

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Science biologiques**

**Spécialité : Master Biochimie appliquée**

**Par : HIBA Sara**  
**TALEB AHMED Wahiba**

**Thème**

**Étude de l'activité antioxydante des extraits des  
feuilles de *Laurus nobilis* de la région de Ghardaïa**

Soutenu publiquement, le / / , devant le jury composé de :

Melle SEDDIKI Malika	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Président
Mme MAIDI Leila	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Directeur de mémoire
Mme BENSANIA Wafa	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Examineur 1

**Année universitaire : 2021- 2022**

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Science biologiques**

**Spécialité : Master Biochimie appliquée**

**Par : HIBA Sara**  
**TALEB AHMED Wahiba**

**Thème**

**Étude de l'activité antioxydante des extraits des  
feuilles de *Laurus nobilis* de la région de Ghardaïa**

Soutenu publiquement, le / / , devant le jury composé de :

Melle SEDDIKI Malika	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Président
Mme Maidi Leila	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Directeur de mémoire
Mme BENSANIA Wafa	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Examineur 1

**Année universitaire : 2021- 2022**

# *Remerciements*

*On remercie Dieu le tout puissant qui nous a donné la volonté et le courage afin de réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre promoteur Mme Maida Leila, de nous avoir aidé et orienté, pour ses conseils et ses encouragements permanents, et d'avoir accepté d'être notre promoteur.*

*Mes remerciements vont à Melle Seddiki Malika pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de ce jury. Qu'il trouve donc ici l'assurance de ma profonde gratitude. Je remercie vivement a membres du Jury Mme Bensania Wafa qui m'ont fait grand honneur d'avoir accepté d'évaluer ce travail*

*Nous tenons à remercier les membres du laboratoire Ahlam et Nadjate de nous avoir fourni les moyens de faire la partie expérimentale.*

*Enfin, nous tenons à remercier sincèrement toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*J'exprime ma profonde gratitude tout d'abord au bon Dieu le miséricordieux de m'avoir donné le courage, la volonté et la force pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail*

*Aux êtres les plus chères : Mes PARENTS.*

*Ma source de tendresse, l'être la plus chère dans le monde, la femme la plus patiente, ma chère mère Yamina*

*A mon père Lakhdar, le symbole de tendresse, qui m'a soutenue et m'a guidé vers la voie du succès. Que Dieu le garde.*

*A mes soeurskoutar , nafissa et imane sans oublier mon frère saddekl.*

*A toute ma famille.*

*A toutes les personnes qui m'ont soutenu ou aidé à rédiger ce mémoire.*

# *Wahiba*

# *Dédicace*

*Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur Mohamed le messager de Dieu, 3alayhi salat wa salam, a l'aide de Dieu tout-puissant, qui m'a entouré de ses soins et de sa protection, grâce à lui, j'ai terminé ce travail.*

*A mon principal soutien dans ma vie, a la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, et mon bonheur Ma mère l7biba que j'adore.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, moral et source de joie, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à papa Le3zize.*

*Ceux qui sont fiers de moi pour ce que j'ai accompli aujourd'hui grâce à leurs encouragements, mes sœurs, de Fatima à Amina, mes frères, de Nacer à Ahmed.*

*A ma cher encadreur Mme: Maida L pour son soutien, encouragement, et l'aide précieuse qu'elle apportée tout le long de ce parcours en vue de la concrétisation de ce mémoire.*

*A mes chères amies*

*A toute Mes amies, et toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement, je dit « Merci ».*

*Sara*

## *Liste d'abréviations*

**°C** : Degré Celsius

**CH** : chloroforme

**λ**: longueur d'onde (nm)

**%** : Pourcentage

**DO** : densité optique

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl.

**EAG** : Equivalent en acide gallique.

**EAT** : Equivalent en l'acide tannique

**EC50**: Half maximum effective concentration

**EP** : éther de pétrole

**EQ** : Equivalent en quercétine.

**ER** : Equivalent en rétinol.

**ES** : échantillon sec

**(I %)** : pourcentage d'inhibition

**G** : Gramme

**MEOH** : méthanol

**MEX** : masse de l'extrait obtenu après évaporation

**mg** : Milligramme

**ml** : Millilitre

**MMV** : masse de la matière végétale séchée.

**nm** : Nanomètre

**R** : Rendement.

**UV** : ultraviolet

## الملخص

تهدف دراستنا إلى التعرف على النبات الطبي *Laurus nobilis* الذي ينتمي إلى عائلة *Lauraceae* المزروعة في منطقة متليلي، ويستخدم على نطاق واسع في الجزائر في الطب، لما له من آثار علاجية متعددة. الاختبارات الكيميائية النباتية التي أجريت خلال هذه الدراسة على هذا النبات كشفت عن عائلات مختلفة للمركبات الكيميائية. التحليل الكمي للمركبات الفينولية الموجودة في أوراق نبات *Laurus nobilis* والتي تم تحديدها بالطرق الطيفية، وكذلك دراسة النشاط المضاد للأوكسدة بتقنية الحد من الجذور الحرة DPPH، في المختبر. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن الفحص الكيميائي النباتي أظهر وجود مركبات الفلافونويد والعفص المكثف والصابونين والقلويدات، وأن المستخلص الميثانولي كان له عائد أعلى (12.975%) من المستخلصات الأخرى، وسجل المعدل المهم في الفينولات الكلية في الميثانول. المستخلص (8.30 مجم / EAG جم)، بينما سجل أعلى محتوى من العفص المكثف في مستخلص الكلوروفورم (39.253 مجم / EAT جم)، من ناحية أخرى، كانت محتويات الفلافونويد ضعيفة جدًا في المستخلصات الثلاثة، وسجل مستخلص الكلوروفورم أعلى محتوى من الآخرين (0.0752 مجم من RE / جم)، أظهر اختبار DPPH أن المستخلص الميثانولي لديه إمكانات كبيرة كمضاد للأوكسدة، وأن قيم  $EC_{50}$  الخاصة به تساوي 0.027218 مجم / مل.

الكلمات المفتاحية: *Laurus nobilis* L، متليلي، مركبات فينولية، نشاط مضاد للأوكسدة، DPPH.

## Résumé

Notre étude vise à identifier la plante médicinale *Laurus nobilis*, qui appartient à la famille de Lauracées cultivée dans la région de Metlili, elle est très utilisée en Algérie dans la médecine, en raison de leurs multiples effets thérapeutiques.

Des tests phytochimiques réalisés lors de cette étude sur cette plante ont permis de détecter les différentes familles des composés chimiques. L'analyse quantitative des composées phénoliques existantes dans les feuilles de *Laurus nobilis*, qui ont été déterminées par des méthodes spectrophotométriques, et également l'étude de l'activité antioxydante par technique de réduction du radical libre DPPH, in vitro.

Les résultats obtenus ont montré que le screening phytochimique a mis en évidence la présence, des flavonoïdes, des tanins condensés, saponines et des alcaloïdes, et l'extrait méthanolique avait un rendement plus élevé (12,975 %) que les autres extraits, et le taux important en phénols totaux est enregistré dans l'extrait méthanolique (8.30 mg EAG/g), tandis que la teneur la plus élevée des tanins condensés enregistré dans l'extrait chloroformique (39.253 mg EAT/g), par contre les teneurs des flavonoïdes sont très faibles dans les trois extraits, et l'extrait de chloroforme enregistré la teneur plus élevée que les autres (0.0752 mg ER/g), le test DPPH a montré que l'extrait méthanolique possède un potentiel antioxydant important, leur valeurs d' $EC_{50}$  est égale à 0.027218 mg/ml.

**Mots clés:** *Laurus nobilis* L, Metlili, composées phénoliques, l'activité antioxydante, DPPH.

## Abstract

Our study aims to identify the medicinal plant *Laurusnobilis*, which belongs to the family of *Lauraceae* cultivated in the region of Metlili, it is widely used in Algeria in medicine, because of their multiple therapeutic effects.

Phytochemical tests carried out during this study on this plant made it possible to detect the different families of chemical compounds .quantitative analysis the phenolic compounds, existing in the leaves of *Laurus nobilis*, which were determined by spectrophotometric methods, and also the study of the antioxidant activity by reduction technique of the free radical DPPH, in vitro.

The results obtained showed that the phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, condensed tannins, saponins and alkaloids, and the methanolic extract had a higher yield (12.975%) than the other extracts, and the rate important in total phenols is recorded in the methanolic extract (8.30 mg EAG / g), while the highest content of condensed tannins recorded in the chloroform extract (39.253 mg EAT / g), on the other hand the contents of flavonoids are very weak in the three extracts, and the chloroform extract recorded the higher content than the other (0.0752 mg RE/g), the DPPH test showed that the methanolic extract has a significant antioxidant potential, their EC50 values is equal to 0.027218 mg/ml.

**Keywords:** *Laurus nobilis* L, Metlili, composées phénoliques, l'activité antioxydante, DPPH.

## Tables des matières

<i>Remerciements</i> .....	3
<i>Dédicace</i> .....	4
<i>Dédicace</i> .....	5
<i>Liste d'abréviations</i> .....	6
Résumé .....	7
Tables des matières .....	9
Liste des Figures .....	11
Liste des Tableaux .....	13
Introduction .....	1
Partie I: Etude Bibliographique .....	4
Chapitre I. Les plantes médicinales.....	4
I.1. Les plantes médicinales .....	4
I.2. La phytothérapie .....	4
I.3. Intérêts des plantes médicinales en thérapeutique .....	4
I.4. La famille des <i>Lauracées</i> .....	5
I.4.1. Les caractéristiques de la famille .....	5
I.4.2. Principaux genres .....	6
I.5. <i>Laurus nobilis</i> .....	6
I.5.1. Généralité .....	6
I.5.2. Origine et distribution géographique.....	7
I.5.3. La systématique .....	7
I.5.4. Description botanique de la plante .....	7
I.5.5. Composition chimique .....	9
I.5.6. Utilisation des feuilles .....	9
Chapitre II. Les métabolites secondaires .....	11
II.1. Les métabolites secondaires .....	11
II.2. Les composés phénoliques .....	11
II.2.1. La répartition des composés phénoliques.....	12
II.2.2. Classification .....	12
II.3. Les propriétés biologiques des composés phénoliques .....	16
II.3.1. L'activité antioxydante.....	17
Chapitre III. Les radicaux libres et les antioxydants .....	18
III.1. Les radicaux libres.....	18
III.2. Principaux radicaux libres.....	19
III.3. Le stress oxydatif .....	20

III.4. Les antioxydants .....	20
III.5. Les méthodes utilisées pour l'activité antioxydante.....	21
<b>Partie II: Matériel et méthode.....</b>	<b>23</b>
<b>I. Matériel biologique.....</b>	<b>23</b>
<b>I.1. La plante étudiée .....</b>	<b>23</b>
<b>II. Méthodes.....</b>	<b>23</b>
<b>II.1. Collecte de la plante .....</b>	<b>23</b>
<b>II.2. Préparation du matériel végétal.....</b>	<b>24</b>
<b>II.2.1. Séchage .....</b>	<b>24</b>
<b>II.2.2. Broyage et Tamisage .....</b>	<b>24</b>
<b>II.3. Extraction par les solvants a polarité croissante.....</b>	<b>25</b>
<b>II.3.1. Extraction.....</b>	<b>25</b>
<b>II.4. Les tests phytochimiques.....</b>	<b>27</b>
<b>II.5. Le rendement .....</b>	<b>28</b>
<b>II.6. Dosage et quantification de quelques métabolites secondaires.....</b>	<b>28</b>
<b>II.6.1. Dosage des composés phénoliques .....</b>	<b>28</b>
<b>II.6.2. Dosage des flavonoïdes .....</b>	<b>29</b>
<b>II.6.3. Dosage des tanins condensés.....</b>	<b>29</b>
<b>II.7. L'évaluation de l'activité antioxydant.....</b>	<b>30</b>
<b>II.7.1. Principe du test du DPPH .....</b>	<b>30</b>
<b>Partie III: Résultats et discussion .....</b>	<b>32</b>
<b>III.1. Les tests phytochimiques .....</b>	<b>32</b>
<b>III.2. Les rendements des extraits.....</b>	<b>33</b>
<b>III.3. Le dosage des composés phénoliques .....</b>	<b>35</b>
<b>III.3.1. Dosage des phénols totaux .....</b>	<b>35</b>
<b>III.3.2. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>37</b>
<b>III.3.3. Dosage des tanins condensés .....</b>	<b>39</b>
<b>III.4. L'activité antioxydante .....</b>	<b>42</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>.....</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>.....</b>

## Liste des Figures

Figure N° 01 :	Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> .....	08
Figure N° 02 :	Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> (Photo personnelle).....	09
Figure N° 03 :	Classification des polyphénols .....	12
Figure N° 04 :	Structures des acides phénoliques.....	14
Figure N° 05 :	Structure générale des flavonoïdes.....	15
Figure N° 06 :	Structure d'un exemple de tanins, le hamamélitanin.....	16
Figure N° 07 :	Réactions de base intervenant lors de la synthèse et la dégradation des ERO (espèce réactive oxygène) et des ERA(espèce réactive azote).....	18
Figure N° 08 :	L'O <sub>2</sub> , à l'origine des radicaux libres .....	19
Figure N° 09 :	Photos illustrant <i>Laurus nobilis</i> .....	23
Figure N° 10 :	Carte géographique de la région de Ghardaïa montrant le site de récolte.....	23
Figure N° 11 :	Séchage et conservation des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	24
Figure N° 12 :	Poudre de feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	24
Figure N° 13 :	Organigramme expliquant les principales étapes du travail.....	25
Figure N° 14 :	Organigramme expliquant les étapes d'extraction.....	27
Figure N° 15 :	L'extraction et Filtration et évaporation des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L.....	28
Figure N° 16 :	Réduction du radical DPPH.....	31
Figure N° 17 :	Différents tests phytochimiques de <i>Laurus nobilis</i> (Flavonoïdes, Tanins, Alcaloïdes, Saponines, respectivement).....	32
Figure N° 18 :	Les valeurs des rendements obtenus pour les différents extraits....	34
Figure N° 19 :	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	36
Figure N° 20 :	La courbe d'étalonnage de rutine.....	38
Figure N° 21 :	La courbe d'étalonnage de l'acide tannique.....	40
Figure N° 22 :	Comparaison entre les composés phénoliques.....	41
Figure N° 23 :	Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Vitamine C.....	43

Figure N° 24 :	Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Chloroforme.....	44
Figure N° 25 :	Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Méthanol.....	44
Figure N° 26 :	Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Ether de pétrole.....	45
Figure N° 27 :	L'EC50 de différents extraits et de antioxydant de référence.....	46

## Liste des Tableaux

Tableau N° 01 :	Classification systématique de <i>Laurus nobilis</i> .....	07
Tableau N° 02 :	Les principales classes de composés phénoliques .....	13
Tableau N° 03 :	Méthodes de mesure de capacité antioxydant in vitro .....	22
Tableau N° 04 :	Les résultats des tests phytochimiques réalisées sur des feuilles du <i>Laurus nobilis</i> .....	32
Tableau N° 05 :	Les rendements, couleur et aspect, masse de chaque extrait de <i>Laurus</i> .....	34
Tableau N° 06 :	Résultats du dosage des phénols totaux des extraits de <i>Laurus nobilis</i> .....	36
Tableau N° 07 :	Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits de <i>Laurus nobilis</i> .....	38
Tableau N° 08 :	Résultats du dosage des tanins condensés des extraits de <i>Laurus nobilis</i> .....	40
Tableau N° 09 :	Les valeurs des EC50 des différents extraits.....	43

# **Introduction**

### Introduction

Longtemps avant que l'humanité n'ait découvert l'existence de microbes, l'idée que de certaines plantes avaient un potentiel guérissant été bien acceptée (Rios et Recio, 2005), Qu'est-ce qui les a guidés à employer une plante plutôt qu'une autre? Le hasard? La religion? La superstition? L'expérience, certainement.

Ainsique plusieurs diverses lignes d'évidence indiquent que les plantes médicinales représentent la forme la plus vieille et la plus étendue de médication, elles ont été régulièrement employées par les gens aux temps préhistoriques (Robert et Halberstein, 2005).En dépit de l'utilisation croissante de médicaments synthétiques des plantes, le matériel curatif organique naturel a persisté comme le "traitement de choix" pour une multitude de problèmes de santé des populations à travers le monde entier, l'homme a utilisé des plantes pour traiter des maladies infectieuses communes et certaines de ces médecines traditionnelles sont toujours incluses dans le cadre du traitement habituel de différentes maladies. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2008), plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour ses besoins de soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Pierangeli *et al.*, 2009).

Aujourd'hui, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales en raison de leur réservoir immense en composés potentiels et en molécules bioactives. A côté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires. Ces derniers représentent une source importante de molécules, dont les polyphénols. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires; ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique; colorants, arômes, parfums et des insecticides (Aziri et Djenad, 2017).

Parmi les plantes réputées pour leurs propriétés médicinales, *LaurusnobilisL* dont leurs feuilles sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire et aromatisant en industrie alimentaire(Paul Iserin, 1997).

Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant pour leurs caractéristique dans le traitement des troubles digestifs, aussi antirhumatisme antiseptique et carminatif (Simic *et al.*, 2003; Chaudhry, 2006).

L'Algérie de par sa position géographique, située au nord du continent africain, bordant la méditerranée d'ouest en est, se compose de quatre principaux ensembles de reliefs, le tell, les hauts plateaux, l'atlas saharien et le Sahara qui se succèdent du nord au sud, une topographie variée et des conditions climatiques variées qui permettent la croissance de près de 3 000 espèces de plantes différentes dont 168 espèces endémiques, il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays, ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations (Cheriti *et al.*, 2006).

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme les activités antioxydante, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation importantes dans les traditions médicinales. Plus de 200 pathophysiologies humaines allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le diabète, le SIDA ou toutes les maladies à caractère inflammatoire (arthrite rhumatoïde, endotoxémie, ...), sont dues notamment au stress oxydant (Pincemail *et al.*, 2003). Ce dernier se définit comme la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydantes (Favier, 2003).

Les effets bénéfiques sur la santé ont été attribués en partie à la présence de composés bioactifs dans les plantes alimentaires, qui peuvent exercer leurs effets en raison de leurs propriétés antioxydantes, par exemple, vitamine C, vitamine E, caroténoïdes, composés polyphénoliques et flavonoïdes (Barros *et al.*, 2007).

Les phytosciences se distinguent des autres sciences biomédicales par le fait qu'au lieu de tester une hypothèse, les chercheurs tentent de déterminer si les plantes couramment utilisées en médecine traditionnelle apportent des bénéfices pour la santé et, si oui, quels sont leurs mécanismes d'action?

A la lumière de ces données bibliographiques, notre étude vise à étudier expérimentalement de l'activité antioxydant des trois extraits (Ether de Pétrole, Chloroforme et de Méthanol) des feuilles de *LaurusnobilisL*, pour les raisons suivantes :

- Tous d'abord, cette plante, est couramment rencontrée dans différents zones de l'Algérie. Elle est, souvent employée par la population, leur utilisation fréquente dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle.
- Par ailleurs, peu de travaux ont été consacrés à l'étude des composés phénolique, et le pouvoir antioxydant de cette espèce dans la région de Ghardaïa

Cette mémoire est subdivisée en trois parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons des généralités sur les plantes médicinales et leurs propriétés biologiques, les composés phénoliques ainsi qu'un rappel sur les antioxydants.

Dans la deuxième partie nous avons procédé à l'extraction des composés phénoliques et l'évaluation de leurs rendement dans les l'extraits (Méthanol, le chloroforme et l'éther de pétrole) ; L'évaluation de la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins pour les trois extraits. L'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

La troisième partie du mémoire sera consacrée à la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent. Nous terminerons cette étude par une conclusion et des perspectives de recherche à venir.

**Partie I:**  
**Etude**  
**Bibliographique**

# **Chapitre I :**

## **Les plantes médicinales**

### **Chapitre I. Les plantes médicinales**

#### **I.1. Les plantes médicinales**

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales (Neffati et Sghaier, 2014).

#### **I.2. La phytothérapie**

Le terme de phytothérapie provient du grec "phyton" (plante) et "therapeia" (traitement) (Uuis et Bakhtaou, 2017). La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl et Anton, 2003).

Qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe, est-elle existe depuis que le début de monde, l'humains ont toujours utilisé les plantes pour s'alimenter, dans un premier temps, et pour se soigner empiriquement (Roger, 1990).

Par ailleurs, la phytothérapie, fait appel uniquement au règne végétal, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques, elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite, et depuis 1987, elle est reconnue à part entière par l'Académie de médecine (Wichtl et Anton, 2003).

#### **I.3. Intérêts des plantes médicinales en thérapeutique**

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis le XVIII<sup>e</sup> siècle (Paul, 1997).

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels, l'utilisation des plantes pour traiter de nombreuses maladies est largement pratiquée, et les principes bioactifs de ces espèces végétales ont été liés à des métabolites secondaires tels que des composés phénoliques (curcumines, flavonoïdes et tanins), des saponines, des terpénoïdes et des alcaloïdes. Les propriétés biologiques et thérapeutiques attribuées à ces métabolites végétaux comprennent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anticancéreuses et anti nociceptives (Kamatou *et al.*, 2008).

La morphine, l'analgésique le plus puissant, est tirée du pavot à opium, la quinine, qui est employée contre la malaria, la digoxine, qui soigne le cœur, et l'éphédrine, que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes. D'autres plantes utilisées par les Indiens de diverses cultures pour empoisonner leurs flèches, comme la paralysie des muscles squelettiques des oiseaux en vol et des animaux en pleine course provoquée par les flèches trempées dans des dérivés du "curare". Ces plantes ainsi que beaucoup d'autres sont largement utilisées par la médecine classique (Paul, 1997).

### **I.4. La famille des *Lauracées***

La famille des *Lauracées*, les plus importantes du règne végétal par le nombre des espèces et par les produits qu'elle fournit, en particulier à la matière médicale (Perrot, 1891). La famille des *Lauracées* appartient au groupe des dicotylédones dialypétales superovariées polystémones angiospermes (Perrot, 1891), a une distribution tropicale et subtropicale, concentrée dans les forêts tropicales asiatiques et américaines, comprenant plus de 30 genres avec plus de 2 500 espèces, On la trouve particulièrement dans les pays ayant des points chauds de biodiversité et largement cultivées en Europe et aux États-Unis comme plante ornementale, et dans le nord-ouest des pays africains (Tunisie, Algérie, Maroc), (Ben Jemaet *al.*, 2012).

Le seul représentant des *Lauracées* que l'on retrouve naturellement en région méditerranéenne est le *Laurier* (*Laurus*) originaire d'Asie mineure, parmi les *Lauracées* exotiques les plus connues, l'avocatier, originaire d'Amérique, le camphrier et le cannellier, originaires d'Asie (Richter and Werff, 1996).

Les usages médicaux de quelques *Lauracées* c'est la décoction des feuilles d'*Aniba*, est bue comme un tonique, ou utilisée comme purge, soulage les maux de ventre et les crampes d'estomac sans soins, la décoction de bois, d'écorces et de graines de *Chlorocardium rodiaei* est utilisée comme fébrifuge et anti-diarrhéique (Silva *et al.*, 2009).

De même, plusieurs espèces de *Lauracées* appartenant aux genres *Aniba*, *Ocotea*, *Licaria* et *Dicypellium* ont souvent été utilisées comme substitut de la cannelle (Richter et Werff, 1996).

#### **I.4.1. Les caractéristiques de la famille**

Les *Lauracées* sont des arbres ou arbustes (sauf *Cassytha*) souvent aromatiques (excepté *Hernandia*), d'un bois très-dur et d'une odeur très agréable.

Les feuilles sont isolées, rarement opposées (*Cinnamomum*), ordinairement persistantes et coriaces, avec parfois des glandes à la base des nervures. Elles sont penninerviées ou palminerviées, à trois ou cinq nervures plus ou moins distinctes, et reliées entre elles par un réseau serré de fines nervures secondaires, le limbe est entier, ou très rarement à 3 lobes(Perrot,1891).

Les fleurs sont régulières, hermaphrodites ou unisexuées par avortement, le tube du périanthe est court ou presque nul, ovoïde, plus rarement oblong ; il est persistant et peut même s'accroître de diverses manières (Perrot,1891).

Le fruit est une baie, tantôt nue (*Cinnamomum*, *Persea*, *Laurus*, etc), tantôt enveloppée par la partie inférieure du tube du périanthe, ou par le périanthe tout entier accru et devenu charnu (*Cryptocarya*, etc), ou ligneux et cloisonné (*Ravensara*)(Perrot,1891).

La graine est pendante, dépourvue d'albumen; elle contient un embryon droit à cotylédons charnus, dont le plan médian est perpendiculaire au plan de symétrie de la graine en même temps qu'au plan médian du carpelle et de la fleur tout entière(Perrot,1891).

### **I.4.2. Principaux genres**

*Cinnamomum*, *Laurie*(*Laurusazorica*, *Laurus nobilis*, *Laurusnovocanariensis*), *Lindera*, *Perseas*, *Beilschmiedia*, *Sassafras*, *Umbellularia*(Ferdinand, 2010).

## **I.5. *Laurus nobilis***

### **I.5.1. Généralité**

Le *Laurier* est une plante chargée de symbolisme qui est associée entre autres à la poésie, la gloire, la victoire et la paix, tant dans les guerres que dans les épreuves intellectuelles(Paul, 1997).Gardant son feuillage vert en hiver, le *laurier* évoquait également l'éternité et la santé dans l'Antiquité, vivre à côté d'une forêt de lauriers était synonyme de bonne santé, les médecins grecs recommandaient d'ailleurs son utilisation pour se protéger de la peste ou d'autres maladies(Paul, 1997).

Le mot «*Laurier*» dérive du latin «*Laurus*», est un genre d'arbustes vert, plante médicinale aromatique originaires du pourtour méditerranéen et qui appartiennent à la famille des *Lauracées*, (*Laurus nobilis*),qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (Barla *et al.*,2007).

En Algérie et dans les pays du Maghreb, il est connu sous le nom "Rand" alors qu'au moyen orient on l'appelle « Ghar» ou "Wargatmossa",il porte aussi le nom de « Laurier vrai », de « Laurier sauce », de « Laurier commun », de « Laurier franc » et de « Laurier noble », «Laurier daphné», «Laurier romain», dans le calendrier républicain, on donne au 13ème jour du mois de pluviôse le nom de *Laurier*(Ben Jemaa *et al.*, 2012).

### I.5.2. Origine et distribution géographique

Originaire d'Asie mineure d'où il fut importé par les grecs et les romains, le *Laurier* s'est ensuite répandu dans l'ensemble du bassin méditerranéen ainsi qu'en Inde, en Europe centrale, il est cultivé dans des bacs car il supporte mal les hivers froids. Les principaux pays producteurs sont la Turquie, l'Albanie, le Maroc et la Grèce et l'Italie (Geertset *al.*, 2002).

### I.5.3. La systématique

L'utilisation thérapeutique des plantes médicinales nécessite l'identification exacte de l'espèce végétale, toute publication scientifique basée sur un travail phytochimique (extraction, analyse chimique des composés isolés et purifiés) suivi souvent de tests biologiques. La classification botanique de *Laurus nobilis* d'après (Quezel et Santa, 1962) est la suivante :

**Tableau N° 01 :** Classification systématique de *Laurus nobilis*.

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
S/Emb	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
S/classe	Dialypétales
Ordre	<i>Laurales</i>
Famille	<i>Lauracées</i>
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis L</i>

### I.5.4. Description botanique de la plante

Se présente sous la forme d'un arbuste vert à écorce gris foncé et lisse, pouvant atteindre de 5-20 m de haut, croissant naturellement dans les régions (Gérard Ducerf, 2003).

Tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant au fil du temps (Quezelet *al.*, 1963).

Le feuillage de *Laurus nobilis* est persistant aromatique, la couleur est vertes foncées, brillantes sur la face supérieure et verte clair au-dessous mesurent environ 3 à 5 cm de large sur 10 cm de long, avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (Quezel *et al.*, 1963), les feuilles alternes sont persistantes, coriaces, elliptiques- lancéolées, atténuées en court pétiole, penninervées, à bords entiers et ondulés (Gérard, 2003).

Les fleurs jaunâtres ou blanchâtres sont dioïques, odorantes et disposées en petites ombelles axillaires pédonculées et involucrées, les fleurs mâles, au périanthe à 4 divisions égales et obovales portent 8-12 étamines disposées sur deux rangs, à anthères s'ouvrant de la base au sommet par des valvules, les fleurs femelles, également à périanthe à 4 divisions égales et obovales portent un ovaire libre, entouré de 2-4 staminodes tripartites. Les ovaires portent 1 style court et épais, à stigmate subcapité. Le fruit est une drupe noire, ellipsoïde, à une seule graine (Gérard, 2003).

Floraison: mars-mai, il est une plante d'importance industrielle, utilisée dans les aliments, les médicaments et les cosmétiques (Gérard, 2003).



**Figure N° 01 :** Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Gérard, 2003).



**Figure N° 02 :** Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Photo personnelle)

### **I.5.5. Composition chimique**

*Laurus nobilis* a suscité un intérêt continu et renouvelé en raison de ses propriétés pharmacologiques et bénéfiques pour la santé liées à plusieurs composés présents dans la plante (Gérard, 2003).

Les feuilles fournissent environ 10-30 ml/Kg (1-3%) d'huile essentielle (Bruneton, 1999, Demir *et al.*, 2004), qu'il contiennent 30 à 50% cinéol dont , bêta et alpha pinène pinène, sabinène, linalol, eugénol, alphaterpinéol, plus d'autres esters et terpénoïdes, mucilage, tanin, mais dont les proportions varient selon l'origine géographique (Iserin 2001; Sayyah *et al.*, 2002; Demir *et al.*, 2004), les flavonoïdes polaires et apolaires (Fiorini *et al.*, 1998; Kivçak et Mert, 2002).

### **I.5.6. Utilisation des feuilles**

Dans les cuisines, le *Laurier* sert à parfumer les plats excellent assaisonnement des soupes, des plats mijotés, des sauces et des crèmes, et parfume également le gibier, les terrines et les marinades (Sinié *et al.*, 2003).

Il est principalement utilisé pour soigner les troubles de l'appareil digestif supérieur et les douleurs arthritiques, en outre, il stimule l'appétit et la sécrétion des sucs gastriques (Paul Iserin, 1997).

Selon (Soubeiran E ,1837), par exemple, l'huile de graine de laurier était un médicament utile contre la douleur sciatalgique, les maux de tête et d'oreilles.

Les fruits sont stimulants, stomachiques, carminatifs et antiseptiques, rhumatismes, aphtes gingivites, gripes, rhumes, infections ORL(Gérard, 2003).

Son huiles essentielles, anti-infectieuse, expectorante, antispasmodique puissante, antalgique, on utilisera les huiles essentielles pour arrêter des douleurs aigues physiques ou psychiques, hépatites virales, acnés et furoncles, aussi il est ajoutée dans les produits cosmétiques comme les savons, les crèmes et les parfums (Kaurinovicet *al.*,2010).

Les feuilles facilitent la digestion et l'assimilation des aliments, il favorise l'apparition des règles, ajoutée à l'eau du bain, la décoction des feuilles apaise les membres douloureux (Paul, 1997).

**Chapitre II :**  
**Les métabolites**  
**secondaires**

## **Chapitre II. Les métabolites secondaires**

### **II.1. Les métabolites secondaires**

Les composés chimiques végétaux peuvent être classés en métabolites primaires ou secondaires selon leur voie de biosynthèse et leurs fonctions, la biosynthèse des métabolites primaires (glucides, protides, lipides) ne diffère pratiquement pas parmi les organismes vivants, jouant un rôle essentiel pour la vie (croissance, métabolisme et reproduction). D'autre part, les métabolites secondaires sont des molécules organiques non essentielles à la croissance et au développement des plantes mais ayant des rôles importants dans la relation avec l'environnement comme dans la défense des plantes et l'adaptation des plantes à leur environnement (Harborne, 1999; Bourgaud *et al.*, 2001; Bernohf, 2010)

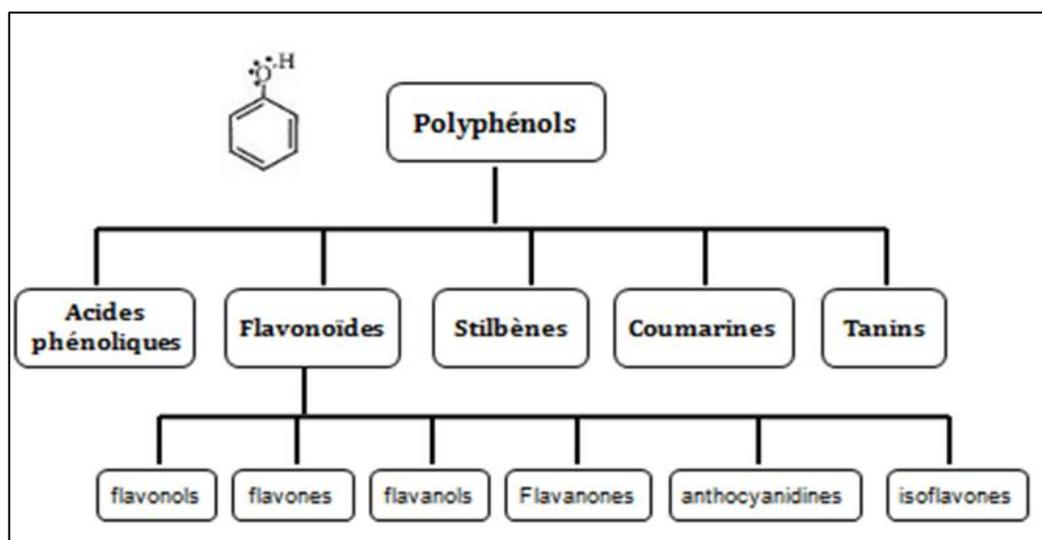
Les métabolites secondaires sont diverses structures chimiques largement classées en trois groupes : phénoliques, terpènes et stéroïdes, et alcaloïdes (Harborne, 1999; Bourgaud *et al.*, 2001). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies) qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Flamini *et al.*, 2007).

La plupart d'entre eux ont un rôle écologique dans la régulation des interactions entre les plantes, les micro-organismes, les insectes et les animaux. Ils s'accumulent souvent dans la plante en petites quantités, fréquemment dans des cellules spécialisées, à des étapes spécifiques du développement de la plante ou lors de stress (Piñol et Palazón, 1993).

### **II.2. Les composées phénoliques**

Sont des métabolites secondaires complexes, d'un poids moléculaire élevé, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (Havsteen, 2002).

Les principales classes de composants phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, (Oliveira *et al.*, 2014) et les tanins (Crozier *et al.*, 2009), et les coumarines (Tapiero *et al.*, 2002), (Figure N°3).



**Figure N° 03 :** Classification des polyphénols (Macheix *et al.*, 2006).

### II.2.1. La répartition des composés phénoliques

On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, une répartition très inégale, quelquefois entre des espèces très voisines ou même entre différentes sous-espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce (Macheix *et al.*, 2005). Ils sont présents dans les vacuoles des tissus, dans la vacuole, sont présentes des formes simples et solubles ainsi que des formes polymérisées plus ou moins solubles (tannins), (Macheix, 1996).

Par contre, les formes insolubles (lignines, formes liées à la subérine, la cutine et à des macromolécules glucidiques) sont directement associées à la paroi. Certains des représentants de ce groupe ont des fonctions structurales (exp: la lignine renforçant les parois cellulaires spécialisées). D'autres participent à la défense des plantes (exp: coumarines, tanins condensés, isoflavonoïdes, proanthocyanidines, stilbènes), à la pollinisation, à la protection contre la lumière et au développement des graines (Macheix, 1996).

### II.2.2. Classification

Les polyphénols englobent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules divisées en une dizaine de classes chimiques, selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Dacosta, 2003), (Tableau N°1). Ils sont comprenant au moins un noyau aromatique portant 6 carbone, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 3000 Dalton, comme les tannins (Belkhiri et Baghiani, 2017).

**Tableau N° 02 :** Les principales classes de composés phénoliques (Harbone, 1989; Macheix *et al.*, 1990).

Nombre d'atomes de Carbone	Squelette de base	Classe	Exemple	Plante alimentaires (exemple)
6	C6	Phénols simples	Catéchol	
7	C6-C1	A. Hydroxybenzoïque	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
9	C6-C3	A. Hydroxycinnamiques Coumarines	acide Cafféique Scopoline	Pomme, P. de terre Citrus
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	Noix
13	C6-C1-C6	X anthrones	Mangiférine	Mangue
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine Daidzéine	Fruits, légumes Soja, pois
18	(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
n	(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines		Fruits à noyau
n	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tannins condensés		Raisin rouge, Kaki

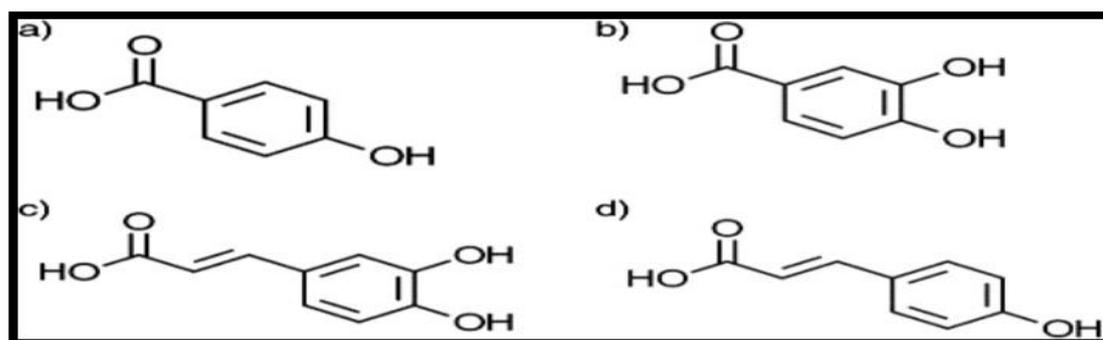
### II.2.2.1. Formes les plus simples

Sont présentes des structures chimiques allant de C6 aux C15 et à des molécules proches: Acides hydroxy-benzoïques, Acides hydroxy-cinnamiques et les flavonoïdes (Belkhir et Baghiani, 2017). Ces substances sont présentes sous formes solubles dans la vacuole (Macheix *et al.*, 1990).

### A. Les acides phénoliques

Ces acides sont rarement présents à l'état libre et ils sont en général combinés à d'autres molécules organiques (Macheix *et al.*, 1990), Ils sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires (Bruneton, 1993).

- Les acides phénoliques sont divisés en trois classes: les acides phénoliques simples, sont rares à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles végétales (Bruneton, 1993).
- Les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque, sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, ont une formule de base (C6-C1), ils existent fréquemment sous forme d'ester ou de glycosides, comme l'acide vanillique (Haslam et Lilley, 1988).
- Les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (sont constitués d'un cycle benzène lié à un acide propénoïque), (Abramovič, 2015). Ont une distribution très large, dont la structure de base C6-C3, l'acide caféique et l'acide férulique sont les composés majeurs (Bruneton, 1993).

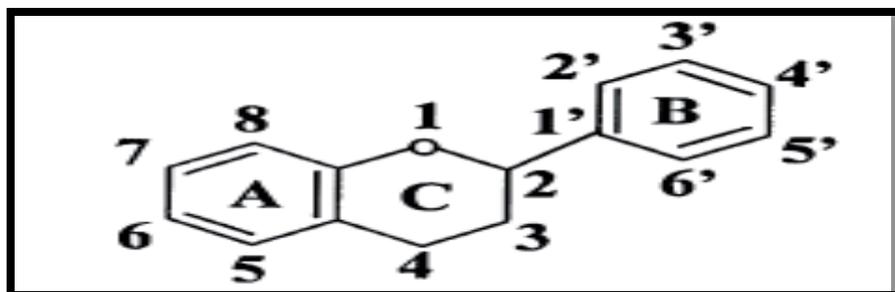


**Figure N° 04 :** Structures des acides phénoliques: (a) acide *p*-hydroxybenzoïque, (b) acide 3,4-dihydroxybenzoïque, (c) acide caféique, (d) acide *p*-coumarique (Oroian et Escriche, 2015).

### B. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bruneton, 1999). Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Lawson, 2006), presque toujours hydrosolubles (Cermak *et al.*, 1998; Tim Cushnie et Lamb, 2005).

La structure générale des flavonoïdes comprend un squelette de 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), (Andersen et Jordheim, 2010), sont caractérisé par la présence de deux cycles benzoïques A et B et d'un hétérocycle oxygéné (C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3) (Hahlbrock, 1981; Markham, 1982) (Figure 5).



**Figure N° 05 :** Structure générale des flavonoïdes (Tim Cushnie et Lamb, 2005).

Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes, existent: les flavones, flavanols, flavanones, dihydroflavonols, flavan-3-ols, flavane-3,4-diols, chalcones, auronnes, anthocyanes et isoflavones (Harborne, 1988; Bruneton, 1999). Six des groupes sont particulièrement bien connus et caractérisés : les flavones, isoflavones, flavanones, flavonols, flavanols (catéchines) et anthocyanidines (Heim *et al.*, 2002; Hendrich, 2006).

### II.2.2.2. Les formes condensées

Ces composés résultent généralement de la condensation de certaines des formes simples, selon la nature des constituants impliqués et selon le type de condensation, on obtient des composés plus ou moins complexes pouvant encore présenter une hydrosolubilité suffisante pour être présents dans la vacuole (les tannins) ou au contraire acquérir un caractère lipophile marqué et s'accumuler alors dans les structures pariétales (lignine) (Macheix *et al.*, 2005).

#### A. Les tanins

Les tannins sont des molécules polyphénoliques de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes (Watterson et Butler, 1983). Ils sont du grand intérêt pour la nutrition et la médecine à cause de leur capacité antioxydante puissante et leur effet protecteur possible sur la santé humaine (Santos-Buelga et Scalbert, 2000; Oszmianski *et al.*, 2007).

Les tannins sont subdivisés en deux classes différentes, largement distribuées chez les végétaux supérieurs, qui sont les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Belkhiri et Baghiani; 2017) (Figure N° 6).

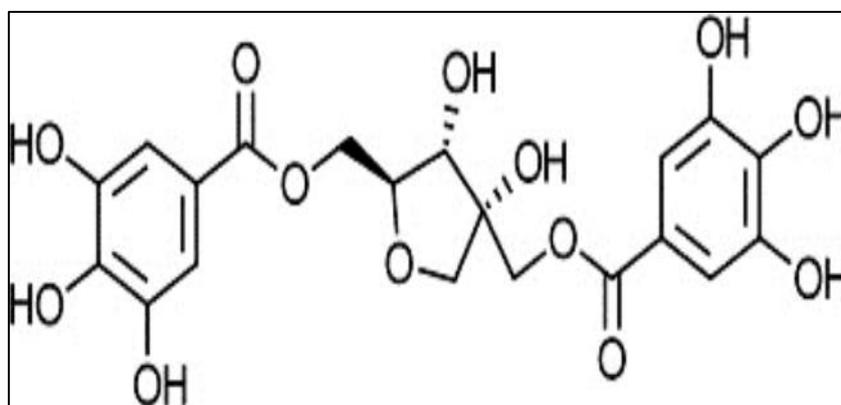
### A.1. Les tanins hydrosolubles

Ils sont abondants chez les dicotylédones, ils sont des hétéropolymères, d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins comme le tannin de Chine, quelquefois appelé «acide tannique») soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tannins ellagiques ou ellagitannins comme ceux du châtaignier) (Macheix *et al.*, 2005).

### A.2. Les tanins condensés

Les tannins condensés ou proanthocyanidines (PAs) sont des oligomères ou polymères de flavonoïdes, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, le plus souvent entre C4 et C8 ou C4 et C6 (Mehansho *et al.*, 1987; Haslam et Lilley, 1988). La taille de molécule de PA peut être décrite par leur degré de polymérisation (DP) (Oszmianski *et al.*, 2007).

Ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader, et par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges et, pour cette raison, les formes dimères et oligomères sont dénommées «proanthocyanidines», (Macheix *et al.*, 2005).



**Figure N° 06 :** Structure d'un exemple de tanins, le *hamamélitanin* (Oroian et Escriche, 2015).

### II.3. Les propriétés biologiques des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques, ils sont doués d'activité antiallergique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, anticarcinogénique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000; Ksouriet *al.*, 2007) et leurs propriétés antioxydantes et anti-radicalaires (Ahmed *et al.*, 2015).

Les composés phénoliques sont aussi responsable des propriétés sensoriels des plantes tel que la couleur, le goût et parfois l'odeur (Park et Cha, 2003; Subsamanian *et al.*, 2007 ; Yang *et al.*, 2008). Selon Subsamanian *et al.*, (2007), ils sont également impliqués dans

- Les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales,
- Protègent les plantes contre les radiations UV.
- Agissent comme des pigments ou des co-pigments.
- Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire.
- Agissent sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits.
- Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores.

### **II.3.1. L'activité antioxydante**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Mohammedi, 2006). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est appelé espèce réactive de l'oxygène (ERO) (Fevier, 2003; Yohan, 2004).

Il est connu que certaines propriétés pharmacologiques des polyphénols sont dues à leur activité antioxydante (Gryglewski *et al.*, 1987; De Whalley *et al.*, 1990; Morton *et al.*, 2000), de nombreux composés phénoliques réagissent avec les radicaux libres (Lonchamp *et al.*, 1989, Bagchiet *al.*, 1998), empêchant ainsi les dégradations liées à leur intense réactivité au niveau des phospholipides membranaires (Halliwell et Aruoma, 1993). En plus de l'inhibition des oxydases, l'activité antioxydante des polyphénols est due à leur capacité de capter les radicaux libres et/ou de chélater les ions métalliques du fer et du cuivre (Kandaswami et Middleton, 1994; Rice-Evans, 1995; Halliwell, 2007).

Les différents tanins extraits de thé montrent que les activités antioxydantes varient selon les composés (Hashimoto *et al.*, 2003). Les flavonoïdes exercent des effets pharmacologiques multiples sur les cellules et les tissus des mammifères (Havsteen, 1983). Ils ont d'abord été décrits comme des substances protectrices de la paroi capillaire et de maintien de sa résistance (Formica et Regelson, 1995).

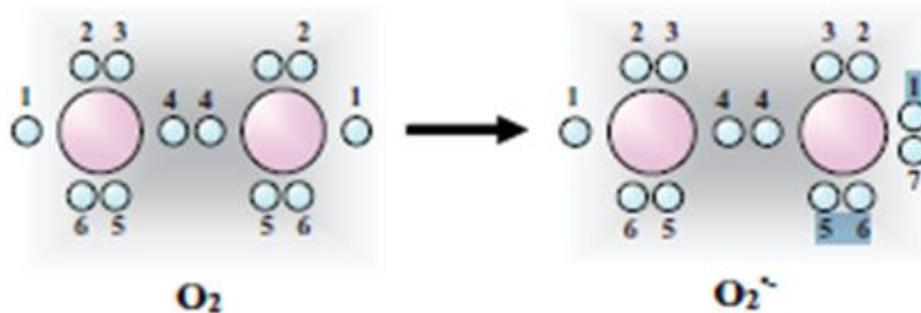
**Chapitre III :**  
**Les radicaux libres et**  
**les antioxydants**



### III.2.Principaux radicaux libres

Il est à noter que dans le processus de production d'énergie, l'oxygène moléculaire intervient seulement comme l'accepteur terminal des quatre électrons transférés par la chaîne des électrons (França *et al.*,2007;Leeuwenburgh et Heinecke, 2001).Comprendre que l'oxygène moléculaire représente finalement qu'un accepteur d'électrons permet de faire le lien entre oxygène, radicaux libres, et ERO.Par sa configuration électronique, l'oxygène moléculaire est un radical libre. Il possède en effet deux électrons non appariés (Koechlin-Ramonatxoet *al.*,2006) (Figure N°07). Ce radical super-oxyde va alors conduire au cours de véritable chaîne d'oxydoréductions à la formation de nombreuses espèces très réactives (Koechlin-Ramonatxoet *al.*,2006).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie (Park *et al.*,2007) et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion super-oxyde  $O_2^{\bullet-}$  et le radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$ , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote  $NO^{\bullet}$  (Yoshikawaet *al.*,2000). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singleet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitro-peroxyde ( $ONOOH$ ),ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003).



**Figure N° 08 :** L'O<sub>2</sub>, à l'origine des radicaux libres (Koechlin-Ramonatxo *et al.*, 2006).

### **III.3. Le stress oxydatif**

Dans les systèmes biologiques, l'oxygène est normalement transformé en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est cruciale puisqu'elle apporte à la cellule toute l'énergie nécessaire (sous forme d'adénosinetriphosphate (ATP)) pour assurer ses multiples fonctions (Favier, 2003). Le processus n'est toutefois pas parfait car une faible partie de l'oxygène (2 à 5%) est convertie en espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Pincemilet *al.*, 2003). Le stress oxydant se définira donc comme un déséquilibre de la balance entre la formation des espèces réactives de l'oxygène à caractère pro-oxydant et les antioxydants qui régulent leur production, en faveur des premières (Halliwell et Aruoma, 1993; Azzi *et al.*, 2004; Soares, 2005; Valavanidis *et al.*, 2006; Francaet *al.*, 2007).

Le déséquilibre entre les espèces oxydantes (ERO / ERA) et le système de défense antioxydant peut déclencher des facteurs spécifiques responsables des dommages oxydatifs au niveau des acides nucléiques, des lipides et des protéines cellulaires, et donc l'apparition des maladies (Pisoschi et Pop; Smagaet *al.*, 2015).

### **III.4. Les antioxydants**

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes, et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène (Kinsky, 1989).

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Ils agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables, prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou désactiver directement les ERO (Kinsky, 1989). Il existe des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le rôle d'antioxydantes ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO• (Fridovich, 1975).

La première stratégie antioxydante est enzymatique et consiste à éliminer ou à détruire les superoxydes et peroxydes, comme superoxydesdismutases (SOD) sont capables d'éliminer l'anion superoxyde, et peut être éliminé le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les catalases (CAT) et les membres de la famille des peroxydases (Fridovich, 1975).

En plus de la défense primaire qui implique généralement des enzymes comme la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (Proctor et Reynolds, 1984), un autre système appelé défense secondaire qui, à côté de certaines glutathion transférases et des oxydo-réductases, fait intervenir de nombreuses molécules capables de capter les ERO pour produire des espèces chimiques moins toxiques. C'est le cas de la vitamine C, vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), des caroténoïdes mixtes comme l' $\alpha$ -carotène, le bêta-carotène et le lycopène (Serrano et Klann, 2004;Edeas, 2006), et des polyphénols (flavonoïdes, tanins...) (De Groot et Ratten, 1998).

Afin de se protéger contre une exposition excessive aux radicaux libres, l'organisme peut fabriquer ses propres antioxydants à partir des nutriments qui se trouvent dans la nourriture et les suppléments nutritionnels tel que l'acide aminé cystéine, les vitamines du complexe B, des minéraux comme le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc (Hosein et Lytle, 2001).

### **III.5. Les méthodes utilisées pour l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante définie la capacité d'un organisme de se protéger contre les radicaux libres, la détermination de l'activité antioxydante et l'une des méthodes pour évaluer la qualité biologique et nutritionnelle d'un aliment, nous avons besoin ainsi des méthodes commodes pour la quantification rapide et simple de la capacité antioxydante (Jiri *et al.*,2010).

Les méthodes les plus utilisées généralement pour déterminer la capacité antioxydante sont divisés en deux groupes importants: des analyses basées sur une réaction de transfert d'atome d'hydrogène, où l'antioxydant et le substrat sont en concurrence pour fixer des radicaux libres tel que l'essai du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), il est connu comme un radical libre stable, mais est sensible à la lumière, à l'oxygène, au pH et au type de solvant utilisé (Ozceliket *al.*,2003),ce test permet de mettre en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un antioxydant pur ou d'un extrait antioxydante (Ozceliket *al.*,2003).

ABTS (acide 2,2-azobis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique),le radical cationique ABTS\* est généré par l'incubation de l'ABTS avec une peroxydase (methmyoglobine) et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Miller *et al.*,1996;Rice-Evans *et al.*,1997; Miller et Rice-Evans, 1997; Van Den Berg *et al.*, 1999).

Deuxièmement les analyses basées sur une réaction de transfert d'électron, surveillée par un changement de couleur quand l'oxydant est réduit tel que la mesure en fluorescence de la phycoérythrine (dans le dosage ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)) (Cao *et al.*, 1995), et aussi le FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) (Benzie et Strain, 1996). Il existe de nombreuses façons d'utiliser les AO, certaines d'entre elles sont mentionnées dans le tableau suivant selon (Huang *et al.*, 2005).

**Tableau N° 03 :** Méthodes de mesure de capacité antioxydant in vitro (Huang *et al.*, 2005).

Méthodes basées sur le transfert d'électron (SET)	TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) FRAP (Ferric reducing antioxidant power)
Méthodes basées sur le transfert d'hydrogène (HAT)	ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)

# **Partie II:**

## **Matériel et méthode**

La plante *Laurus nobilis* sujette de l'étude, a fait l'objet de plusieurs manipulations (extraction, dosage, activité antioxydants, etc) dans cette partie nous parlons des méthodes et des matériels utilisés.

### I. Matériel biologique

#### I.1. La plante étudiée

En février 2022, les feuilles de *Laurus nobilis*, (Figure N° 09) qui appartient à la famille des *Lauracées*, ont été récoltées dans la région de Metlili, Wilaya de Ghardaïa.



Figure N°9 : *Laurus nobilis* (Photos personnel).

### II. Méthodes

#### II.1. Collecte de la plante

La Figure N°10 illustrant la région de Metlili à partir de laquelle les feuilles de *Laurus nobilis* ont été récoltées.

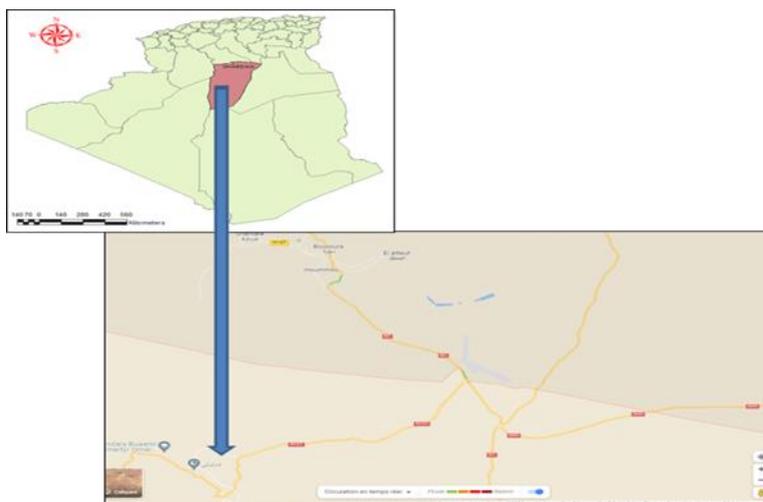


Figure N°10 : Carte géographique de la région de Ghardaïa montrant le site de récolte

## **II.2. Préparation du matériel végétal**

### **II.2.1. Séchage**

On prend des feuilles de *Laurusnobilis* et on les rince à l'eau du robinet pour éliminer les impuretés, puis on les sèche à l'ombre et on les aère pendant au moins trois semaines.



**Figure 11** :Séchage et conservation des feuilles de *Laurus nobilis*.

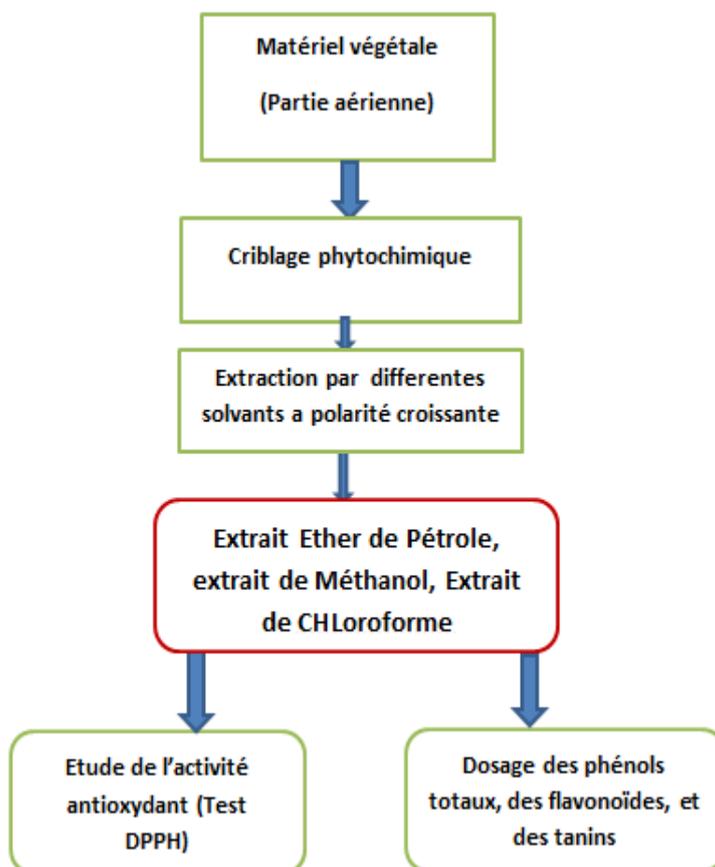
### **II.2.2.Broyage et Tamisage**

Après avoir séché les feuilles de *Laurusnobilis*, nous les écrasons et les tamisons dans un tamis à mailles de 100  $\mu\text{m}$  pour obtenir une poudre très fine. La poudre est stockée dans des récipients en verre, à l'abri de la lumière jusqu'au moment de l'extraction.



**Figure 12** :Poudre de feuilles de *Laurus nobilis*

L'ensemble du travail que nous avons mené dans cette étude se structure comme illustré dans l'organigramme de la Figure N°13.



**Figure 13** :Organigramme expliquant les principales étapes du travail.

## **II.3.Extraction par les solvants a polarité croissante**

### **II.3.1.Extraction**

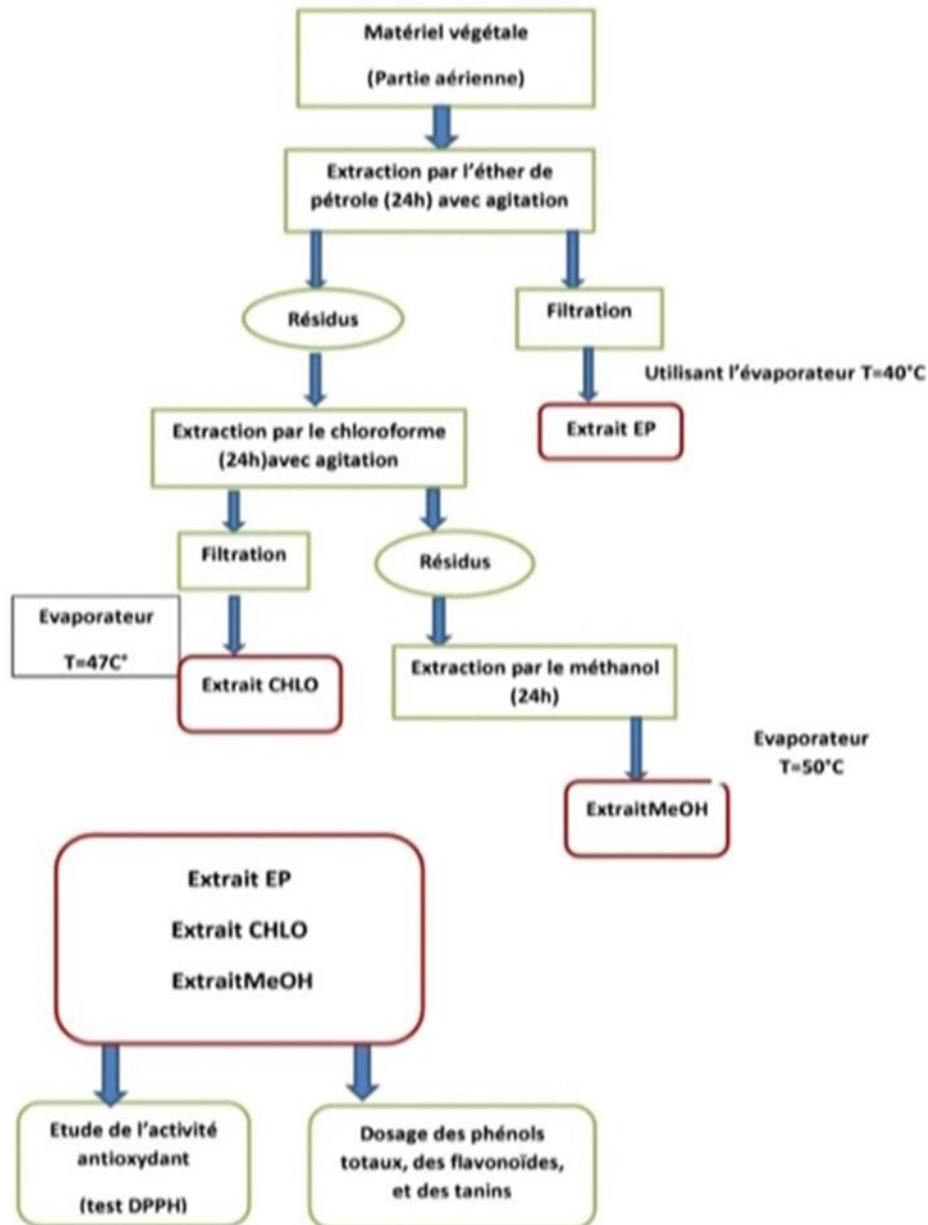
La méthode de l'extraction décrite par Biallo et al., (2004) avec modification, cette extraction se fait par épuisement successif des matières végétales à l'aide de trois solvants de polarité croissante : éther de pétrole, chloroforme et méthanol.

Le premier solvant était l'éther de pétrole 100g de poudre de plante (*Laurus nobilis*) avec 800 ml de solution d'éther de pétrole, le mélange est incubé et agité pendant 24 heures à température ambiante, après l'extrait a été filtré à travers du papier Whatman. Le solvant extrait a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide avec une température de bain d'eau de 40°C, l'extrait d'éther de pétrole est stocké,

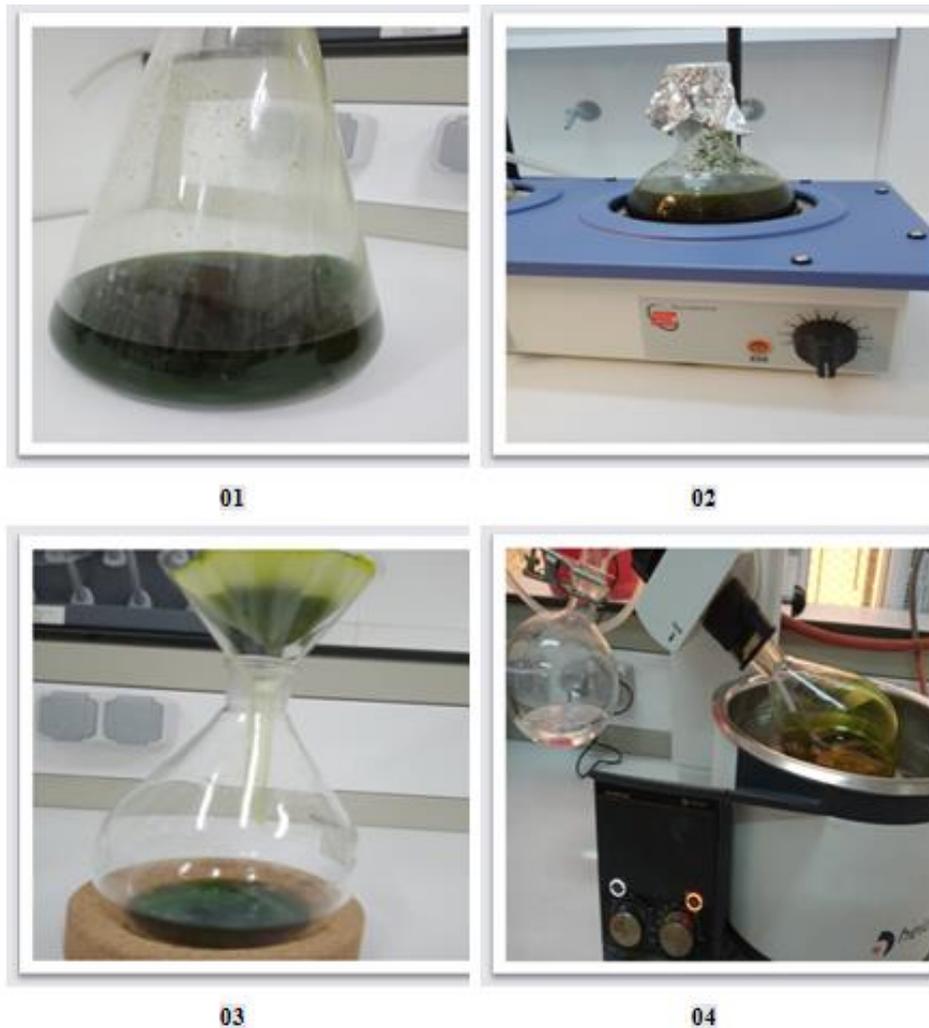
Deuxièmement les résidus végétaux de la première extraction ont été mélange avec 800 ml chloroforme, le mélange est incubé et agité pendant 24 heures à température ambiante, puis filtration sur papier Whatman ,de solvant extrait a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide avec une température de bain d'eau de 47°C, l'extrait de chloroforme est stocké.

Troisièmement une solution de méthanol de 800 ml avec les résidus végétaux, le mélange a été incubé et agité pendant 24 heures à température ambiante, l'extrait a été filtré sur papier Whatman puis éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide avec une température de bain d'eau de 50°C, l'extrait méthanolique est stocké.

L'organigramme suivante (Figure N°14 résumé les étapes de l'extraction)



**Figure N° 14 :** Organigramme expliquant les étapes d'extraction selon Biallo et al. (2004)



**Figure 15 :** L'extraction et Filtration et évaporation des feuilles de *Laurus nobilis*

#### **II.4. Les tests phytochimiques**

- **Les Flavonoïdes**

Dans 10 ml d'un mélange hydro-méthanolique (20/ 80 v/v), on fait la macération d'une quantité de 1 g de la plante broyée pendant une nuit, ensuite le mélange est filtré. Le filtrat est mélangé avec quelques millilitres de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). L'apparition d'une couleur jaune foncée indique la présence des flavonoïdes (Quettier-Deleu, 2000).

- **Les tanins**

Une quantité de 1 g de la poudre végétale est macérée dans 50 ml d'un mélange hydro-méthanolique (50/50 v/v) pendant une nuit, ensuite le mélange est filtré. Nous

avons pris quelques millilitres du filtrat et nous avons ajouté quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>). L'apparition d'une couleur vert foncée indique la présence des tanins (Békro et *al.*, 2007; Vijay et *al.*, 2013).

- **Les alcaloïdes**

Une quantité de 1 g de la poudre est macérée dans 20 ml d'éthanol absolu pendant une nuit. Après filtration, le mélange est évaporé à sec à l'aide d'un rotavapeur, le résidu est solubilisé dans 5 ml d'acide chlorhydrique 2N, puis il est chauffé dans un bain marie à 100 °C pendant 5 min. après refroidissement et filtration nous avons ajouté quelques ml du réactif de Mayer.

L'apparition d'une turbidité ou d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes.

- **Les Saponines**

Une quantité de 2 g de la poudre végétale est chauffée avec 40 ml d'eau distillée jusqu'à ébullition, après refroidissement et filtration, nous avons agité les filtrats. L'apparition de mousses stables après 15 min indique la présence des saponines (Békro et *al.*, 2007).

## II.5. Le rendement

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction, il est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant et la masse de la poudre végétale utilisée (Abe et *al.*, 2010).

## II.6. Dosage et quantification de quelques métabolites secondaires

### II.6.1. Dosage des composés phénoliques

La quantité de phénols contenue dans les extraits est mesurée par la méthode de Folin Ciocalteu. Le principe de ce dosage est adapté par Singleton et Ross avec le réactif de Folin Ciocalteu (Vermerris et Nicholson, 2006).

- **Principe**

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu, les composés phénoliques réagissent avec ce réactif. Le mélange d'acide phospho tungstique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) et d'acide phospho-molybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et molybdène (MO<sub>8</sub>O<sub>23</sub>).

La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal, le phénol standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage est l'acide gallique.

- **Le protocole**

Pour établir la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, une gamme de solutions diluées à été préparée, 100 µL de chaque solution diluée ont été suivis par l'ajout de 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu dix fois dilué. Après deux minutes, 2 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 2% (m/v) sont ajoutés, les solutions ainsi obtenues ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible de type SpectroScan 40, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc.

### II.6.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Lamaison et Carnat, 1991; en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif (Quettier-Deleu, 2000).

- **Principe**

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al<sup>3+</sup> sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité de flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la rutine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon.

- **Le protocole**

Un volume de 0,5 ml de l'extrait (*Laurus nobilis*) est mélangé avec 0,5 ml d'une solution à 2 % d'éthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Après 15 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. La courbe d'étalonnage ( $y=ax+b$ ) a été générée par une rutine.

### II.6.3. Dosage des tanins condensés

Les quantités de tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide (Julkunen-Titto 1985).

- **Principe**

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide pour produire un complexe rouge mesuré à 500 nm (Julkunen-Titto 1985).

- **Le protocole**

La méthode décrite par Julkunen-Titto, 1985; 0,5 ml d'extrait, sont ajoutés 5ml de vanilline-HCl (2,5 vaniline + 2,5HCl). Après homogénéisation, les tubes sont incubés à 30°C pendant 20 min. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 500nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

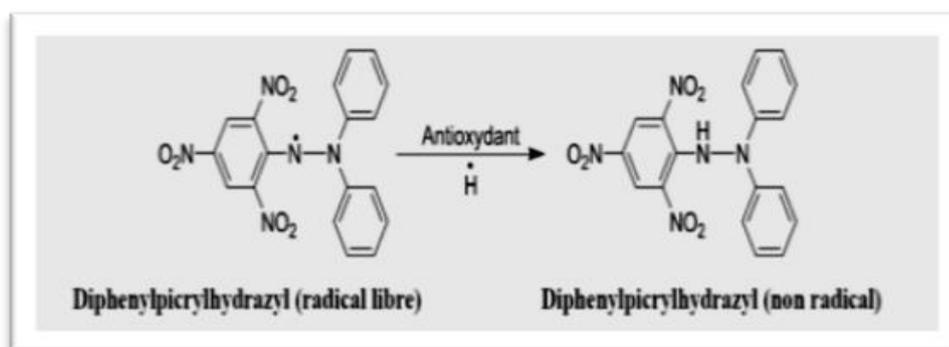
La teneur en tanins condensés est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide tannique utilisée comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent l'acide tannique par gramme de extrait (mg Eq A tannique /g Extrait).

## II.7. L'évaluation de l'activitéantioxydant

Ce test permet de mettre en évidence d'une façon simple la capacité antiradicalaire d'unantioxydant. Cette méthode consiste à mesurer la capacité réductrice d'un antioxydant enprésence d'un radical libre, le DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). C'est un radical libre trèsstable à l'état cristallin et en solution. La réduction du DPPH• par un donneur d'atome H (AH)conduit à la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine incolore (DPPH-H) et au radical A° (Lee et *al.*, 2001).

### II.7.1. Principe du test du DPPH

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) (Figure N°16) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune, les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Molyneux, 2004).



**Figure 16** :Réduction du radical DPPH (Molyneux, 2004; Popovici et *al.*, 2009).

### II.7.1.1. Le protocole expérimental du test DPPH

Des dilutions des extraits ont été préparées dans de méthanol afin de tester le pouvoir antioxydant. Un millilitre d'une solution méthanolique du DPPH (100µM) est ajouté à 1 ml de chaque dilution. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, les absorbances des échantillons ont été lues à 517nm .

Le pouvoir antiradicalaire des extraits est calculé en déterminant le facteur EC50, à partir de la courbe de la variation du pourcentage d'inhibition (I %) des radicaux libres de DPPH•, en fonction des concentrations des extraits.

Chaque absorbance correspond à un pourcentage d'inhibition calculé par la relation suivante :

$$I(\%) = \left( \frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100$$

Où :

**A<sub>0</sub>** : est l'absorbance de la solution de DPPH sans extraits

**A** : est l'absorbance de la solution de DPPH en présence des extraits.

La concentration (EC50) en extrait brut permettant de réduire 50 % du DPPH est déterminée en traçant la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration. La vitamine C ont été utilisés comme antioxydants de référence.

**Partie III:  
Résultats et  
discussion**

### III.1. Les tests phytochimiques

La méthode de détection des différentes familles de composés chimiques co-existantes, consiste en une réaction de précipitation ou une coloration par des réactifs spécifiques. Ces réactions se traduisent par l'apparition d'une turbidité, floculation ou un changement de couleur qui peuvent donner, suivant l'intensité du résultat obtenu, la concentration en certains constituants (Haddochi, 2007).

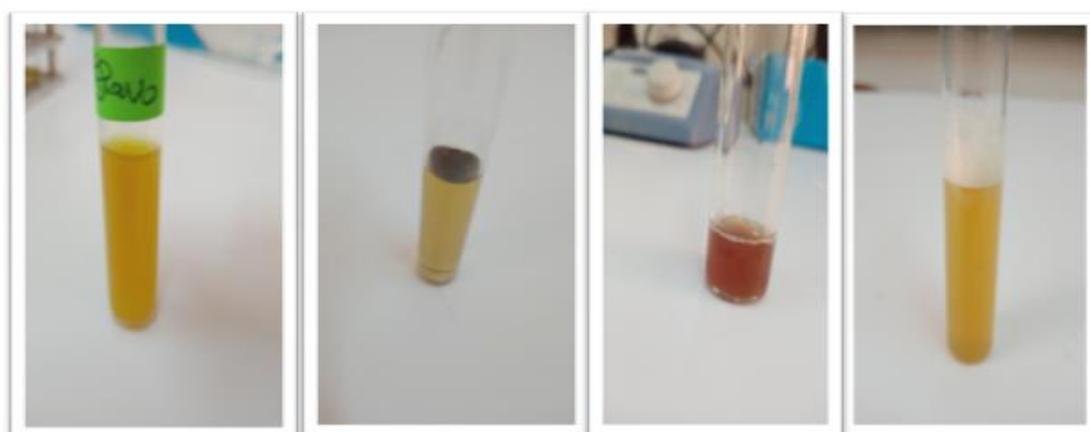
Le test de recherche des flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponines dans les extraits de *Laurus nobilis*, à donner des réactions positives. Le Tableau N°04 renferme les résultats des tests phytochimiques réalisées.

**Tableau N° 04 :** Les résultats des tests phytochimiques réalisées sur des feuilles du *Laurus nobilis*.

Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes	Saponines
+	++	+	+

+ Présence de métabolite.

- absence de métabolite.



**Figure N° 17 :** Différents tests phytochimiques de *Laurus nobilis* (Flavonoïdes, Tanins, Alcaloïdes, Saponines, respectivement), (photos personnel).

Les tests phytochimiques sont confirmés par une réaction positive, ont été effectués sur les extraits de *Laurus nobilis*, on remarque un changement de couleur (jaune foncée indique la présence des flavonoïdes, vert foncée indique la présence des tanins), la précipité

brun indique la présence d'alcaloïdes, et l'apparence d'une mousse indique la présence de saponines.

Les résultats de test phytochimique par (Haddochi, 2007) montre que les feuilles du *Laurus* sont plus riches en tanins, aussi la présence de flavonoïdes, saponosides et des alcaloïdes. La présence des flavonoïdes dans le *Laurier* est confirmée par les données de (Roulier, 2005). *Laurusnobilis* apparaissent donc être des plantes riches en métabolites secondaires, largement utilisées en médecine traditionnelle pour combattre et guérir différents maux. Le pouvoir antimicrobien du laurier peut être expliqué par la présence des huiles essentielles, des tanins et des flavonoïdes (Haddochi, 2007).

Les effets anti-inflammatoire, anti-spasmodique, anti-infectieuse et diurétiques de ce plante peuvent être attribués à leur richesse en flavonoïdes et en saponosides. Tandis que la présence des alcaloïdes dans les feuilles du laurier peut expliquer leurs effets stimulants (Haddochi, 2007).

Une exploitation de ces propriétés pharmacologiques implique une recherche plus poussée de ces principes actifs, par la mise en œuvre des techniques d'extraction, de purification, de séparation, de recristallisation et d'identification (Haddochi, 2007).

### III.2. Les rendements des extraits

Le rendement d'une extraction se calcule par le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de la matière première végétale traitée. Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R\% = ([MEX] / [MMV]) \times 100$$

MMV : masse de la matière végétale séchée en (g).

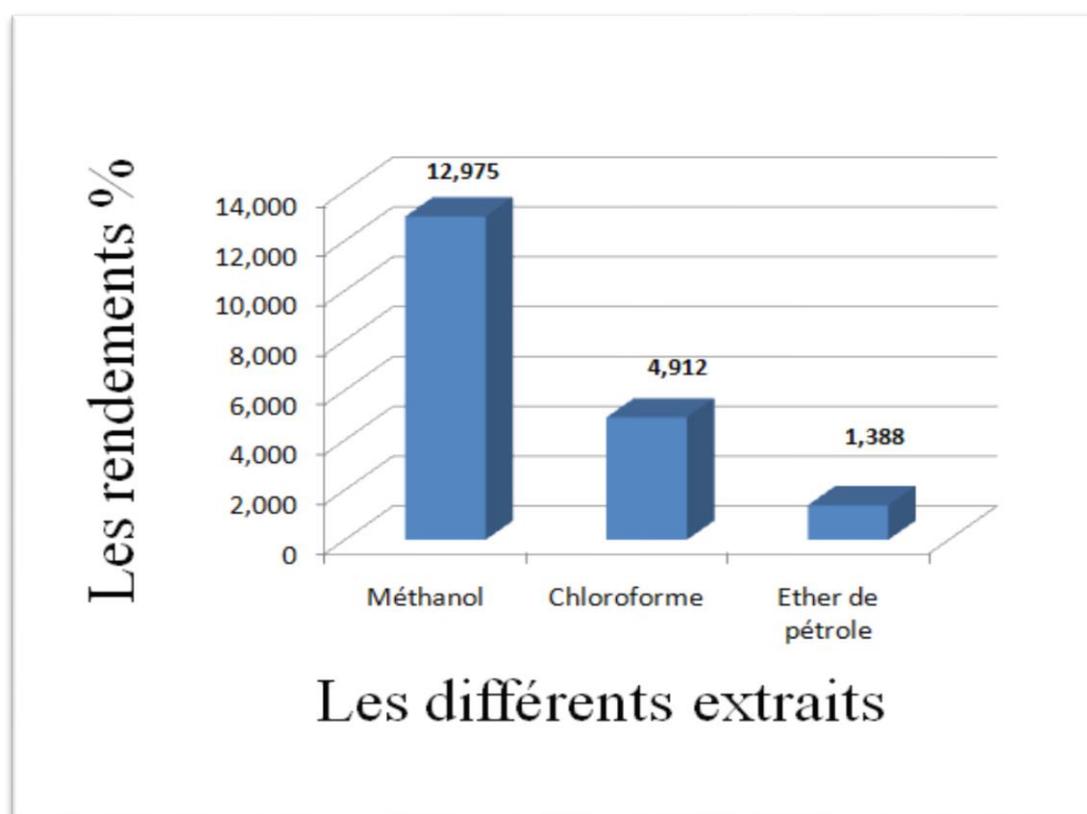
MEX : masse de l'extrait obtenu après évaporation en (g).

Les rendements des extraits préparés des feuilles *Laurus* par les différents solvants (méthanol, chloroforme, éther de pétrole), avec l'aspect et la couleur de chaque extrait sont présentes dans le tableau suivant:

**Tableau N° 05 :** Les rendements, couleur et aspect, masse de chaque extrait de *Laurus nobilis*.

Les extraits	Couleur et aspect	Masse en g	Rendement % (m/m)
Méthanol	Vert foncées et sec	12,975	12,975
Chloroforme	Vert foncées et sec	4,912	4,912
Ether de pétrole	Vert foncées et visqueuse	1,388	1,388

Les rendements des extraits en fractions organiques varient de 1,388% à 12,975%, nous présentons les résultats dans l'histogramme ci-dessous (Figure N°18).



**Figure 18 :** Les valeurs des rendements obtenus pour les différents extraits.

Selon les résultats du tableau et de l'histogramme on remarque que les rendements varient d'un extrait à l'autre. Cela veut dire qu'il y a une différence de diffusion du solvant dans la poudre de la plante dans l'étape de macération et probablement à la nature des solvants utilisés pour l'extraction.

L'extrait des méthanolés représentées le rendement le plus élevés 12,975%, la suite c'est l'extrait de chloroforme 4,912%, ensuite l'extrait de éther de pétrole 1,388%, qui possède le rendement le plus bas, suggèrent une plus grande présence de métabolites secondaires moyennement polaires dans les deux extraits méthanol et le chloroforme.

Les résultats obtenus peuvent être expliqués par la différence de solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, à leur degré de polymérisation ou à leur implication dans d'autres structures moléculaires formant ainsi des complexes insolubles (Cacace et Mazza, 2000).

Le résultat de rendement d'extraction, qui ont trouvé à partir de la méthode d'extraction des feuilles de *Laurus nobilis* avec le méthanol est proche de celui déterminé par (Ayman *et al.*, 2019), ont révélé que le rendement par une macération en (80%) de méthanol est égal à (15,49%), et très loin par rapport aux résultats d'étude de (Humaira *et al.*, 2019), (MeOH 52%) de rendement.

En outre, le rendement d'extraction de chloroforme est légèrement similaire à celui obtenu par (Yakhlef, 2010) par dichlorométhane, où elle était 2.96 %, et pour le résultat de rendement d'extraction de éther de pétrole étaient inférieurs de résultats de (Yakhlef, 2010) (4.59%).

La bonne solubilité a été détectée dans le méthanol, puisque la polarité des solvants utilisés est influencée par la solubilité différentielle des différents composés phénoliques et d'autres métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique et ses fractions (Garciasalaset *al.*, 2010).

Le rendement qui est lié à la quantité de métabolites présents dans la plante n'est que relatif et dépend des propriétés génétiques, de l'origine géographique, la durée de stockage, la récolte et de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee *et al.*, 2003), et le pH et la température du milieu, le temps d'extraction (Quy Diem Do *et al.*, 2014).

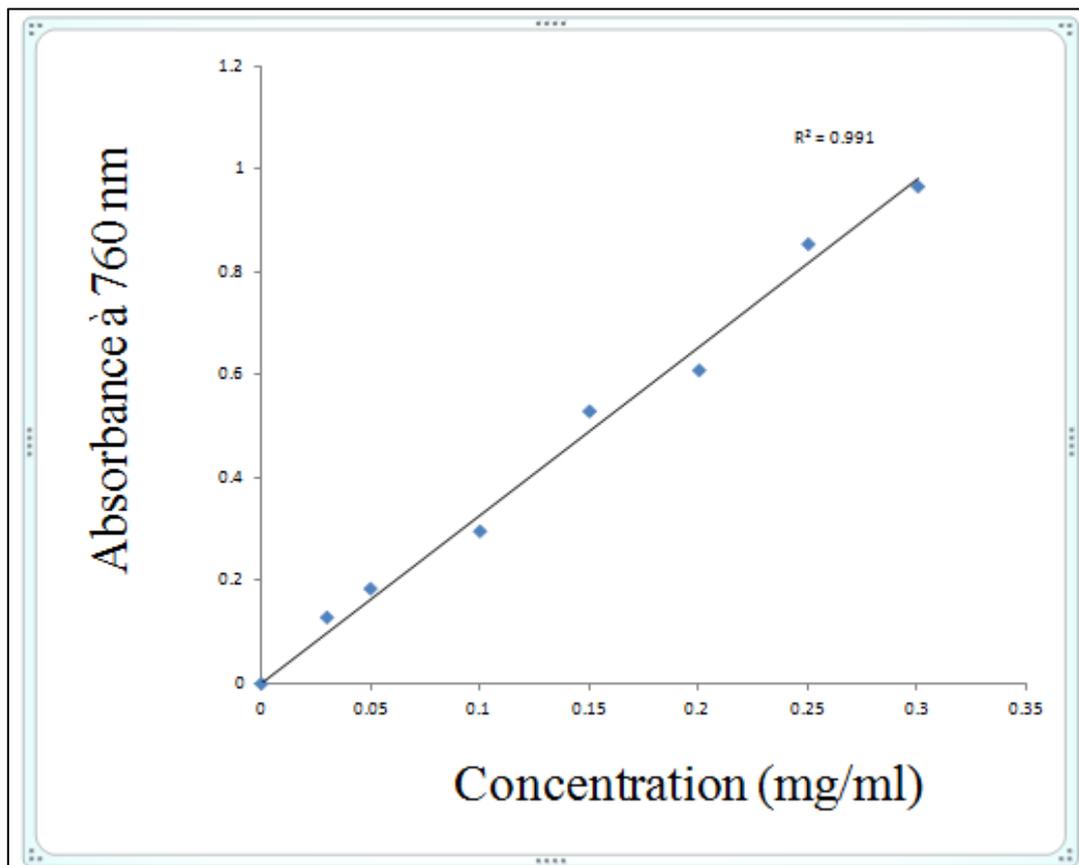
### III.3. Le dosage des composés phénoliques

#### III.3.1. Dosage des phénols totaux

L'étude quantitative des extraits bruts, préparés à partir des feuilles de *Laurus nobilis*, au moyen des dosages spectrophotométriques avait pour l'objectif de la détermination de la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax+b$ ) (Figure N°19) et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g ES, (échantillon sec), réalisée à différentes concentrations. Le dosage a été effectué selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (Singleton *et al.*,1999), la mesure de la densité optique a été effectuée à une longueur d'onde de 760nm.



**Figure 19** : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**Tableau N° 06** : Résultats du dosage des phénols totaux des extraits de *Laurus nobilis*.

Les extraites	La teneur mg/g
Méthanol	8.30 ±00
Chloroforme	5.98±00
Ether de pétrole	5.41 ±0.26

On observe à partir des résultats obtenus (Tableau06), il ya un variabilité des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits, selon le solvant utilisé. Dans le tableau, les teneurs en phénols totaux enregistrés en équivalent d'acide gallique en (mg/g), d'extrait, montrent des proportions allant de 5,41 à 8,30; mg/g de poudre de *Laurus nobilis*.

Le méthanol représenté l'extrait qui est le plus riche en phénols totaux  $8.30 \pm 0.26$  mg/g d'extrait, et le chloroforme avec une teneur  $5.98 \pm 0.26$  mg/g, suivi par l'éther de pétrole avec une teneur  $5.41 \pm 0.26$  mg/g. D'une manière générale, l'estimation de la teneur phénols totaux, indique que cette plante est riche en ces composés.

Les polyphénols sont des classes de molécules caractérisées comme l'indique son nom par la présence de plusieurs groupes phénoliques associée en structures plus au moins complexes, sont solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants moins polaires (Macheix *et al.*, 2005), ainsi les solvants qui ont donné les teneurs les plus élevées sont le méthanol et le chloroforme qu'ils ont une polarité plus élevée. Par rapport aux résultats obtenus, nos résultats sont relativement similaires avec les résultats de (Ana *et al.*, 2015), ( $14,37 \pm 0,79$  mg EAG/g d'extraits). Mais sont étaient inférieurs à ceux trouvés par (Yakhlef, 2010), ayant obtenu des teneurs en polyphénols de l'extrait méthanolique, ( $166,81 \pm 8,69$  mg EAG/g), quant au chloroforme sont loin que les résultats (Yakhlef, 2010), ( $40.63 \pm 3.02$  mg EAG/g) par le dichlorométhane. En autre côté il y a les résultats de (Speroni E *et al.*, 2011) qui ont montré que la valeur de teneur des phénols totaux d'extrait de chloroforme ( $0.36 \pm 0.01$  mg L<sup>-1</sup> EAG/g d'extraits) pour la même plante, qui sont très loin par rapport nos résultats. La même chose pour l'extrait d'éther de pétrole, nos résultats sont inférieurs par rapport le résultat de (Yakhlef, 2010) ( $33.18 \pm 0.65$  mg EAG/g). Ainsi, il y a des résultats de (Boutoumou et Ziat, 2020) pour le même espèce avec l'extrait d'éther de pétrole qui montre, un taux supérieur par rapport nos résultats ( $21,27 \pm 0,02$  mg EAG/g).

La variation du taux de polyphénols peut être due à la diversité aux différents procédés d'extraction tels que; le type de solvant, la température et le temps d'extraction (Popovici *et al.*, 2009), ou peut être dues à la faible spécificité du réactif de «Folin Ciocalteu» qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique (Saidi, 2019). Il a été montré que le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénolique, mais également de certains sucres et protéine. La teneur phénolique d'une plante dépend aussi avec certains facteurs tels que, les conditions climatiques, les conditions de stockage (Saidi, 2019).

### III.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> (Yi *et al.*, 2007), à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) (Figure N°20) et est réalisée avec des solutions étalons de la rutine à différentes concentrations (mg ER /g ES).

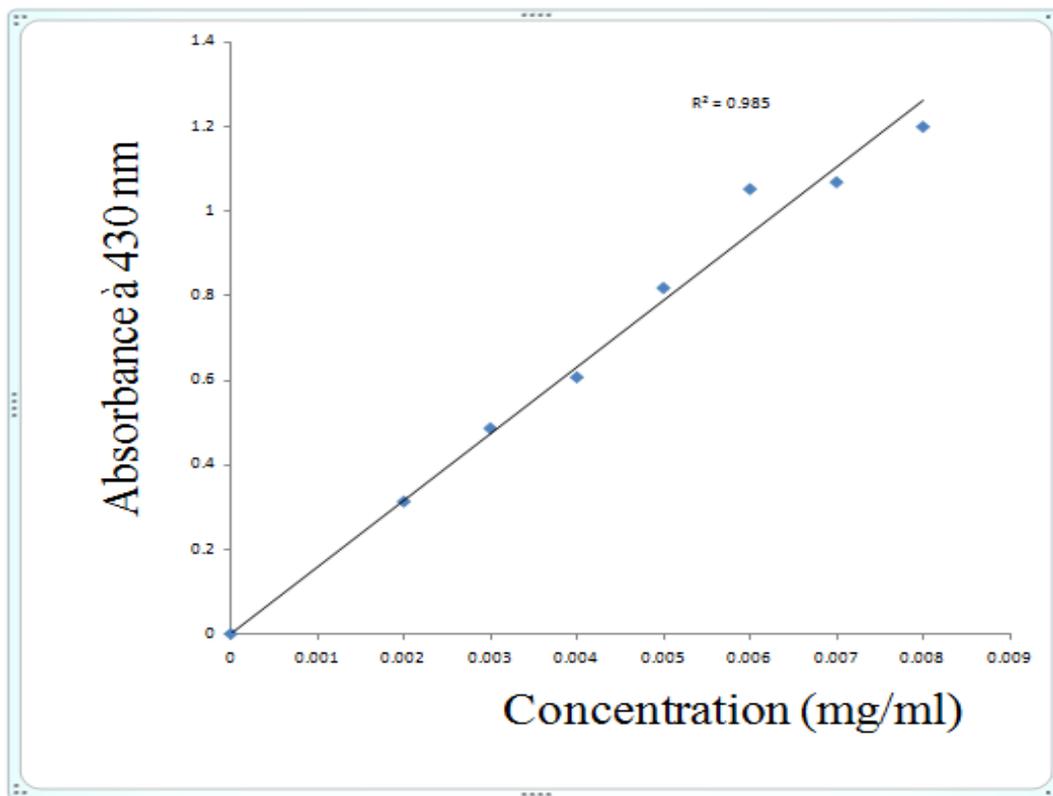


Figure 20 : La courbe d'étalonnage de rutine.

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 430 nm, les résultats sont portés sur le (Tableau N°07).

Tableau N° 07 : Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits de *Laurus nobilis*.

Les extraits	La teneur mg/g
Chloroforme	0.0752±00
Méthanol	0.0748 ±00
éther de pétrole	0.0034 ±0.001

Suivant le tableau on remarque que les teneurs des flavonoïdes dans les trois extraits sont très faibles proportionnées vont de 0.0034 à 0.0752 mg/g , la valeur la plus élevée a été détecté dans les deux extraits le chloroforme (0.0752; mg/g) et le méthanol(0.0748; mg/g), avec une valeur presque similaire par contre la quantité enregistrée pour l'extrait de l'éther de pétrole(0.0034; mg/g) reste la plus faible. Alors les différentes teneurs des flavonoïdes totaux des feuilles de *Laurus*, révèlent que cette plante est pauvre en flavonoïdes.

Nous pouvons expliquer la différence des résultats entre les extraits d'une part, par le nombre différent des structures sécrétoires dans les divers tissus végétaux d'autre part, par la sélectivité de chaque solvant utilisé pour le fractionnement, car les flavonoïdes constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques, dont certaines classes sont solubles dans les solvants polaires tandis que, d'autres (les flavonoïdes aglycones) sont solubles dans les solvants apolaires donc on peut dire que *Laurusnobilis* possède les flavonoïdes polaires qu'apolaires (Macheix *et al.*, 2006; Kaurinovic et vastag, 2019; Gulcin, 2020).

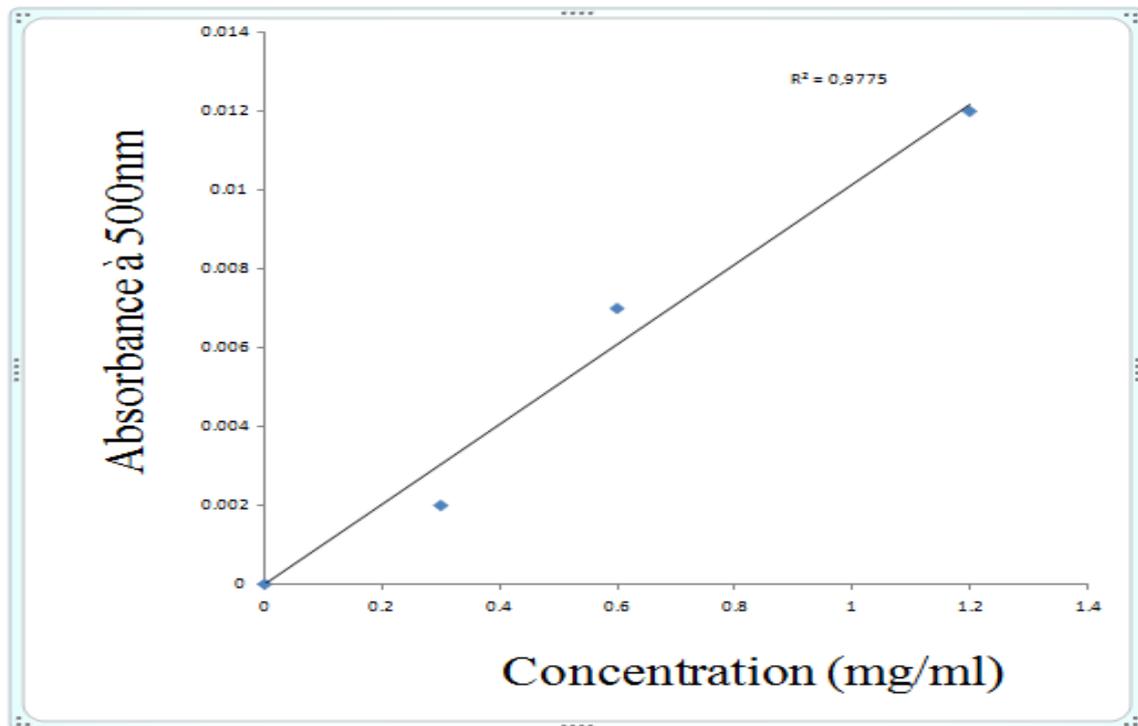
L'étude qui a été réalisée par (Yakhlef, 2010) sur les feuilles de la même espèce a trouvé un teneur importante en flavonoïde pour l'extrait méthanolique ( $4,75 \pm 0,03$ ; mg EQ/g d'extraits) par rapport à nos extraits. De plus l'extrait de chloroforme qui a été trouvé par (Biljana Kaurinovic *et al.*, 2010), ( $1,02$  mg EQ/g d'extraits) est proche par rapport à nos résultats, et le résultat de (Yakhlef, 2010) par le dichlorométhane extrait ( $14,45 \pm 4,15$ ; mg EQ/g d'extraits) est très supérieure que nos résultats. Aussi le flavonoïde de l'extrait d'éther de pétrole de notre plante est inférieur à ceux obtenus par (Yakhlef, 2010), ( $0,77 \pm 0,13$ ; mg EQ/g d'extraits). De nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre les quantités de flavonoïdes et l'activité antioxydante (Cakiret *et al.*, 2003).

Il est important de souligner que l'utilisation de plante d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les études.

### III.3.3. Dosage des tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés de chaque extrait ont été déterminées, par l'utilisation de réactif de la vanilline, à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) réalisée avec des solutions étalons de l'acide tannique à différentes concentrations (mg EAT/g extrait). La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant (Macheix *et al.*, 2005).

La densité optique est mesurée à la longueur d'onde 500 nm, et les résultats obtenus sont présentés dans la Figure N°21 et les valeurs sont indiquées dans le Tableau N°08.



**Figure 21 :** La courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

**Tableau N° 08 :** Résultats du dosage des tanins condensés des extraits de *Laurus nobilis*.

Les extraits	La teneur mg/g
Chloroforme	39.253 ±00
Méthanol	27.043 ±00
Ether de pétrole	1.714 ±0.9

Les teneurs des tanins condensés varient considérablement dans les différents extraits, les teneurs allant de 1.714±0.9 jusqu'à 39.253 mg EAT/g d'extraits. En outre, les extraits chloroforme et le méthanol présentent les plus hautes teneurs avec des valeurs de 39.253 mg EAT/g d'extraits et 27.043 mg/g respectivement, par contre la plus faible teneur a été détectée dans l'extrait de éther de pétrole avec 1.714 mg EAT/g d'extrait.

Les proanthocyanidines ou tanins condensés sont une classe de composés phénoliques composés qui sont des oligomères et des polymères du flavan-3-ol unités monomères. Il a été rapporté qu'ils possèdent divers activités biologiques, telles que l'activité antioxydante (Vinson *et al.*, 1995).

Selon (Guerdouh G, 2017), la teneur des tanins sur les feuilles de la même espèce pour l'extrait de méthanol c'est ( $4.52\text{mg} \pm 0.07 \text{ mg EQ/g}$  d'extraits) sont très inférieur par rapport à nos extraits ( $27.043 \pm \text{mg EAT/g}$  d'extrait), aussi les résultats obtenu par (OlfaOuchikhetal., 2011), qui a donné ( $3.4 \pm 0.07\text{mg EC/g}$  d'extraits), c'était moins que nos résultats. L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires.

Plusieurs facteurs influencent la teneur en composés phénoliques d'une plante, d'une part les facteurs internes ou endogènes tels que les facteurs génétiques conduisant à des différences importantes entre les espèces du même genre, d'autre part, ils peuvent être d'origine géographique, où dues aux conditions climatiques ou de stockage, à la période de maturité à la récolte, et aussi à la technique d'extraction employée.

Tous les résultats obtenus montrent que la partie aérienne de notre plante présente une quantité intéressante des composés phénoliques. Nous comparons les résultats des composées phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins) contenus dans notre plante étudiée dans l'histogramme ci-dessous, (Figure N°22).

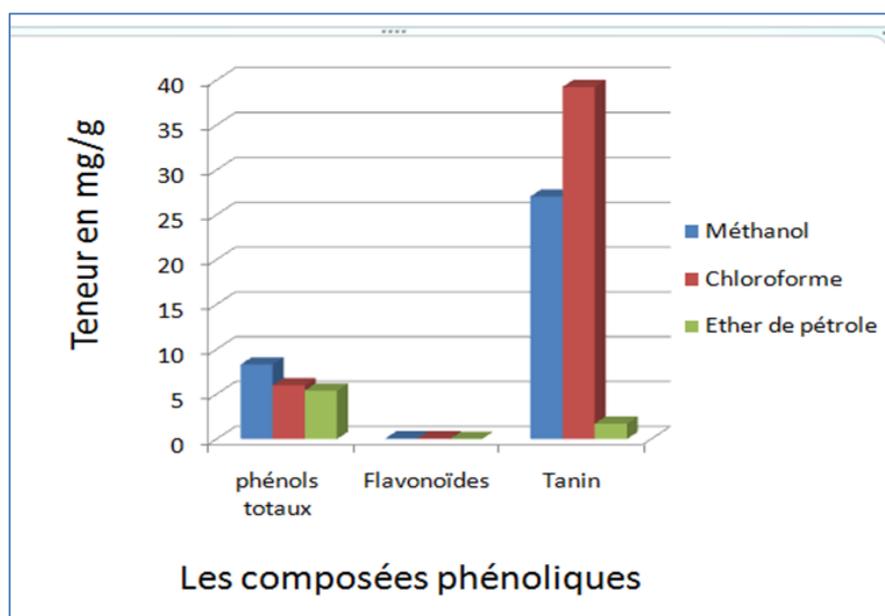


Figure N° 22 : Comparaison entre les composés phénoliques.

La comparaison des teneurs des phénols totaux dans les extraites, on observe que l'extrait de MeOH le plus élevées que les autres, cela indique que le phénol a une solubilité élevée dans le méthanol.

Les flavonoïdes ont enregistré des pourcentages beaucoup plus faibles que les phénols totaux et les tanins. Selon (Kouamé *et al.*, 2021) les résultats des teneurs en flavonoïdes dépendent de la maturité des feuilles et de leurs stades d'évolution (feuilles ouvertes ou non), et également de la polarité des solvants utilisés.

Dans les tanins, on remarquons le pourcentage le plus élevée pris par le chloroforme, ce qui explique la solubilité des tanins dans cet solvant. De plus, la différence de polarité joue un rôle très important. Aussi les tanins sont enregistré des pourcentages plus haut que ceux enregistrés par les phénols totaux. Ce résultat peut être interpréter par le fait que ces composés phénoliques contiennent d'autre composés outre les flavonoïdes et les tanins.

L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de la poudre de feuilles selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction (Haddochi, 2007).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. La méthode d'extraction affecte également tout le contenu total en phénols et flavonoïdes et l'activité antioxydante (Lee *et al.*, 2003).

### III.4. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante dépend de la mobilité des atomes d'hydrogène du groupe hydroxyle des composés phénoliques. En présence d'un radical libre DPPH, l'atome H est transféré sur ce dernier ainsi transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également de l'absorbance pendant le temps de réaction à l'appauvrissement du donneur d'hydrogène donc de sa capacité antioxydante. Le DPPH a une couleur violette mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydants, sa couleur vire au jaune pâle. Le virage vers cette coloration et son intensité dépendent de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance antiradicalaire (Prakash *et al.*, 2007).

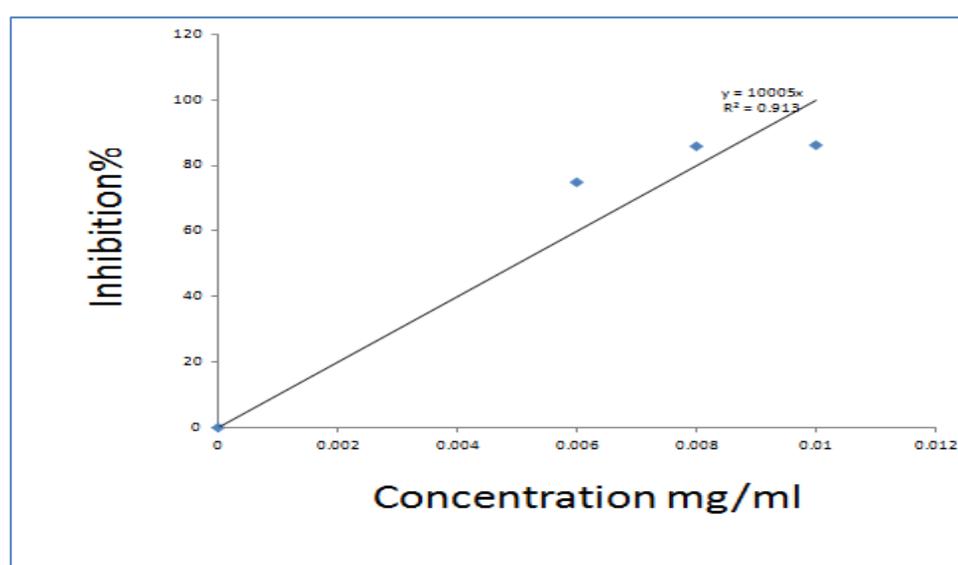
L'activité antioxydante des extraits de plante étudiée et le antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'unspectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517 nm.

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires. Les pourcentages d'inhibition des radicaux libres ainsi que les valeurs EC50 (autrement appelée concentration inhibitrice à 50%). L'inhibition radicalaire de DPPH est généralement présentée par la valeur EC50, celle-ci est la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH• présent dans le milieu réactionnel.

Les EC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. Elle est exprimée en milligramme d'extrait par gramme de DPPH (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999; Prakash *et al.*, 2007). Le EC 50 a été calculé à partir l'équation de la courbe voir les (Figure N°23) et le (Tableau N°09).

**Tableau N° 09 :** Les valeurs des EC50 des différents extraits.

Extraits et antioxydant de référence	EC50(mg/ml)	EC50(µg/ml)
La vitamine C	0.004998±0.009	4.998±0.009
Méthanol	0.027218±00	27.218±00
Ether de pétrole	0.04417±0.08	44.17±0.08
Chloroforme	0.17319±00	173.19±00



**Figure N° 23 :** Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Vitamine C.

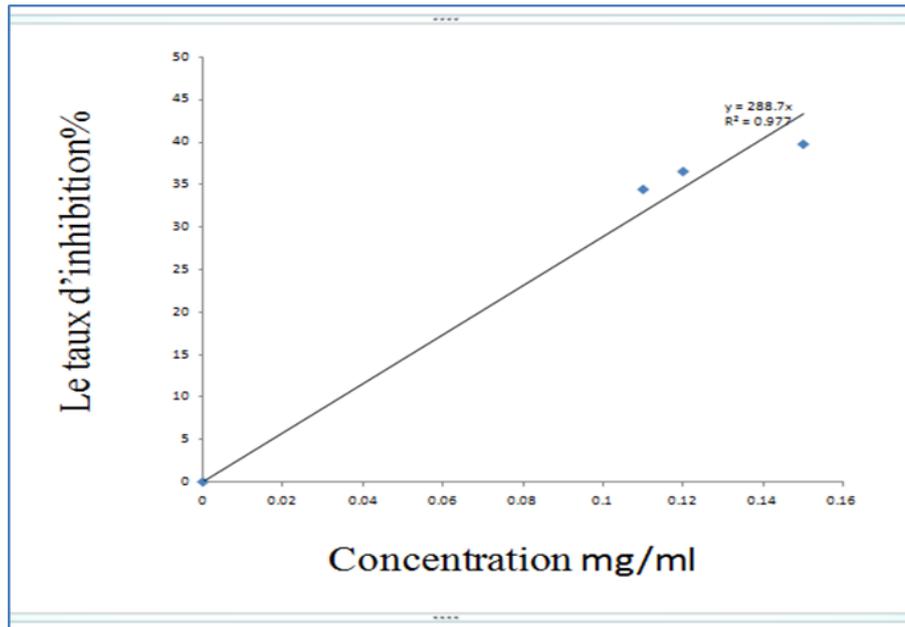


Figure 24 : Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration de chloroforme

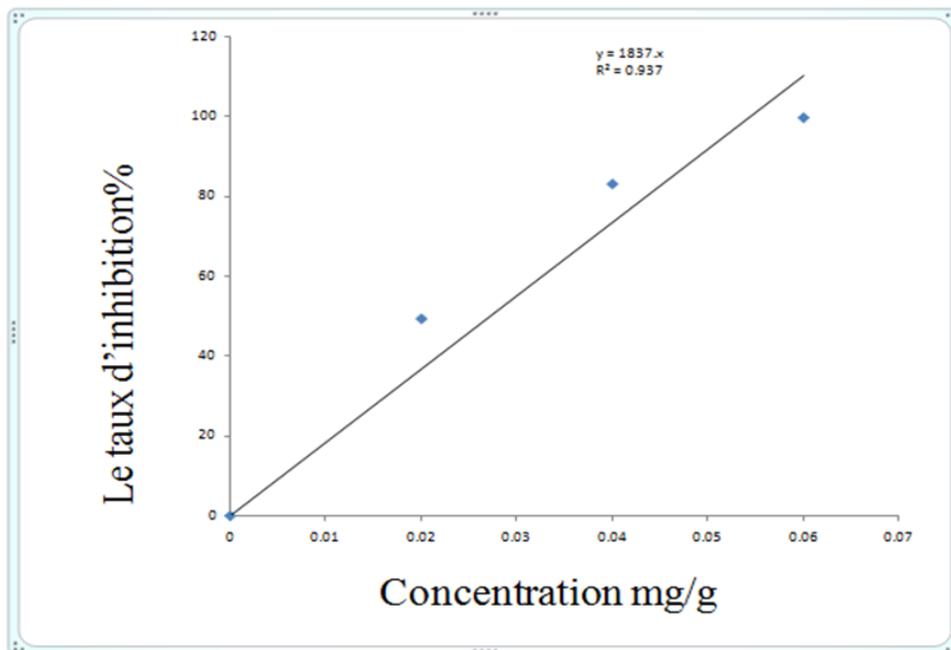
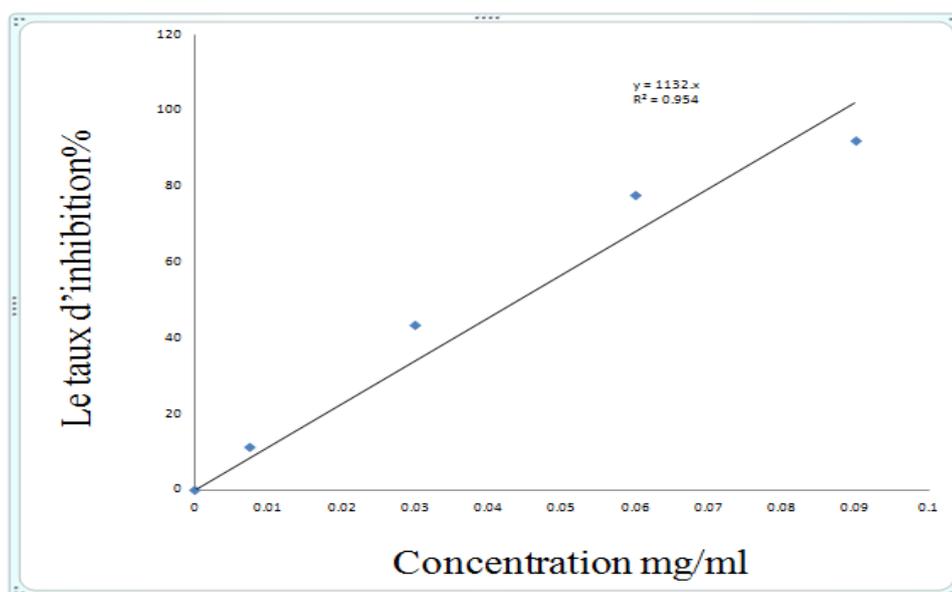


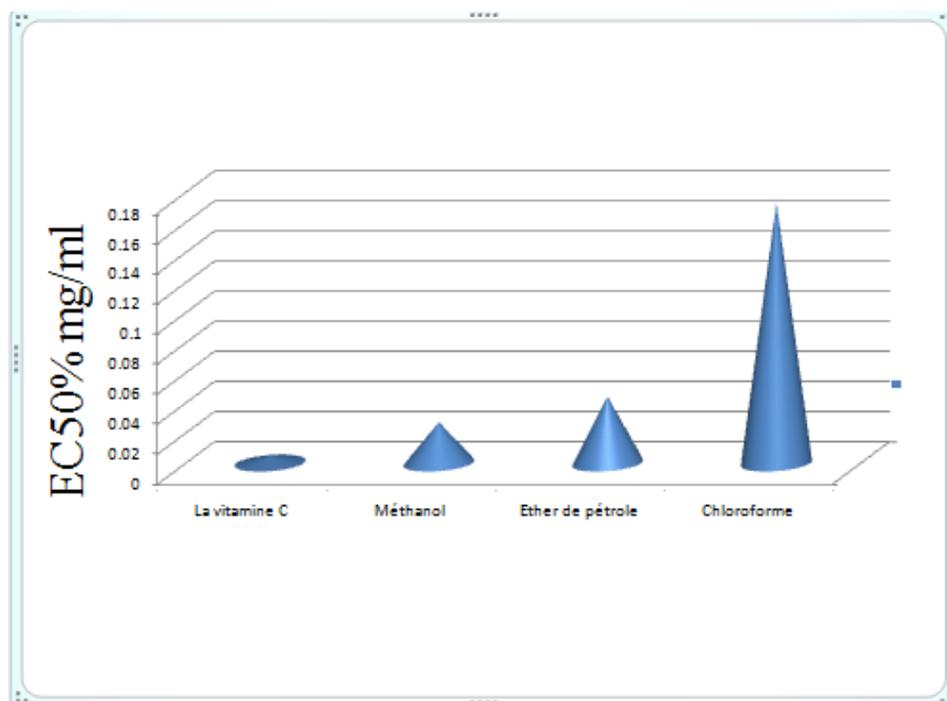
Figure 25 : Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Méthanol



**Figure N°26** : Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration en Ether de pétrole.

Une faible valeur d'EC50 indique une activité antioxydante forte, les résultats des tests ont montré que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres augmente avec l'augmentation de la concentration pour le produit témoin d'acide ascorbique (vitamine C) ainsi que les extraits testés. L'extrait de méthanol a montré la EC50 est de 0.027218 mg/ml, qui était la plus active, ensuite l'extrait de éther de pétrole avec 0.04417mg/ml, enfin l'extrait de chloroforme qui a enregistré la plus faible activité anti radicalaire 0.17319mg/ml.

En comparant nos résultats de EC50 de l'extrait méthanol avec les résultats de (Yakhlef, 2010) dans la même plante, nous constatons que nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par (Yakhlef, 2010) ( $6.33 \pm 0.136$  EC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )), également pour l'extrait d'éther de pétrole, nos résultats sont inférieurs que le résultats de (Yakhlef, 2010) ( $94.44 \pm 5.502$  EC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )), aussi l'extrait de chloroforme a montré des résultats proches que ceux résultats de (Yakhlef, 2010) par l'extrait de dichlorométhane ( $189.42 \pm 8.59$  EC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )), et nous pouvons déduire que l'extrait méthanolique de la plante de notre région est un très bon antioxydant. La (Figure N°26) éclairci l'efficacité des extraits et d'acide ascorbique à piéger le radical DPPH, exprimé en EC50 des extraits.



**Figure 27 :** L'EC50 de différents extraits et de antioxydant de référence.

La forte inactivation des radicaux DPPH par les polyphénols présents dans les feuilles de *Laurus nobilis* pourraient s'expliquer par le degré élevé de corrélation qu'est observé entre la teneur totale en phénol et la capacité de l'extrait méthanol à neutraliser les radicaux DPPH. Ceci est indiqué par le fait que les composés phénoliques jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres qui se produit par le mécanisme du transfert d'hydrogène (Kaurinovicet *al.*,2019).

L'activité antioxydante dans l'extrait de chloroforme s'est montrée assez faible pour la réduction des radicaux libres du DPPH malgré la teneur en phénol totaux importante. L'absence d'une activité antioxydante dans cet extrait, est effectivement liée à la structure chimique des leurs phénols car plusieurs études ont été réalisées sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piègeur des radicaux libres ont montré que l'activité antiradicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, glycosyles) et le degré de polymérisation(Amarowicz *etal.*, 2000).

L'extrait d'éther de pétrole présente une activité aussi importante par rapport auantioxydant de référence, ceci est peut être dû à sa composition car cette fraction assez complexe dans leur composition et peuvent contenir différents composés agissant indépendamment ou en synergie.

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antioxydant de certaines extraits de *Laurus nobilis*, on cite celles de (Vardapetyan *et al.*, 2013) qui a trouvé un  $EC_{50}=25.3\mu\text{g/ml}$  de l'extrait des feuilles qui est plus proche de nos résultats de l'extrait méthanol.

D'une autre coté (Khorsi, 2015) indiquent que l'extrait brut éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un  $EC_{50} 0,198\mu\text{g/ml}$ .

L'activité antioxydante des extraits méthanolique (bruts et graissés) des feuilles, d'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* ont été étudiés au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche présentées une activité antioxydante. L'extrait dégraissé des feuilles montré une inhibition plus élevée du LP que l'extrait brut et que tous les autres extraits et le maximum de son activité (68,4%) a été atteint avec une plus petite quantité (2,0 mg) (Simiet *et al.*, 2003).

**Conclusion**

### Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale, et la recherche concernant les composés phénoliques fait l'objet d'une forte stimulation au cours des dernières années, ainsi qu'ils sont une source biologique active naturels, et également le besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Dans ce travail, nous nous intéressons à l'étude phytochimique par le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, tanins, suivi par l'évaluation d'activité biologique comme l'activité antioxydante, par les extraits (Ether de pétrole, Chloroforme, Méthanol) des feuilles de *Laurusnobilis*, qui sont utilisées largement en médecine traditionnelle à travers le monde.

L'étude phytochimique a permis de détecter les différentes familles de composés chimiques existantes dans les feuilles du *Laurusnobilis*, la présence des tanins en quantité plus élevée, avec des flavonoïdes, des saponosides et des alcaloïdes.

Sur la base des résultats obtenus pour les rendements en extraits a montré une rentabilité importante en extraits polaires (MeOH) par (12,975%), alors qu'elle s'affaiblit en passant aux extraits apolaires (Chloroforme et Ether de pétrole) par (4,912%, 1,388%) respectivement.

À propos de l'analyse quantitative des polyphénols totaux l'extrait de MeOH le plus élevée que les autres par (8.30 mg/g d'extrait), cela indique que le phénol a une solubilité élevée dans le méthanol.

Les flavonoïdes indiquent des pourcentages vont de (0.0034 à 0.0752 mg/g) beaucoup plus faibles que les phénols totaux et les tanins dans les trois extraits.

Dans les tanins, le pourcentage le plus élevée pris par le chloroforme et l'extrait de méthanol par (39.253, 27.043 mg/g) respectivement, ce qui explique la solubilité du tanin dans ces solvants. Aussi les tanins sont enregistrés des pourcentages plus haut que ceux enregistrés par les phénols totaux.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode du DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les composés phénoliques dans l'extrait méthanolique, sa valeur d'EC50 la plus importants est égale à 0.027218 mg/ml suivi par l'éther de pétrole avec EC50 0.04417mg/ml puis le chloroforme moins important le EC50 0.1731 mg/ml.

Ce test montre la plante possède une activité antioxydante très élevée, cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits en composés phénoliques, (les phénols totaux les flavonoïdes, et les tanins).

En perspectives,

Nos résultats préliminaires montrent que certains des extraits testés témoignent d'activités antioxydantes *in vitro*, d'autres études approfondies sont nécessaires et se résument dans les points suivants :

- 1) Ces résultats peuvent être considérés comme un point de départ pour la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives.
- 2) La substance peut être très active *in vitro*, puis perdre cette activité une fois pénétrée dans le corps, c'est pourquoi il est conseillé de mener une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue globale sur l'activité antioxydante des extraits testés.
- 3) Isolement des composés actifs dans les différents extraits par des méthodes plus spécifiques.
- 4) Évaluation d'autres effets biologiques *in vitro* comme *in vivo* des extraits et de leurs composés actifs en utilisant différentes techniques.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

1. **Adjaj, M. (2018).** *Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Paronychia argentea L* (Doctoral dissertation).
2. **AICHAOUI, S., & Hanane, A. B. E. O. U. B. E. (2019).** *Etude phytochimique et activité biologique des extraits de l'espèce Lavandula angustifolia Mill. Dans la région Est d'Algérie (Batna)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
3. **Akhlaghi, M., & Foshati, S. (2017).** Bioavailability and metabolism of flavonoids: a review. *International Journal of Nutrition Sciences*, 2(4), 180-184.
4. **Alvarez, M. A. (2016).** *Plant biotechnology for health*. Springer International Pu. p1, 15-18.
5. **Ameni, D. (2018).** *Effets antioxydants des extraits de la plante médicinale daphne gnidium L. utilisée en Algérie* (Doctoral dissertation).
6. **Arroyo-García R., Martínez-Zapater J. M., Prieto J. F., & Álvarez-Arbesú R. (2001).** AFLP evaluation of genetic similarity among laurel populations (*Laurus L.*). *Euphytica* 122(1): 155-164.
7. **Azimzadeh, B., & Jahadi, M. (2018).** Effect of chitosan edible coating with *Laurus nobilis* extract on shelf life of cashew. *Food Science & Nutrition*, 6(4), 871-877.
8. **Baba Aissa, F. (1991).** Les plantes médicinales en Algérie: Identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel de plantes communes en Algérie. *Bouchène et Ad.* p90.
9. **Babulka, P. (2007).** Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales: de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie*, 5(3), 137-145.
10. **Baghiani, A., Belkhiri F. (2018).** plantes médicinales activités antioxydantes et antibactériennes. P 4-9, 13, 20-24, 66, 67.
11. **Ballabio R., & Goetz P. (2010).** Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis L.*, *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, JC Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie* 8(2): 141-144.
12. **Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., & Kingston D. G. (2007).** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis L.* *Food chemistry* 104(4): 1478-1484.
13. **Bayar Y., Onaran A., Yilar M., & Gul F. (2018).** Determination of the essential oil composition and the antifungal activities of bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) and bay laurel (*Laurus nobilis L.*). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 21(2): 548-555.
14. **Bekhti, Nabila.(2021).** Caractérisation physico-chimiques des polyphénolset alcaloïdes utilisés en médecine. *Diss*, 98-99.
15. **Belasli A., Ben Miri Y., Aboudaou M., AïtOuahioune. L., Montañes L., Ariño A., & Djenane D.(2020).** Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis L.*): Potential use as wheat preservative. *Food Science & Nutrition* 8(9) : 4717-4729.
16. **Belhadj, Samah., Chettab, Saida., Djaoui , Nessrine.(2020).** Activités antioxydantes et antibactériennes des extraits et des huiles essentielles de deux plantes médicinales: *Laurus nobilis* et *Eucalyptus globulus*. *Diss, Université de Jijel*, 13-15.

17. **Beloued. (2009).** Laurier ; Description ; Habitat ; Composition chimique. Dans plantes médicinales d'Algérie (p. 124).
18. **Bendjersi, Fatima Zahra. (2017).** Etude de la composition chimique des extraits de *Laurus nobilis* L. Diss, Faculté de Chimie, 3-4.
19. **Biallo,D., Sanogo,R., Yasambou,H., Traoré,Aminata., Coulibaly,Kassoum, Maïga,Ababacar.(2004)** Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). *C. R. Chimie.* 1076.
20. **Biren N. Shah, A.K. Seth. (2010).**Text book of pharmacognosy and phytochemistry. Elsevier. First Edition, Chapitre 2, p3-21,141-155.
21. **Bouayed, J., Rammal, H., Younos, C., Dicko, A., & Soulimani, R. (2008).**Caractérisation et bioévaluation des polyphénols: nouveaux domaines d'application en santé et nutrition. *Phytothérapie*, 6(2), 71-74.
22. **Bouderhem, Aida. (2015).** "Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) ,5-6.
23. **Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.
24. **Boutoumou B., Ziat S.(2020).**Etude phytochimique et l'évaluation in vitro de quelques activités biologiques d'une plante médicinale algérienne *Laurus nobilis* L (Faculté des Sciences de la Nature et de la vieDiplôme de MasterUniversité des Frères Mentouri Constantine1).
25. **BOUZIDI, O. (2021).** Efficacité comparée d'une plante médicinale,*Laurusnobilis* à l'égard de deux espèces demoustiques, *Culisetalongiareolata* et *Culex pipiens* (Doctoral dissertation).
26. **Bozan, B., & Karakaplan, U. (2007).** Antioxydants from laurel (*Laurus nobilis* L.) berries: Influence of extraction procedure on yield and antioxidant activity of extracts. *Acta alimentaria*, 36(3), 321-328.
27. **Briot, C. (2016).** Le laurier noble, plante des héros: aspects historiques, botaniques et thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
28. **Bruneton, J.(1993).** Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales, p5.
29. **Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L. F., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F., ... & De Feo, V. (2017).***Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. *Molecules*, 22(6), 930.
30. **Chaaben, H., Motri, S., & Ben Selma, M. Z. (2015).** Etude des Propriétés Physico-chimiques de l'Huile de Fruit de *Laurus nobilis* et Effet de la Macération par les Fruits et les Feuilles de *Laurusnobilis* sur les Propriétés Physico-Chimiques et la Stabilité Oxydative de l'Huile d'Olive. *J. New Sci. Agric. Biotechnol. JS-INAT*.
31. **Chabrier, J. Y. (2010).***Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
32. **Chaumon, M., Goëlo, V., Ribeiro, A. M., Rocha, F., & Estevinho, B. N. (2020).**In vitro evaluation of microparticles with *Laurus nobilis* L. extract prepared by spray-drying for application in food and pharmaceutical products. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 124-135.

33. **Conforti, F., Statti, G., Uzunov, D., & Menichini, F. (2006).**Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) coutinho seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(10), 2056-2064.
34. **Custodio, D. L., & da Veiga Junior, V. F. (2014).**Lauraceae alkaloids. *RSC Advances*, 4(42), 21864-21890.
35. **Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Speroni, E., Costa, S., Guerra, M. C., Stella, L., ... & Innocenti, G. (2009).** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. *Journal of medicinal food*, 12(4), 869-876.
36. DE QUELQUES, ARBRES ET ARBUSTES. "Description de Coste."
37. **Dieng, M., Fall, A. D., Diatta, K., Diatta, W., & Bassene, E. (2015).**Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopicum*, Mart.(Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2), 1067-1071.
38. **Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., & Elez Garofulić, I. (2022).** Isolation of *Laurus nobilis* Leaf Polyphenols: A Review on Current Techniques and Future Perspectives. *Foods*, 11(2), 235.
39. **Dupont, F., & Guignard, J. L. (2015).***Botanique: les familles de plantes*. Elsevier Health Sciences. p112.
40. **Edeas, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.
41. **El-Haoud, H., Boufellous, Moncef., Berrani, Assia ., Tazougart,Hind., Bengueddour,Rachid .(2018).**"Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L." *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, p227.
42. **Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986).**Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin of the World Health Organization*, 64(2), 159.
43. **Ferdjioui, S. (2020).***Activités biologiques de deux plantes médicinales Mentharotundifolia L. et Lamium amplexicauleL* (Doctoral dissertation).
44. **Gérard Ducerf.( 2003).** L' Encyclopédie des plantes bio-indicatrices, alimentaires et médicinales ,livre, volume 2;104.
45. **Ghazghazia, H., Chediab, A., Abderrazakb, M., & Brahima, H. (2013).** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiol Hyg Alim*, 25(73), 37-41.
46. **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
47. **Guerdouh, Ghania. (2017).** Propriétés physico-chimiques et antifongiques des extraits de deux espèces médicinales: Laurier noble (*Laurus nobilis* L) et laurier rose (*Nerium oleander* L). *Diss, université de jijel*, 25-26.
48. **Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2005).** Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 14(6), 509-516.

49. **Haddouchi, F. (2007).** *Contribution à l'étude des huiles essentielles de thymus fontanesii (zaâteur) de la région de Mostaganem et de laurus nobilis (rend) de la région de Tlemcen (nedroma) activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur conservation* (Doctoral dissertation, Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaïd. Faculté des Science).
50. **Hammiche, V., & Gheyouché, R. (1988).** Plantes médicinales et thérapeutiques. 1ère partie. p424m 431-432.
51. **Heissner, H. (1864).** Note Sur Les Lauracées. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 11(5), 173-177.
52. **Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
53. **Iserin, P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. *Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres.* p7-10, 225-226.
54. **Jemâa, J. M. B., Tersim, N., Toudert, K. T., & Khouja, M. L. (2012).** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, 48, 97-104.
55. **Julkunen-Titto, R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *J. Agric. Food Chem.*, p100.
56. **Kahouli, Imen. (2010).** "Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée." P37..
57. **Kaurinovic, B., Popovic, M., & Vlajsavljevic, S. (2010).** In vitro and in vivo effects of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Molecules*, 15(5), 3378-3390.
58. **Khodjaa, Y. K., Bachir-bey, M., Ladjouid, R., Katiac, D., & Khettal, B. (2021).** In vitro antioxidant and antibacterial activities of phenolic and alkaloid extracts of *Laurus nobilis*. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 11(3),
59. **Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., & Soro, Y. (2021).** Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpinaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1), 97-105.
60. **Koutouan, F. P., Yapi, Y. M., Wandan, E. N., Bodji, N. C., & N'da, K. P. (2019).** Composition en polyphénols totaux et en tanins des feuilles de neuf variétés de *Cajanus cajan* (L.) Millsp. au cours du premier cycle de croissance et en fonction du mode d'exploitation. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 882-898.
61. **Krief, S. (2003).** *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Doctoral dissertation, Muséum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).
62. **Kumar, N. (Ed.). (2018).** Biotechnological approaches for medicinal and aromatic plants: conservation, genetic improvement and utilization. *Springer*.
63. **Macheix, J. J. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle. *Acta botanica gallica*, 143(6), 473-479.

64. **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PUR presses polytechniques..p3-13.
65. **Madoui, S., Charef, N., Arrar, L., Baghianni, A., & Khennouf, S. (2019).** In vitro antioxidant activities of various extracts from flowers-leaves mixture of Algerian *Cytisus triflorus*.
66. **Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature & Technology*, (9), 35.
67. **Malti, C. E. W. (2019).** Etude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie: *Pituranthos scoparius* (Guezzah), *Santolina africana* (EL Djouada) et *Cymbopogon schoenanthus* (El Lemad). (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMCEM; Tlemcen).
68. **Martin, S. (2001).** La phytothérapie et les troubles digestifs (Doctoral dissertation, UHP- Université Henri Poincaré).
69. **Miara, M. D., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013).** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11(4), 206-218.
70. **Miliani, A., Boukhatem, M. N., & Saidi, F. (2017).** Chemical composition and Antimicrobial Activity of the Algerian *Laurus nobilis* Essential oil. *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2), 507-514.
71. **Moatti, R. (1990).** La phytothérapie. *Revue des Deux Mondes*. PP80-89 Sur.
72. **Mohammed, R. R., Omer, A. K., Yener, Z., Uyar, A., & Ahmed, A. K. (2021).** Biomedical effects of *Laurus nobilis L.* leaf extract on vital organs in streptozotocin-induced diabetic rats: Experimental research. *Annals of Medicine and Surgery*, 61, 188-197.
73. **Muñiz-Márquez, D. B., Martínez-Ávila, G. C., Wong-Paz, J. E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2013).** Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis L.* and their antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5), 1149-1154.
74. **Musa Özcan<sup>1</sup> and Jean-Claude Chalchat. (2005)** *Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (Laurus nobilis L.) leaves growing wild in Turkey.* 36th International Symposium on Essential Oils 253. 26.
75. **Noureddine, A., Saidat, B., Bakchiche, B., & Maatallah, M. (2015).** Etude comparative des indices d'activité antioxydante des essais du Cérium et du DPPH: Application sur trois plantes médicinales locales [Comparative study of antioxidant activity index by the tests of cerium and DPPH: Application on three local medicinal plants]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 13(3), 681.
76. **Ouedraogo, R. A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V. B. E. J. T., Outtara, L. P., ... & Nebie, R. H. (2015).** Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa L.*) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1), p283.

77. **Ouibrahim, A., KAKI, Y. T. A., Bennadja, S., Mansouri, R., KAKI, S. A., Khbizi, S., & Djebar, M. R. (2015).**Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L.* provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3), 209-216.
78. **Paris, M. (2010).** Phytothérapie: de l'ouverture à l'éclatement. *Phytothérapie*, 8(1), 1-2.
79. **Patrakar, R., Mansuriya, M., & Patil, P. (2012).** Phytochemical and pharmacological review on *Laurus nobilis*. *International journal of pharmaceutical and chemical sciences*, 1(2), 595-602.
80. **Perrot, É. (1891).**Contribution a l'étude histologique des Lauracées. imprimerie Lucien Declume.p7-12.
81. **Politeo, O., Jukić, M., & Miloš, M. (2007).** Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*Laurus nobilis L.*) compared to its essential oil. *Croatica chemica acta*, 80(1), 121-126.
82. **Rinaldo, R.(2012).** Certification, biocomplexité et valorisation des *Lauracées* de Guyane française (Doctoral dissertation, Antilles-Guyane).
83. **Saab, A. M., Guerrini, A., Zeino, M., Wiench, B., Rossi, D., Gambari, R., ...&Efferth, T. (2015).***Laurusnobilis L.* seedextractrevealscollateralsensitivity in multidrug-resistant p-glycoprotein-expressingtumorcells. *Nutrition and cancer*, 67(4).
84. **Sangun, M. K., Aydin, E., Timur, M., Karadeniz, H., Caliskan, M., &Ozkan, A.(2007).** Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurusnobilis L.* leaves and fruits fromdifferentregions of Hatay, Turkey. *Journal of EnvironmentalBiology*, 28(4).
85. **T. K. KOUAMÉ .,SIKA S., KASSIA.B.B et SORO.Y., (2021).** Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigmathonningii* (Caesalpinaceae) .Int. J. Biol. Chem. Sci. 15(1): 97-105.
86. **Tolba, Ibtissem.(2016).** Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus. Diss. Université du Québec à Trois-Rivières. P 9-12, 23-26, 33.
87. **Uchiyama, N., Matsunaga, K., Kiuchi, F., Honda, G., Tsubouchi, A., Nakajima-Shimada, J., & Aoki, T. (2002).**Trypanocidal terpenoids from *Laurus nobilis L.* *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 50(11), 1514-1516.
88. **USMANI, Q. I., Ahmad, A., & Jamaldeen, F. N. (2021).** *Laurus nobilis L.*,(Habb-ul-Ghar), A Review on Phytochemistry, Pharmacology and Ethnomedicinal Uses. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(5), 136-144.
89. **Verdu, C. (2013).***Cartographie génétique des composés phénoliques de la pomme* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
90. **Vétérinaires, A. (2013).** EFFET ANTIOXYDANT DE LA URUS NOBILIS L. *Membres du comité de lecture*, (04), 72-76.
91. **Yakhlef, G. (2010).***Etude de l'activite biologique des extraits de feuilles de Thymus vulgaris L. et Laurus nobilis L* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
92. **Zerargui, F. (2018).***Activité antioxydante des extraits de racines Tamus communis L. et caractérisation des substances bioactives* (Doctoral dissertation).

# **Annexes**

### Annexe 1

**Réactif de Mayer :**

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

**Photo des trois flacons des extraits**



**Figure 01:** Les trois extraits obtenus après épuisement par des solvants.