

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEM
وعلوم الأرض والكون كلية علوم الطبيعة والحياة،
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

ALLAOUI Abdelmoula

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques : Biochimie

Thème

**Etude phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des
feuilles de *Laurus nobilis***

Soutenu le 13 / 06 / 2022, devant le jury composé de :

Président :	M. LAHFA F. B.	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice :	M ^{me} CHAOUCHE née HADDOUCHI F.	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen
Promotrice :	M ^{lle} MEZOUAR D.	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

« Que ta nourriture soit ton médicament et ton médicament ta nourriture. »

Hippocrate

Remerciements :

A mon encadrante M^{lle} Mezouar Dounia, Enseignante et maitre de conférences A à l'université de Tlemcen

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de m'encadrer, de me suivre et de m'orienter très soigneusement tout au long de cette période de réalisation de mon projet de fin d'études.

Pour votre patience, votre professionnalisme, votre détermination de faire sortir le meilleur de nous-même, pour toutes les heures que vous avez passé aux salles de TD et aux amphithéâtres, pour toute votre gentillesse et en même temps votre sévérité et finalement pour les connaissances que vous nous avez transmis pendant notre parcours, Je vous témoigne mon plus profond respect et toute ma reconnaissance.

A Professeur Lahfa et M^{me} Chaouch, Maitre de conférences à l'université de Tlemcen

Je vous remercie pleinement d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance de mémoire.

Merci également pour tous vos efforts et votre dévouement à l'intérieur et en dehors de nos salles de cours malgré tout.

A ma Mère

Pour votre amour, votre patience, votre gentillesse et douceur.

Pour Tout !

A ma Sœur et mon Meilleur Ami à toujours, Boutheina et Ismail

Pour votre amour et soutien sans faille ainsi que notre complicité presque parfaite. Pour Tout !

A mes cousins, Kawther, Abdessamad, Sabrine, Meriem, Mohamed, Islem, Khaoula et Nour.

Dédicace :

À Djawed, Yazid, Boutheina, Ismail, Yacine, Abdessamad, Salah, cherifa, Zaki, Imad, Amina, Sohaib, Brahim, Saghah, Mounir, Mouhsen, Réda, Tarik, Ali, Maher, Naima, Fatiha, Zineb, Mehdi, Walid, Chaima, Rahim, Mohamed el Hadi, Souhila, Kawther, Sarah, Amira, Zineddine, Soufyane, Charaf, Meziane, Djihane, Rania, Shyrifa, Sanaa, Rawida, Asmaa, Bilal, Kamila, Rihab, Abdelmoula, Hicham, Alaa, Yassine, Yahia, Rayan.

À toutes les braves femmes que j'ai eu la chance de connaître.

À toutes les âmes pures que j'ai rencontrées.

À toutes les personnes que j'ai considérées un jour comme proches.

À tous ceux que je n'ai jamais pu dire désolé, je t'aime, je t'apprécie ou je te pardonne.

À tous ceux qui m'ont aidé, consolé ou bien motivé.

À la mémoire de mes deux grand parents, Khadîdja, Pr. Meziane Tani Abdelmalek ainsi que tous les chers qu'on a perdu d'une manière ou d'une autre.

المخلص

Laurus nobilis هو نبات دائم الخضرة غالبا ما يعرف باسم الرند أو ورق سيدنا موسى ، موطنه الأصلي في حوض البحر الابيض المتوسط. هذه الشجيرة التي تنتمي إلى عائلة Lauracées تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لخصائصه العلاجية والوقائية المختلفة.

ترتكز دراستنا بشكل أساسي على تقييم نشاط مضاد الاكسدة لأوراق الرند، وكذلك تحديد محتوى البوليفينول ومركبات الفلافونويد، مصحوبا بفحص كيميائي نباتي لتمييز الجزيئات الحيوية والمركبات ذات الأهمية البيولوجية القادرة على أن تكون سبب الخصائص العلاجية المتعددة لنبتتنا.

أظهرت اختبارات الفحص الكيميائي النباتي وجودًا كبيرًا للتانين في كلا المستخلصين الهيدروأسيون والهيروميثانولي من نباتنا.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال التحليل الكمي لمحتوى البوليفينول الفلافونويد الكلي أن مستخلص أوراق الرند الهيدروميثانوليكية تحتوي على كمية كبيرة من المركبات الفينولية (0.05 ± 422.22 GAE/ mg غ من البوليفينول و 0.01 ± 320.89 CEQ/ mg غ من الفلافونويد) على عكس ذلك، الهيدروأسيون أظهر محتوى منخفض إلى حد ما مقارنة بالسابق (0.02 ± 259.61 GAE/ mg غ من البوليفينول و 0.003 ± 206.14 CEQ/ mg غ من الفلافونويد).

بالنسبة لتقدير قوة مضادات الاكسدة، فقد تم تنفيذ طريقتين: طريقة تقليل الحديد FRAP، وأخرى تعتمد على النشاط المضاد للتأكسد DPPH ، وأظهرت النتائج أن جزء الهيدروميثانول له نشاط مضاد للأكسدة أعلى بكثير من جزء الهيدروأسيون في الختام، يمكننا أن نعتبر أن البوليفينول الفلافونويد هما العاملان الرئيسيان في التأثير على النشاط المضاد للأكسدة في نبات الرند

الكلمات المفتاحية: الرند، ورق سيدنا موسى، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينول، الفلافونويد.

Résumé

Plus connu sous le nom du Laurier noble ou bien Laurier sauce, *Laurus nobilis* L est une plante à feuillage persistant, originaire du bassin méditerranéen. Cet arbuste appartenant à la famille des Lauracées est très utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses diverses vertus thérapeutiques et préventives.

Notre étude porte principalement sur l'évaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Laurus nobilis* ainsi que la détermination de la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes, accompagnée d'un *screening* phytochimique pour pouvoir distinguer les biomolécules et les composés d'intérêt biologique, capables d'être à l'origine des multiples propriétés curatives de notre plante.

Les tests du *screening* phytochimique ont montré une présence notable en tanins dans les deux fractions hydroacétonique et hydrométhanolique de notre plante.

Les résultats obtenus lors de l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux ont démontré que l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *Laurus nobilis* est doué d'une teneur considérable en composés phénoliques ($422.22 \pm 0,05$ mg Eq AG/g en polyphénols et 320.89 ± 0.01 mg Eq C/g en flavonoïdes) contrairement à la deuxième fraction hydroacétonique, qui a manifesté une teneur plus au moins inférieure par rapport à l'autre (259.61 ± 0.02 mg Eq AG/g en polyphénols et 206.14 ± 0.003 mg Eq C/g en flavonoïdes).

En ce qui concerne la détermination du pouvoir antioxydant, deux méthodes ont été mises en place, celle de la réduction du fer FRAP et une autre reposant sur l'activité antiradicalaire DPPH. Les résultats ont montré que la fraction hydrométhanolique est douée d'une activité antioxydante plus puissante que celle associée à la fraction hydroacétonique.

En conclusion, nous pouvons considérer que les polyphénols et les flavonoïdes sont les acteurs clé influençant l'activité antioxydante de la plante *Laurus nobilis* L.

Mots-clés : *Laurus nobilis*, Activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

Mostly known as bay laurel or sweet bay, *Laurus nobilis* L is an evergreen plant, native to the Mediterranean basin, this shrub belonging to the Lauraceae family is widely used in traditional medicine for its various therapeutic and preventive properties.

Our study is mainly focused on the evaluation of the antioxidant activity of the leaves of *Laurus nobilis* as well as the determination of the content of polyphenols and flavonoids, accompanied by a phytochemical screening to distinguish the biomolecules and the compounds of biological interest, able to be at the origin of the multiple curative properties of our plant.

Phytochemical screening tests have shown a significant presence of tannins in the two hydroacetone and hydromethanolic fractions of our plant.

The results obtained during the quantitative analysis of total polyphenols and flavonoids content demonstrated that the hydromethanolic leaves extract of *Laurus nobilis* is endowed with a considerable sum of phenolic compounds (422.22 ± 0.05 mg GAE/g in polyphenols and 320.89 ± 0.01 mg CEQ/ g in flavonoids) unlike the second hydroacetone fraction, which showed a more or less low content compared to the previous one (259.61 ± 0.02 mg GAE/g in polyphenols and 206.14 ± 0.003 mg CEQ/g in flavonoids).

As for the determination of the antioxidant power, two methods have been implemented, that of the reduction of iron FRAP and another based on the antiradical activity DPPH, the results showed that the hydromethanolic fraction has a considerably higher antioxidant activity than the hydroacetic fraction.

In conclusion, we can consider that polyphenols and flavonoids are the key players influencing the antioxidant activity of the plant *Laurus nobilis* L.

Keywords: *Laurus nobilis*, Antioxidant activity, polyphenols, flavonoids.

Table des matières

Introduction générale.....	1
I. Laurier Noble, ses légendes et sa botanique	4
1. Histoire culturelle du Laurier	4
1.1. Le Laurier d'Apollon.....	4
1.2. Laurier Noble et symbolisme	4
1.3. Appellations.....	5
2. Classification botanique et taxonomie	5
1.1. Taxonomie	5
1.2. Ordre des laurales	6
1.3. Famille des lauracées.....	6
3. Description de l'arbre.....	7
3.1. Description générale	7
3.2. Ecorce et tiges.....	7
3.3. Feuilles.....	7
3.4. Inflorescence.....	8
3.5. Fruits	8
3.6. Reproduction	9
4. De la culture à la récolte	9
4.1. Ecologie	9
4.2. Répartition géographique	9
4.3. Croissance et récolte	10
5. Composition Chimique de <i>Laurus nobilis</i>	11
5.1. Composition chimique des feuilles.....	11
5.2. Composition chimique de l'huile essentielle.....	11
6. Activités biologiques de <i>Laurus nobilis</i> L.....	12
6.1. Activité antioxydante.....	12
6.2. Activité anti-inflammatoire	12
6.3. Activité antibactérienne	13
6.4. Activité antifongique	13
6.5. Effets toxicologiques et cytotoxiques.....	13
7. Utilisations du Laurier Noble.....	14
II. Stress oxydatif et antioxydants.....	16
1. Stress oxydatif.....	16

1.1.	Généralités	16
1.2.	Radicaux libres	17
1.3.	Origine des radicaux libres	18
a.	Origine exogène	18
b.	Origine endogène	19
2.	Antioxydants	20
2.1.	Définition	20
2.2.	Principaux antioxydants	20
a.	Les antioxydants endogènes enzymatiques :	20
b.	Les antioxydants exogènes non-enzymatiques.....	21
I.	Matériel et Méthodes	25
1.	Matériel végétal.....	25
2.	Traitement du matériel végétal	25
II.	Méthodes	26
1.	Extraction.....	26
1.1.	Extraction solide-liquide (par technique de macération).....	26
1.2.	Rendement de l'extraction.....	27
1.3.	Récapitulatif de l'extraction	28
2.	Analyse quantitative des composés phénoliques	29
2.1.	Quantification des composés phénoliques totaux.....	29
2.2.	Quantification des flavonoïdes totaux	29
3.	Détermination de l'activité antiradicalaire par technique de piégeage du radical libre DPPH.....	29
3.1.	Principe.....	29
3.2.	Procédure	30
3.3.	Expression des résultats.....	30
4.	Détermination de l'activité antioxydante par technique de Réduction du Fer FRAP.....	31
4.1.	Principe.....	31
4.2.	Procédure	31
4.3.	Expression des résultats.....	31
5.	Traitement et analyse statistique des données.....	31
I.	Rendement d'extraction	33
□	Discussion des résultats	34
II.	Analyse phytochimique.....	34
□	Discussion des résultats	34
III.	Dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes.....	35
□	Discussion des résultats	37

IV. Réduction du fer FRAP	38
□ Discussion des résultats	40
V. Piégeage du radical libre DPPH	40
□ Discussion des résultats	43
Conclusion générale et perspectives.....	45
Références bibliographiques	48

Liste des figures

- Figure 01 :** Apollon et Daphné, Tiepolo G. B., XVIIIe siècle. Paris, Musée du Louvre.
- Figure 02 :** *Arbuste de Laurus nobilis L.*
- Figure 03 :** Feuilles de *Laurus nobilis*.
- Figure 04 :** Diagramme floral d'une fleur femelle de *Laurus nobilis*.
- Figure 05 :** Diagramme floral d'une fleur mâle de *Laurus nobilis*.
- Figure 06 :** Baies de Laurier.
- Figure 07 :** Localisation naturelle du Laurier noble.
- Figure 08 :** Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant.
- Figure 09 :** Formation des radicaux libres.
- Figure 10 :** Stabilité des radicaux libres.
- Figure 11 :** Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés d l'oxygène.
- Figure 12 :** Localisation par satellite du lieu de la récolte.
- Figure 13 :** Feuilles sèches de *Laurus nobilis L.*
- Figure 14 :** Feuilles en poudre après séchage.
- Figure 15 :** Pesée de la poudre végétale.
- Figure 16 :** Filtration des extraits après macération.
- Figure 17 :** Conservations des macérats à l'abri de la lumière.
- Figure 18 :** Evaporation des extraits bruts à l'étuve.
- Figure 19 :** Processus d'extraction en schéma récapitulatif.
- Figure 20 :** Schématisation du mécanisme réactionnel de la technique du DPPH.
- Figure 21 :** Rendements des extraits de *Laurus nobilis* par la technique de macération.
- Figure 22 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique.
- Figure 23 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine.
- Figure 24 :** Pouvoir réducteur des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de *Laurus nobilis* testés par la méthode FRAP.
- Figure 25 :** Pouvoir réducteur l'acide ascorbique testé par la méthode FRAP.
- Figure 26 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique.
- Figure 27 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique.
- Figure 28 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

Liste des tableaux

- Tableau 01 :** Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L.
- Tableau 02 :** Classification botanique du Laurier Noble selon APG III.
- Tableau 03 :** Composition chimique principale des feuilles de *Laurus nobilis*.
- Tableau 04 :** Composition phytochimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L.
- Tableau 05 :** Différents types d'antioxydants.
- Tableau 06 :** Couleur, aspect et masse pour chaque extrait de *Laurus nobilis*.
- Tableau 07 :** Résultats de l'analyse phytochimique.
- Tableau 08 :** Valeurs de dosage des composés phénoliques pour chaque extrait de *Laurus nobilis*.
- Tableau 09 :** Valeurs de dosage des flavonoïdes pour chaque extrait de *Laurus nobilis*.
- Tableau 10 :** Valeurs des CE₅₀ en mg/ml pour chaque extrait.
- Tableau 11 :** Valeurs des CI₅₀ en µg/ml pour chaque extrait.

Liste des abréviations

% :	Pourcentage
°C :	Degré Celsius
Cm :	Centimètre
CE₅₀ :	Concentration efficace 50.
CI₅₀ :	Concentration inhibitrice 50
DPPH :	Radical 2,2 di phényle-1-picrylhydrazyl.
FRAP :	Ferric reducing antioxidant power.
Fe²⁺ :	Ion de fer ferreux.
Fe³⁺ :	Ion de fer ferrique.
DO :	Densité optique.
FeCl₃ :	Chlorure de fer
CAT :	Catalase.
ERO :	Espèce réactive de l'oxygène.
GSH :	Glutathion réduit.
GSSG :	Glutathion oxydé.
H₂O :	L'eau distillée
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
ROOH :	Hydro-peroxyde organique.
UV :	Rayons ultraviolets.
O₂^{•-} :	Anion superoxyde
SOD :	Superoxyde dismutase.
NADPH :	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
OH :	Hydroxyle.
PI (%) :	Pourcentage d'inhibition.
Px :	Glutathion peroxydase.
GR_x :	Glutathion réductase.
(V : V) :	Volume : Volume
µm :	Micromètre.
H :	Heure.
R (%) :	Rendement en pourcentage.
MeOH :	Méthanol.
BuOH :	Buthanol.
AQ :	Aqueux.
HPLC :	Chromatographie Liquide à Haute Performance
mg :	Milligramme.
EtPe	Éther de pétrole
ml :	Millilitre.

Introduction générale

Introduction générale

Depuis la nuit des temps, l'humanité a utilisé diverses plantes rencontrées dans son environnement, pour ses besoins médicaux et alimentaires afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (**Boumediou et Addoun, 2017**).

À ce jour-là, ces plantes jouent à travers le monde un rôle capital dans l'art de soigner et de guérir, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Bouziid et al. 2016**).

Actuellement, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé une large place du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. Leur utilisation occupe une place primordiale dans la vie de l'homme. En effet, les connaissances ancestrales sont transmises de générations en générations permettant ainsi la conservation de ce savoir (**Lazli et al., 2019**).

Les propriétés redox de l'activité antioxydante des composés phénoliques présents dans ces plantes permettent d'agir en réduisant les agents donneurs d'hydrogène et d'extinction de l'oxygène singulet. Les composés phénoliques peuvent aussi avoir des propriétés de chélation des métaux (**Cheurfa et Allem, 2016**).

Dans ce contexte, nous avons choisi la plante médicinale *Laurus nobilis* L, l'une des espèces des plantes médicinales et aromatiques les plus utilisées en Algérie en raison de son importance économique, sa richesse en composition bioactive et ses propriétés curatives et thérapeutiques.

Notre travail a été divisé en deux parties dont :

- La première est consacrée à des généralités bibliographiques sur *Laurus nobilis* L.
- La deuxième concerne l'étude de son activité antioxydante ainsi qu'une détermination de sa teneur en composés phénoliques (composés phénoliques et flavonoïdes) accompagnée d'une réalisation d'un *screening* phytochimique afin de révéler quelques composés biologiquement actifs susceptibles d'être à l'origine de ses propriétés caractéristiques.

Enfin, nous présenterons les données obtenues et leurs discussions et une conclusion générale qui englobe l'ensemble des résultats de notre travail.

Partie 01 : Partie Bibliographique

Chapitre 01 : Laurus nobilis L

I. Laurier Noble, ses légendes et sa botanique

1. Histoire culturelle du Laurier

1.1. Le Laurier d'Apollon

Consacrée au Dieu la musique et du chant, de la beauté masculine et de la lumière solaire dans la mythologie grecque, cette plante sacrée est mentionnée plus précisément dans le célèbre poème *Métamorphoses* d'Ovide. Un jour Apollon n'a cessé de se moquer d'Eros, Dieu d'amour, au sujet de ses talents d'archer qui finit par en prendre outrage.

Eros tire alors deux flèches une à pointe d'or, visant Apollon, ce qui le rend fou amoureux de Daphné, et l'autre, à pointe de plomb, destinée à Daphné, la rend impassible à ses charmes.

Follement amoureux de Daphné, Apollon la suit même lors de ses parties de chasse. Elle réussit à s'enfuir grâce à Eros avant qu'il ne la saisisse. Afin de s'en sortir de cette situation, elle demande de l'aide à son père, le dieu Fleuve Pénée ; le suppliant même de lui retirer sa beauté. C'est ainsi que son père la transforme en un Laurier qui reflète encore sa beauté originelle.

Apollon, profondément attristé, implore Daphné de devenir son arbre pour l'éternité.

Elle finit par accepter la proposition en agitant son merveilleux feuillage.

Le Laurier devient alors le symbole d'Apollon représenté avec une couronne de laurier sur la tête ainsi que sur sa lyre et son carquois (**Collognat, 2012**).



Figure 01 : Apollon et Daphné, Tiepolo G. B., XVIIIe siècle. Paris, Musée du Louvre.

1.2. Laurier Noble et symbolisme

Le Laurier est une plante très symbolique, associée le plus souvent à la poésie, la gloire et à la paix.

Le laurier évoquait également l'éternité et la santé dans l'Antiquité, car cette plante garde son feuillage vert même durant l'hiver, les médecins grecs recommandaient d'ailleurs son utilisation pour se protéger de la peste ou d'autres maladies (**Geerts et al., 2002**).

1.3. Appellations

Connu largement sous le nom de *Rend* dans la région maghrébine Nord-Africaine, le Laurier Noble a plusieurs d'autres appellations (**Tableau 01**).

Tableau 01 : Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L. (Teuscher et al, 2005 ; Ballabio et Goetz, 2010).

Langue	Appellation
Français	Laurier d'Apollon, Laurier commun, Laurier franc, Laurier noble.
Allemand	Lorbeersamen, lorbeer.
Anglais	Laurel oil, sweet bay, bay tree, roman Laurel, noble Laurel.
Italien	Olio di alloro
Portugais	Louro
Arabe	Rend
Berbère	Taselt

2. Classification botanique et taxonomie

1.1. Taxonomie

Les Angiospermes, aussi appelés plantes à fleurs, sont une division de plantes vasculaires du groupe des Spermatophytes, rassemblant ainsi, les plantes terrestres (Embryophytes) dont les graines sont protégées par une enveloppe sont le plus souvent ordonnés selon la classification de Cronquist et APG III, révisée en 2009.

La classification APG III, est basée essentiellement sur la phylogénie moléculaire, contrairement à celle de Cronquist qui focalise plutôt sur la morphologie, l'anatomie et les caractères biochimiques des espèces (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Classification botanique du Laurier Noble selon APG III

Classe	Angiospermes
Sous-Classe	Magnolidées
Ordre	Laurales
Famille	Lauraceae
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>nobilis</i>

1.2. Ordre des Laurales

Les laurales constituent un grand ordre qui regroupe 9 familles et environ 3000 espèces. Elles sont apparentées aux Magnolidées, considérées comme un groupe primitif, qui possèdent un pollen monoaperturé. Les principales familles de cet ordre sont les Calycanthacées, les Lauraceae et les Monimiacées (Judd et al., 2002).

1.3. Famille des lauracées

Le laurier (*Laurus nobilis* L) appartient à la famille des Lauracées, famille botanique importante souvent aromatique, ses espèces peuvent être reconnues par leur odeur aromatique. Celle-ci comprennent 32 genres et environ 2000 à 2500 espèces (Spichiger et al., 2002 ; Barla et al., 2007 ; Bouloufa et Chetioui, 2018).

Avant l'ère glaciaire, les Lauracées étaient plus présentes en Europe que dans les régions tropicales, en témoignent notamment les fossiles de feuilles retrouvés sur place. Le seul représentant des Lauracées que l'on retrouve naturellement en région méditerranéenne est le laurier (genre *Laurus*) originaire d'Asie mineure (Geerts et al., 2002).

Cette famille est caractérisée en gros par la présence des feuilles alternes et spiralées avec absence de stipule.

Les fleurs sont de petite taille, généralement vertes ou jaunes, uni- ou bisexuées. Elles peuvent être présentées en inflorescences compactes selon leur groupe. Les fruits sont généralement des drupes (Geerts et al., 2002 ; Ballabio, Goetz, 2010).

La formule florale est la suivante : $(3+3) T + 3 \times 3 E + 1-2 St + 1 C$ (Botineau, 2010).

3. Description de l'arbre

3.1. Description générale

Le laurier est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10 m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, s'arrondissant en fil du temps (**Quezel et Santa, 1963**) (**Anonyme 01**).



Figure 02 : *Arbuste de Laurus nobilis L* (**Anonyme 01**)

3.2. Ecorce et tiges

Ecorce grise foncée à très foncée, mate plus ou moins lisse chez les jeunes sujets et s'écaillant chez les très vieux arbres (**Quezel et Santa, 1963**). Avec une tige droite et grise dans sa partie basse, verte en haut (**Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Beloued, 2005**).

3.3. Feuilles

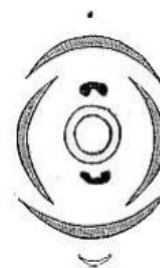
Simple, alternes et coriaces, longues de 5 à 12 cm et large de 2 à 6 cm, dont le pétiole mesure de 2 à 5 cm. Elles sont lancéolées, légèrement ondulées et entaillées au bord, de couleur vert foncé, brillantes sur la face supérieure et verte clair au-dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (**Quezel et Santa, 1963**). Elles ont une odeur aromatique, surtout après froissage, une saveur un peu amère (**Myose et Paris, 1976**) (**Anonyme 02**).

Figure 03 : Feuilles de *Laurus nobilis* (Anonyme 02).

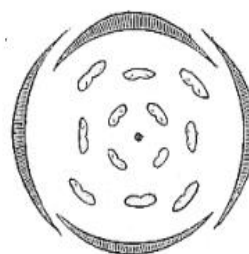
3.4. Inflorescence

Laurus nobilis a un caractère dioïque, signifiant que les deux fleurs mâles et femelles sont portés par des pieds distincts, Elles apparaissent en mois de mars-avril de l'année (Quezel et Santa, 1963 ; Reynaud, 2002).

Les fleurs femelles portent des staminodes munis de nectaires. Le stigmate est court et gluant ce qui lui permet de fixer le pollen. L'ovaire est en position supère et est uni-carpellé (Botineau, 2010) (Figure 04).

Figure 04 : Diagramme floral d'une fleur femelle de *Laurus nobilis* (Balfour ; 2011)

Les fleurs mâles sont composées de 8 à 12 étamines dont deux sont pourvues de nectaires. Les anthères s'ouvrent par deux pores au moyen de clapets afin de libérer les grains de pollen (Geerts et al., 2002) (Figure 05).

Figure 05 : Diagramme floral d'une fleur mâle de *Laurus nobilis* (Balfour ; 2011)

3.5. Fruits

Une baie ovoïde, soutenue par le tube périnthaire peu dilaté de 2 cm de longueur et de 1 cm de largeur. Il est noir vernissé et renferme une seule graine libre (Beloued, 2005).

Le mésocarpe charnu renferme de l'huile et des cellules à huile essentielle. Les cotylédons épais sont également riches en lipides. D'abord vert, devenant noir bleuté à maturité (**Myose et Paris, 1976**).



Figure 06 : Baies de Laurier (Botineau, 2015).

3.6. Reproduction

Etant le plus souvent pollinisées par des insectes (abeilles ou bien des mouches) attirées par le nectar des fleurs, les fleurs de *Laurus nobilis* sont considérées comme entomogames de base.

Quant aux baies, leur dissémination est assurée après un transit intestinal chez les oiseaux et les mammifères. C'est ce que l'on appelle le mode de dispersion endozoochore (**Judd, 2002**).

4. De la culture à la récolte

4.1. Ecologie

- a. Caractéristiques climatiques : C'est une espèce affectionnant particulièrement les hivers doux avec des températures ne descendant pas sous les -5°C . Les conditions idéales sont les endroits ensoleillés et protégés du vent, même si elle tolère l'ombre. Concernant l'humidité, la plante ne supporte pas la sécheresse prolongée : il lui faudra au minimum de 600 mm de précipitations par an (**Teuscher et al., 2005**).
- b. Caractéristiques du sol : Exceptés les sols trop acides, le laurier peut s'adapter à tout type de sol. Il se développe aisément dans les sols profonds et humides toute l'année. Le sol type doit être riche en nutriments, en humus et en bases avec un pH proche de la neutralité (**Teuscher et al., 2005**).

4.2. Répartition géographique

Le Laurier est la seule espèce représentant la famille des Lauracées dans la région méditerranéenne en particulier en Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France. Il pousse dans les lieux humides et ombragés, également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment.

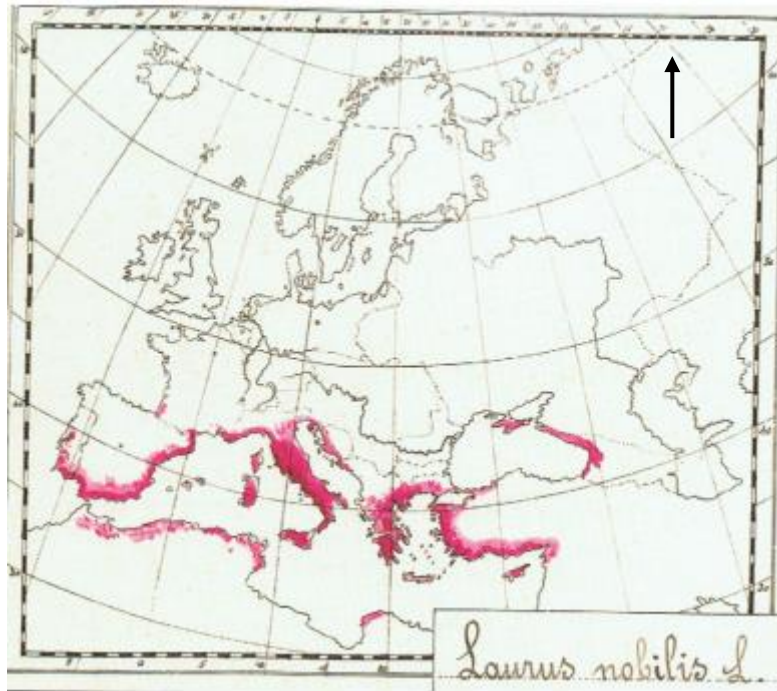


Figure 07 : Localisation naturelle du Laurier noble (Geerts et al., 2002).

La plante est largement cultivée comme plante ornementale dans le sud et l'ouest de l'Europe, l'Amérique centrale et aux Etats-Unis. Il fait l'objet de production commerciale dans de nombreux pays tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Barla et al., 2007).

En Algérie il est retrouvé dans les forêts et ravins humides et commun dans le tell algérois et constantinois (Beloud ,2005).

4.3. Croissance et récolte

Tous les hivers, la plante subit une taille régulière. En cas de gel persistant en-dessous de - 5°C, la plante devra être protégée à l'abri. Un rempotage tous les 3 à 4 ans est recommandé (Teuscher et al., 2005).

La récolte des feuilles peut avoir lieu toute l'année. Les feuilles sont séchées à plat après avoir été détachées de leur tige pour éviter qu'elles ne s'enroulent. La pulvérisation des feuilles leur fait perdre leur caractère aromatique (Teuscher et al., 2005).

5. Composition Chimique de *Laurus nobilis*

5.1. Composition chimique des feuilles

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont caractérisées par une composition chimique très diversifiée distinguée surtout par la présence de plusieurs familles des métabolites secondaires, particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes.

Tableau 03 : Composition chimique principale des feuilles de *Laurus nobilis*.

Classes	Composés chimiques	Références
Acide Phénolique	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p-coumarique, fénulique, sinapique, gentisique et vanillique	(Barla et al., 2007).
Flavonoïdes	Principalement la rutine, l'isoquercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et 3-arabinoside. Le kaempférol-3- rhamnoside, 2-p-coumaroyles	(Fiorini et al., 1998 ; Kang et al., 2002).
Hétérosides de lignanes	Méthoxyisolarecirénol -9-0-xylosides, -0-sécoisolariciresinol-9-0-xylosides.	(Uchiyama et al., 2002).
Alcaloïdes	Actinodaphonine, isodomecicine, launobine, N-méthylactinodaphonine, nandigérine , néolitsine et réticuline	(Brigittee et Bruneton, 1982).
Lactones sesquiterpéniques	La déhydrocostuslactone, artémoreine, érémanthine, désacétyllaurénobiolide, laurénobiolide, reynosine, santamarine.	(Yoshikawa et al., 2000).

5.2. Composition chimique de l'huile essentielle

Selon les travaux de **Flamini et al. (2007)** (**Tableau 04**), l'huile essentielle de *Laurus nobilis* est considérablement riche en oxydes terpéniques, notamment le 1,8-cinéole à une concentration de l'ordre de 48,38%, en monoterpènes comme la Sabinène (9.46%) et caractérisée par une présence intéressante des composés phénoliques dont le : Méthyl-eugénol (2.22%) et eugénol (0.08%).

Tableau 04 : Composition phytochimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L (Flamini et al., 2007).

Classes chimiques	Composés chimiques
Oxydes terpéniques	1,8-cinéole (48.38%).
Monoterpénols	Linalol (3.50%), terpinén-4-ol (2.84%), alpha-terpinéol (2.46%).
Phénols	Méthyl-eugénol (2.22%), eugénol (0.08%)
Esters terpéniques	Acétate d'alpha-terpényle (8.52%), acétate de bornyle (0.16%).
Monoterpènes	Sabinène (9.46%), bêta-pinène (4.99%), alpha-pinène (5.77%), limonène (4.10%), para-cymène (2.38%), gammaterpinène (2.12%), myrcène (0.64%), camphène (0.32%), alpha-phellandrène (0.24%), alpha-terpinène (0.28%).

6. Activités biologiques de *Laurus nobilis* L

6.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'huile essentielle et l'extrait méthanolique d'huile de graines de *L. nobilis* a été déterminée par **Ozcan et al. (2010)**, en employant le piégeage des radicaux libres DPPH (diphénylpicrylhydrazyle) et le test à l'acide β -carotène / acide linoléique. L'huile essentielle et l'extrait méthanolique d'huile de graine de *Laurus nobilis* L., ont montré tous les deux des propriétés antioxydantes significatives pour les deux tests réalisés.

En **2006**, l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis* L, ont été étudiés par **Ferreira et al.**, cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante relative à chacun des trois extraits, étant plus élevée pour les extraits polaires.

6.2. Activité anti-inflammatoire

L'extrait méthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* est capable d'inhiber l'activation de l'inflammasome NLRP3 (**Lee et al, 2018**), qualifié de plateforme multiprotéique

intracytoplasmique, activée par le stress cellulaire ou bien par l'infection et servant de foyer pour la maturation et la libération des cytokines pro-inflammatoires notamment le IL-1 β . Il est impliqué aussi dans des pathologies inflammatoires telles que la maladie de Crohn, la polyarthrite rhumatoïde ou l'arthrite goutteuse (**Gicquel et al, 2016**).

En **2005**, **Fang et al.**, ont pu identifier six composés actifs isolés des feuilles du *Laurus nobilis* L, s'agissant tous de lactones sesquiterpènes, doués de différentes propriétés pharmacologiques et thérapeutiques y compris l'effet anti-inflammatoire.

6.3. Activité antibactérienne

L'huile essentielle extraite de *L. nobilis* possède une capacité inhibitrice vis-à-vis des souches buccales de *S. aureus* avec une activité anti-biofilm importante (**Annelise et al., 2017**).

Yakhlef et al. (2011) ont montré que les extraits de *Laurus nobilis* L sont caractérisés par une capacité antimicrobienne même si faible en comparaison avec d'autres extraits végétaux (celui de *Thymus vulgaris* par exemple), mais avec un spectre antimicrobien plus large et à des concentrations plus faibles.

6.4. Activité antifongique

Une étude portait sur l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L vis-à-vis des souches de *Fusarium sporotrichoide* par méthode d'hydrodistillation, a montré que cette huile essentielle est caractérisée par une activité antifongique significative sur cette souche avec un indice d'inhibition de 100 % à une concentration de 0.5% (**Salhi et al., 2015**).

6.5. Effets toxicologiques et cytotoxiques

A cause de leur teneur importante en lactones sesquiterpéniques dont le principal est la Costunolide, les feuilles ainsi que l'huile essentielle de *Laurus Nobilis* sont bien capables d'induire des réactions allergiques (dermatites lors du contact par exemple) même s'ils ne possèdent pas d'effets toxiques importants (**Bruneton, 2002**).

Selon les expériences de **Barla et al., (2007)** certains composés extraits à partir des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis*, dont deux sesquiterpènes plus précisément (lactones et lauroxepines) sont extrêmement toxiques par rapport à A2780, une lignée cellulaire humaine cancéreuse ovarienne.

7. Utilisations du Laurier Noble

Le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (**Iserin, 2001**).

Les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme dans la médecine traditionnelle iranienne (**AqiliKhorasani, 1992**). Au même titre l'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans le cas de morsures de serpent (**Kivçak et Mert, 2002**).

L'huile essentielle obtenue de *Laurus nobilis* a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales (**Sayyah et al., 2002**). En outre, dans la fabrication des savons et en parfumerie. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir et al., 2004 ; Beloued, 2005**).

Parmi d'autres effets bénéfiques du Laurier Noble, l'infusion aqueuse obtenue à partir des feuilles de laurier Noble a été utilisée pour soulager les douleurs du placenta, comme pour favoriser l'apparition des règles et agir contre les règles douloureuses (**Bouchaale et al., 2015**).

Les feuilles de *Laurus nobilis L* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, généralement utilisées comme épice valable dans le domaine culinaire et aromatisant en industrie alimentaire (**Simic et al., 2003**).

Chapitre 02 : Stress Oxydatif & Antioxydants

II. Stress oxydatif et antioxydants

1. Stress oxydatif

1.1. Généralités

D'abord employé dans un contexte biologique par l'endocrinologue Hans Selye en 1936, le stress oxydant est un terme général qui a été adopté pour décrire la réponse physiologique inadéquate d'un organisme (**Schiavone et al., 2013**). La définition de ce type de stress se réfère à une rupture de l'équilibre homéostatique normalement maintenu entre la production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et la défense antioxydante de l'organisme (**Anderson, 1997**).

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

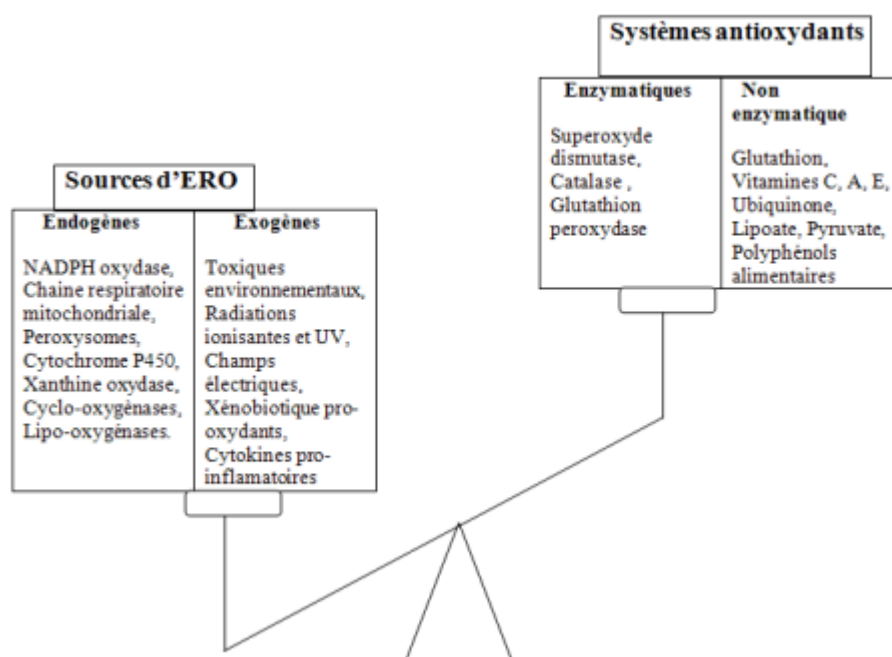


Figure 08 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (Nkhili, 2009).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma, 1999**).

A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers, diabète, Alzheimer, les rhumatismes ou les maladies cardio-vasculaires (**Gammoudi et al., 2013**).

1.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique "libre", contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans son orbitale atomique sur la couche électronique la plus externe. Les électrons sont des corpuscules chargés électriquement et qui par un mouvement de rotation sur eux-mêmes, induisent un champ magnétique appelé *Spin* (**Pillou, 2014**).

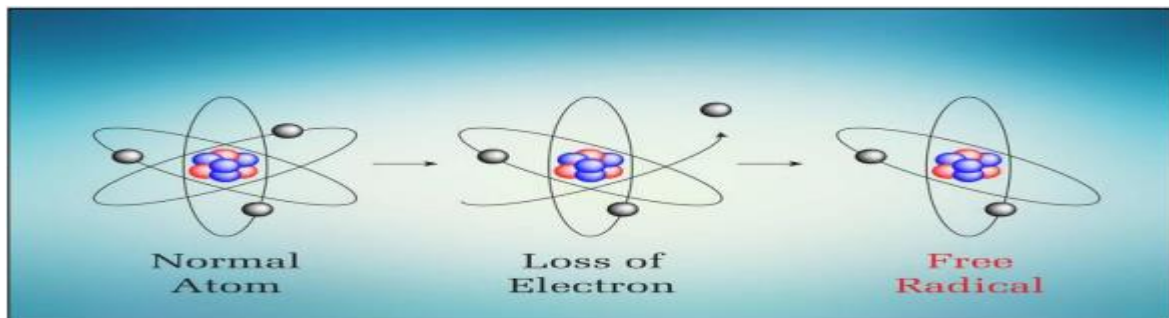


Figure 09 : Formation des radicaux libres (Pillou, 2014).

Cette propriété lui confère une grande instabilité et par là même une extrême réactivité chimique (**Gutteridge et Halliwell., 1990**).

De ce fait, les radicaux libres doivent donner un électron non apparié ou arracher un électron à une molécule avoisinante, afin de tendre vers un état moins excité, donc plus stable (**Fang et al., 2002**).

Un radical libre peut-être aussi le résultat d'un phénomène de réduction, donc par gain d'un ou de plusieurs électrons également.

Une fission homolytique, désignant la rupture d'une liaison chimique covalente, où les deux électrons de la liaison **A—B** sont répartis équitablement peut aussi conduire à la production de deux radicaux libres à la fois contenant chacun, un électron non apparié sur leur couche externe (**Gutteridge et Halliwell., 2008**).

Les réactions de transfert d'électrons qui produisent les radicaux libres (réactions d'oxydoréduction, redox) conduisent souvent à la formation d'un nouveau radical, car la

molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire (Goto et al., 2008). Ce phénomène pouvant donc se propager par des réactions en chaîne (Carine et al., 2006).

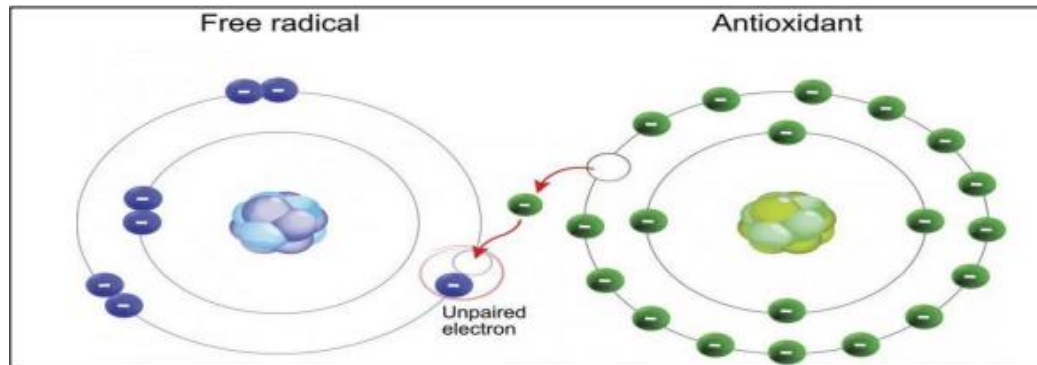


Figure 10 : Stabilité des radicaux libres (Asmus et Bonifacic, 2000).

1.3. Origine des radicaux libres

a. Origine exogène

Selon Favier, 2003 les radicaux libres peuvent résulter de plusieurs facteurs environnementaux, dont :

- Les rayons UV : Les rayonnements ultraviolets (UV) induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants (Afonso et al., 2007). Ces rayons sont absorbés par des chromophores de la peau qui vont alors être excités pour fournir un oxygène singulet (Gambini et Granier., 2013). Ils réduisent également l' O_2 en anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ qui sera rapidement transformé par l'enzyme antioxydante la superoxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier, sera réduit à son tour en radical hydroxyle (OH) par la réaction de Fenton. Le radical hydroxyle réagit alors avec les protéines, les lipides et l'ADN (Gambini et Granier., 2013).
- L'alcool : L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde, avec la production de l' $O_2^{\bullet-}$ (Albano et al., 1994 ; Albano et al., 1999). Selon ces mêmes auteurs, l'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydases, NADPH cytochrome réductases et du cytochrome P_{450} .
- Les métaux lourds : Certains métaux apportés de manière exogène, mais pouvant être aussi endogènes (Halliwell et Gutteridge., 1990), tels que le mercure, le fer, le

cadmium, le nickel, l'arsenic et l'amiante (Mena et al., 2009 ; Wanges et al., 2014) sont nécessaires à l'organisme mais peuvent à des taux élevés générer des ROS, en participant à la réaction de Fenton.

- Pesticides : L'exemple le plus connu est le paraquat, utilisé comme herbicide. Il s'agit d'une molécule stable comprenant deux pyridiniums (Houze., 1990). En présence de NADPH-cytochrome P450 réductase, ce composé toxique passe sous forme radicalaire qui est stabilisé par la délocalisation de l'électron célibataire sur les structures pyrimidiques composant le paraquat. Ensuite il y aura une production du radical superoxyde par la régénération qui se fait par un transfert de l'électron libre à une molécule d'oxygène (Bus and Gibson., 1984 ; Bus et al., 1994).

b. Origine endogène

Les radicaux libres sont formés le plus souvent à partir de l'oxygène d'où leur appellation : espèces réactives oxygénées ERO. Les origines endogènes des ERO sont principalement les chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies (environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont transformés en ERO particulièrement réactionnelle), le dysfonctionnement du système enzymatique ou par manque d'antioxydants dans l'organisme et la réaction inflammatoire qui est une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées, qui sont le siège d'un phénomène appelé " Explosion oxydative " consistant à l'activation du complexe NADPH oxydase (Puppo et Halliwell, 1988).

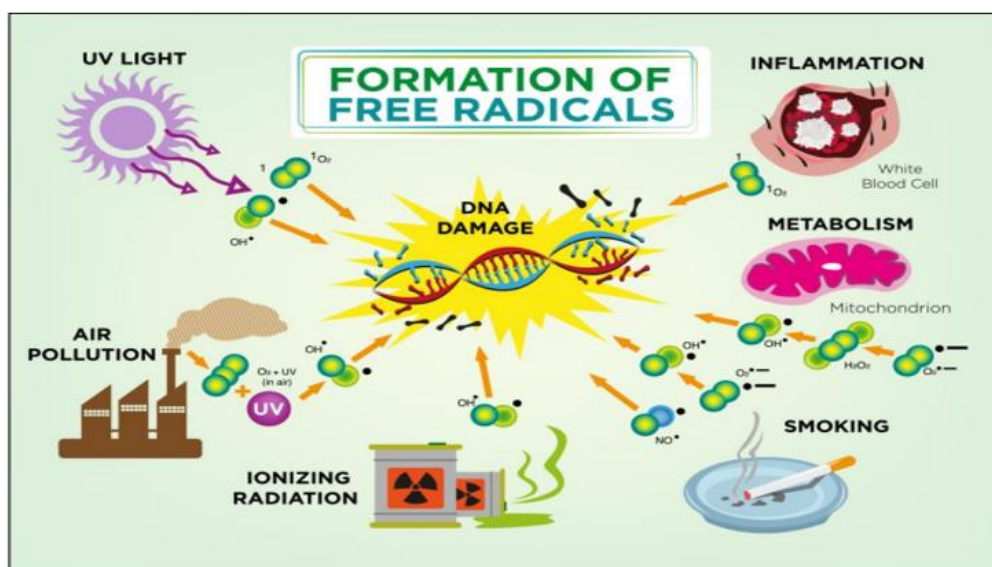


Figure 11 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés d l'oxygène (Afonso et al., 2007).

2. Antioxydants

2.1. Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance ou molécules capables de réduire les effets de l'oxygène, significativement retarde ou empêche l'oxydation (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

Les antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou en ions stables (**Favier, 2003**).

2.2. Principaux antioxydants

Les antioxydants se distinguent par leur nature biochimique. Ils sont divisés en deux types différents, les antioxydants enzymatiques d'origine endogène et les antioxydants de nature non-enzymatique d'origine exogène (**tableau 05**).

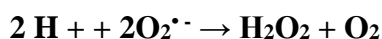
Tableau 05 : Différents types d'antioxydants (Haleng et al., 2007).

Antioxydants endogènes (Enzymatiques)	Antioxydants exogènes (Non-Enzymatique)
Catalase (CAT)	Vitamine C (Acide Ascorbique)
Superoxyde dismutase (SOD)	Vitamine E (α -tocophérol)
Glutathione peroxydase (GPx)	Caroténoïdes
Glutathione réductase (GRx)	Composés phénoliques

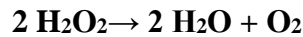
a. Les antioxydants endogènes enzymatiques :

Reconnus comme étant les plus performants (**Lehucher-Michel et al., 2001**). Il s'agit principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx).

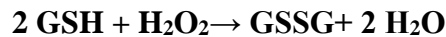
- Les Superoxydes Dismutases (SOD) : Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD : SOD1, SOD2 et SOD3 qui utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs sont nécessaires à l'activité enzymatique. Alors que la SOD2 mitochondriale utilise le manganèse, dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en espèces oxygénées moins réactives qui sont H_2O_2 et O_2 selon la réaction (**Afonso et al., 2007**).



- Les Catalases : Etant l'une des principales enzymes du système antioxydant biologique, elle joue un rôle très important dans les voies de défenses antioxydantes. Principalement présente au niveau des érythrocytes et des hépatocytes, elle est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Arockiaraj et al., 2012**).



- Les Glutathions Peroxydases et Réductases (GSHPX) : Les glutathions peroxydases et réductases sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part, les hydro-péroxydes organiques (ROOH) en alcools. Elle catalyse la réduction des hydro peroxydes (H_2O_2) et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène selon la réaction ci-dessous (**Marfak, 2003**).



b. Les antioxydants exogènes non-enzymatiques

Contrairement aux agents antioxydants enzymatiques, ils ne sont pas synthétisés par l'organisme mais apportés par notre alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons les antioxydants comme les vitamines E et C, les polyphénols, les oligoéléments et la glutathion réduit (GSH) (**Kanoun, 2011**).

- Vitamine C : L'acide L - ascorbique ou vitamine C est considéré comme une molécule soluble dans l'eau. La vitamine C présente un pouvoir antioxydant élevé, aidant à prévenir des dommages cellulaires et la contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, vis-à-vis des radicaux libres générés au cours d'un exercice intense. Il est impliqué dans un certain nombre de processus métaboliques dans le corps humain, y compris ceux qui peuvent être importantes pour le fonctionnement optimal du système d'énergie à l'oxygène (**Cholewa et al., 2008**).
- Vitamine E : Sa forme naturelle inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable (**Carr et al., 2002**).

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des aides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant (**El-Sohemy et al., 2002**).

La vitamine E désigne un ensemble d'isomères, les α -, β -, γ - et δ -tocophérols et tocotriénols. La vitamine E et particulièrement l' α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble. Elle est capable d'empêcher la propagation de la peroxydation lipidique qui réagit directement avec les espèces réactives de l'oxygène (**Haleng et al., 2007**)

Composés phénoliques : Ils constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des espèces réactifs oxygénés et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

Partie 02 : Partie Expérimentale

Chapitre 01 : Matériel & Méthodes

I. Matériel et Méthodes

Dans cette deuxième partie dite expérimentale, les travaux réalisés au niveau des laboratoires pédagogiques de Biochimie n° 02 et 05 – Pôle Biochimie, département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université de Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

Cette étude est devisée en quatre parties :

- Préparation des extraits végétaux bruts à partir des feuilles de *Laurus nobilis* L.
- Analyse phytochimiques.
- Analyse quantitative des composés phénoliques, comportant à la fois un :
 - Dosage des composés phénoliques totaux.
 - Dosage des flavonoïdes totaux.
- Evaluation des activités antioxydantes des extraits précédents selon deux techniques :
 - La réduction de fer (FRAP).
 - Le piégeage du radical libre DPPH.

1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur un échantillon de feuilles de *Laurus nobilis* L, récolté durant le mois de Mars 2022, dans la région de Kiffen, plus précisément à Ain Nedjar, au centre-ville de la Wilaya de Tlemcen.



Figure 12 : Localisation par satellite du lieu de la récolte (Google Maps)

2. Traitement du matériel végétal

Cette récolte a été exécutée soigneusement, afin de préserver au maximum l'ensemble des éléments organiques et minéraux présents.

Les feuilles récoltées ont été délicatement rincées à l'eau du robinet afin de se débarrasser de toute matière étrangère, impuretés, sol, poussière... etc. Puis, séchées pour une période de 15 jours, à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière, de manière à préserver l'intégrité des molécules d'intérêt.

Après séchage, les feuilles sont par la suite moulues en poudre, en utilisant un moulin électrique pour plus d'efficacité.

La poudre végétale des feuilles de *Laurus nobilis* L servira par la suite, à préparer les différents extraits bruts qui seront étudiés dans ce travail.



Figure 13 : feuilles sèches de *Laurus nobilis* L

Figure 14 : Feuilles en poudre après séchage

II. Méthodes

1. Extraction

Pour la réalisation de ces manipulations choisies mentionnées ci-dessus, et qui seront bien évidemment discutées plus tard, nous avons opté pour une méthode d'extraction solide-liquide, dite : par macération.

1.1. Extraction solide-liquide (par technique de macération)

Deux extraits bruts sont préparés de la façon suivante :

- A. Extrait hydrométhanolique : 20 g de la poudre végétale sont mis en contact avec 200 ml d'une solution hydrométhanolique (30 : 70) (v : v).
- B. Extrait hydroacétonique : 20 g de la poudre végétale sont mis en contact avec 200 ml d'une solution hydroacétonique (30 : 70) (v : v).

	
Figure 15 : Pesée de la poudre végétale	Figure 16 : Filtration des extraits après macération
	
Figure 17 : Conservations des macérats à l'abri de la lumière	Figure 18 : Evaporation des extraits bruts à l'étuve

Les deux solutions subissaient par la suite, une macération sous agitation pendant 24h. Les extraits bruts sont filtrés ensuite sur papier filtre Whatman (0,5 μm). Les macérats obtenus sont évaporés en utilisant un évaporateur rotatif (rotavapor) sous pression à 50°C, pour éliminer la phase organique présente dans chaque solution.

Et comme étape complémentaire, un séchage à l'étuve à 35°C est indispensable pour éliminer les phases aqueuses. Enfin, les résidus obtenus sont conservés dans des flacons sombres et à l'abri de la lumière à + 4°C jusqu'à leur utilisation.

1.2. Rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction (Abe et al., 2010). Ce n'est

donc, que le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation totale et la masse initiale de la poudre végétale utilisée au début. Calculé tout simplement en utilisant la formule ci-dessous :

$$R (\%) = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

Dont :

R (%) : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage ;

M₀ : La masse initiale de la poudre végétale ;

M₁ : La masse de l'extrait brut obtenue après évaporation.

1.3. Récapitulatif de l'extraction

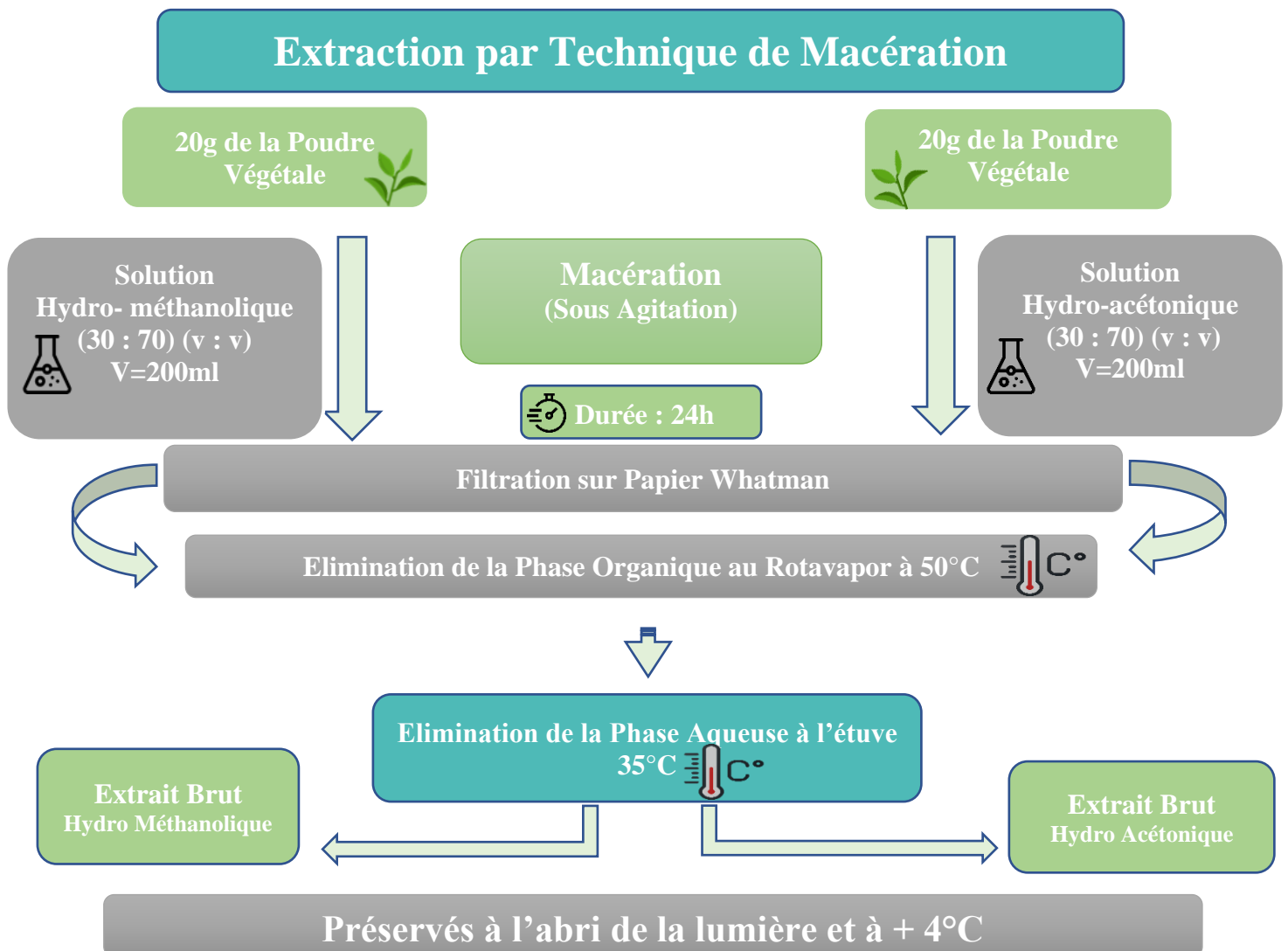


Figure 19 : Processus d'extraction en schéma récapitulatif

2. Analyse quantitative des composés phénoliques

2.1. Quantification des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux sont quantifiés de la manière suivante selon le protocole expérimental de **Vermerius et Nicholson, (2006)** :

Un volume de 0,1 ml de chacun des deux extraits ou d'acide gallique est mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium à 2 %. Après agitation et incubation pendant 5 minutes, 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu 1 N est ajouté. Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.

L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Une courbe étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de l'extrait mg Eq AG / g.

2.2. Quantification des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par colorimétrie selon le protocole de **Zhishen et al, 1999** :

500 µl de chacun des deux extraits ou de catéchine est mélangé avec 2 ml d'eau distillée, puis 150 µl d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 15 % est ajouté.

Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 150 µl de chlorure d'aluminium AlCl_3 10 % est ajouté. Et, à 6 minutes, 2 ml d'hydroxyde de sodium 4 % est ajouté. Le volume total est complété à 5 ml d'eau distillée.

Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc.

3. Détermination de l'activité antiradicalaire par technique de piégeage du radical libre DPPH

3.1. Principe

Le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant son absorption diminue graduellement (**Bensouici, 2015**).

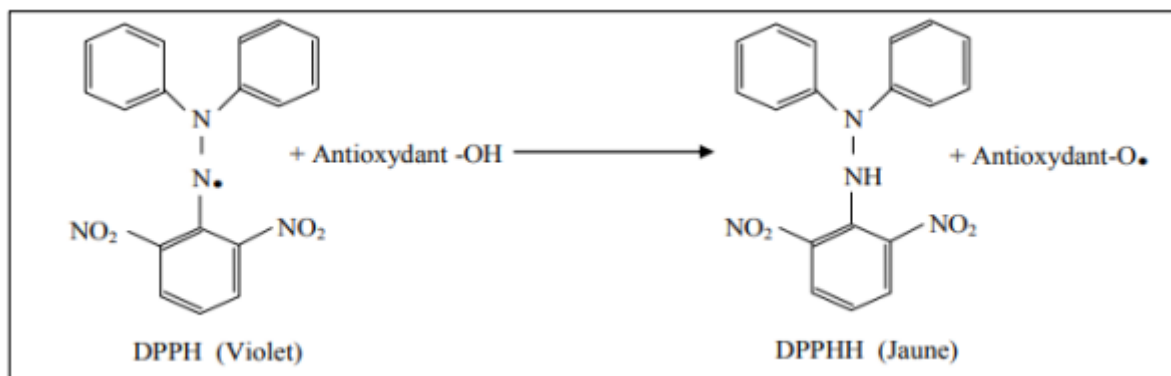


Figure 20 : Schématisation du Mécanisme réactionnel de la technique du DPPH (Bensouici, 2015).

3.2. Procédure

D'après le protocole de **Atoui *et al.* (2005)**, la détermination de l'activité antioxydante est réalisée comme suit :

À 1950 μl d'une solution méthanolique de DPPH à $6,34 \times 10^{-5}$ M, sont ajoutés 50 μl des extraits bruts ainsi que l'acide ascorbique (contrôle positif) à différentes concentrations. Le contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 μl de méthanol avec 1950 μl de la solution méthanolique de DPPH (les différents essais sont réalisés en triplicate).

Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 515 nm.

3.3. Expression des résultats

On calcule par la suite le pourcentage d'inhibition PI (%) pour chacun des deux extraits, en utilisant la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = [(\text{A}_c) - (\text{A}_e) / (\text{A}_c)] \times 100$$

Dont :

A_c : absorbance du contrôle et A_e : absorbance d'extrait.

Un calcul des concentrations inhibitrices 50 (CI_{50}) est également effectué, graphiquement, par régression logarithmique, en utilisant l'équation suivante :

$$\text{CI}_{50} = (\text{Y} - \text{b}) / \text{a}$$

4. Détermination de l'activité antioxydante par technique de Réduction du Fer FRAP

4.1. Principe

Le pouvoir réducteur d'une molécule est relatif à sa capacité de transfert des électrons et peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante.

Dans cette technique, la couleur jaune de la solution change au vert et bleu selon le pouvoir réducteur de l'échantillon testé. Et, une absorbance élevée à 700 nm indique un pouvoir réducteur élevé (**Zovko Končić et al, 2010**).

4.2. Procédure

La méthode FRAP est réalisée selon le protocole de **Yen et Chen, 1995**.

Les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique à différentes concentrations sont dissout dans 1 ml d'eau distillée et mélangés avec 2,5 ml de tampon phosphate 2 M (pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium 1 %. Le mélange est incubé à 50° C pendant 20 min. Après incubation, 2,5 ml d'acide trichloracétique 10 % est ajouté pour stopper la réaction. Ensuite, les solutions sont centrifugées pendant 10 min. 2,5 ml du surnageant est ajouté à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de la solution de chlorure de fer 0,1 % (les différents essais sont réalisés en triplicate). L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 700 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif avec les mêmes concentrations et dans les mêmes conditions expérimentales.

4.3. Expression des résultats

Nous avons déterminé par la suite, les différentes concentrations dites efficaces 50 (CE₅₀), graphiquement et par méthode de régression linéaire.

5. Traitement et analyse statistique des données

Tous les calculs et les valeurs de CI₅₀/CE₅₀ ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par le logiciel EXCELSTAT 2016 sur Windows 10.

Chapitre 02 : Résultats & Discussion

I. Rendement d'extraction

Dans cette étude, les rendements ont été déterminés par rapport à une masse initiale équivalente à 20g de la poudre végétale de *Laurus nobilis*, la couleur ainsi que l'aspect et la masse pour chaque extrait sont présentés dans le **tableau 06**.

Une extraction par macération a été réalisée sur un échantillon de feuilles de *Laurus nobilis* pendant 24h, sous agitation continue.

Deux solvants différents ont été utilisés, eau distillée / méthanol (30 / 70) et eau distillée / acétone (30 / 70).

Les résultats obtenus et représentés dans la **figure 21**, révèlent que le rendement de l'extrait hydroacétonique est meilleur par rapport à celui de l'extrait hydrométhanolique.

Tableau 06 : Couleur, aspect et masse pour chaque extrait de *Laurus nobilis*.

Extrait	Masse	Couleur	Aspect
Hydrométhanolique	0,75 g	Vert foncé	Visqueux
Hydroacétonique	2,67 g	Marron clair	Visqueux

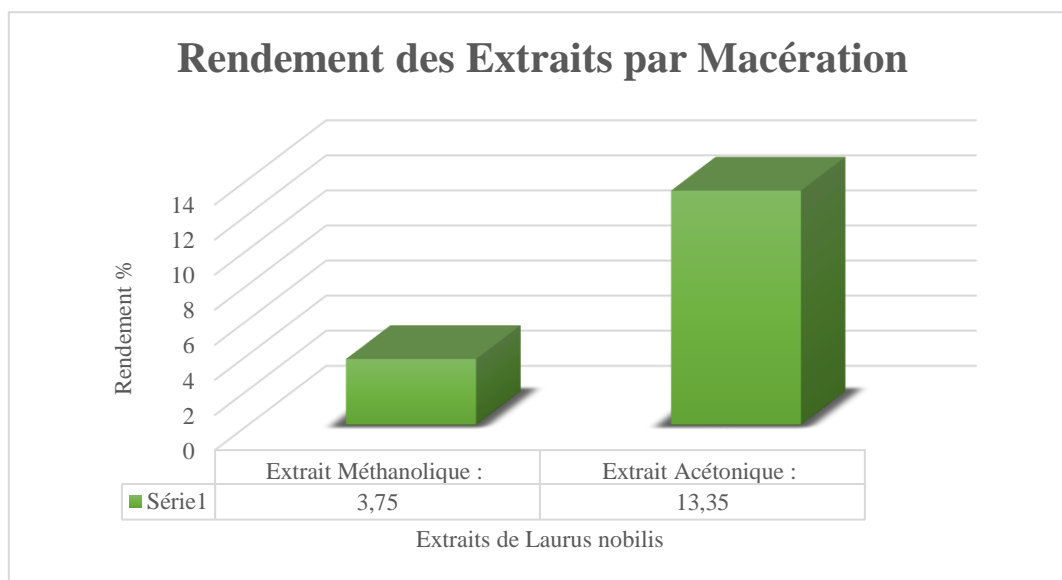


Figure 21 : Rendements des extraits de *Laurus nobilis* par la technique de macération.

- **Discussion des résultats**

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Ayman et al. (2019)** qui ont trouvé à partir de la méthode d'extraction solide et liquide réalisée par macération des feuilles de *Laurus nobilis* L avec le méthanol (80 %) un rendement d'extraction faible de l'ordre de (MeOH : 15,49 %) et également par rapport à ceux obtenus par **Humaira et al. (2019)** de l'ordre de (MeOH 52% et BuOH 12 %).

La méthode d'extraction utilisée, le solvant utilisé, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon ainsi que la polarité sont des conditions qui influencent sur le rendement de l'extraction (**Quy-Diem et al. 2014**).

II. Analyse phytochimique

Les tests phytochimiques réalisés sur les deux extraits hydrométhanolique et hydroacétonique, ont donné les résultats montrés dans le **tableau 07**.

Tableau 07 : Résultats de l'analyse phytochimique.

Familles chimiques		Extrait hydrométhanolique	Extrait hydroacétonique
Tanins		+++	+++
Saponosides		-	-
Alcaloïdes	Mayer	-	-
	Wagner	-	-
Sucres réducteurs		-	-
Terpénoïdes		-	-

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négatif

L'ensemble des tests phytochimiques de caractérisation, réalisés sur les deux extraits hydrométhanolique et hydroacétonique ont montrés une teneur importante en tanins dans chacun de ces deux extraits, Contrairement à celui-ci, les tests de recherche des saponosides, d'alcaloïdes, des sucres réducteurs et de Terpénoïdes ont été négatifs pour les deux extraits bruts.

- **Discussion des résultats**

Muñiz-Márquez et ses collaborateurs, ont réalisé une extraction assistée par ultrasons de composés phénoliques à partir de feuilles de *Laurus nobilis* L. Les auteurs de cette étude ont

obtenu des quantités en composés phénoliques allant de $3,52 \pm 0,52$ à $17,32 \pm 1,52$ mg Eq AG / g de matériel végétal. De plus, l'analyse par HPLC a détecté la présence de deux acides phénoliques : coumariques et 2-hydrocinnamique ainsi que d'autres composés phénoliques non identifiés (Muñiz-Márquez et al, 2013).

L'analyse par chromatographie liquide à ultra haute pression couplée à la spectrométrie de masse UPLC/ESI-MS² (ionisation par électro-spray / spectrométrie de masse en tandem) des composés phénoliques des feuilles de *Laurus nobilis* L., a caractérisé plusieurs composés phénoliques dont les flavonols (quercétine-3-glucoside et kaempférol-3-O-hexoside, composés majoritaires), les flavan-3-ols (épicatéchine comme composé majoritaire), les flavones (lutéoline) et les acides hydroxy-benzoïques (acide protocatéchique et acide 4-hydroxybenzoïque) (Čulina et al, 2021).

III. Dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes

Les résultats obtenus pour le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg Eq AG/g), et mg équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg Eq C/g) respectivement (tableau 08).

La quantification des composés phénoliques totaux a été déterminée par une méthode spectrophotométrique utilisant le Folin-Ciocalteu, avec l'acide gallique comme étalon, ce qui nous a permis d'obtenir la courbe d'étalonnage présenté ci-dessous, dans la figure 22.

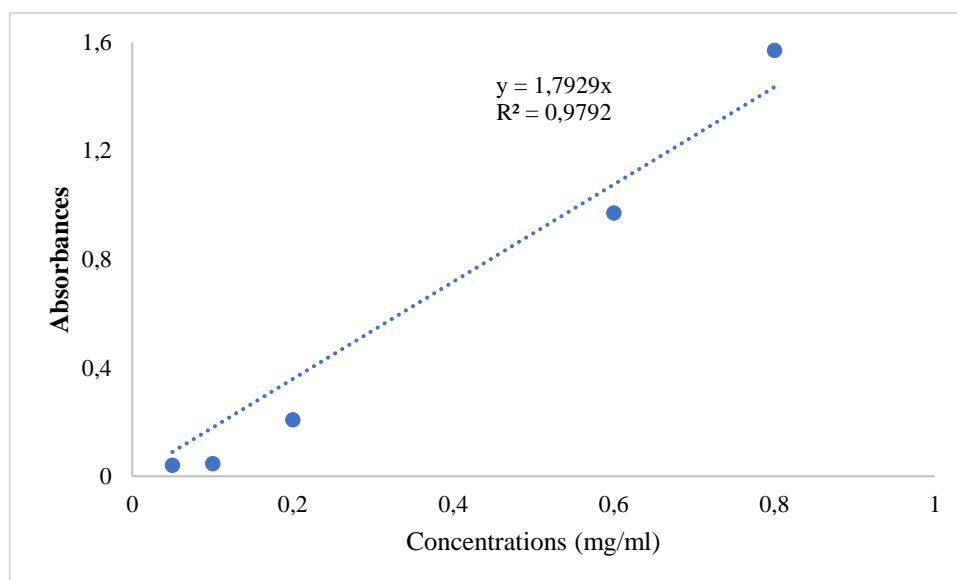


Figure 22 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Nous remarquons que nos deux extraits ont montré une teneur différente, l'un par rapport à l'autre en composés phénoliques, de sorte que l'extrait hydrométhanolique est plus riche en composés polyphénoliques que l'extrait hydroacétonique, avec des concentrations de $422,22 \pm 0,05$ mg Eq AG/g et $259,61 \pm 0,02$ mg Eq AG/g pour chacun, respectivement.

Tableau 08 : Valeurs de dosage des composés phénoliques pour chaque extrait de *Laurus nobilis*.

Extraits	Hydrométhanolique	Hydroacétonique
Quantité de composés phénoliques en (mg Eq AG/g)	$422,22 \pm 0,05$	$259,61 \pm 0,02$

En ce qui concerne le dosage des flavonoïdes totaux, les résultats obtenus ont été moins variables que ceux des composés phénoliques (**tableau 09**).

Suivant le protocole de **Zhishen et al, 1999**, un dosage colorimétrique en triplicate a été effectué avec la catéchine comme standard de référence, dont les valeurs acquises nous a permis de réaliser la droite d'étalonnage illustrée dans la **figure 23**.

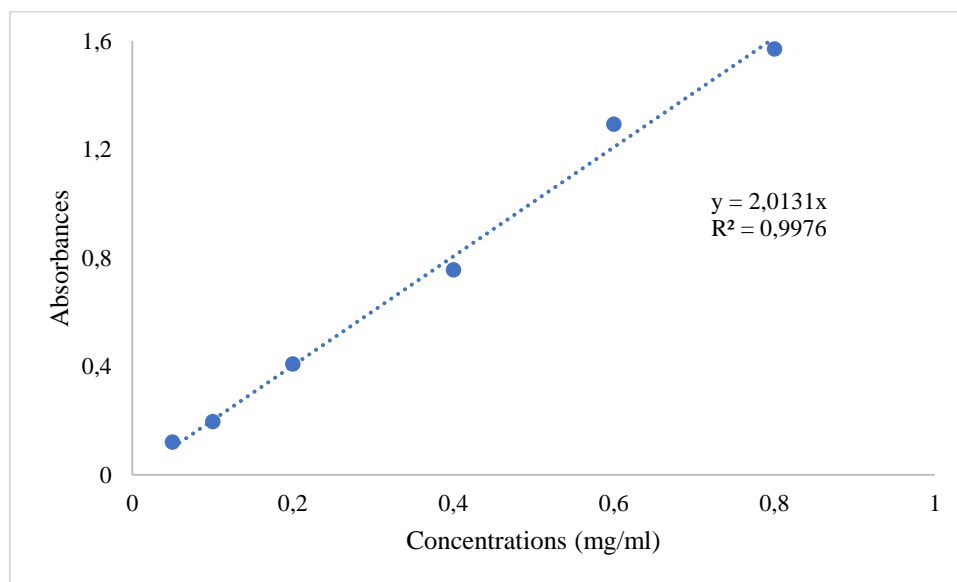


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Tableau 09 : Valeurs de dosage des flavonoïdes pour chaque extrait de *Laurus nobilis*.

Extraits	Hydrométhanolique	Hydroacétonique
Flavonoïdes En (mg Eq C/g)	$320,89 \pm 0,01$	$206,14 \pm 0,003$

Selon nos résultats présentés dans la **figure 23** ainsi que dans le **tableau 09**, nous constatons que la teneur en flavonoïdes est presque la même pour chacun des deux extraits, avec une légère variation entre ces deux derniers, de l'ordre de 114,75 mg Eq C/g manifestée par l'extrait hydrométhanolique.

- **Discussion des résultats**

Les composés phénoliques sont des classes de molécules caractérisés comme l'indique son nom par la présence de plusieurs groupes phénoliques associés 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, l'extrait contenant la plus grande teneur en composés phénoliques s'agit de l'extrait hydrométhanolique avec une concentration de 422,22mg Eq AG/g.

Cette variation du taux de composés phénoliques, notamment entre nos deux extraits, peut être due à la diversité des différents procédés d'extraction tels que : le type de solvant, la température et le temps d'extraction (**Popovici et al., 2009**).

La teneur en polyphénols manifestée par notre extrait hydrométhanolique est supérieure à celle trouvée par **Boutoumou et Ziat (2020)** sur le même extrait de *Laurus nobilis* de l'ordre de $31,18 \pm 0,02$ mg Eq AG/g. Par contre, elle est inférieure par rapport à ceux obtenus par **Biljana et Djendji. (2019)**, ayant travaillé sur les extraits d'acétate d'éthyle, butanol et éther diéthylique des feuilles de *Laurus nobilis* avec la méthode de Folin-Ciocalteu.

En parallèle, les différences des teneurs en flavonoïdes entre les extraits peuvent s'expliquer d'une part, par le nombre différent des structures sécrétées 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 (**Macheix et al., 2006 ; Kaurinovic et al., 2010 ; Gulcin, 2020**).

Une étude réalisée par **Yakhlef et al. (2011)** sur les feuilles de la même espèce, a trouvé une faible teneur en flavonoïdes pour les extraits méthanolique MeOH, aqueux AQ et éther de pétrole EtPe avec des teneurs ($4,75 \pm 0,03$; $0,77 \pm 0,07$; $0,14 \pm 1,01$ mg Eq Q/g d'extrait, respectivement) par rapport à nos extraits.

Nos extraits ont manifesté également des teneurs en flavonoïdes plus importantes que celles des extraits de **Kaurinovic et al. (2010)** sur les feuilles de la même espèce avec des teneurs de $1,56 \pm 0,24$; $1,07 \pm 1,12$ et $0,76 \pm 2,14$ mg Eq Q/g d'extrait, respectivement.

IV. Réduction du fer FRAP

Dans un premier temps, l'activité antioxydante des feuilles de *Laurus nobilis* a été étudiée en utilisant la méthode de réduction du fer FRAP, qui s'intéresse principalement à la réaction de réduction des ions de fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par l'action des espèces antioxydantes contenues dans les extraits végétaux. Une couleur verte très caractéristique est obtenue en fin de la réaction.

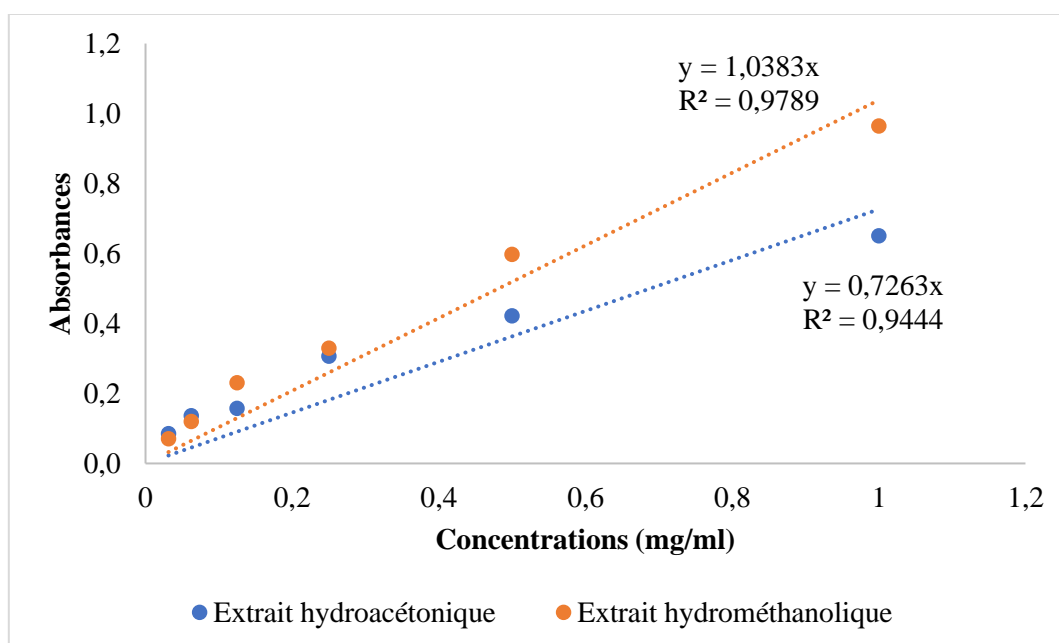


Figure 24 : Pouvoir réducteur des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de *Laurus nobilis* testés par la méthode FRAP.

L'analyse statistique des résultats révèle une relation proportionnelle entre les absorbances et leurs concentrations respectives. Plus l'absorbance est élevée, plus le pouvoir réducteur est important.

D'après les graphes de la **figure 24**, nous remarquons que l'extrait hydrométhanolique a manifesté un pouvoir antioxydant plus important que celui de l'extrait hydroacétonique.

Dans les mêmes conditions expérimentales, l'acide ascorbique a montré une activité supérieure par rapport à celle des deux extraits précédents **figure 25**.

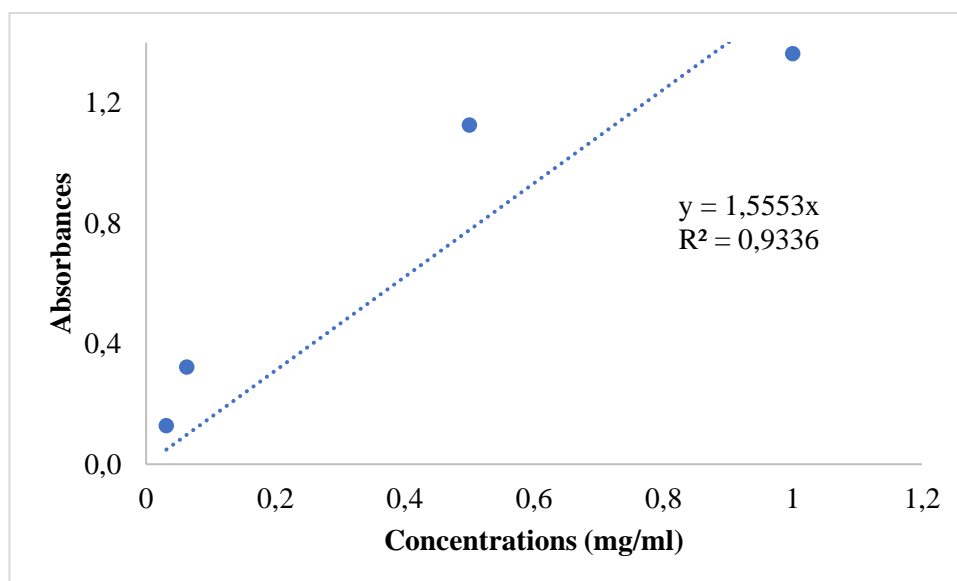


Figure 25 : Pouvoir réducteur l'acide ascorbique testé par la méthode FRAP.

Nous pouvons alors classer les activités antioxydantes par réduction du fer des échantillons précédents comme suit :

Acide ascorbique > Extrait hydrométhanolique > Extrait hydroacétonique.

Nous avons également déterminé les différentes concentrations efficaces 50 (CE₅₀) pour chaque extrait, ainsi que notre antioxydant de référence (l'acide ascorbique). Les résultats obtenus sont récapitulés dans le **tableau 10**.

Tableau 10 : Valeurs des CE₅₀ en mg/ml pour chaque extrait.

Extraits	Acide ascorbique	Hydrométhanolique	Hydroacétonique
Concentration efficace 50 (CE₅₀) en mg/ml	0,32 ± 0,09	0,48 ± 0,07	0,68 ± 0,05

Une CE₅₀ est défini comme la concentration en extrait végétal pour laquelle l'absorbance est égale à une valeur de 50. Ce paramètre est inversement proportionnel à l'efficacité de la réduction de fer et donc de l'activité antioxydante.

Selon les résultats trouvés et représentés dans le **tableau 10** ainsi que les graphes des **figures 24** et **25**, nous constatons que les deux extraits végétaux montrent une activité antioxydante très

intéressante mais toujours relativement inférieure à celle de notre antioxydant de référence, qui s'agit de l'acide ascorbique.

L'extrait hydrométhanolique est doué d'une CE_{50} plus faible (de l'ordre de $0,48 \pm 0,07$), donc un pouvoir antioxydant plus important par rapport à celui de l'extrait hydroacétonique ($CE_{50} = 0,68 \pm 0,05$).

- **Discussion des résultats**

Selon les résultats obtenus précédemment, nous constatons que l'extrait hydrométhanolique possède une activité plus importante pour la réduction du fer (Fe^{3+}) par rapport à l'extrait hydroacétonique, ce qui est probablement dû à sa teneur en différents composés phénoliques (tanins hydrosolubles, tanins condensés, flavonoïdes... etc.) qui jouent, grâce à leurs groupements hydroxyyles le rôle de donneurs d'électrons (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dépendant également de leur concentration, plus que l'extrait est riche en composés phénolique, plus qu'il a un pouvoir réducteur élevé (**Amarowicz et al., 2004**).

A titre comparatif, notre extrait méthanolique est doué d'une activité FRAP inférieure à celle trouvée par **Boutoumou et Ziat (2020)** qui ont obtenu une CE_{50} égale à $54,35 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$ et également à celle trouvée par **Brahmi et al. (2015)** sur un même extrait de *Laurus nobilis*, avec une valeur de l'ordre de $6,99 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$.

Cette différence pourrait être expliquée par les possibles fluctuations qu'on peut observer dans la composition qualitative et quantitative d'une même plante (**Rice-Evans et al., 1996 ; Bahorun et al., 2004**).

V. Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer les courbes de régression logarithmiques ci-dessous (**figures 26, 27 et 28**).

Nous remarquons que l'augmentation du pourcentage d'inhibition est directement proportionnelle à celle de la concentration des extraits.

L'extrait hydrométhanolique montre un pourcentage d'inhibition plus important par rapport à celui de l'extrait hydroacétonique, par contre, cela reste inférieur à celui de l'acide ascorbique.

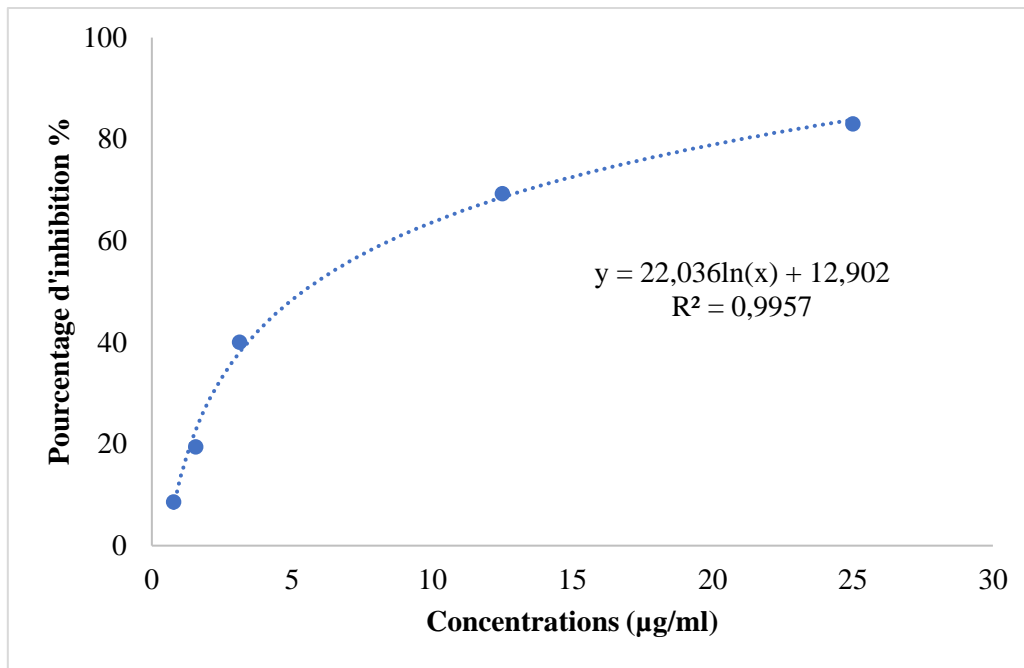


Figure 26 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique.

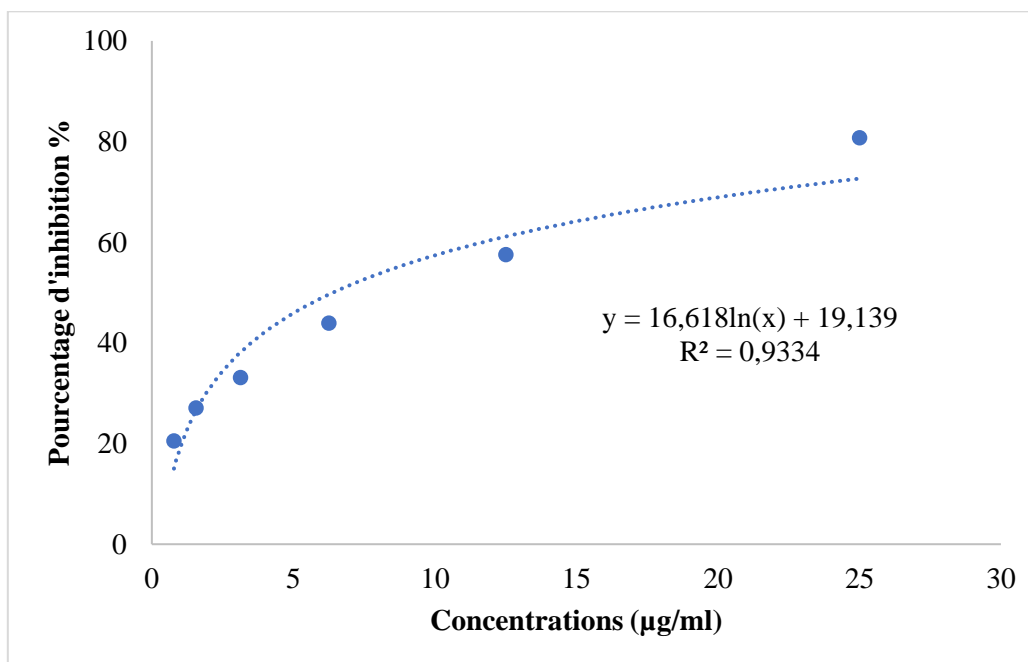


Figure 27 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique.

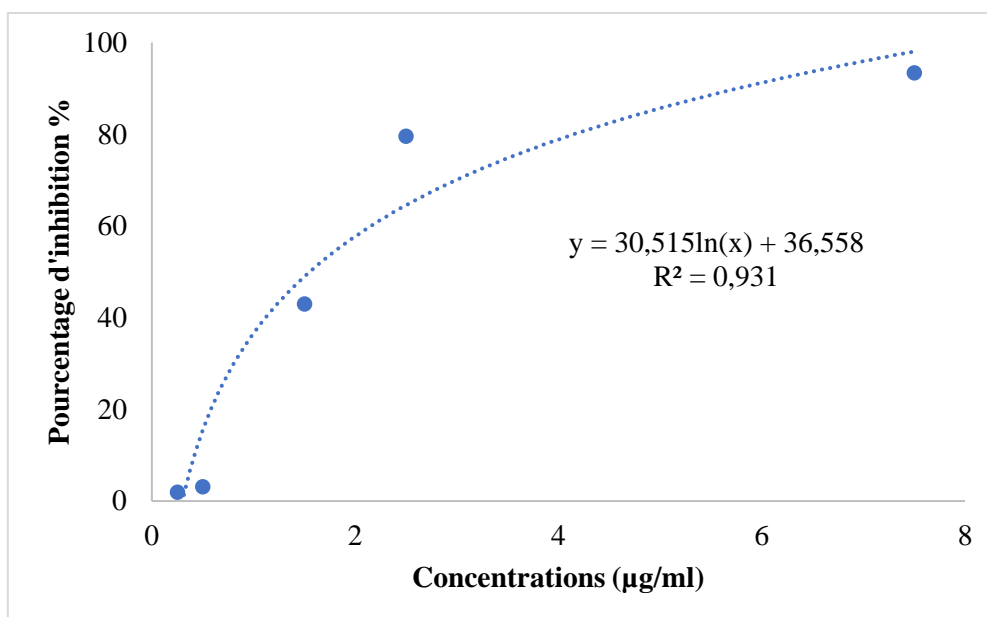


Figure 28 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

À une concentration égale à 25 µg/ml, l'extrait hydrométhanolique manifeste un pourcentage d'inhibition de l'ordre de PI (%) = 83,83 % et à cette même concentration l'extrait hydroacétonique montrera lui un PI (%) = 72,63 %.

Pour mieux comprendre les diverses activités antioxydantes et antiradicalaires de nos deux extraits, nous avons poursuivi avec le calcul d'un autre paramètre, qui s'agit de la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH ou bien la CI₅₀ (**tableau 11**).

Tableau 11 : Valeurs des CI₅₀ en µg/ml pour chaque extrait.

Extrait	Acide ascorbique	Hydrométhanolique	Hydroacétonique
CI ₅₀ en (µg/ml)	1,55 ± 0,06	5,36 ± 0,1	6,40 ± 0,08

D'après les résultats du **tableau 11**, nous remarquons que l'extrait hydrométhanolique est doué d'une CI₅₀ plus élevée que celle de l'extrait hydroacétonique, ce qui signifie une activité antiradicalaire plus importante. Ceci, pourrait être expliqué par la présence des composés phénoliques totaux et flavonoïdes quantifiés dans l'extrait hydrométhanolique, et qui pourraient être impliqués dans le pouvoir antioxydant.

La CI_{50} obtenue pour l'acide ascorbique, utilisé comme molécule de référence, est bien inférieure à ceux des extraits, est donc, l'acide ascorbique possède une activité antioxydante très élevée.

Les deux extraits hydrométhanolique et hydroacétonique, ainsi que l'acide ascorbique peuvent être classés alors selon leur activité antioxydante et antiradicalaire comme suit :

Acide ascorbique > Extrait hydrométhanolique > Extrait hydroacétonique.

- **Discussion des résultats**

L'activité antiradicalaire manifestée par notre extrait hydrométhanolique est clairement supérieure à celle trouvée suite à l'étude menée par **Kaurinovic et al. (2010)** sur les feuilles de la même espèce avec des CI_{50} de $181,35 \pm 3,14 \mu\text{g/ml}$ et $83,24 \pm 2,22 \mu\text{g/ml}$, respectivement.

Ces résultats trouvés peuvent être mis en relation avec les expériences dans lesquelles la quantité totale des phénols et des flavonoïdes a été déterminée (**tableaux 08 et 09**), qui montrent nettement que l'extrait hydrométhanolique des feuilles de laurier contient la plus grande quantité en polyphénols et flavonoïdes. 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 (**Kaurinovic et al., 2010**).

Chapitre 03 : Conclusion Générale & Perspectives

Conclusion générale et perspectives

Depuis l'antiquité, le monde végétal a été toujours considéré comme un réservoir illimité de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle nécessaires à l'élaboration de futurs médicaments qui contribuent de manière significative à la prévention de diverses maladies.

Aujourd'hui, on ne cesse d'assister à un retour à la nature et à la thérapeutique par les plantes en raison des effets néfastes de nombreux traitements conventionnels.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique par le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, accompagnée par un *screening* phytochimique suivi par l'évaluation de l'activité antioxydante selon deux méthodes différentes et complémentaires, qui s'agissent de l'activité antiradicalaire DPPH et celle de la réduction de fer FRAP des différents extraits des feuilles de la plante *Laurus nobilis* L.

Après la réalisation d'une extraction solide – liquide afin d'obtenir deux extraits différents, hydrométhanolique et hydroacétonique, nous avons poursuivi à faire un *screening* phytochimique pour le but d'avoir un aperçu général des différentes molécules d'intérêt biologiques présentes dans notre échantillon.

Les tests du *screening* photochimique ont révélé que notre plante est notablement riche en tanins.

Concernant l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans nos deux extraits, les résultats obtenus, indiquent que l'extrait hydrométhanolique est plus riche en ces composés.

Deux méthodes complémentaires, ont été réalisées en parallèle pour déterminer l'activité antioxydante dans les feuilles de notre plante de choix, elles s'agissent de l'activité antiradicalaire DPPH accompagnée de celle de la réduction du fer FRAP, les résultats obtenus ont pu montrer que notre plante est douée d'une activité antioxydante très intéressante liée à sa composition en polyphénols et flavonoïdes.

En perspectives, nous envisageons de réaliser un ensemble d'autres tests supplémentaires qui peuvent nous aider pour mieux évaluer les activités biologiques restantes et par la suite nous renseigner davantage sur d'autres molécules d'intérêt biologique, citons par exemple :

- L'utilisation d'autres méthodes d'analyse chimique (Chromatographie sur Colonne, HPLC).

- L'évaluation biologique approfondie : activité anti-inflammatoire, évaluation de l'activité anticholinestérase, activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne CUPRAC...etc.
- Des tests biologiques *in vivo* chez les rats.
- La réalisation d'autres activités biologiques telles que ; les activités antifongique, antimicrobiennes, antivirales, analgésiques et anti-carcinogènes...

Références bibliographiques

1. Abe E, Delyle SG, Alvarez JC. (2010). Liquid-liquid extraction : theory, applications and difficulties. *Annales de Toxicologie Analytique*, Vol. 22, n° 2, p 51-59.
2. Afonso, V et al. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : Rôle dans les maladies rhumatismales, *Revue du Rhumatisme*, n°74, p. 636-643.
3. Albano E., French S., Ingelmann-Sundberg M. (1999). Hydroxethyl radicals in ethanol Hepatotoxicity. *Frontiers in Bioscience*. 4 : 533-540.
4. Albano E., Tomasi A., Ingelmann-Sundberg M. (1994). Spin trapping of alcohol-derived radicals in microsomes and reconstituted systems by electron spin resonance. *Meth Enzymo*. 233: 117-127.
5. Amarowicz, R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, and Weil JA. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, Vol. 84, p 551-562.
6. Anderson D., Dobrzynska M.M., Yu T.W. et al. (1997). DNA integrity in human sperm. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*. 17 (3) : 97-10.
7. Annelise L, Françoise C-M, Camille B. (2017). Huile essentielle de Laurier noble. *Actualités pharmaceutiques*, Vol. 56, n°571, p 57-60.
8. Aqilikhorasani MS. (1992). Collection of drugs (Materia media). Enqelab-e-Eslami Publishing and Educational Organization, Tehran, p624-630.
9. Aruoma, O. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition, *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, n°8.
10. Asmus, K.D et Bonifacic, M (2000). «Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise, *Free radicchemIn*, p. 3-53.
11. Ayman T, Jong HA, Yang HJ, Jin YS, Hala KK, Hala G-M, Youngsoo K, Bang YH, Mi KL. (2019).NF-κB inhibitory sesquiterpene lactones from Lebanese *Laurus nobilis*.*Phytochemistry Letters*, Vol.30, p 120-123.
12. Bahorun T, Luximon-Ramma A, Crozier A and Aruoma O. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidins and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of science of food Agriculture*, Vol. 84, p 1553-1561.
13. Balfour J. (2011) *Class Book of Botany, Part 1*. Ed. Nabu Press. 380 p.
14. 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, J.C. Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie*. ; 8 (2) : pp. 141-144.

15. Barla A, Topçu G, Oksuz S, Tumen G, Kingston, DG. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpene from *Laurus nobilis* L. Food chemistry, Vol. 104, n° 4, p 1478- 1484.
16. Beloud A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie. 5^{ème} édition. Ben aknoun Alger. P124-125.
17. Bensouici C. (2015). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre Sedum (Crassulaceae). Thèse pour l'obtention le diplôme du Doctorat en : Sciences en Chimie organique : Université des Frères Mentouri Constantine. P77-108.
18. Benzie F.F., Strain J.J. (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. Analytical biochemistry, 239, 70-76.
19. Biljana K, Djendii V. (2015). Flavonoïdes et acides phénolique en tant que antioxydants naturels potentiels.
20. Botineau M, Pelt J. (2015) Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Paris : Ed. Tec & Doc ; 320 p.
21. Bouchaale I, Kahalerras A, Zouaoui S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie). Diplôme de la fine étude : Science de la nature et de la vie : Université 08 mai 1945 de Guelma.P17.
22. Boumediou, A. et Addoun, S., (2017). Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd - Tlemcen. 67p.
23. Boutoumou B et Ziat S. (2020). Mémoire de Master Etude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de quelques activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne *Laurus nobilis* L, université des frères Mentouri Constantine 1.
24. Bouzid A, Chadli R, Bouzid K, (2016), Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale, Phytothérapie,
25. Brigittpee C, Bruneto J. (1982). Alcaloïdes du laurier noble, *Laurus nobilis*. Journal of Natural Products, Vol. 45, n° 5, p 560-563.
26. Carine B. (2006). Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de

l'inflammation. Thèse de doctorat de l'Université Joseph-Fourier - Grenoble I, France.
p : 5.

27. Carr, A.C. Zhan, B.Z. Frei, B. (2002). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circulation Research* published by the American Heart Association, Vol 7(5), pp. 349-354.
28. Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187
29. COLLOGNAT A. ; (2012). Dictionnaire de la mythologie gréco-romaine : illustrée par les récits de l'Antiquité. Paris : Ed. Omnibus, 1003 p.
30. Defraigne, J.O et Pincemail, J (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités, *Rev Med Liège*, n°6, p. 10-19.
31. Demir V, Guhan T, Yagcioglu AK, Degirmencioglu A. (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*, Vol .88, n° 3, p325-335.
32. Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae), Thèse. Université de Bamako, Mali : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odoto-Stomatologie.
33. El-Sohemy, A. Baylin, A. Spiegelman, D. Ascherio, A. Campos, H. (2002). Dietary and adipose tissue gamma-tocopherol and risk of myocardial infarction. *Epidemiology*, Vol 13 ; Issue 2, pp. 216-223.
34. Fang F, Shengmin S, Kuang YC, Alexander G, Chi-Tang H, Robert TR. (2005). Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (*Laurus nobilis*). *Food Chemistry*, Vol. 93, p 497–501.
35. Favier, A (2003). Le stress oxydant.L'actualité chimique, 108p.
36. Ferreira A, Proenc C, Serralheiro M, Araujo M. (2006). The *in vitro* screening for acetyl cholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 108, p 31-37.
37. Fiorini C, Daid B, Fourastet I, Vercauteren J. (1998). Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. *Phytochemistry*, Vol.41, n°5, p 821-824.
38. Flamini G, Tebano M, Cioni PL, Ceccarini L, Ricci AR, Longo I. (2007). Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *Journal of Chromatography A*, Vol.1143, p 36–40.

39. Geerts P, Rammeloo J, Van Cauteren G, et al., (2002). *Laurus nobilis* : le livre du laurier. Gand : Ed. Ludion ; 131 p.
40. Gicquel T, et al., (2016), L'inflammasome NLRP3 : physiopathologie et application thérapeutique. Presse Med. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lpm.2016.01.006>.
41. Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazawa K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*. 45 : 1318-1325.
42. Gulcin İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, Vol. 86, p345-391.
43. Gutteridge, J.M.C et Halliwell, P.B. (1993). Invited Review Free Radicals in Disease Processes : A Compilation of Cause and Consequence, *Free Radic Res Commun*, n°193, p.141-58.
44. Haleng, J et al. (2007). « Les stressoxydant ». *Rev Med Liege*, n°62, p. 628-638.
45. Halliwell B., Gutteridge J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*. 186 : 1-85.
46. Humaira R, Noorah Al K, Nadeen N, Al-Meghailaith, Nadine MS M, and Gadah A. (2019). Evaluation of Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Activity of *Laurus nobilis* L Grown in Saudi Arabia. *J Pure Appl Microbiol*, Vol.13, n°4, p 2073-2085.
47. Iserin P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Tome 2 Edition. Londres : de Larousse. P143- 225-226.
48. Iserin P. (2001). *Larousse Encyclopédie des plantes médicinales*. Edition. Paris : de Larousse. P10-335.
49. Judd W, Campbell C, Kellogg E, et al., (2002) *Botanique systématique : Une perspective phylogénétique*. Paris : Ed. De Boeck Supérieur ; 1428 p.
50. Kang HW, Yu KW, Jun W J, Chang I S, Han SB, Kim H Y. (2002). Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compounds from leaves of *Laurus nobilis*. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, Vol.25, p 102–108.
51. Kaurinovic B, Popovic M, Vlasisavljevic S. (2010). *In vitro* and *in vivo* effects of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Molecules*, Vol.15, n° 5, p3378 - 3390.
52. Kivçak B, Mert T. (2002) Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, Vol. 73, p 242-243.

53. Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala-Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
54. Lee EH, Shin JH, Kim SS, Lee H, Yang S-R, Seo SR. (2018) *Laurus nobilis* leaf extract controls inflammation by suppressing NLRP3 inflammasome activation. *J Cell Physiol.*; 1–11. <https://doi.org/10.1002/jcp.27434>.
55. Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M P
 56. M P Lehucher-Michel , J F Lesgards, O Delubac, P Stocker, P Durand, M Prost (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives
57. Mena S., Ortega A., Estrela J.M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research*. 674: 36-44.
58. Muñiz-Márquez DB, Martínez-Ávila GC, Wong-Paz JE, Belmares-Cerda R, Rodríguez-Herrera R, Aguilar CN (2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20 (5) : 1149 – 1154.
59. Myose M, Paris R. (1976). Précis de matières médicales. Edition. Paris :de Masson. P161-162.
60. Nkhili, E. Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Université Cadi Ayyad-Marrakech.
61. Ozcan B, Esen M, Sangun MK, Coleri A, Caliskan M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*, Vol. 31, n°5, p 637-641.
62. Pillou, F (2014). Radicaux libres – Définition, *Journal des Femmes*.
63. Popovici C, Saykova I, Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, Vol.4, p 25-39.
64. Puppò, A et Halliwell, B (1988). Formation for hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological fenton reagent ?, *J Biochemistry*, n°249, p. 185-90.
65. Quezel P, Santa S. (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome II Edition. Paris : Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. P 360-361.

66. Quy-Diem D, Artik E, Phuong L, Lien H. (2014). Effect of extraction solvent on totalphenol content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Limnophila* aromatic. J. food and drug analysis, Vol.22, n°3, p 296-302.
67. Reynaud J. (2002). La flore du pharmacien. In : solanacées. Edition : tec et doc. P200.
68. Rice-Evans C, Sampson J, Brameley M and Holloway E. (1997). Why do we expect carotenoids to be antioxidants *in vitro*. Free Radical Research, Vol.26, p 381-398.
69. Salhi N, Goumni Z, Salhi A, mehani M, Vleria et Terzi. (2015). Évaluation de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. sur la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichoide*. Revue Elwihat pour les recherches et les études ISSN, vol .8, n° 2, p34 - 44.
70. Sayyah M, Valizadeh J, Kamalinejad M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures, Phytomedicine, Vol. 9, n°3, p 212-216.
71. Schiavone S., Jaquet V., Trabace L., Krause K.H. (2013). Severe Life Stress and Oxidative Stress in the Brain : From Animal Models to Human Pathology /Antioxidant Redox Signal. 18 (12): 1475-1490.
72. Siddhuraju P, and Becker K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry, Vol.101, p 10-19.
73. Simic M, Kundakovic T, Kovacevic N. (2003). Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia, Vol 4, p613–616.
74. Spichiger RE, Savolainen VV, Figeat M, Jeanmonod D. (2002). Botanique Systématique des plantes à fleurs. Edition : Presses polytechniques et universitaires romandes. P 413.
75. Teuscher E, Anton R, Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Paris : Ed. Tec & Doc. pp. 285-289.
76. Uchiyama N, Matsunaga K, Kiuchi F, Honda G, Tsubouchi A, Nakajima Shimada J. (2002). Trypanocidal terpénoïdes from *Laurus nobilis* L. Chemical pharmaceutical Bulletin, Vol. 50, p 1514–1516.
77. Wanges P.A., Silbajoris R., Speen A., Brighton L., Henriquez A., Tong H., Bromberg P.A., Simmons S.O., Samet J.M. (2014). Role of H₂O₂ in the oxidative effects of zinc exposure in human airway epithelial cells. Redox Biology. 3 : 47-55.

78. Yakhlef G, Laroui S, Hambaba L, Aberkane 2M-C, Ayachi A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Ethnopharmacologie*. Vol.9, p 209-218.
79. Yoshikawa M, Shimoda H, Uemura T, Morikawa T, Kawahara Y, Matsuda H. (2000). Alcohol Absorption Inhibitors from Bay Leaf (*Laurus nobilis*) : Structure-Requirements of Sesquiterpenes for the Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 8, p 2071-2077.
80. Anonyme 01 : <https://www.sergelaplanche.fr/jardin-des-saveurs/galerie/photos-75/> consulté le : 10/03/2022.
81. Anonyme 02 : <https://sauvonsnotrepeau.fr/huile-essentielle-laurier-noble-anti-douleur-laurus-nobilis/> consulté le : 10/03/2022.