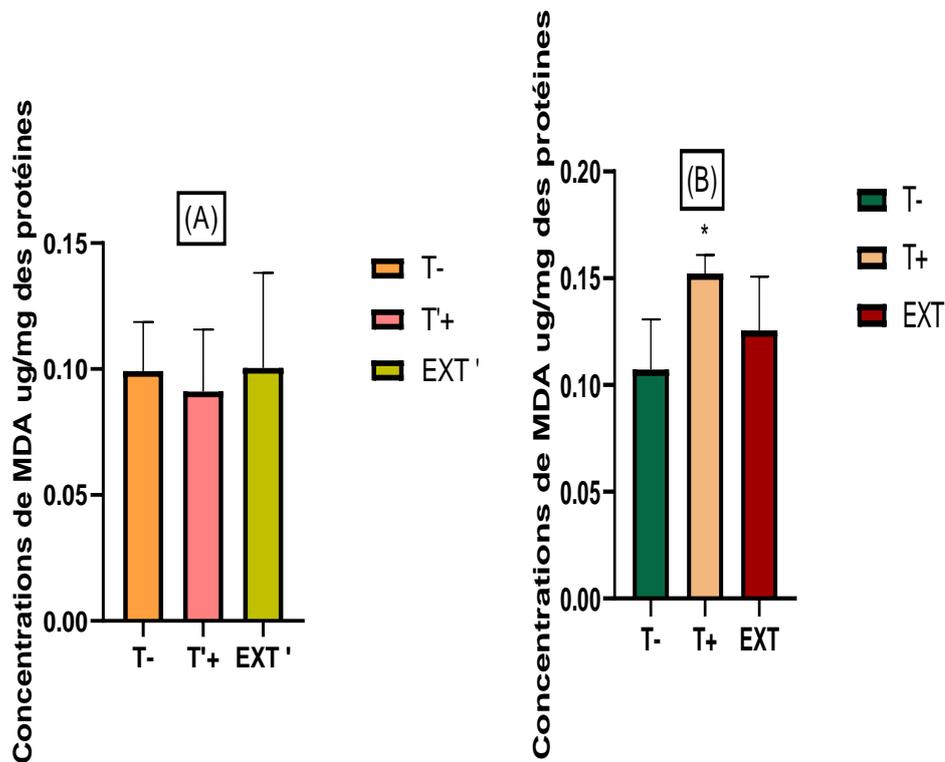


Figure 16 : Concentrations de MDA dans les reins. (A) Modèle curatif
(B) Modèle préventif.

Dans le model curatif, d'après les résultats obtenus dans la figure (16) on constate que la valeurs des concentrations de MDA sont similaires chez les trois groupes et est non significativement différent pour les groupes T (-), T'(+) et EXT' ($0,09 \pm 0,01$); ($0,09 \pm 0,02$); ($0,10 \pm 0,03$) respectivement ($P > 0,05$), tandis que dans le model préventif, on constate également que la valeur de concentration de MDA est significativement plus élevée chez le groupe T (+) par rapport au groupe T- ($0,15 \pm 0,008$) et ($0,10 \pm 0,02$) respectivement ($p < 0,01$). Le traitement par EXT a diminué le taux de peroxydation mais d'une façon statistiquement non significative par rapport au T+ ($0,12 \pm 0,02$; $0,15 \pm 0,008$) respectivement ($P > 0,05$).

6.3.2. Taux de GSH

a-Taux du GSH de foie

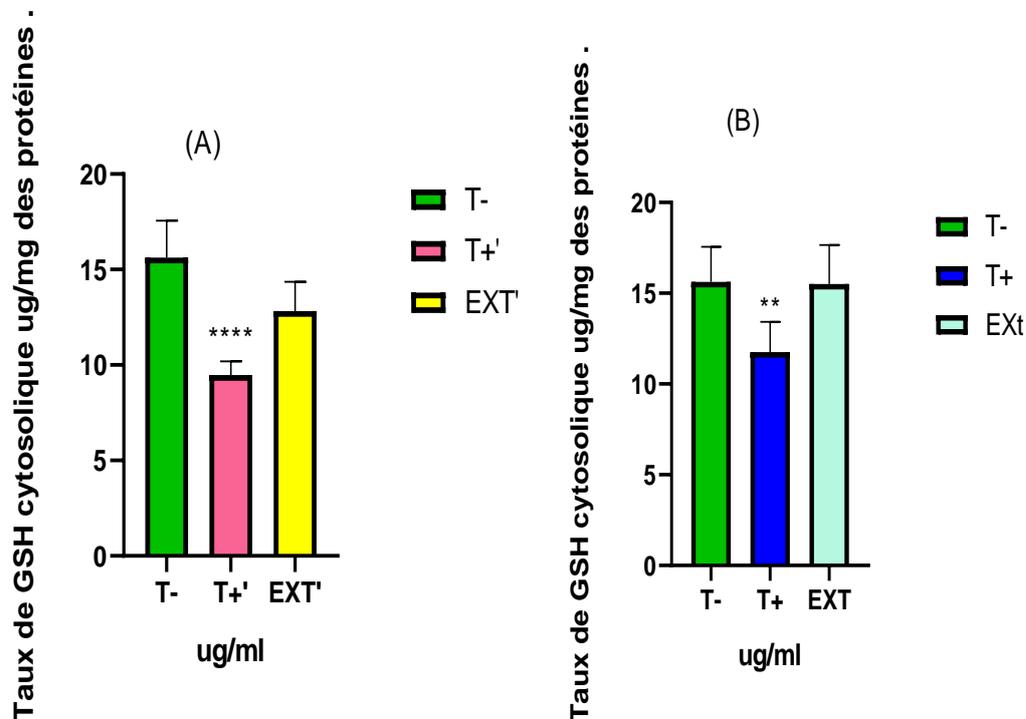


Figure 17 : Variation des taux du GSH cytosolique de foie. (A) Modèle curatif (B) Modèle préventif.

Le taux du GSH cytosolique chez le groupe EXT' est normalisé ($P > 0.05$) en comparaison avec le groupe T-, par rapport au le groupe T' (+) qui enregistre une diminution très significative ($P < 0.05$).

De même, dans le model préventif, on constate que le taux de GSH cytosolique chez le groupe EXT et chez le groupe T (-) sont similaire ($15,50 \pm 2,14$) et ($15,62 \pm 1,93$) respectivement ($P > 0.05$), par rapport au groupe T(+) ou on a constaté une diminution significative ($11,75 \pm 1,67$) ($P < 0.05$).

b-Taux de GSH des reins

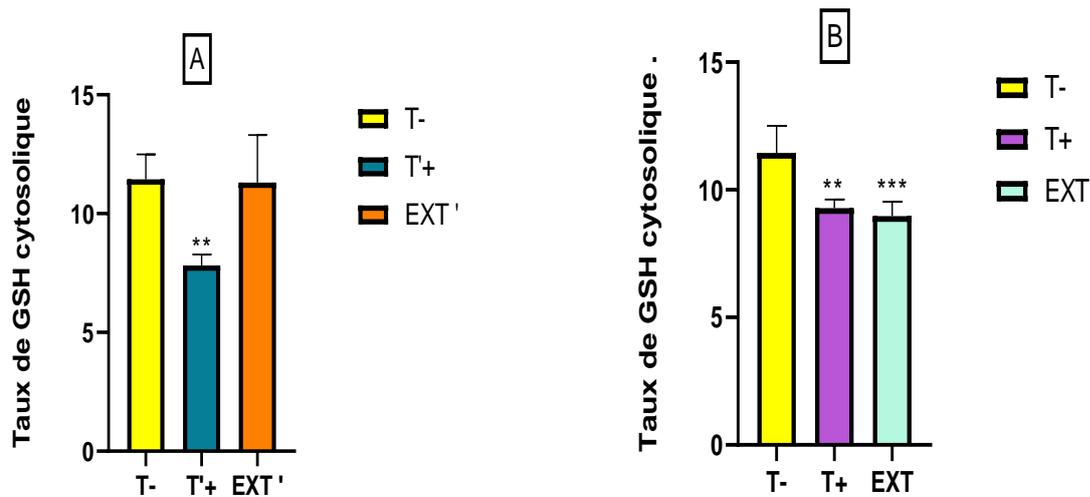


Figure 18 : Variation des taux du GSH cytosolique des reins.
(A) Modèle curatif (B) Modèle préventif.

Dans le model curatif, d'après les résultats obtenus dans la **figure (18)**, l'étude statistique montre que le taux de GSH cytosolique du groupe traité EXT' et chez le groupe T (-) sont similaires ($11,44 \pm 1,05$) ; ($11,31 \pm 1,99$) respectivement ($P > 0,05$), par rapport au groupe T' (+) qui enregistre une diminution significative ($7,82 \pm 0,46$) ($P < 0,05$).

De même, dans le model préventif, on constate que le taux de GSH cytosolique chez le groupe EXT et chez le groupe T (-) est significatif ($8,96 \pm 0,57$) ; ($11,44 \pm 1,05$) respectivement ($P < 0,05$), par rapport au groupe T (+) ou on a constaté une diminution significative ($9,27 \pm 0,34$) ($P < 0,05$).

Discussion

Le but de cette étude de réaliser un screening des activités biologiques des extraits des bourgeons et des fleurs de *Nerium oleander* *in vitro* et *in vivo*.

Pour récupérer la plus grande quantité de substances à l'aide d'un volume donné de solvant extractif (**Abe et coll, 2010**), les résultats obtenus montrent que le rendement de la décoction est supérieur à celui de la macération. La macération est une méthode d'extraction de poudre par la mise en contact avec le solvant pendant une durée définie avec une agitation à température ambiante alors que la décoction est une méthode utilisée pour l'extraction des ingrédients solubles dans l'eau et stables à la chaleur (**Velavan, 2015**). Dans des plusieurs études, il a été rapporté que le rendement de la décoction est supérieur à celui de la macération (**Konkon et al., 2006 ; Velavan, 2015**).

Nos résultats montrent aussi que le rendement de l'extrait aqueux des fleurs est supérieur à celui enregistré dans l'extrait des bourgeons. Cette variabilité est probablement liée aux différents stades de développement de la plante dont le stade floraison constitue le stade de maturation le plus important dans l'accumulation des métabolites (**Mahmoudi et al., 2013**).

La teneur en polyphénols et flavonoïdes obtenue dans cette étude pour l'extrait méthanolique détiennent les taux les plus élevés. Cela peut être justifié par le fait que le méthanol est le solvant le plus choisi pour extraire les composés phénoliques (**Falleh et al., 2008**). La concentration des polyphénols et flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits. La teneur élevée en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants moins polaires (**Ghedadba et al., 2014**).

Nos résultats indiquent aussi que l'extrait aqueux des bourgeons est plus concentré en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à l'extrait aqueux des fleurs. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Paris et Duret. (2014)** qui ont rapporté dans leur étude que les bourgeons sont plus riches en flavonoïdes par rapport aux fleurs (**Paris et Duret, 2014**).

Oleander est connue par sa richesse en alcaloïdes (**Lemoine, 2004**). Nos résultats montrent que les extraits des fleurs et des bourgeons possèdent des quantités relativement faibles en alcaloïdes. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Bakir et al. (2022)** indiquant que les alcaloïdes sont plus concentrés dans les feuilles que dans les fleurs (**Bakir et al., 2022**).

Dans les tests antioxydants, les extraits ont présenté une activité antioxydante considérable ce qui est en accord avec les résultats de plusieurs auteurs (**Luo et al., 2004 ; Germi et al., 2020**). Les polyphénols et les flavonoïdes sont bien connus comme antioxydants (**Andzi et Tchouya, 2014**). Plusieurs études ont rapporté une forte activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*oleander* riche en polyphénols par rapport aux autres extraits (**Gunes et al., 2017 ; Ali, 2020**). Par contre, nos résultats montrent que l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique est faible par rapport à sa teneur en polyphénols. L'extrait méthanolique des bourgeons, même si sa teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes était la plus élevée, son activité antioxydante était la plus faible, ce résultat peut être expliqué par le fait que l'activité antioxydante n'est pas obligatoirement en relation avec les quantités des molécules antioxydantes mais par la qualité et l'efficacité de ces molécules ; On suggère également que l'effet antioxydant de la plante pourrait être dû à une synergie entre les polyphénols et d'autres composants (**Radjah, 2020**).

L'activité anti-inflammatoire d'*oleander* est documentée (**Mary et al., 2017**). D'après les résultats, on constate que l'extrait aqueux des bourgeons possède une forte activité anti-inflammatoire *in vitro* par rapport à l'extrait des fleurs comme indique sont effet inhibiteur remarquable sur la trypsine. Cette dernière est une protéase impliquée dans l'activation de l'inflammation locale par la dénaturation des protéines (**Mary et al., 2017**). *In vivo* on a constaté que l'extrait aqueux des bourgeons a diminué considérablement l'inflammation induite par la carragénine dans la patte de la souris. **Shafiq et al., (2015)** ont montré aussi que l'extrait éthanolique des fleurs possède une activité anti-inflammatoire de manière dose dépendante contre l'œdème de la patte des rats induit par la carragénine (**Shafiq et al., 2015**). Diverses études ont montré que la présence des alcaloïdes, les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes possèdent une activité anti-inflammatoire importante (**Ait el cadî, 2012**).

Concernant le test de tolérance au glucose, les résultats obtenus témoignent de l'activité hypoglycémiant de l'extrait des bourgeons aqueux d'*oleander*. Une étude réalisée par **Dey et al. (2015)** a montré que l'extrait méthanolique des feuilles administré par voie orale a diminué significativement le taux de glucose chez les rats diabétique (**Dey et al., 2015**). En effet, *oleander in vivo* pourrait agir sur les cellules β des îlots pancréatiques pour stimuler la sécrétion d'insuline. Elle améliore également les niveaux de glucose dans le sang par inhibition de l'enzyme amylase afin de bloquer la dégradation des glucides et retarder l'absorption intestinale (**Wafy et Yassin, 2007**).

Le bichromate de potassium est un produit chimique hautement toxique (Neki et al., 2016). Lushak et al. (2008) ont montré que le BP induit le stress oxydatif dans le foie et les reins (Lushak et al., 2008). La dose néphrotoxique de BP entraîne le développement d'une nécrose tubulaire aigue réversible située en grand partie dans le tubule proximal contourné (Gumleton et Nicholls, 1987). Parmi les lésions rénales qui se développent ; l'élévation du taux d'excrétion urinaire de protéine, des enzymes et de la créatinine. Saidi et al. (2020) ont rapporté que le traitement au BP se traduit par la réduction significative des capacité antioxydantes (GST, Catalase, GSH) (Saidi et al., 2020) et l'augmentation de MDA (Hany et al., 2013) ; un biomarqueur majeur de la peroxydation lipidique résultant de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (Guichardant et al., 2006).

Dans ce travail on a confirmé que l'extrait aqueux des bourgeons d'*oleander* a diminué la toxicité induite par le BP via l'atténuation du stress oxydatif induit par ce dernier. Les résultats obtenus montrent que le stress oxydatif induit par le bichromate de potassium dans le foie et les reins a été réduit par l'administration de l'extrait aqueux des bourgeons d'*oleander*. On a remarqué une réduction de la peroxydation lipidique et une augmentation des niveaux de GSH dans les deux modèles de traitement par l'extrait curatif et préventif.

Signal et Gupta, (2012) ont rapporté que le prétraitement des rats par l'extrait méthanolique des fleurs d'*oleander* a diminué le niveau de MDA et a augmenté les niveaux des enzymes antioxydant (Signal et Gupta, 2012). La prévention de taux de GSH dans le foie et les reins et la diminution de la peroxydation lipidique sont liées probablement à l'activité antioxydante et antiinflammatoire de l'extrait confirmé in vitro dans cette étude.

Conclusion

Conclusion

Nerium oleander est une plante toxique mais employée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales. L'objectif de cette étude est d'effectuer un screening des activités biologiques des extraits des bourgeons et des fleurs de *Nerium oleander in vitro* et *in vivo*.

Les extraits des bourgeons et fleurs aqueux ont été riche en composés phénolique et alcaloïdes et ont présenté un pouvoir antioxydant et antiinflammatoire important *in vitro*. Cependant, l'extrait des bourgeons a présenté était plus efficace que l'extrait des fleurs *in vitro*. Cela est lié probablement à la composition particulière des bourgeons par rapport à la composition des fleurs.

In vivo, l'extrait des bourgeons a montré un effet hypoglycémiant et antiinflammatoire importants et a atténué le stress oxydant induit par le bichromate de potassium dans le foie et les reins.

L'étude approfondie des mécanismes d'action des trois activités antioxydante, antiinflammatoire et hypoglycémiant des bourgeons de *Nerium oleander* semble prometteuse pour développer une réponse globale de les bioactivité.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbasi, M. H., Fatima, S. A., & Sheikh, N. A. D. E. E. M. (2013). Histological comparison of natural lung injury in *Rattus norvegicus* induced by a natural herb (*Nerium oleander*) and a known carcinogen (thioacetamide), *Biologia*, 135-138.

Abbasi, M. H., Fatima, S., Khawar, M. B., Jahan, S., & Sheikh, N. (2018). An In Vivo Study on intoxicating effects of *Nerium oleander* Water based extract on multiorgans of Wistar rat. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*,

Abdul kabir khan achakzai, palwasha achakzai, ayeesha masood, safdar ali Kayani and rasool bakhsh tareen. (2009). response of plant parts and age on the distribution of secondary metabolites on plants found in quetta, *41(5)*, 2129-2135.

Abe, Stanilas Grassin Delyle, Jean Claude Alvarez. (2010). Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés Liquid-liquid extraction : theory, applications and difficulties. *Ann Toxicol Anal*, *22(2)*, 51-59.

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*, 3, 77-82

Al-Snafi, A. E. (2020). Bioactive ingredients and pharmacological effects of *Nerium oleander*. *IOSR Journal of Pharmacy*, 10(9), 19-32.

Akgun Sevcan Gul, Sezgin Aydemir, Naziye Ozkan, Meral Yuksel, Semra Sardas. (2017). Evaluation of the wound healing potential of Aloe vera-based extract of *Nerium oleander*. *North Clin Istanbul*, *4(3)*, 205-212.

Almanaa, N.S. Alharbi, G. Ramachandran. (2021). Anti-biofilm effect of *Nerium oleander* essential oils against biofilm forming *Pseudomonas aeruginosa* on urinary tract infections. *Journal of King Saud University – Science*, 33, 101-340

Ali Redha. (2020). Phytochemical Investigations of *Nerium Oleander* L. Leaves and Flowers. *Int. J. Sci. Res. In Chemical Sciences*, *7*, 4.

Al-Hakak. Zinah Ibraheem Khaleel, Mouhamed Abbas Fadel. (2019). Study the effect of the toxic alcoholic extract of Nerium Oleander on the liver cancer cell line in vivo and the effects on the liver histology in *Mus Musculus*. *Pharm. Sci. & Res*,11(1), 201-205.

Andzi Barhe´ T et Feuya Tchouya. G. R. (2014). Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa L.*, *Glycine max L. Merr.*, yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals.*Arabian Journal of Chemistry*,9 (1),1-8.

Ayouaz, Sheila Cristina Oliveira-Alves, Ana Teresa, Khalef Lefsih,d Madani Samah, Andreia Bento da Silva, Khodir, and Bronze .(2021). LC-DAD-ESI-MS/MS analysis and cytotoxic and antiproliferative effects of chlorogenic acid derivative rich extract from *Nerium oleander L* pink flowers. *The Royal Society of Chemistry*,3624–3634.

Ayouaz, Radia Arab, Khokha Mouhoubi and Khodir Madani. (2023). *Nerium oleander Lin*: A Review of Chemical, Pharmacological and Traditional uses. *J Biomed Res Environ*, 4(4),641-650.

Azzalini, Marzia Bernini, Sara, Anna, Andrea (2019). A fatal case of self-poisoning through the ingestion of oleander leaves. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 65,133–136.

Bakkali H., Ababou K., Nassim Sabah T., Moussaoui A., Ennouhi A., Fouadi F.Z, Siah S., Ihrai H.(2010). Les brulures chimiques par le laurier rose. *annals of burns and fire disasters* .

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

Bakir Çilesizoğlu, EmineYalçın, Kültiğın Çavuşoğlu & Selin Sipahi Kuloğlu.(2022). Qualitative and quantitative phytochemical screening of *Nerium oleander L.* extracts associated with toxicity profile. *Scientific Reports*, 12,2 ,14-21.

Becam J, Carvelli J , De Haro L , Gilli R, Casalta A , Lacarelle B , Solas C , Fabresse N.2020. Tentative de suicide par intoxication au laurier rose traitée par anticorps antidigitaliques.

Bohui, Augustin Amissa Adima, Florence Bobelé Niamké, Jean David N'Guessan. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie J. Soc. Ouest-Afr. Chim*,046 ,50 – 58.

Boveris.A., Chance.B.(1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem.J*,134,707-716.

Carfora Rafaella Petrella. Renata Borriello. Lucia Aventaggiato. Roberto Gagliano-Candela · Carlo Pietro Campobasso1 .(2020). Fatal poisoning by ingestion of a self-prepared oleander leaf infusion . *Forensic Science, Medicine and Pathology*.

Chaudhary K, Prasad DN and Sandhu BS. (2015). Preliminary pharmacognostic and phytochemical studies on *Nerium oleander* Linn. (White cultivar). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*,4(1),185-188.

Chaudhary Kiran, Prasad D.N. (2014). A Review on: *Nerium oleander* Linn. (Kaner). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(3),593-597.

Colapietro, Peiying Yang, Alessandra Rossetti, Andrea Mancini, Flora Vitale, Sharmistha Chakrabort. (2022). The Botanical Drug PBI-05204, a Supercritical CO₂ Extract of *Nerium Oleander*, Is Synergistic with Radiotherapy in Models of Human Glioblastoma. *Front. Pharmacol*, 13,852-941.

Dey P, Saha MR, Chowdhuri SR, (2015). Assessment of anti-diabetic activity of an ethnopharmacological plant *Nerium oleander* through alloxan induced diabetes in mice. *J Ethnopharmacol*,161,128-137.

Dey, P., & Chaudhuri, T. K. (2014). Pharmacological aspects of *Nerium indicum* Mill: a comprehensive review. *Pharmacognosy reviews*, 8(16), 156.

Dey, P., Saha, M. R., Roy Choudhuri, S., Sarkar, I., Halder, B., Poddar-Sarkar, M., ...& Chaudhuri, T. K. (2019). Oleander stem and root standardized extracts mitigate acute

hyperglycaemia by limiting systemic oxidative stress response in diabetic mice. *Advances in pharmacological sciences*.

Emuri Abe, Stanilas Grassin Delye, Jean Claude Alvarez. (2010). Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés. *Ann Toxicol Anal*,22(2),51-59.

Elena Azzalini, Marzia Bernini, Sara Vezzoli, Anna Antonietti, Andrea Verzeletti. (2019). A fatal case of self-poisoning through the ingestion of oleander leaves. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 65,133–136.

Ebrahimi, F., Ghorbani Nohooji, M., & Miri, S. M. (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*,9-11.

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. *Int J Pharm Pharm Sci*, 10(3), 1-4.

Falleh Hanen , Riadh Ksouri , Kamel Chaieb , Najoua Karray-Bouraoui , Najla Trabelsi , Mondher Boulaaba , Chedly Abdelly .(2008).Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 33,372–379.

FUKINO, Marl SHIMBO, Nobuo AOKI, Tutomu OKUBO and Hiroyasu ISO.(2005). Randomized Controlled Trial for an Effect of Green Tea Consumption on Insulin Resistance and Inflammation Markers. *J Nutr Sci Vitarninol*,51,335-342.

Hany . Mehany , Amira M. Abo-youssef , Lamiaa A. Ahmed , El- Shaimaa A. Arafa , Hekma A. Abd El-Latif.2013. Protective effect of vitamin E and atorvastatin against potassium dichromate-induced nephrotoxicity in rats. *Beni-suef-university-journal-of-basic-and-applied-sciences*,2(2),96-102.

Hammiche, V., Merad, R., & Azzouz, M. (2013). Laurier rose. In *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*, Springer, Paris, 157-166.

Hammiche, Khadra Maiza. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 358–367.

HUGHES, AJ DART and DR HODGSON .2002. Suspected Nerium oleander (Oleander) poisoning in a horse, 80(7).

Gayathri, Subhash Ananthi, Chandranayagam Chandronitha, Ganapathy Ramakrishnan. (2011). Cardioprotective Effect of Nerium oleander Flower Against Isoproterenol-Induced Myocardial Oxidative Stress in Experimental Rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 16(1), 96-104.

Germi & Fahmideh Shabani. Screening of Biological Activities (Antioxidant, Antibacterial and Antitumor) of Nerium oleander Leaf and Flower Extracts. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* , 2321 – 2748.

Galton, Marcella C Granfone and Dana J Caldwell. (2020). Digoxin-specific antibody fragments for the treatment of suspected Nerium oleander toxicosis in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 1–5.

Gangwar · Poonam Kumari · Apurva Chatrath · Ramasare Prasad. (2020). Characterisation of recombinant thermostable manganese-superoxide dismutase (NeMnSOD) from Nerium oleander. *Molecular Biology Reports*.

Garima Zibbu and Amla Batra. (2010). A Review on Chemistry and Pharmacological activity of Nerium oleander L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(6), 351-358.

GUICHARDANT.M. S. BACOT P. MOLIÈRE M. LAGARDE. (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique, 13, 32_34.

GHEDADBA Nabil, Leila HAMBABA, M. C. ABERKANE, S. M. Oueld-Mokhtar, Nassima FERCHA, Houas BOUSSELSA. 2014. Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de

l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products* ,2(2),64-74.

GUMBLETON and P. J. NICHOLLS. (1988). Dose-response and time-response biochemical and histological study of potassium dichromate-induced nephrotoxicity in the rat. *D Chem. Toxic.* 26, (1), pp. 37-44

Gunes Aybike , Emine Guler , Rabia Nur Un , Bilal Demir . Baris Barlas , Murat Yavuz , Hakan Coskunol , Suna Timur.2017. Niosomes of *Nerium oleander* extracts: In vitro assessment of bioactive nanovesicular structures. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* ; 37 .158_165

Kanwal, Azhar Rasul, Ghulam Hussain, Haseeb Anwar, Muhammad Ajmal Shah, Iqra Sarfraz, Ammara Riaz, Rabia Batool, Muhammad Shahbaz, Arif Hussain, Zeliha Selamoglu. (2020). *Journal Pre-proof Oleandrin: A bioactive phytochemical and potential cancer killer via multiple cellular signaling pathways.*

KHADHRI Ayda, EL MOKNI Ridha et SMITI Samira. (2012). Compose phenoliques et activites antioxydantes de deux extraits de chardon a glu : *Atractylis gummifère*. *Revue Soc. Sci. Nat. de Tunisie T* ,39,44-52.

Konkon N G., Simaga D and Adjoungova A. (2006). Etude phytochimique de *mitragyna inermis* (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique», *Pharm Méd Trad Afr*,14 , 73-80.

Kumar, Mohamad Al Hassan, Miguel A. Naranjo, Veena Agrawal, Monica Boscaiu, Oscar Vicente. (2017). Effects of salinity and drought on growth, ionic relations, compatible solutes and activation of antioxidant systems in *oleander* (*Nerium oleander* L.).

Luo , Yizhong Cai , Jun Yana , Mei Sun, Harold Cork .(2004). Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences*, 76, 137 – 149.

Lushchak, Olha I. Kubrak, Mykola Z. Nykorak , Kenneth B. Storey ,Volodymyr I. Lushchak.(2008). The effect of potassium dichromate on free radical processes in goldfish: Possible protective role of glutathione. *Aquatic Toxicology*,87,108–114.

Madaci Brahim, Merghem Rachid, Derradj Lotfi. (2020). Flavonoids from *Nerium oleander* L. in Constantine – Algeria,27, 2.

Mahmoudi Souhila. Khali Mustapha. Mahmoudi Nacéra. (2013). Etude De L'extraction Des Composés Phénoliques De Différentes Parties De La Fleur D'artichaut (*cynara Scolymus* L.). *Revue Nature et Technologie*,5(2),35-40.

Molyneux a, Stephen T. Lee, Dale R. Gardner, Kip E. Panter, Lynn F. James. (2007). Phytochemicals: The good, the bad and the ugly. *Phytochemistry*,68,2973–2985.

MOMBENI, Mahshad YOUSEFI, Saeid CHEKANI-AZAR, Mohamed. (2020). Recent drugs and vaccine candidates to tackle COVID-19. *Journal of Life Science and Biomedicine*, 10 (6),70-79.

Matricon Julien. (2010). Immunopathogenèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Med Sci (Paris)*, 26,405–410.

Matsumoto N., Ishigaki F. and Ishigaki A. (2002).Reduction of blood glucose levels by tea catechin." *Biosci Biotechnol Biochem*, (57), 525-527.

Neki NS, Amritpal Singh, Gagandeep Singh Shergill, Amanpreet Kaur.2016. ACUTE POTASSIUM DICHROMATE POISONING : AN OVERVIEW. *JK-Practitioner*, 21,3-4.

Newman, K Jagannadha Sastry, Ravit Arav-Boger, Hongyi Cai, Rick Matos & Robert Harrod. 2020.antiviral effet of oleandrin. *Journal of Experimental Pharmacology*,12, 503–515.

Ollivier, Estelle Boubault, Christian Pinatel, Sylvie Souillon, Michel Guère, Jacques Artaud. (2004). Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique*,965,169-196.

Pérez Rodríguez, C. Martínez Vázquez, P. González Villarroela, B. Sopeña Pérez-Argüelles y A. Fernández Villarc. *Rev Clin Esp*, 207(10), 533-7.

Pahwa Roma ; Amandeep Goyal ; Ishwarlal Jialal. (2022). Chronic Inflammation. *StatPearls*.

Russell J. Molyneux a, Stephen T. Lee, Dale R. Gardner, Kip E. Panter, Lynn F. James. (2007). Phytochemicals: The good, the bad and the ugly. *Phytochemistry*, 68, 2973–2985.

RHATTAS, Allal DOUIRA et Lahcen ZIDANE. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemrane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 97, 9187 – 9211.

Rubini, Sabina Strano Rossi, Serena Mestria, Sara Odoardi, Sara Chendi, Andrea Poli, Giuseppe Meriardi, Giuseppina Andreoli, Paolo Frisoni, Rosa Maria Gaudio, Anna Baldisserotto. (2019). A Probable Fatal Case of Oleander (*Nerium oleander*) Poisoning on a Cattle Farm: A New Method of Detection and Quantification of the Oleandrin Toxin in Rumen. *Toxins*, 11, 442.

Sarris, MHS, PhD, Wolfgang Marx, BSc, MDietSt, PhD, Melanie M. Ashton, PhD, Chee H. Ng, MBBS, MMed (Psych), MD, Nicole Galvao-Coelho, PhD. (2011). Les médicaments à base de plantes (phytoceutiques) dans le traitement des troubles psychiatriques : une méta-revue des méta-analyses d'essais randomisés contrôlés. *La Revue Canadienne de Psychiatrie*, 66(10), 849–862.

Saidi ;O. Aouacheri ;S. Saka. (2020). Protective Effect of Curcuma Against Chromium Hepatotoxicity in Rats. *Phytothérapie*. 2-7.

Soto-Blanco · J. D. Fontenele-Neto · (2006). Acute cattle intoxication from *Nerium oleander* pods ; *Trop Anim Health Prod*, 38, 451–454.

Škubník, Jiří Bejček, Vladimíra Svobodová Pavlíčková and Silvie Rimpelová. (2021). Repurposing Cardiac Glycosides : Drugs for Heart Failure Surmounting Viruses . *Molecules* , 26, 5627.

SENE Madièye, Mamadou NDIAYE, Firmin Sylva BARBOZA, Mbaye SENE, William DIATTA, Abdou SARR, Awa NDIAYE-SY1, Amadou Moctar DIEYE1 et Guata Yoro SY1. (2016). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (ARECACEAE) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. *Int. J. Biol. Chem. Sci*,10(6),2568-2574.

Soto-Blanco · J. D. Fontenele-Neto · D. M. Silva · P. F. C. C. Reis · J. E. N´obrega. (2006). Acute cattle intoxication from *Nerium oleander* pods. *Trop Anim Health Prod*,38,451–454.

Shannon D. Langford, Paul J. Boor. (1996). An examination of exposures human and animal toxic ; *Toxicology*,109,1-13.

Shridhar NB.(2022). *Nerium oleander* toxicity: A review. *International Journal of Advanced Academic Studies*; 4(3): 23-32.

Silva de Melo. (2020). Behavioural, electrocorticographic, and electromyographic alterations induced by *Nerium oleander* ethanolic extract: Anticonvulsant therapeutics assessment .*Neurotoxicology*, 78, 21–28.

Singh (2013). *Nerium oleander* derived cardiac glycoside oleandrin is a novel inhibitor of HIV infectivity. *Fitoterapia*,84,32–39.

Singhal Kumar Gaurav, Ghanshyam Das Gupta. (2012). Hepatoprotective and antioxidant activity of methanolic extract of flowers of *Nerium oleander* against CCl₄-induced liver injury in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*,677-685.

Saranya, D. Archana and K.S. Santhy. (2017). Antimicrobial and Antioxidant Effects of *Nerium oleander* Flower Extracts. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 6(5),1630-1637.

Shafiq, Syed Baqir Shyum Naqvi, Ghazala H. Rizwani, Muhammad Arif Asghar1. (2021). A mechanistic study on the inhibition of bacterial growth and inflammation by *Nerium oleander* extract with comprehensive in vivo safety profile. *BMC Complementary Medicine and Therapies*,21,135 ,3-19.

Saha a and N. H. Honnesh. (2021). Pharmacological Activity Review on Selected Indian Traditional Medicinal Plants. *British Journal of Pharmaceutical Research*, Past ISSN,2231-2919.

Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of food quality*.

Plante. (2021). Antiviral activity of oleandrin and a defined extract of *Nerium oleander* against SARS-CoV-2. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138,111-457.

Vall é. Olivier Laire. Peggy Gandia. (2012). Circuitous diagnosis in concealed self-poisoning with *Nerium oleander*. *Clinical Toxicology*, 50, 228–229.

Velavan. (2015). PHYTOCHEMICAL TECHNIQUES. *World Journal of Science and Research*,(2),80-91.

Vinayagam and P. N. Sudha. (2011). ANTIOXIDANT ACTIVITY OF METHANOLIC EXTRACTS OF LEAVES AND FLOWERS OF *NERIUM INDICUM*. *IJPSR*,2(6),1548-1553.

Verma and Dr. Manoj Yadav. (2018). TAXONOMICAL STUDIES OF *NERIUM OLEANDER* (LINN.) WILD (A LATEX YIELDING PLANT). *World Journal of Pharmaceutical Research* 7,06.

Yong Pan & Patrea Rhea & Lin Tan & Carrie Cartwright & Ho-Jeong Lee. PBI-05204, a supercritical CO₂ extract of *Nerium oleander*, inhibits growth of human pancreatic cancer via targeting the PI3K/mTOR pathway

Zeggwagh, &, Younes Lahlou, Yassir Bousliman. (2012). Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc. *Pan African Medical Journal* – ISSN,1937- 8688.

Zerbo, Jeanne Millogo-Rasolodimby Odile Germaine Nacoulma-Ouedraogo Patrick Van Damme. (2011). Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso : cas des Sanan. *Bois et forêts de tropique*.

Annexes

Annex (1) : Une série des matériels du laboratoire, Appareillages et des réactifs chimiques ont été utilisés pour la réalisation de ce travail de recherche.

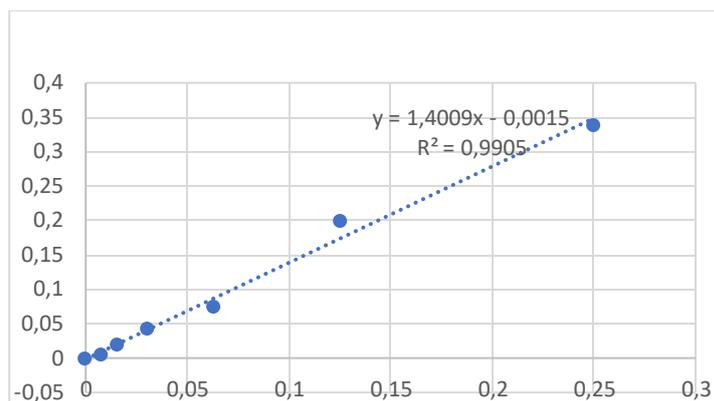
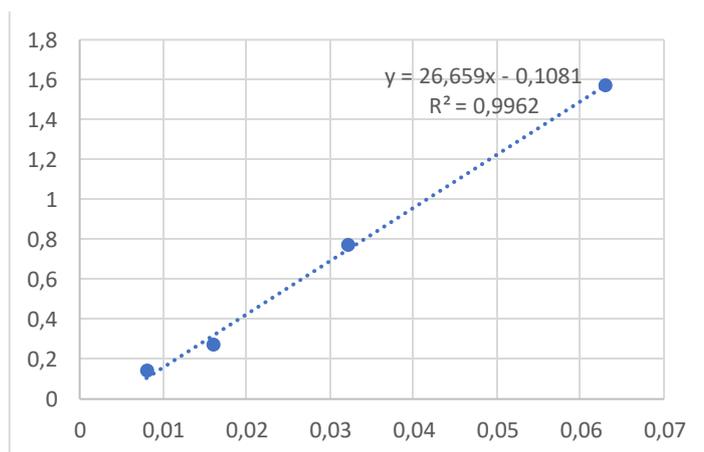
1. Les appareils et les matériels de laboratoire utilisés

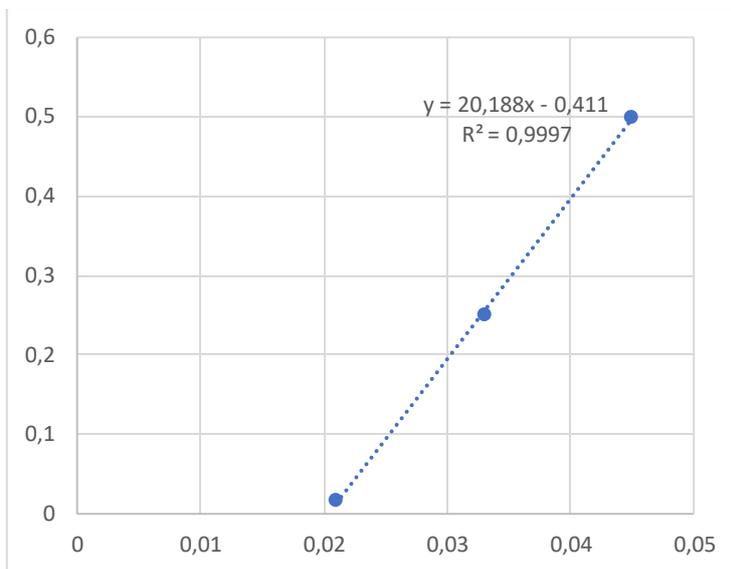
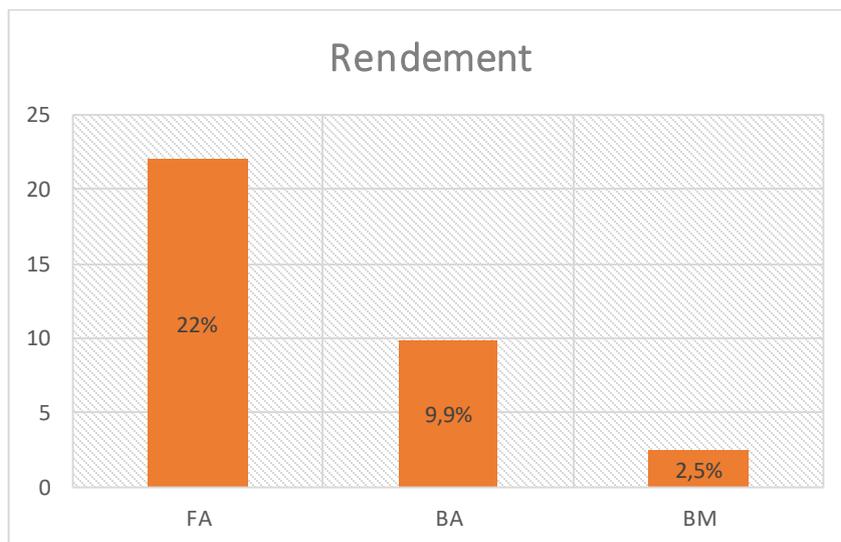
Les appareils	Matériel de laboratoire
Rota vape	Pipete et micro pipette
Bain marie	Poire
Centrifugation	Bécher
Vortex	Fiole
Ph mètre	Eprouvette graduée
Etuve	Tubes à essai et support
Hôte	Entonnoir
Balance	Papier filtre
Spectromètre	Pissette
Broyeur électrique	Eau distillée et l'eau minérale
Agitateur et plaque chauffante	Flacon
Glucomètre	Les épandrofs
Les bandelettes urinaire	Les empeulles
	Boite de pétré
	La trousse de dissection

2. Produit utilisé

Les Produit	
Éthanol (C_2H_6O)	Acide acétique ($C_2H_4O_2$)
Methanol (CH_3OH)	La solution de DPPH
Acide gallique ($C_7H_6O_5$)	Réactif de Folin-ciocalteu
Chlorure de sodium (NaCl)	Hydroxyde de sodium (NaOH)
Chlorure d'aluminium (ALCL3)	L'acide nicotinique ($C_6H_5NO_2$)
Bicarbonate de sodium (NaHCO₃)	Molybdate d'ammonium
Violet de bromocrésol	Fercianide FeSO₄
Chlorure de potassium (KCL)	Acide ascorbique ($C_6H_8O_6$)
Chlorure de fer (FeCl₃)	L'acide ammoniaque NH₄OH
Acide sulfurique (H₂SO₄)	Acide chlorhydrique (HCl)

La quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$)	Tompan de phosphate (K_2HPO_4 et KH_2PO_4)
Chloroforme ($CHCl_3$)	Dichromate de potassium
Trichloracétique acide	Thiobarbiturique acide
Glucose	BSA
Caragénin	DTMB

Annex (2) : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.**Annex (3) :** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Annex (4) : Courbe d'étalonnage de la nicotine.**Annex (5) :** Rendement des extraits d'extraits aqueux et les extraits méthanolique de plant *Nerium oleander*.

Annex (6) : La mesure de volume de la pâte des souris mal traité par diclofénac et par extrait des bourgeons aqueux et le témoin pendant 2H30min.

BA		T0	30min	60min	90min	120min	150min
N							
	1	2,89	3,43	3,54	3,46	3,19	3,13
	2	2,85	3,77	3,65	3,57	3,48	3,33
	3	2,75	3,64	3,5	3,41	3,24	3,12
	4	2,68	3,74	3,68	3,5	3,21	3,18
	5	2,67	3,63	3,52	3,58	3,33	3,27
	Moyenne	2,768	3,642	3,578	3,504	3,29	3,206

Diclofénac		T0	30min	60min	90min	120min	150min
N							
	1	2,8	3,35	3,39	3,23	3,23	2,91
	2	2,65	3,46	3,62	3,19	3,05	2,85
	3	2,69	3,52	3,53	3,31	3,24	2,79
	4	2,79	3,41	3,55	3,44	3,3	2,83
	Moyenne	2,7325	3,435	3,5225	3,2925	3,205	2,845

Témoin		T0	30min	60min	90min	120min	150min
N							
	1	2,68	4,1	4,09	3,94	3,73	3,66
	2	2,75	3,85	4,26	3,99	3,69	3,61
	3	2,63	3,75	4,01	3,85	3,6	3,58
	4	2,76	3,95	4,02	3,81	3,63	3,6
	5	2,72	4,01	4,08	3,95	3,64	3,65
	Moyenne	2,708	3,932	4,092	3,908	3,658	3,62

Annexe (7) : Pourcentage d'augmentation d'inflammation chez les souris témoin et souris traité par l'extrait BA et par diclofénac.

	BA (%)	Diclofénac (%)	Témoin (%)
0min	0	0	0
30min	31,57±5,23	25,70 ±4,88	45,19±3,98
60min	29,26±4,14	28,91 ±4,87	51,10±2,64
90min	26,58±4,48	20,49 ±2,65	44,31±2,52
120min	18,85±3,88	17,29 ±2,068	35,08±2,33
150min	15,82±4,053	4,11 ±1,69	33,67±2,29

Annexe (8) : Pourcentage d'inhibition d'inflammation par l'extrait BA et diclofénac.

	BA (%)	Diclofénac (%)
0min	0	0
30min	28,59±10,91	42,60 ±9,59
60min	41,47±6,64	42,91 ±8,30
90min	38,66±8,6	53,33 ±6,25
120min	45,052±10,69	50,26 ±6,052
150min	51,97±11,66	87,66 ±4,79

Annexe (9) : La glycémie des souris pendant 2 heures.

	Témoin -	Médicament	Extrait
0min (à jeun)	1,25±0,13	1,36±0,11	1,064± 0,21
30min	3,12±0,73	1,63 ±0,33	2,22±0,18
60min	1,44±0,32	1,435 ±0,12	1,818±0,18
90min	1,65±0,33	1,12 ±0,065	1,6±0,16
120min	1,59±0,33	1,17 ±0,11	1,452±0,09

Réalisé par :

BOUBEKRI Ibtissam

MECHID Bochra

BOUCHEKARA Faiza

Encadré par : Dr. Lahouel Asma

Evaluation de la bioactivité des extraits des bourgeons de *Nerium oleander* in vivo et in vitro.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'effectuer un screening des activités biologiques des extraits des bourgeons et des fleurs de *Nerium oleander* in vitro et in vivo.

La mesure des composés phénoliques et alcaloïdes des extraits a été effectuée suivie par une évaluation des différentes bioactivités, par l'estimation de la capacité antioxydante totale, la capacité de réduction du radical libre DPPH, teste d'inhibition de la trypsine, l'inhibition de la peroxydation lipidique et évaluation de taux de GSH cytosolique de foie et des reins. Les résultats obtenus prouvent que l'extrait aqueux des bourgeons de *Nerium oleander* est présenté une activité antioxydant considérable, une activité antiinflammatoire et de l'activité hypoglycémiant.

Mots clés : *Nerium oleander*, l'activité antioxydant, bourgeons, polyphénoliques, alcaloïdes, DPPH, trypsine, activité anti inflammatoire, GSH, l'activité hypoglycémiant, peroxydation lipidique.

Abstract

The aim of this study was to screen the biological activities of *Nerium oleander* bud and flower extracts in vitro and in vivo.

Measurement of the phenolic and alkaloid compounds in the extracts was carried out, followed by evaluation of the various bioactivities, by estimating total antioxidant capacity, DPPH free radical reduction capacity, trypsin inhibition test, lipid peroxidation inhibition and evaluation of liver and kidney cytosolic GSH levels. The results obtained demonstrate that the aqueous extract of *Nerium oleander* buds has considerable antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic activity.

Key words: *Nerium oleander*, antioxidant activity, buds, polyphenolics, alkaloids, DPPH, trypsin, anti-inflammatory activity, GSH, hypoglycemic activity, lipid peroxidation.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو إجراء فحص للأنشطة البيولوجية لمستخلصات براعم وأزهار الدفلى في المختبر وفي الجسم الحي. تم إجراء قياس المركبات الفينولية والقلويدية للمستخلصات متبوعاً بتقييم للأنشطة الحيوية المختلفة، من خلال تقدير القدرة الكلية المضادة للأكسدة، قدرة تقليل الجذور الحرة DPPH، واختبار تثبيط التربسين، وتثبيط بيروكسيد الدهون وتقييم مستويات GSH الخلوية للكبد والكلية. أثبتت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص المائي لبراعم الدفلى له نشاط كبير كمضاد للأكسدة ونشاط مضاد للالتهابات ونشاط سكر الدم.

الكلمات المفتاحية: الدفلى، نشاط مضاد للأكسدة، براعم، بوليفينول، قلويدات، DPPH، التربسين، نشاط مضاد للالتهابات، GSH، نشاط خافض لسكر الدم، بيروكسيد الدهون.