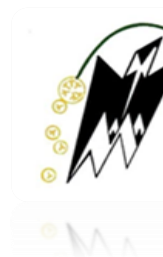


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU.



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES

DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

**FILIERE : BIOLOGIE**

**SPECIALITE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE**

**THEME**

*Etude de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et  
antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus  
nobilis L.**

Réalisé par :

- KRIRECHE Tania.
- MEKACHER Anaïs

Devant le jury composé de :

Mr HOUALI K.	Professeur.	Président.	UMMTO
Mr MOUALEK I.	Maître de conférences A.	Encadreur.	UMMTO
Mr MSELLA A.	Maître de conférences B.	Examineur	UMMTO

*Année universitaire 2021-2022*

# Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur **Mr MOUALLEK I**, maître de conférences à la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou, pour sa patience, sa confiance, ses conseils judicieux, son suivi et ses directives qui nous ont énormément servi pour la concrétisation de ce travail.*

*Nous remercions également **Mr HOUALI K.** professeur au département de Biochimie et de Microbiologie de l'UMMTO et directeur du laboratoire LABAB pour son accueil, pour les moyens nécessaires et les conditions favorables mises à notre disposition pour le bon déroulement de notre travail, ainsi que pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de notre mémoire.*

*Nos remerciements également **Mr. MSEL A.** notre Co-promoteur qui nous a dirigé durant ce travail avec une grande rigueur scientifique et de pour nous avoir fait l'honneur de contribuer par sa participation à l'examen de ce travail.*

*Un grand merci à toutes personnes ayant participé de près comme de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.*

## Dédicaces

*Je dédie cet humble travail*

*A vous très chers parents,*

*Maman, quoi que je dise ou quoi que je fasse, je ne saurai point te remercier assez pour tous les sacrifices que tu consens pour mon bien être, mon éducation et mon instruction. Ta bienveillance, ton assistance et ta présence à mes côtés ont toujours été ma force pour affronter les différents obstacles de la vie et ont guidé mes pas vers la réussite.*

*Papa, toi qui a toujours été et restera toujours un exemple pour moi. Ta compréhension, tes encouragements et tes précieux conseils sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter.*

*Aucune dédicace ne saurait être à la hauteur de vos mérites. Que Dieu, tout puissant vous préserve et vous accorde santé et longue vie. Acceptez ce travail comme le témoignage de ma reconnaissance et ma gratitude et profond amour.*

*A mes chères sœurs,*

*Chanez et Lydia, je vous remercie infiniment pour votre aide, votre soutien quotidien et vos encouragements qui sont la source de ma motivation. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite. Que Dieu vous protège et consolide les liens qui nous unissent.*

*A mon adorable petit neveu,*

*Malik, toi qui as toujours su me redonner le sourire et me procurer la joie et la bonne humeur.*

*A tous les membres de ma famille, MEKACHER et GUENDOUZI*

*A tous mes chers ami(e)s,*

*En particulier Bia. C., Keltoum R. et Tania. C, je vous remercie pour votre amour, votre soutien moral et pour vos encouragements sans cesse. Je vous souhaite beaucoup de succès dans votre vie.*

*Sans oublier mon binôme Tania, pour sa patience, sa compréhension tout le long de ce travail malgré certaines difficultés qu'on a réussi à surmonter ensemble.*

*Anaïs*

## **Dédicaces**

*C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents **Malik** et **Nadjia**, pour l'éducation, les valeurs morales et le sens de responsabilité que vous m'avez inculquée, vos encouragements, votre amour, votre soutien durant mes moments difficiles, et aujourd'hui encore. Ainsi que les sacrifices consentis à mon égard tout au long de mes études ;*

*A ma défunte grand-mère paternelle **Ouardia**, qui a attendu avec impatience ce moment mais qui malheureusement nous a quitté très tôt, j'aurais souhaité que tu sois là pour partager ma joie, tu seras toujours dans mon cœur ;*

*A mon cher et unique petit frère **Lyes**, qui malgré la distance n'a pas cessé de m'encourager au quotidien ;*

*A ma chère et unique grande sœur **Yasmine**, pour ta longue patience avec moi et ton soutien inestimable ;*

*A ma cousine préférée **Naila** qui ne m'a jamais lâché depuis toujours, pour l'encouragement permanent, l'attention et l'aide que tu m'as apportée ;*

*A tous les membres de ma famille oncles, tantes et cousin(e)s maternelle et paternelle pour tous les moments de bonheur qu'ils m'apportent ;*

*A mes ami (e)s et plus spécialement **Yasmine. A, Sabrina.G, Katia.K, Yasmine.K, Khalid.G, Nassim. A, Karim.C**, pour leur gentillesse, leurs conseils précieux, leur écoute et tous les sentiments qu'ils me témoignent ;*

*A mon binôme **Anaïs**, pour les instants de joie comme de peine partagés, pour le travail d'équipe dont on a fait preuve afin de concrétiser ce travail. Ce n'était pas facile mais aujourd'hui on a réussi et je suis fier de nous.*

*A toute la promotion de Microbiologie appliquée de l'année 2021/2022*

*A tout(e)s mes enseignant(e)s de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou qui ont tout donné pour transmettre leurs savoirs et qui ont contribué à ma formation.*

*Tania*

# *Sommaire*

## *Sommaire*

<i>Remerciement.</i> .....	I
<i>Dédicaces.</i> .....	II
<i>Sommaire</i> .....	III
<i>Liste des abréviations</i> .....	IV
<i>Liste des figures et tableaux</i> .....	V
<i>Résumé</i> .....	III
<i>Introduction</i> .....	01

### *Partie I : Synthèse bibliographique*

#### *Chapitre I : Généralités sur Laurus nobilis L.*

I.1. Présentation de Laurus nobilis L. ....	03
I.2. Systématique de la plante. ....	03
I.3. Noms vernaculaires. ....	04
I.4. Répartition géographique .....	04
I.5. Description botanique .....	05
I.6. Usage traditionnel .....	06
I.7. L'huile essentielle de Laurier.....	07
I.8. Différents types de Laurier .....	08
I.9. Composition chimique et molécules bioactives .....	09

***Chapitre II : Les composés phénoliques.***

II.1. Les métabolites secondaires .....11

II.2. Les polyphénols .....11

II.2.1. Définition.....11

II.2.2. Classification des polyphénols.....12

II.2.2.1. Les flavonoïdes .....12

II.2.2.2. Les tannins .....15

II.2.2.3. Les non flavonoïdes .....16

II.3. Biosynthèse des polyphénols.....17

II.4. Effets biologiques des polyphénols.....18

II.4.1. Chez les végétaux.....18

II.4.2. Chez les humains .....18

II.5. Composés phénoliques de *Laurus nobilis* L. ....20

***Chapitre III : Activités biologiques***

III.1. Activité anti-inflammatoire .....22

III.1.1. L'inflammation .....22

III.1.1.1. L'inflammation aigue.....22

III.1.1.2. L'inflammation chronique.....23

III.1.2. Les médiateurs de l'inflammation .....23

III.1.3. Les anti-inflammatoires .....25

III.1.3.1. Définition.....25

III.1.3.2. Les antioxydants synthétiques .....25

## Sommaire

---

III.1.3.3. Les antioxydants naturels .....	26
III.1.4. L'activité anti-inflammatoire de <i>Laurus nobilis</i> L.....	26
III.2. Activité antioxydante .....	27
III.2.1. Le stress oxydatif .....	27
III.2.1.1. Les conséquences du stress oxydatif.....	27
III.2.1.2. Les radicaux libres .....	28
III.2.1.3. Les espèces réactives d'oxygène .....	29
III.2.2. Les antioxydants .....	30
III.2.2.1. Principaux antioxydants .....	30
III.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques endogènes .....	30
III.2.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques endogènes .....	31
III.2.2.1.3. Les antioxydants non enzymatiques exogènes .....	31
III.2.3. Activité antioxydante de <i>Laurus nobilis</i> L .....	33
III.3. Activité antibactérienne .....	33
III.3.1. Les antibiotiques .....	33
III.3.2. Classification des antibiotiques .....	34
III.3.3. Mode d'action des antibiotiques.....	34
III.3.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	35
III.3.5. Activité antibactérienne de <i>Laurus nobilis</i> L .....	35
III.4. Autres activités de <i>Laurus nobilis</i> L .....	35

## *Partie II : Partie expérimentale*

### *Chapitre IV : Matériels et méthodes*

VI. Matériels et méthodes.....	38
VI.1. Matériels .....	39
VI.1.1. Matériel végétal .....	39
VI.1.2. Prélèvements sanguins .....	40
VI.1.3. Les souches bactériennes .....	40
VI.2. Méthodes.....	40
VI.2.1. Préparation de l'extrait aqueux .....	40
VI.2.2. Méthodes d'analyse .....	41
VI.2.2.1. Le dosage des polyphénols totaux .....	41
VI.2.2.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	42
VI.2.2.2.1. Test d'hémolyse.....	43
VI.2.2.2.2. Préparation de la suspension érythrocytaire .....	43
VI.2.2.2.3. Test de l'innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires .....	44
VI.2.2.2.4. Effet protecteur de l'extrait vis-à-vis d'un Stress hypotonique .....	45
VI.2.2.2.5. Effet protecteur de l'extrait vis-à-vis d'un stress thermique .....	47
VI.2.2.2.6. Inhibition de la dénaturation thermique de la BSA .....	47
VI.2.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	48
VI.2.2.3.1. Evaluation de la capacité antioxydante totale (TAC) .....	48
VI.2.2.3.2. Evaluation du pouvoir réducteur ferrique (FRAP) .....	48

## Sommaire

---

VI.2.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	50
VI.2.2.4.1. Revivification des souches bactériennes .....	50
VI.2.2.4.2. Préparation de l'inoculum .....	50
VI.2.2.4.3. Technique de diffusion sur milieu solide (méthode des disques).....	50

### *Chapitre V : Résultats et discussions*

V.1. Détermination de la teneur en polyphénols.....	53
V.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	54
V.2.1. Innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires .....	54
V.2.2. Effet protecteur de l'extrait aqueux vis-à-vis d'un stress hypotonique .....	55
V.2.3. Effet protecteur de l'extrait aqueux vis-à-vis d'un stress thermique .....	57
V.2.4. Inhibition de la dénaturation de la BSA.....	58
V.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	59
V.3.1. La capacité antioxydante totale (TAC) .....	59
V.3.2. Réduction du fer (FRAP) .....	60
V.4. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	61
V.4.1. Test de diffusion sur gélose .....	61
V.4.2. Test de combinaison « extrait-antibiotique » .....	63
<b>Conclusion</b> .....	<b>66</b>

### *Références bibliographiques.*

### *Annexes.*

### ❖ *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**AINS** : anti-inflammatoires non stéroïdiens.

**AIS** : anti-inflammatoires stéroïdiens

**ATB** : antibiotique.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**BHA**: Butyl Hydroxy Anisole.

**BHIB**: Brain Heart Infusion Broth.

**BHT** : Butyl Hydroxy Toluène.

**BSA** : Albumine sérique bovine.

**CAT** : Catalase.

**CoA** : coenzyme A.

**COX** : Cycloxygénases.

**DDPH** : 1.1-Diphényl-2-Picryl-hydrazine.

**DO** : densité optique.

**EAA** : équivalent acide ascorbique.

**EAG** : équivalent d'acide gallique.

**Eq** : Extrait aqueux.

**ERO** : espèces réactives d'oxygène.

**Fe<sup>2+</sup>/ Fe<sup>3+</sup>** : Ions ferriques.

**FRAP**: Ferric ions Reducing Antioxydant parameter.

**GN** : gélose nutritive.

**GPx** : Glutathion peroxydase.

**GR** : globule rouge.

**HE** : Huile essentielle.

**IC50** : Concentration Inhibitrice50.

**IL** : Interleukines.

**LABAB** : Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies.

**LPS**: lipopolysaccharides.

## Liste des abréviations

---

**MH:** Muller- Hinton

**NLRP:** Leucine Rich Repeat and Pyrin domain containing.

**NMRI:** Network of Minority Health Research Inverstigators.

**NO :** oxyde nitrique synthase.

**OG :** Gallate d'Octyle.

**PAM :** plantes médicinales et aromatiques.

**PAMP:** Pathogen Associated Molecular Patterns.

**PBS :** Tampon phosphate salin.

**PG :** Gallate de propyle.

**PGE2 :** Prostaglandin E2

**PGI2 :** Prostacycline I2.

**PLA2 :** phospholipase A2.

**PPT :** polyphénols totaux.

**PRR:** Pattern Recognition Receptors.

**SOD:** Superoxyde dismutase.

**TAC:** Total Antioxydant Capacity.

**TNF-  $\alpha$  :** Tumor Necrosis Factor alpha.

**UV :** ultra-violet.

**ZI :** zone d'inhibition.

## Liste des figures et tableaux

### ❖ Liste des figures

Liste des figures	Le titre	Page
Figure 1	Localisation naturelle de <i>Laurus nobilis</i> à travers le monde.	04
Figure 2	Les différentes parties de <i>Laurus nobilis</i> L.	06
Figure 3	Classification de quelques métabolites secondaires.	11
Figure 4	Structure de base des flavonoïdes.	13
Figure 5	Comparaison entre la structure chimique d'un flavone et d'un flavonol.	13
Figure 6	Structure chimique des flavanones.	14
Figure 7	Structure chimique des flavonols.	14
Figure 8	Structure chimique des isoflavones.	14
Figure 9	Structure chimique des chalcones.	15
Figure 10	Structure chimique de l'anthocyane.	15
Figure 11	Structure des tannins hydrolysables.	16
Figure 12	Structure de base d'un tannin condensé.	16
Figure 13	Structure de base de l'acide phénolique.	17
Figure 14	Structure de base des lignanes.	17
Figure 15	Biosynthèse des polyphénols par la voie de shikimate.	18
Figure 16	Composés phénoliques des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .	20
Figure 17	Principales étapes de l'inflammation aiguë.	23
Figure 18	Mécanisme d'action des AINS et des AIS (corticoïdes).	26
Figure 19	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	27

## Liste des figures et tableaux

<b>Figure 20</b>	Atteintes ciblées des radicaux libres.	<b>28</b>
<b>Figure 21</b>	Sources de la formation des radicaux libres.	<b>28</b>
<b>Figure 22</b>	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène.	<b>29</b>
<b>Figure 23</b>	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques.	<b>31</b>
<b>Figure 24</b>	Cibles d'actions des antibiotiques.	<b>34</b>
<b>Figure 25</b>	Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux adoptés.	<b>38</b>
<b>Figure 26</b>	feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	<b>39</b>
<b>Figure 27</b>	feuilles sèches de <i>Laurus nobilis</i>	<b>39</b>
<b>Figure 28</b>	poudre des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	<b>39</b>
<b>Figure 29</b>	Schéma récapitulatif des différentes étapes d'exaction aqueuse.	<b>41</b>
<b>Figure 30</b>	Schéma récapitulatif du Protocol de dosage des polyphénols totaux.	<b>42</b>
<b>Figure 31</b>	Schéma de la préparation de la suspension érythrocytaire	<b>43</b>
<b>Figure 32</b>	Protocol du test de protection de l'extrait vis-à-vis d'un stress hypotonique..	<b>45</b>
<b>Figure 33</b>	Protocol du test de protection de l'extrait vis-à-vis d'un stress thermique	<b>46</b>
<b>Figure 34</b>	Protocol du test de l'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA.	<b>47</b>
<b>Figure 35</b>	Schéma récapitulatif du Protocol du test de la TAC.	<b>48</b>
<b>Figure 36</b>	Schéma récapitulatif du Protocol du test de la FRAP.	<b>49</b>
<b>Figure 37</b>	Ensemencement en stries par écouvillonnage.	<b>51</b>
<b>Figure 38</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	<b>53</b>

## Liste des figures et tableaux

<b>Figure 39</b>	Comparaison entre la densité optique de l'extrait aqueux et de la saponine	<b>55</b>
<b>Figure 40</b>	Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis d'un stress osmotique en fonction des différentes concentrations en extrait de <i>Laurus nobilis</i> .	<b>55</b>
<b>Figure 41</b>	Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis d'un stress thermique en fonction des différentes concentrations en extrait de <i>Laurus nobilis</i> .	<b>57</b>
<b>Figure 42</b>	Pourcentage de protection de la BSA vis-à-vis d'une dénaturation thermique.	<b>58</b>
<b>Figure 43</b>	Capacité antioxydante totale de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux de <i>Laurus nobilis L.</i>	<b>59</b>
<b>Figure 44</b>	Evaluation du pouvoir réducteur ferrique de l'extrait végétal et de l'acide ascorbique.	<b>60</b>

### ❖ *Liste des tableaux*

## Liste des figures et tableaux

Liste des tableaux	Le titre	Page
<b>Tableau I</b>	classification botanique de <i>Laurus nobilis L.</i>	<b>03</b>
<b>Tableau II</b>	Noms vernaculaires de <i>Laurus nobilis L.</i>	<b>04</b>
<b>Tableau III</b>	Quelques usages traditionnels de <i>Laurus nobilis L.</i>	<b>07</b>
<b>Tableau IV</b>	Autres espèces du Laurier noble ( <i>Laurus nobilis</i> ).	<b>08</b>
<b>Tableau V</b>	Les principaux composants des feuilles de <i>Laurus nobilis L.</i>	<b>09</b>
<b>Tableau VI</b>	Les différentes classes des polyphénols.	<b>12</b>
<b>Tableau VII</b>	Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme .	<b>19</b>
<b>Tableau VIII</b>	Les principaux rôles des médiateurs et leurs origines cellulaires.	<b>24</b>
<b>Tableau IX</b>	les espèces réactives d'oxygène.	<b>29</b>
<b>Tableau X</b>	Principales familles des antibiotiques.	<b>34</b>
<b>Tableau XI</b>	Description des souches bactériennes.	<b>40</b>
<b>Tableau XII</b>	les antibiotiques utilisés.	<b>51</b>
<b>Tableau XIII</b>	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches mesurés en mm	<b>62</b>
<b>Tableau VX</b>	Résultats du test de combinaison de l'antibiotique avec l'extrait aqueux de <i>Laurus nobilis L.</i>	<b>64</b>

## Résumé

Le présent travail vise à explorer l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L. qui renferme des composés phytochimiques. L'analyse de ces derniers a révélé que notre extrait présente une forte teneur en polyphénols totaux ( $139.66 \pm 6.16$  mg EAG/g).

D'une part, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est effectuée par la méthode de l'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA et le test de protection de la membrane des globules rouges vis-à-vis d'un stress osmotique et thermique. Cette étude a montré que l'extrait aqueux possède un effet protecteur significatif et les résultats obtenus sont respectivement de  $72.430 \pm 0.010$  %,  $96.5 \pm 0.007$  % et  $88.74 \pm 0.007$  %. D'autre part, une évaluation de l'activité antioxydante donne des valeurs d'IC<sub>50</sub> de  $674.6 \pm 29.21$  µg/ml pour la capacité antioxydante totale et une IC<sub>50</sub> de  $836.16 \pm 27.68$  µg/ml pour le pouvoir réducteur ferrique. De même, l'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, l'extrait a montré une inhibition de croissance de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

D'après les résultats obtenus au cours de cette étude, nous pouvons conclure que l'extrait aqueux de feuilles de *Laurus nobilis* L. possède un potentiel relativement important pour les activités étudiées. De ce fait, les feuilles de *Laurus nobilis* constituent une véritable source de molécules bioactives qui peuvent constituer une alternative dans le traitement de nombreuses pathologies.

**Mots clé :** *Laurus nobilis* L, activité anti-inflammatoire, activité antioxydante, activité antibactérienne, polyphénols, érythrocytes.

## Abstract

The present work aims to explore the anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial activity of the aqueous extract of the leaves of *Laurus nobilis* L which contains phytochemical compounds. The analysis of the latter revealed that our extract has a high content of total polyphenols ( $139.66 \pm 6.16$  mg EAG/g)

On the one hand, the evaluation of the anti-inflammatory activity is carried out by the method of inhibition of the thermal denaturation of BSA and the test of protection of the membrane of the cells red against osmotic and thermal stress. This study showed that the aqueous extract has a significant protective effect and the results obtained are respectively of the order of  $72.430 \pm 0.10$  %,  $96.5 \pm 0.07$  % and  $88.74 \pm 0.007$  %. On the other hand, the evaluation of the antioxidant activity is made the extract recorded an IC<sub>50</sub> of 30 for the total antioxidant capacity and an IC<sub>50</sub> of 20 for the ferric reducing power. Similarly antibacterial activity was assessed by diffusion method in a gel medium, the extract showed growth inhibition of *Bacillus Cereus* and *Staphylococcus aureus*.

According to the results obtained during this study, we can conclude that the aqueous extract of *Laurus nobilis* L leaves has a potential quite interesting for the activities evaluated. Therefore, the leaves of *Laurus nobilis* constitute a real source of bioactive molecules which can constitute an alternative in the treatment of many pathologies.

**Key words:** *Laurus nobilis* L, anti-inflammatory activity, antioxidant activity, antibacterial activity, polyphenols, erythrocytes.

# ***Introduction***

### Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes est très ancienne et évolue avec l'humanité.

De nos jours, l'utilisation excessive d'agents chimiques est souvent accompagnée d'effets secondaires indésirables. En effet, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, la toxicité des antioxydants et les dommages causés par les anti-inflammatoires ont conduit la communauté scientifique à s'orienter vers les molécules bioactives d'origine végétale, principalement à partir des plantes médicinales (**KARTHIK et al. 2013**), qui sont considérées comme alternative thérapeutique pour le traitement de nombreuses maladies.

Aujourd'hui les plantes médicinales constituent une source inépuisable de métabolites secondaires, essentiellement les polyphénols qui sont dotés de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques (**HIRASA et TAKEMASA, 1998**) et sont connus pour leurs diverses utilisations dans les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et même cosmétiques.

Parmi les plantes médicinales abondantes en Algérie et réputées pour leurs propriétés thérapeutiques (anti-inflammatoire, antioxydant et antibactérien), nous retrouvons *Laurus nobilis* L. connu sous le nom de laurier noble, appartenant à la famille des Lauracées. Le laurier est généralement utilisé en cuisine pour l'assaisonnement, mais également en médecine traditionnelle contre les rhumatismes, la toux, les maladies cardiaques, les infections virales, la diarrhée, etc., et comme stimulant général des sécrétions gastriques, carminatif... (**ALEJO-ARMIJO et al. 2017**).

Dans ce contexte, notre travail a pour but l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L. Notre étude est subdivisée en deux parties :

- Une partie bibliographique qui rassemble les données théoriques, qui est constituée de trois chapitres, dont le premier traite l'étude botanique de la plante médicinale étudiée, le deuxième consacré aux métabolites secondaires et en dernier les différentes activités biologiques qui font l'objet de notre étude.
- Une partie expérimentale qui comporte les méthodes et techniques utilisées pour l'évaluation des différentes activités biologiques, et la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

A la fin, une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats des travaux et leurs perspectives.

# *Partie I :*

## *Synthèse bibliographique*

# ***Chapitre I :***

Généralités sur *Laurus nobilis L.*

## I.1. Présentation de *Laurus nobilis*

Laurier noble, du latin *Laurus nobilis* L., signifie « toujours vert » faisant allusion au feuillage persistant de la plante.

Le Laurier noble est un arbuste vivace de la famille des Lauriers (Lauraceae) comprenant 32 genres et de 2400 à 2500 espèces. Il est originaire d'Asie mineure, retrouvé également dans l'ensemble du bassin méditerranéen. (AKGÜL *et al.*, 1989)

## I.2. Systématique de la plante

La classification est regroupée dans le tableau I.

**Tableau I** : Classification botanique de *Laurus nobilis* L. (BALLABIO et GOETZ, 2010)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheophyta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Magnoliidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Laurales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lauraceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Laurus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Laurus nobilis</i> L

### I.3. Noms vernaculaires

La dénomination internationale est représentée dans le tableau II.

**Tableau II** : Noms vernaculaires de *Laurus nobilis* L. (GEERTS, RAMMELOO, et VAN CAUTEREN, 2002)

<b>Nom Français</b>	<b>Laurier commun</b> <b>Laurier noble</b>
<b>Nom Arabe</b>	Warakat sidna moussa El ghar
<b>Nom Anglais</b>	Laurel oil Noble Laurel
<b>Nom Berbère</b>	Thasselte Erend
<b>Nom Allemand</b>	Lorbeersamen Lorbeer

### I.4. Répartition géographique

Originaire de la Méditerranée, le laurier noble pousse spontanément dans le Tell algérien, mais est aussi cultivé dans de nombreux foyers. Les principaux pays producteurs sont la Turquie (avec deux tiers de production mondiale), l'Albanie, le Maroc ainsi que la Grèce et l'Italie. (BELOUD, 2005)



**Figure1** : Localisation naturelle de *Laurus nobilis* L. à travers le monde. (BELOUD, 2005)

### I.5. Description botanique

Le laurier est un grand arbre atteignant 2 à 6m de haut, voir 10m dans certains cas. Il est doté d'un feuillage persistant, dense, vert foncé. Sa croissance est généralement lente. En 20ans, il ne peut atteindre que 5à 6m. (TEUSCHER et *al.*, 2005)

La plante est constituée des organes suivant :

- **Ecorce et tiges**

L'écorce du tronc est de couleur vert olive à noire. Au fil des années, elle finit par devenir grise. L'écorce peut nécessiter plusieurs années pour sa constitution. Les tiges sont vertes et poussent vers le haut. (BALFOUR, 2011)

- **Feuilles**

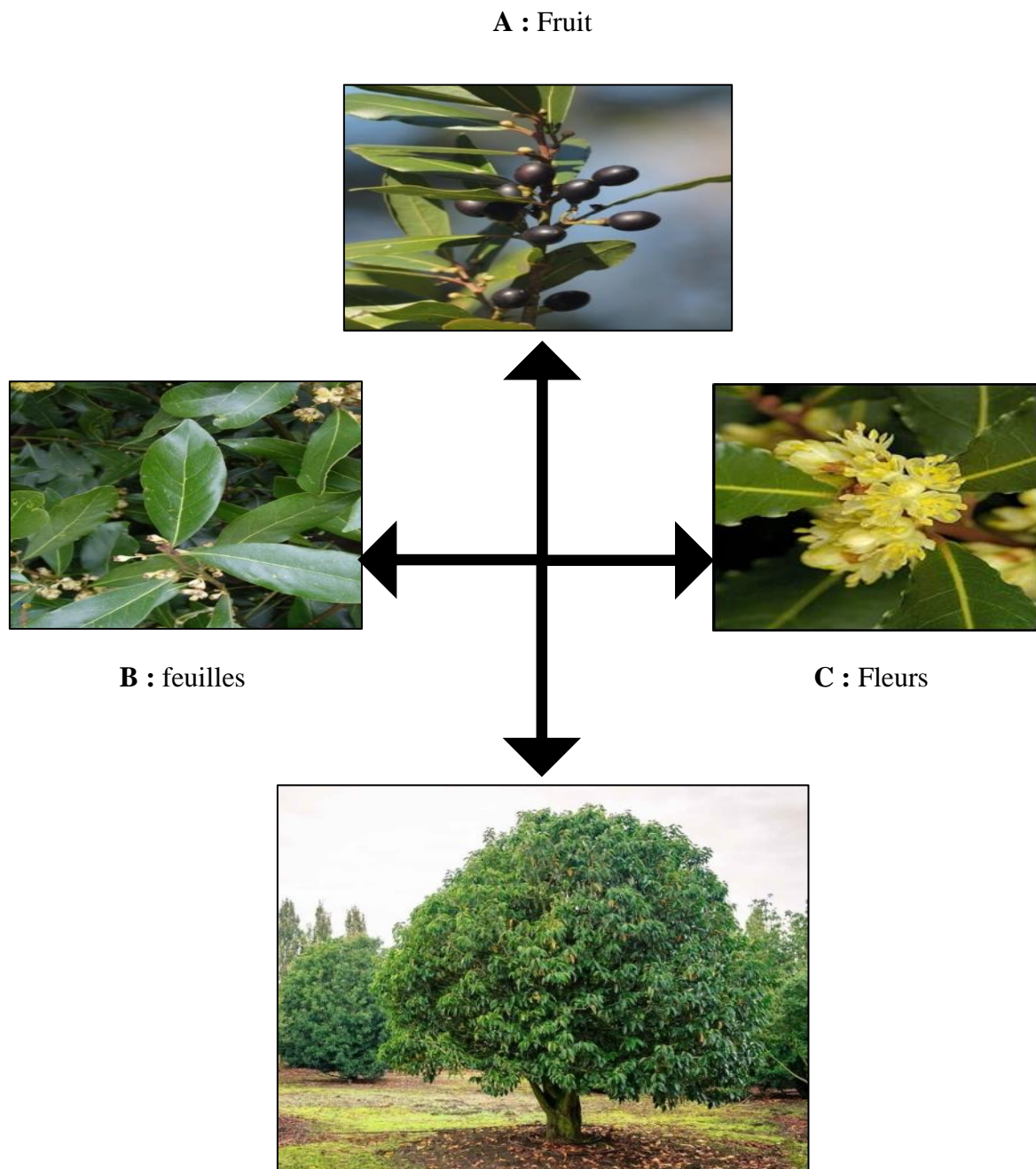
Le feuillage de *Laurus nobilis* est persistant. Les feuilles sont dotées d'une couleur vert foncé sur le dessus et plus claire en-dessous. Elles sont longues, ondulées aux bords et parfumées. Elles mesurent environs 3 à 5cm de large sur 10cm de long. Elles sont en forme de lance avec des extrémités pointues et un pétiole court (BOTINEAU et PELT, 2015)

- **Fruits**

Elles sont sous forme de baies ovales longues de 2cm de couleur vertes qui ont tendance à noircir en automne. La graine est formée de 2 cotylédons riches en lipides et parfumés. Les baies de laurier servent à en extraire l'huile pour fabriquer des savons. (BALLABIO et GOETZ, 2010)

- **Fleurs**

*Laurus nobilis* est une plante dioïque c'est-à-dire que les fleurs mâles et femelles sont sur des pieds différents. Il est composé de 4 à 5 fleurs axillaires de couleur blanc-crème à jaune. La floraison a lieu de mars à mai. (GEERTS et *al.*, 2002)



**Figure2** : Les différentes parties de la plante *Laurus nobilis* L (TEUSCHER et *al.*, 2005)

### I.6. Usage traditionnel

*Laurus nobilis* est l'une des plantes aromatiques les plus souvent utilisées comme épice et aromatisant naturel dans le monde entier. En plus de ces vertus culinaires, elle possède des propriétés médicinales d'où son utilisation dans les remèdes traditionnels.

Les feuilles sont traditionnellement utilisées par voie orale en infusion dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (ballonnements...), des infections virales (toux, diarrhée...) mais aussi comme calmant pour les douleurs hémorroïdales. (BARLA et *al.*, 2007)

## Chapitre I : Généralités sur *Laurus nobilis* L.

Elles sont également utilisées en décoction dans le cas de bronchites sévères, d'insomnies et règles douloureuses. En usage externe, on utilise les feuilles de laurier pour des bains aromatiques antirhumatismaux et en gargarismes et bains de bouches contre l'angine et les infections bucco-pharyngées. (VASEY, 2013) En cas de sinusite, afin de soulager la douleur il est recommandé de déposer une compresse sur le front. (BELOUED, 2003)

**Tableau III :** Quelques usages traditionnels du *Laurus nobilis* L.

Pays	Partie utilisée	Mode	Usage	Références
Espagne	Feuilles	Décoction	Antirhumatismale, digestif, hypoglycémiant	(BARLA et al., 2007)
Palestine	Feuilles		Anticancéreuse, antispasmodique	(BALLABIO et GOETZ, Phytothérapie, 2010)
Serbie	Feuilles	Infusion	Anticonvulsif, antiépileptique, antirhumatismale, expectorant	(VASEY, 2013)
Turquie	Feuilles	Infusion	Antirhumatismale, anti-hémorroïdes, diurétiques, épigastrique	(BARLA et al., 2007)

### I.7. L'huile essentielle de Laurier

Les huiles essentielles sont des substances volatiles, huileuses et odorantes qui sont secrétées par les plantes aromatiques. (EI KALAMOUNI et al., 2010)

L'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de laurier présente de nombreux vertus et bienfaits pour l'organisme et est destinée à plusieurs usages.

Le principal composant de l'huile de laurier est la 1,8-Cinéole, un éther de monoterpènes cycliques. Elle est utilisée en application externe en friction comme stimulant local, sur les foulures, les douleurs rhumatismales mais aussi comme cicatrisant contre les inflammations cutanées. En usage interne, elle est utilisée comme un remède stimulant de la fonction digestive de l'estomac, contre la grippe et autres symptômes respiratoires. (BARLA et al., 2007).

## Chapitre I : Généralités sur *Laurus nobilis* L.

En outre, l'huile essentielle est utilisée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle possède également des activités biologiques importantes (DEMIR *et al.*, 2004).

### I.8. Différents types de laurier

Grâce à la dénomination binomiale, il est désormais possible de distinguer un genre et une espèce partout dans le monde tandis que le nom vernaculaire peut être utilisé pour nommer de nombreuses plantes parfois totalement différentes. (BELOUED, 2003)

Toutefois, le risque de confusion peut s'avérer dangereux car contrairement au laurier noble, il existe d'autres lauriers qui sont toxiques pour l'homme.

**Tableau IV :** Autres espèces du laurier noble (*Laurus nobilis* L.)

Nom vernaculaire	Nom scientifique	Famille	Toxicité	Référence
Laurier-cerise	<i>Prunus laurocerasus</i> L.	Rosacées	Présence d'hétérosides cyanogènes dans les feuilles et les graines des fruits qui mènent à l'apparition de troubles respiratoires et cardiaques.	(BOTINEAU et PELT, 2015)
Laurier rose	<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynacées	Toutes les parties de l'arbre (tiges, feuilles, fleurs et fruits) sont toxiques. Ils renferment l'Oléandrine une substance qui provoque des troubles cardiaques.	(BOTINEAU, 2010)
Laurier des bois	<i>Daphne laureola</i> L.	Thyméléacées	présence d'une résine toxique appelée « macérine » contenue dans la graine.	(BOTINEAU et PELT, 2015)
Laurier-tin	<i>Viburnum tinus</i> L.	Caprifoliacées	Pas très fort en termes de toxicité. La consommation des fruits entraîne des troubles digestifs (vomissements)	(BOTINEAU et PELT, 2015)

### I.9. Composition chimique et molécules bioactives

De nombreuses études ont révélées l'importante richesse des feuilles de *Laurus nobilis* L. en substances actives.

Les feuilles sont riches en vitamine E. Elles contiennent une huile essentielle qui renferme 30 à 70 % de 1-8 cinéol (eucalyptol), eugénol, linacol (**BRUNETON, 1993**). Elles renferment aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylés de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol), des sesquiterpènes lactones, des alcaloïdes isoquinoléiques. Les baies renferment 23% d'amidon, 2% de sucre, 0.85% de principes amers, une résine, du mucilage et renferment 17 à 25% d'huile de laurier. ( **DEMO et al., 1998 ; FIORINI et al., 1998** ).

**Tableau V** : Les principaux composants des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Classes	Composés	Références
<b>Acides phénoliques</b>	Acide phénylacrylique, acides p-cumarique, fénulique, sinapique	<b>(Sangun et al., 2007)</b>
<b>Flavonoïdes</b>	Rutine, isoquercitine, hypéroside, kaempférol-3 rhamnoside	
<b>Hétérosides de lignanes</b>	Méthoxisolarecirénol-9-O-xylosides, schizandraside	
<b>Alcaloïdes</b>	Actinodaphnine, launobine, nandigérine	
<b>Lactones sesquiterpéniques</b>	Reynosine, santamarine, artémoreine	
<b>Huiles volatiles</b>	1,8-cinéole, eugénol, acétate de linalyle, sabinène, géraniol	
<b>Tannins</b>	Cathéchines, procyanidine B4, B5 et B7, proanthocyanidines	
<b>Vitamine E</b>		

***Chapitre II :***  
*Les composés phénoliques*

## II.1. Les métabolites secondaires

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et les différents écosystèmes. Elles renferment une quantité importante de composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme.

Les plantes sont extrêmement riches en métabolites secondaires ; molécules organiques complexes synthétisées et stockées par les végétaux supérieurs autotrophes. Les métabolites secondaires sont divisés en 3 grandes familles : Les polyphénols, les alcaloïdes et les terpènes. (LUTGE et al., 2002)

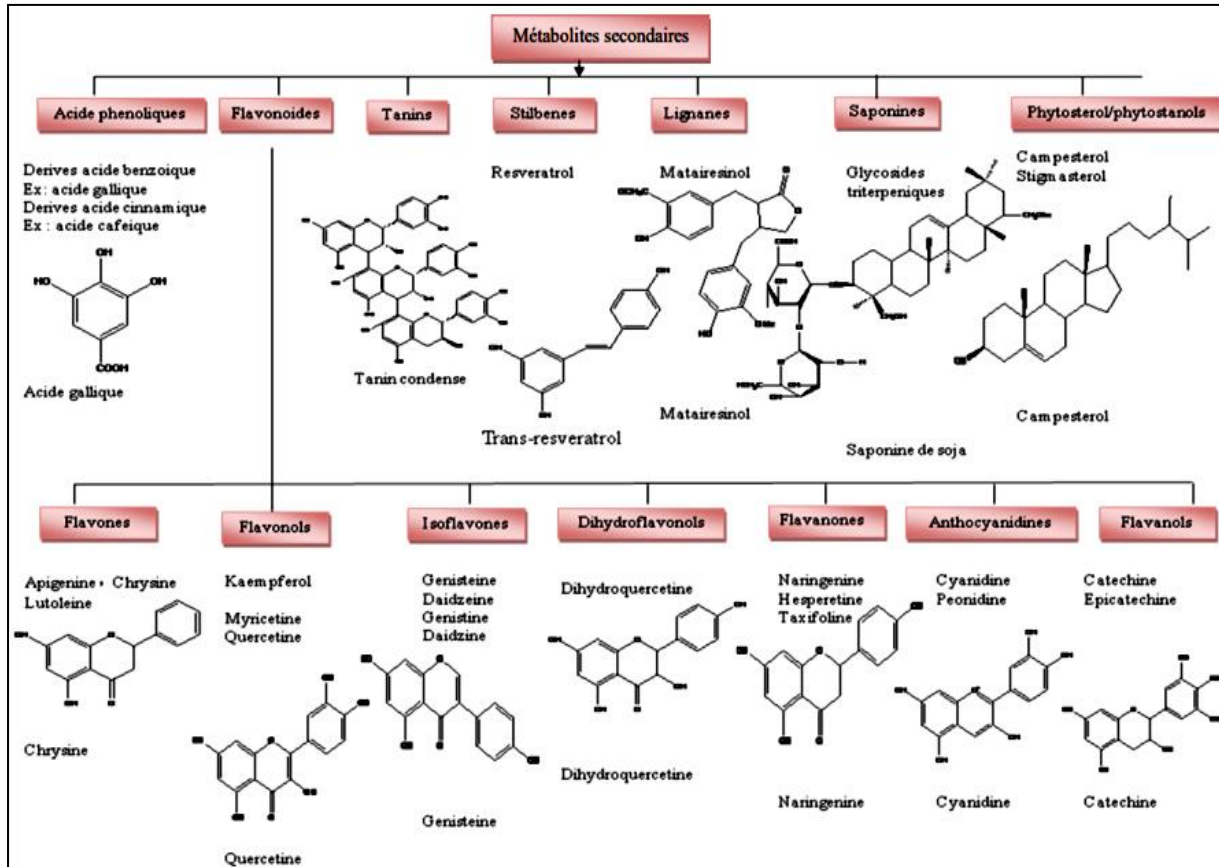


Figure3 : Classification de quelques métabolites secondaires (HARTMANN, 2007)

## II.2. Les polyphénols

### II.2.1. Définition

Les polyphénols sont des éléments naturels synthétisés par les plantes. Ils sont distribués dans les tissus végétaux où ils sont sous forme de glycosides. La concentration et la transformation des phénols est à l'origine de la couleur, de l'arôme ou de l'astringence des plantes. (SINGLA et al., 2019)

Ils possèdent dans leurs squelettes un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs groupements hydroxyles ainsi que des groupements fonctionnels (ester, méthyle

ester...). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits. Ils contribuent à la défense des plantes contre les agressions de l'environnement et d'éventuelles attaques microbiennes. (BOIZOT et *al.*, 2006).

### II.2.2. Classification des polyphénols

Il existe plus de 8000 structures phénoliques connus. Ils peuvent être classés selon le nombre de l'arrangement de leurs atomes de carbones. Parmi les principales classes de composants phénoliques, nous citerons : les flavonoïdes (représentent plus de la moitié des polyphénols), les tanins (produits de polymérisation des flavonoïdes), les coumarines, les quinones et les lignanes(LUGASI et *al.*, 2003).

**Tableau VI** : Les différentes classes des polyphénols. (DAAYF et LATTANZID, 2008)

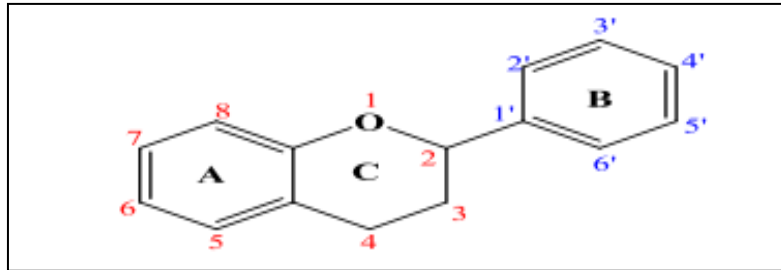
Squelette carboné	Classes de composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénonnes et les acides phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthonnes
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1)2	Tannins hydrolysables
(C6-C3)2	Lignanes et néolignanes
(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes
(C6-C3) n	Lignines
(C6) n	Catéchols
(C6-C3-C6) n	Tannins condensés.

#### II.2.2.1. Les flavonoïdes

Ce sont des composés naturels, généralement des pigments polyphénoliques qui ont pour rôle de colorer les fleurs et fruits en jaune ou en blanc. Ils possèdent également des

nombreuses vertus médicinales. Ils peuvent être trouvés sous forme de glycosides ou d'aglycones. (SEYOUM *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyrane. Leur structure est un diphenyl propane a 15 atomes de carbones : le noyau flavane, composé de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle, le cycle pyrane (C). (DI CARLO *et al.*, 1999)

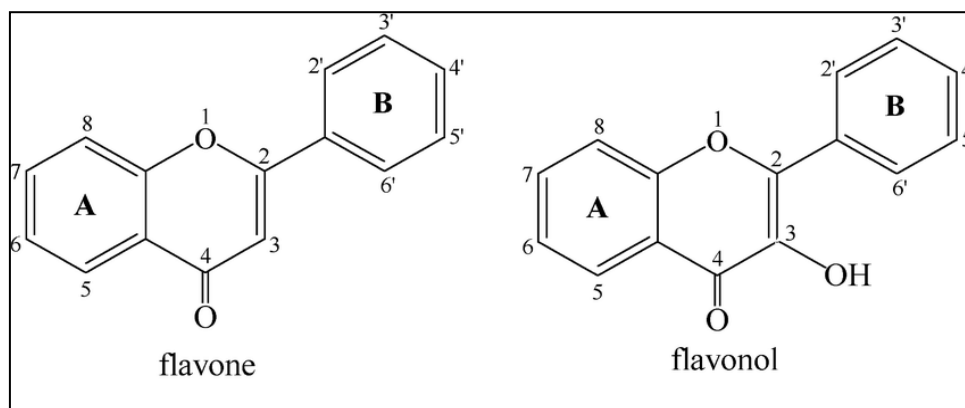


**Figure 4 :** Structure de base des flavonoïdes. (DI CARLO *et al.*, 1999)

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes en fonction de la variation du degré d'oxygénation et la différence de substitution de l'hétérocycle C, dont les plus importantes sont les anthocyanes, les flavanols, les flavanones, les flavonols, les flavonones et les isoflavones (ALEJO-ARMIJO *et al.*, 2017).

- **Flavones et flavonols**

Ils représentent les plus grands sous-groupes des Flavonoïdes. Les flavones ont une double liaison entre le C2 et le C3. Ils se distinguent des flavonols par l'absence d'un OH au niveau du C3. Les flavones les plus importants sont la lutéoline et l'apigénine (SINGLA *et al.*, 2019). Les flavonols sont plus abondants que les flavones d'où leurs plus grandes concentrations. Les plus étudiés et connus sont le kaempférol et la quercétine. (Khalili, 2005)



**Figure 5 :** Comparaison entre la structure chimique d'un flavone et d'un flavonol (Khalili, 2005)

- **Flavanons**

Contrairement aux flavones et aux flavonols, les flavanons ont une chaîne saturée à 3 carbones au niveau de leurs cycles hétérocycliques avec absence du groupement hydroxyle en position C3. Ils sont généralement glycosylés par un disaccharide dans le C7. Les flavanones

se trouvent principalement en grandes concentrations dans les agrumes : l'hespéridine chez les oranges et chez les citrons on trouve l'ériodictyol. (DURAZZO et al., 2019)

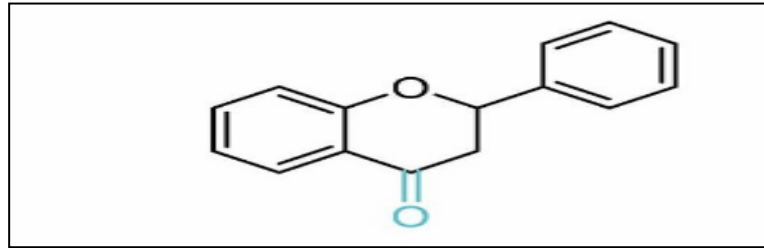


Figure6 : Structure chimique des flavanones. (DURAZZO et al., 2019)

### • Flavanols

Les flavanols ou flavan-3-ols représentent la sous-classe de flavonoïdes la plus complexe, allant des monomères les plus simples (catéchine et épicatechine) aux polymères de proanthocyanidines. Ils se distinguent des flavanones par l'absence d'un atome d'oxygène à la position 4. Ils contiennent un cycle hétérocyclique saturé en position C3. (KHALILI, 2005)

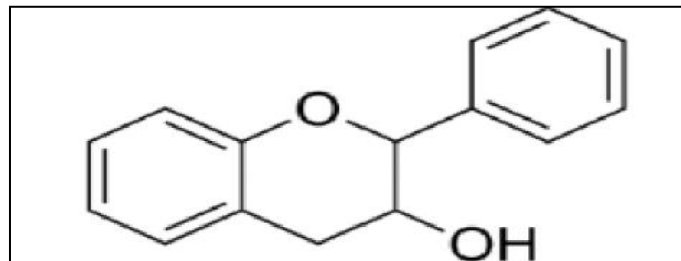


Figure7 : Structure chimique des flavanols(KHALILI, 2005)

### • Isoflavones

Les isoflavones diffèrent des autres flavonoïdes par la liaison du noyau phénolique B à l'hétérocycle C à la position 3. Ils sont exclusivement retrouvés dans les légumineuses. (RAMAWAT, MERILLON, 2013)

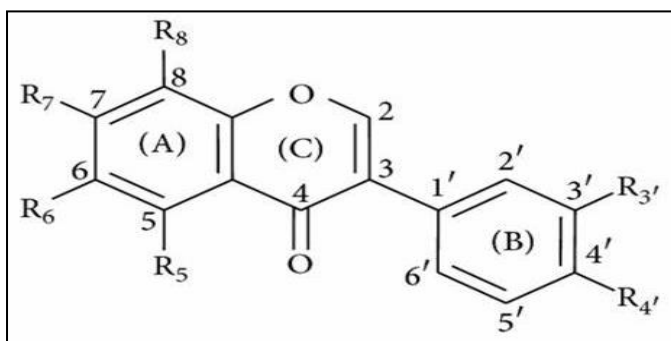


Figure8 : Structure chimique des isoflavones(RAMAWAT, MERILLON, 2013)

- **Chalcones**

Chalcones ou 1,3-diaryl-2-propen-1-one est l'une des classes majeures des composés naturels des flavonoïdes. Ils sont constitués de deux cycles aromatiques A et B (dépourvu du cycle C) reliés par une chaîne aliphatique à trois carbones. Les cycles A et B sont identiques aux cycles A et B des flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées. Ils ont un large éventail d'activités biologiques. Les plus abondants sont : butéine et phlorétine. (TEKALE et al., 2020)

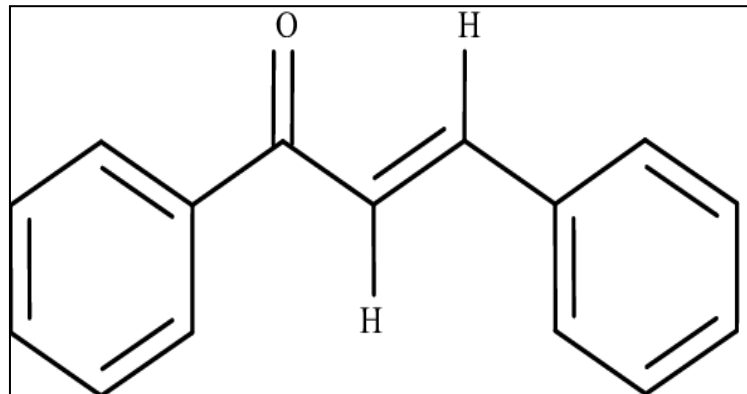


Figure9 : Structure chimique des chalcones (TEKALE et al., 2020)

- **Anthocyanines et anthocyanidines**

Les anthocyanines sont des composés phytochimique appartenant aux flavonoïdes. Ce sont les glucosides des polyhydroxy et polymétoxy des dérivés de 2-phenylbenzopyrylium. Les différences de structures entre elles sont liées au nombre de groupement hydroxyles, à la nature et au nombre de sucres attachés à la molécule, à la position de cette liaison et à la nature et au nombre des acides aromatiques attachés au sucre dans la molécule. Ils se présentent principalement sous forme de glycosides d'anthocyanidines tels que : la cyanidine, la péonidine et la pélargonidine. (DAVIES et MAZZA, 1993)

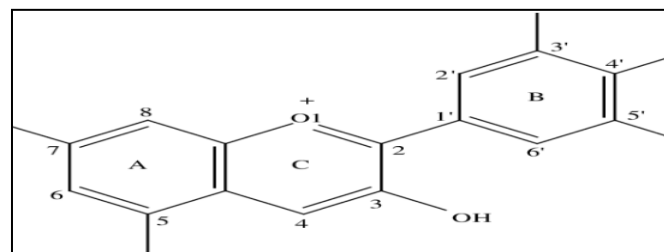


Figure10 : Structure chimique de l'anthocyane (DAVIES et MAZZA, 1993)

### II.2.2.2. Les tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques polaires de haut poids moléculaire (entre 500 et 3000 Da). Leur saveur astringente est due au fait qu'ils peuvent précipiter les protéines et les rendre résistantes aux attaques enzymatiques. Ils sont caractérisés par leur activités biologiques ou thérapeutiques : antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique...etc.

## Chapitre II :Les composés phénoliques

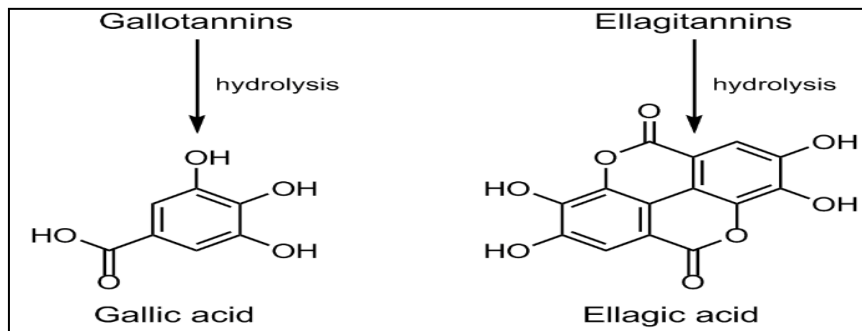
Selon des différences de structure, les tannins sont classés en deux grands groupes : Les tannins hydrolysables et les tannins condensés. (DURAZZO et al., 2019)

- **Les tannins hydrolysables**

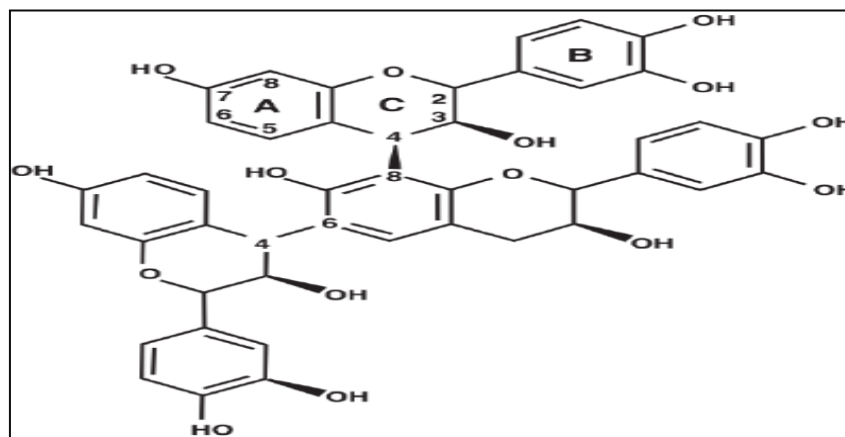
Il s'agit d'esters d'acides phénoliques. Ils sont hydrolysés par des acides ou des enzymes et produisent de l'acide gallique et de l'acide ellagique et des fractions glucidique ou polyalcoolique. (DURAZZO et al., 2019)

- **Les tannins condensés**

Ou non-hydrolysables ou proanthocyanidines sont des tannins qui résistent à l'hydrolyse. Ils proviennent de la condensation des polymères de flavones (flavanes-3-ol, flavane-4-ol, flavane-3,4-diol), flavonols et catéchines. (DURAZZO et al., 2019)



**Figure11** : Structure des tannins hydrolysables (gallitannins et ellagitannins)(DURAZZO et al., 2019)



**Figure12** : Structure de base d'un tannin condensé. (DURAZZO et al., 2019)

### II.2.2.3. Les non flavonoïdes

Parmi eux on distingue les acides phénoliques et les lignanes.

- **Les acides phénoliques**

Les acides phénoliques font partie de la des formes les plus simples des polyphénols. Ils possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. On distingue deux

principales classes ; les dérivés de l'acide benzoïque tel que l'acide gallique et les dérivés de l'acide cinnamique, y compris l'acide caféique et l'acide férulique. (KHALILI, 2005)

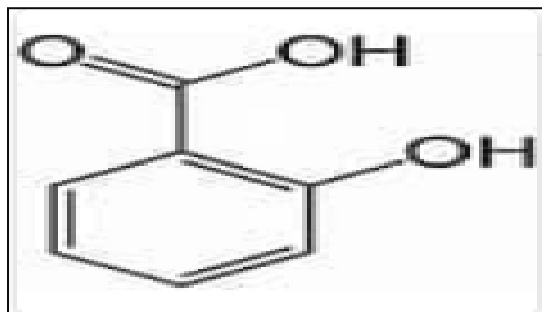


Figure13 : Structure de base de l'acide phénolique (KHALILI, 2005)

- **Les lignanes**

Les lignanes représentent une classe non flavonoïde comportant deux unités propylbenzène liées entre elles entre la position bêta en C8 des chaînes latérales du propane. Les lignanes sont classées en huit sous-groupes, dont : le furane, le dibenzylbutane et l'aryltétraline. (SINGLA *et al.*, 2019)

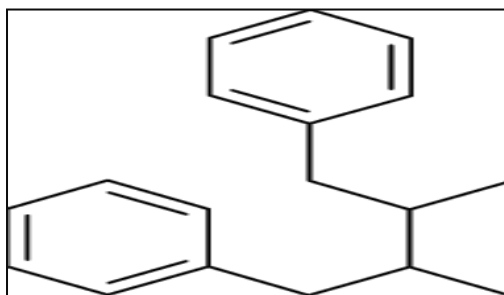


Figure14 : Structure de base des lignanes(SINGLA *et al.*, 2019)

### II.3. Biosynthèse des polyphénols

Le métabolisme phénolique est un processus complexe. Les voies biosynthétiques des polyphénols comprennent principalement **la voie de shikimate**. En effet, la majorité des composés phénoliques dérivent tous de l'acide shikimique. Cette voie conduit à la formation de l'acide cinnamique (et dérivés : acide benzoïque, acétophénone, lignanes et lignines, coumarines) synthétisé à partir de la désamination de la phénylalanine et de la tyrosine. L'acide cinnamique est le précurseur commun de la majorité des composés phénoliques chez les plantes supérieures. (BRUNETON, 1993)

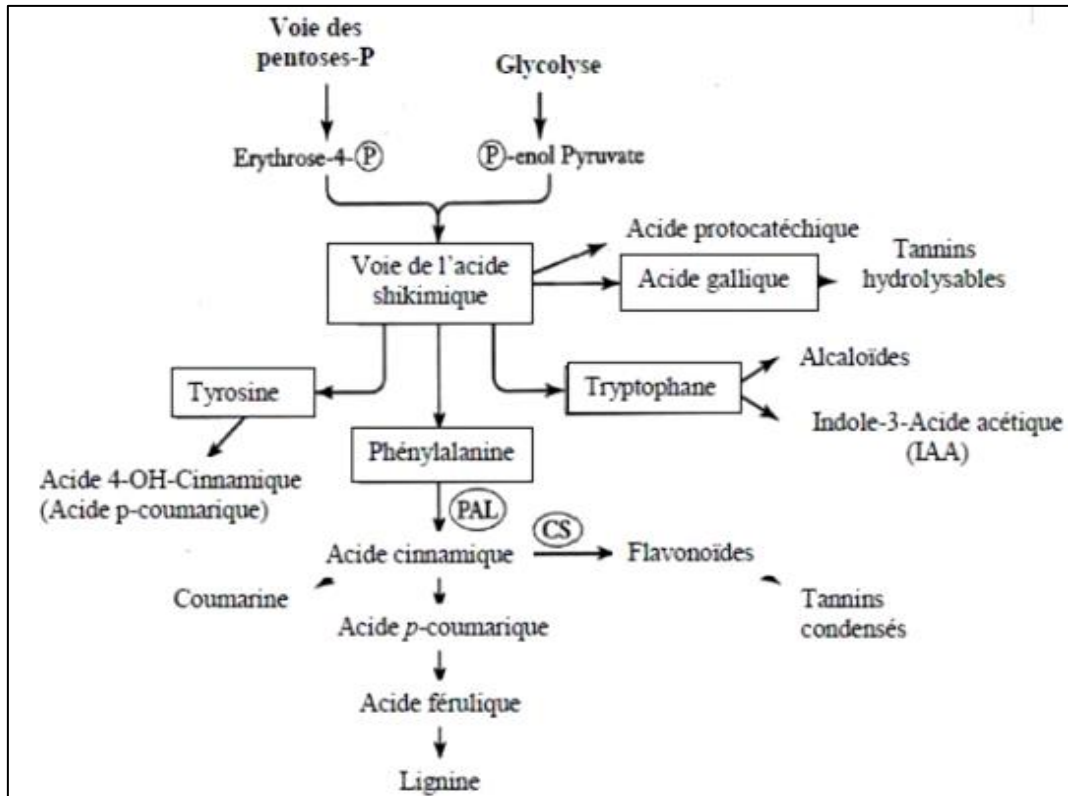


Figure15 : Voie de shikimate (BRUNETON, 1993)

### II.4. Effets biologiques des polyphénols

#### II.4.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques jouent un rôle important chez les végétaux supérieurs. Ils sont associés à de nombreux processus physiologiques de la plante tels que : la lignification dont le principal composé étant la lignine qui synthétise les parois et fait office de barrière pour la protection contre aux agressions mécaniques. Ils contribuent également à la résistance d'une espèce végétale à l'attaque des insectes, champignons, bactéries grâce à leur teneur en isoflavonoïdes mais aussi aux UV par les présences des flavonoïdes. Ils interviennent aussi dans les critères de qualités dont la couleur, l'astringence, l'amertume...etc. (FLEURIET, JAY-ALLEMAND, et MACHEIX, 2005). Ils sont également utilisés dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique grâce aux propriétés antioxydantes de certains polyphénols (flavan-3-ols, flavanols, tannins) et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires. (DAAYF et LATTANZID, 2008)

#### II.4.2. Chez les humains

Ces composés présentent un rôle dans la protection contre les maladies en raison de leurs diverses propriétés ; anti-inflammatoires, antioxydants, anti-carcinogènes, anti-thrombotiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux. D'ailleurs, ils sont de plus en plus utilisés en thérapeutique. Spécifiquement on attribue aux flavonoïdes des propriétés

## Chapitre II :Les composés phénoliques

veinotoniques ; parmi eux : les veinotonique et les vacsuloprotecteurs qui empêchent l'agglutination des plaquettes sanguines et rendent le sang plus fluide. Ils sont aussi anxiolytiques et réduisent la thrombose grâce à l'acide caféique (SINGLA et *al.*, 2019).

Les exemples de quelques composés phénoliques et leurs activités biologiques sont récapitulés dans le tableau (VII)

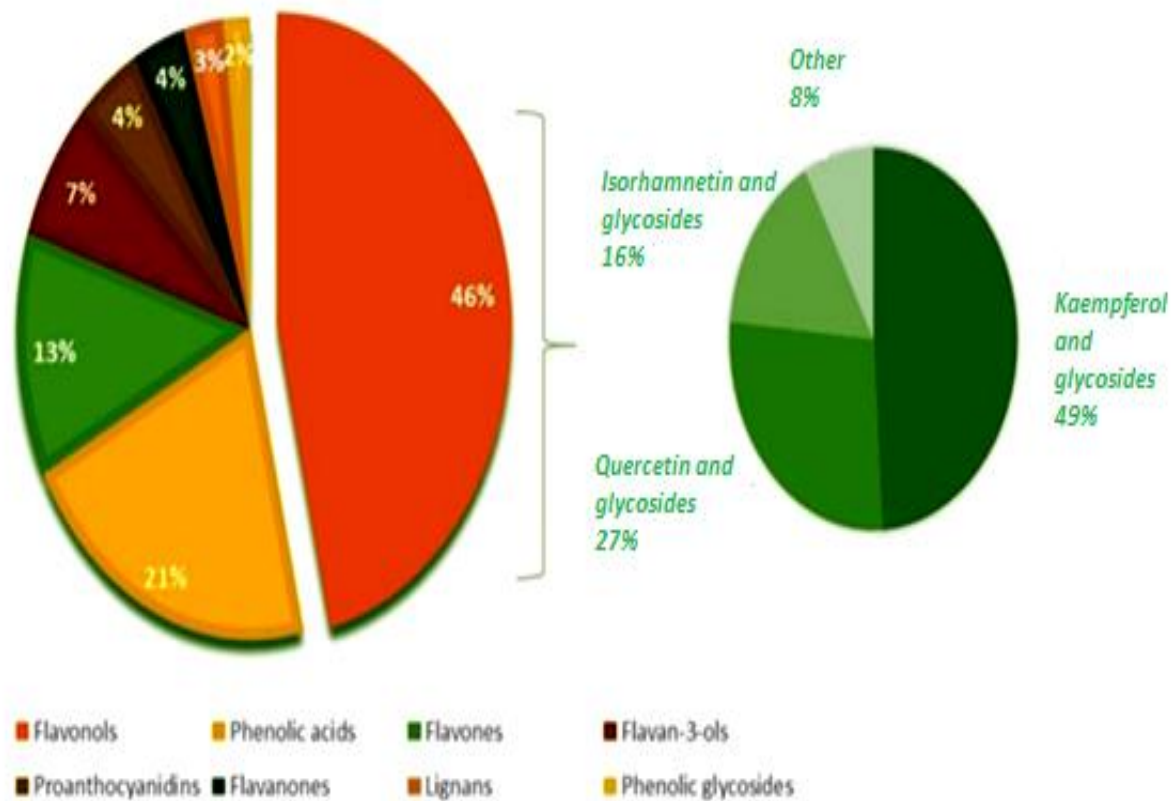
**Tableau VII : Tableau VII : Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans L'organisme. (BRUNETON, 1993)**

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités biologiques</b>
<b>Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)</b>	Antibactériennes, antiulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydantes
<b>Coumarines</b>	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, antiparasitaires analgésiques et anti-œdémateuses
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorales, antiparasitaires, vasodilatatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, antiallergique
<b>Anthocyanes</b>	Protectrices capillaro-veineux, antioxydante.
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydant, antitumoral, antifongique et anti-inflammatoire
<b>Tannins galliques et catéchiques</b>	Antioxydantes
<b>Lignanes</b>	Anti-inflammatoires, analgésiques
<b>Saponines</b>	Antitumorale, anticancérigène,...
<b>Phytostérols</b>	Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons

### II.5 Composés phénoliques des feuilles de *Laurus nobilis L.*

De nombreuses études ont prouvées que les feuilles de *Laurusnobilis L* sont une source de nombreux composés phénoliques différents qui comprennent flavonoïdes, acides phénoliques, tannins et lignanes. (DOBROSLAVIC *et al.*, 2022)

Selon ALEJO-ARJINO *et al* (2017), les flavonoïdes présentent les principaux constituants des feuilles de *Laurusnobilis L*. Les flavonols sont présents en plus grande quantité, près de 46%. Les kaempferol et les glycosides étant les principaux représentants (50%), suivis de la quercétine (16%) et de l'isorhamnetin (27%) et leurs glycosides également présents en quantité importantes. La plupart des flavones présents dans les feuilles de *Laurusnobilis L* sont l'apigénine et ses glycosides. Les tanins (proanthocyanidines), les Cinnamtannin B-1 et les acides phénoliques tels que les acides coumariques et féruliques ont également été détectés.



**Figure16 :** Composés phénoliques des feuilles de *Laurus nobilis L.* (ALEJO-ARMIJO *et al.*, 2017)

***Chapitre III :***  
*Activités biologiques*

Les activités biologiques des plantes médicinales sont connues depuis des décennies. Les chercheurs s'intéressent de plus en plus de nos jours à leurs propriétés qui sont dues aux nombreux métabolites secondaires qu'elles contiennent.

*Laurus nobilis L.* est connu pour sa richesse en composés phénoliques (métabolites secondaires des végétaux supérieurs). Ces derniers jouent un rôle important dans la santé humaine en raison de leurs diverses activités pharmacologiques : anti-inflammatoire, anticancéreuses, antimicrobiennes, antioxydantes, antivirales, antispasmodique, anticonvulsivants, insecticides...etc. (DJERIDAN, 2006)

### III.1. Activité anti-inflammatoire

#### III.1.1. L'inflammation

L'inflammation ou la réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants vasculaires vis-à-vis d'une infection dans le but de maintenir son intégrité.(ZHU *et al.*, 2018). Elle est définie comme un processus physiopathologique caractérisé par la rougeur, l'œdème, la fièvre et la douleur. Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réaction inflammatoire sont les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. (AIT EL CADI *et al.* 2012)

La réaction inflammatoire est classée en deux catégories : l'inflammation aigue et l'inflammation chronique.(MAYOUF, 2019)

##### III.1.1.1. L'inflammation aigue

Il s'agit d'une réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur. Cette réaction est de courte durée (quelques jours à quelques semaines). Elle est généralement bénéfique pour l'organisme puisqu'elle lui permet de se défendre contre une agression, détruire tout ce qui le met en danger mais également elle permet de réparer dans un deuxième temps le tissu lésé .Les inflammations aigues guérissent soit spontanément ou avec un traitement mais dans certains cas elles peuvent prendre des réactions démesurées c'est-à-dire si la destruction tissulaire est importante et ainsi conduire à de graves complications et laisser des séquelles.(DORWARD *et al.*, 2012)

Elle se déroule en trois phases :

- La phase vasculaire immédiate qui se fait suite à un signal de danger d'origine soit endogène ou exogène et qui met en jeu une première série d'acteurs avec une dilatation et perméabilité des vaisseaux.
- Phase cellulaire consécutive marquée par l'activation des cellules du système au niveau du tissu lésé. La phagocytose et la libération de différentes enzymes hydrolytiques des polynucléaires permettent la destruction de l'agent causal.
- Phase de résolution, régénération et cicatrisation tissulaire. Elle dépend du degré de lésion au niveau du tissu et peut prendre 10 à 15 jours.(DIEGELMANN, 2004)

### III.1.1.2. L'inflammation chronique

C'est une inflammation qui persiste dans le temps, elle peut durer plusieurs mois, voire même des années et peut être se prolonger tout au long de la vie (IWALEWA *et al.*, 2007)

Lorsque les réactions aiguës n'ont pas abouti, la défense de l'organisme doit se poursuivre sur le mode chronique qui se développe dans le cas d'une infiltration excessive des leucocytes au niveau du site inflammatoire et une mauvaise élimination de l'agent causal (DORWARD *et al.*, 2012), mais également peut être provoquée dans le cas de certaines maladies auto-immunes (ANZAI *et al.*, 2004) et ainsi provoquer l'apparition de nombreuses pathologies.

Dans ce cas la réaction inflammatoire devient défavorable et doit être contrôlée à l'aide d'un médicament.

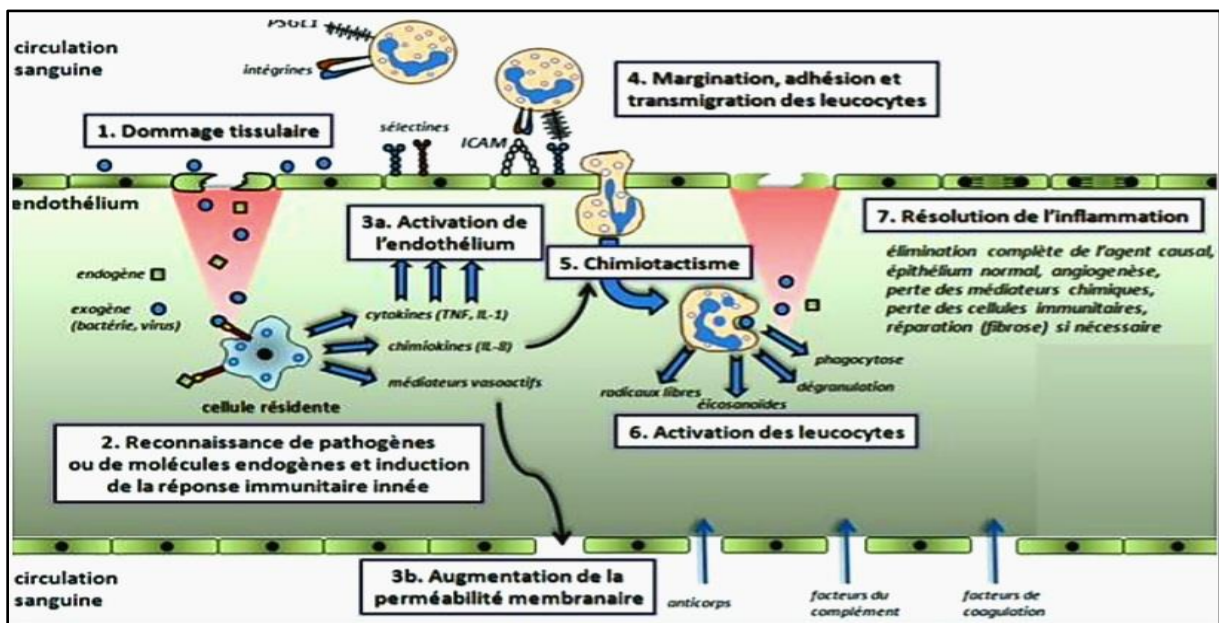


Figure 17 : principales étapes de l'inflammation aiguë (FUNARO *et al.*, 2009)

### III.1.2. Les médiateurs de l'inflammation

Lors d'une réaction inflammatoire due à l'introduction d'un pathogène dans l'organisme, les cellules présentes dans le tissu lésé ou infecté, telles que. Ces cellules immunitaires via leur récepteurs cellulaires PRR, elles ont la capacité de reconnaître des PAMP qui sont des motifs moléculaires caractéristiques des pathogènes.

En réponse à cette activation, y'aura synthèse et sécrétion de nombreuses substances inflammatoires appelées les médiateurs de l'inflammation qui sont généralement divisés en deux catégories principales : les médiateurs pro-inflammatoires comme le TNF et l'IL-1 qui jouent un rôle essentiel dans l'orchestration de l'inflammation et sont à l'origine de la production d'un grand nombre d'autres cytokines, parallèlement les médiateurs anti-inflammatoires (IL-4, IL-10, IL-13...) qui tendent à contrôler et limiter le processus inflammatoire. (CHARLES A. DINARELLO, 2010)

## Chapitre III : Activités biologiques

**Tableau VIII** : Principaux rôles des médiateurs et leurs origines cellulaires (RANKIN, 2004)

Médiateurs		Origine cellulaire	Rôles
Histamine		Mastocytes et basophiles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augmente la perméabilité des parois des vaisseaux sanguins.</li> <li>• Agit au niveau du système nerveux et provoque la sensation de douleur.</li> </ul>
Prostaglandines (médiateurs lipidiques)		Essentiellement par les leucocytes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Responsables de la vasodilatation, facilitant l'arrivée des leucocytes vers la région agressée et participent à la formation de l'œdème et favorisent aussi la transmission des signaux de douleur.</li> </ul>
Cytokines pro-inflammatoires	Tumor necrosis factor $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )	Mastocytes, macrophages et les cellules dendritiques.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le recrutement des leucocytes sanguins vers le foyer inflammatoire.</li> <li>• La participation au remodelage et à la réparation des tissus endommagés.</li> </ul>
	IL-1	Leucocytes, cellules endothéliales et fibroblastes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimulent l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales favorisant ainsi la migration leucocytes vers le site enflammé.</li> <li>• Induction de la fièvre et diminution de l'appétit.</li> </ul>
	IL-6	Phagocytes ; (Macrophages et cellules dendritiques) et Cellules endothéliales.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Induit localement l'activation des phagocytes.</li> <li>• Favorise le recrutement des monocytes vers les tissus enflammés.</li> <li>• Induit la production de protéine de la phase aigüe.</li> </ul>
chimiokines		Cellules sentinelles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Attirent les leucocytes circulants et les dirigent leur migration vers le site de l'inflammation.</li> </ul>
Cytokines anti-inflammatoires	IL-4	Cellules NKT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La capacité d'inhiber la production d'IL-1, de TNF, l'IL-6 et d'autres chémokines.</li> <li>• La capacité d'induire la production de l'antagoniste du récepteur pour l'IL-1.</li> </ul>
	IL-10		
	IL-13		

### III.1.3. Les anti-inflammatoires

#### III.1.3.1. Définition

Les anti-inflammatoires sont des traitements symptomatiques, c'est à dire qu'ils ne suppriment pas la cause de l'inflammation mais seulement sa conséquence. Ils sont définis comme étant des substances qui diminuent la sensation de douleur et le gonflement mais aussi pour lutter contre l'inflammation qui apparait suite à une agression d'un agent pathogènes. Ils ont pour rôle de bloquer la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation comme les prostaglandines(**ORLIAGUET et al., 2013**).

On distingue des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou corticoïdes et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (**MCGETTIGAN et HENRY, 2013**)

#### III.1.3.2. Les anti-inflammatoires synthétiques

- **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens constituent une classe pharmacothérapeutique très utilisée, et qui est hétérogène du point de vue chimique. Malgré la diversité de la nature chimique des AINS, ils possèdent tous des propriétés communes : anti-inflammatoires, antalgiques, antipyrétiques et antiagrégants plaquettaires.

Le mécanisme d'action principal des AINS repose en grande partie sur l'inhibition des deux isomères (COX-1 et COX2) de la cyclo-oxygénase enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune chez tous les AINS conduit à la diminution de production des prostaglandines (notamment PGE2 et PGI2), importants médiateurs de l'inflammation. (**PILLON, 2014**)

L'inhibition de la synthèse de prostaglandines s'accompagne d'effets favorables et délétères qui sont susceptibles de toucher les appareils de l'organisme. La majorité se montrent bénins, mais certains peuvent avoir des conséquences graves. (**PILLON, 2014**)

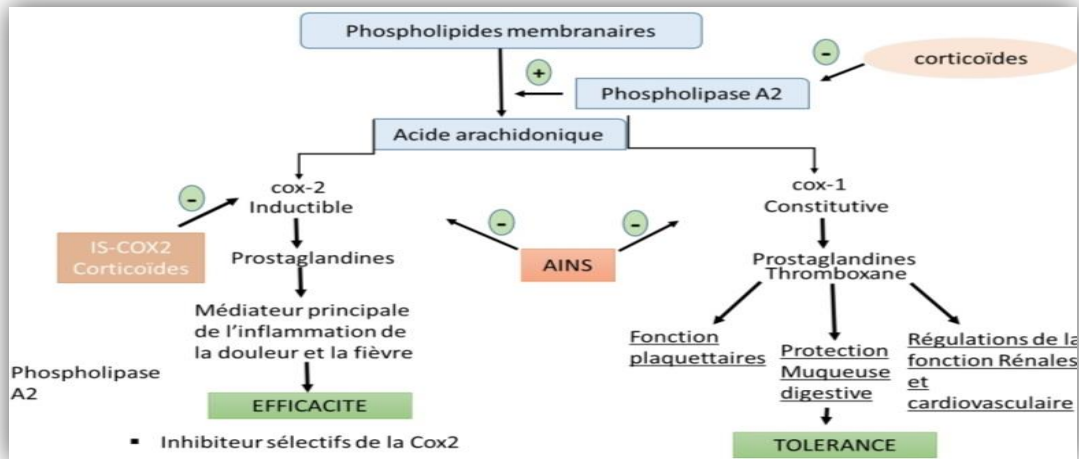
- **Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille des médicaments dérivés du cortisol, principal corticoïde surrénalien. Ils représentent le traitement le plus efficace contre les maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes (**KESSEL et al., 2014**).

Parlant de leur mécanisme d'action, les glucocorticoïdes ont, à l'image des AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines qui s'exerce spécifiquement sur la phospholipase A2, au début du métabolisme de l'acide arachidonique. (**AIT EL CADI et al., 2012**)

Comme pour les AINS, il est à noter que l'utilisation de ces corticostéroïdes est associée à de nombreux effets indésirables et leurs risques s'accroissent avec le prolongement de la durée du traitement et l'augmentation de la posologie. Ils sont bien connus pour provoquer

l'hypertension artérielle, les troubles digestifs mais également la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement. (J.-M. BONNETBLANC, 2008)



**Figure 18 :** Mécanisme d'action des AINS et des AIS (corticoïdes)(Lelong et al., 2013)

### III.1.3.3. Les anti-inflammatoires naturels

La phytothérapie est utilisée depuis toujours dans la médecine traditionnelle pour traiter l'inflammation. Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans les plantes médicinales est très vaste, et leurs spectre d'activité est tout aussi grand (BARNES, 1998). En effet, de nombreuses études indiquent que les plantes sont dotées de propriétés anti-inflammatoires par à la présence des molécules naturelles bioactives tel que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les saponines...etc., permettant de traiter certaines maladies inflammatoires en bloquant les voies de cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que d'autres mécanismes(BOURKHISS et al., 2010)

### III.1.4. L'activité anti-inflammatoire de *Laurus nobilis L.*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Laurus nobilis L.* a fait l'objectif de plusieurs études.

**KHODJA et al (2020)** ont observé que la 1,8-cinéole, un composant principal de l'extrait de *Laurus nobilis* avait la capacité de supprimer systématiquement l'activation des inflammatoires NLRP3. D'autre part l'extrait de feuilles de *L. nobilis* est capable d'atténuer l'expression in vivo des cytokines pro-inflammatoires chez les souris présentant des lésions pulmonaires aiguës. D'après une autre étude réalisée chez les souris males NMRI et les rats Wistar, il a été démontré que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* possède une action anti-inflammatoire comparable au Piroxicam qui est un anti-inflammatoire stéroïdien. (SAYYAH et al., 2003).

L'extrait méthanolique a également présenté un effet anti-inflammatoire chez la souris stimulée par les lipopolysaccharides (LPS) par l'inhibition de la production d'oxyde nitrique NO. Cette propriété est attribuée par les sesquiterpènes retrouvés dans l'extrait méthanolique.

### III.2. Activité antioxydante

#### III.2.1. Le stress oxydatif

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à condition que la dose est parfaitement maîtrisée par le système de défense, la balance antioxydants/prooxydants est équilibrée. Si tel n'est pas le cas, c'est-à-dire y a eu une rupture d'équilibre qui est due à une surproduction de radicaux libres qui est appelé stress oxydatif qui peut avoir plusieurs origines (FAVIER, 2003).

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces oxygénées activées (EOA) et la capacité de l'organisme à se défendre en neutralisant et en réparant les dommages oxydatifs (HALENG *et al.*, 2007). Il se comporte comme étant le facteur déclenchant de plusieurs maladies provoquant des dommages sur tout l'organisme et la majorité de ces maladies apparaissent avec l'âge, car le vieillissement va engendrer une diminution des défenses antioxydantes (BIDIE *et al.*, 2011)

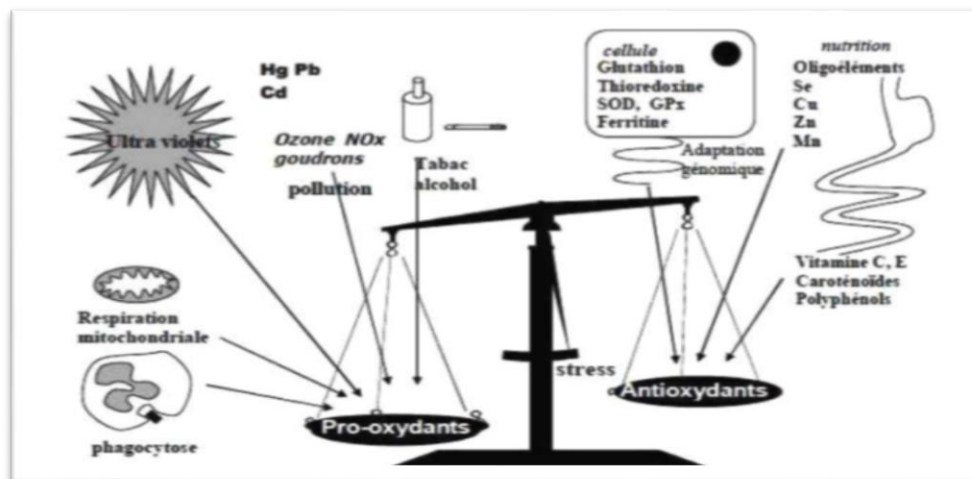


Figure 19 : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (FAVIER, 2006)

#### III.2.1.1. Les conséquences du stress oxydatif

Parmi les conséquences moléculaires du stress oxydatif, nous pouvons avoir des lésions directes des macromolécules biologiques (oxydation de l'ADN, des lipides, des glucides et des protéines), des lésions secondaires dues aux caractères cytotoxiques et mutagènes des métabolites libérés lors de l'oxydation de ces molécules (THEROND, 2006 ; MAHDJOUB *et MASROUR-ROUDSARI*, 2012) et déclenche plusieurs maladies telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies anti-inflammatoires et neurodigestives, la maladie d'Alzheimer, le diabète, l'hypotension, le rhumatisme et certains cancer...etc.



### III.2.1.3. Les espèces réactives d'oxygène

Ce sont des espèces chimiques oxygénées, très actives par la présence d'électron de valence non apparié. Les ERO, dans tous les systèmes vivants aérobie sont produites voie endogène durant le métabolisme cellulaire (KUMARI et KAKKAR, 2008) mais également lors du dysfonctionnement de la mitochondrie et aussi des facteurs exogènes sont incriminés dans leur production à savoir les polluants environnementaux, les solvants organiques...etc.(VALKO et al., 2016; LUSHCHAK., 2014). On distingue deux grands groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydatif : les espèces radicalaires et les espèces non radicalaires dont la toxicité est importante. La réactivité d'un radical libre varie d'un radical à un autre et cela dépend de l'environnement ou il se trouve.(KUMARI et KAKKAR, 2008)

Tableau IX : Espèces réactives d'oxygène (VALKO et al., 2016 ; Lushchak.,2014).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
$O_2^{\cdot-}$	Anion radical superoxyde	$^1O_2$	Oxygène singulet
$H_2O^{\cdot}$	Radical perhydroxyle	$H_2O_2$	Peroxyde d'hydrogène
$HO^{\cdot}$	Radical hydroxyle	$HOCl$	Acide hypochlorique
$RO_2^{\cdot}$	Radical peroxyde	$ROOH$	Peroxyde d'alkyle
$RO^{\cdot}$	Radical secondaire alkoxyde		

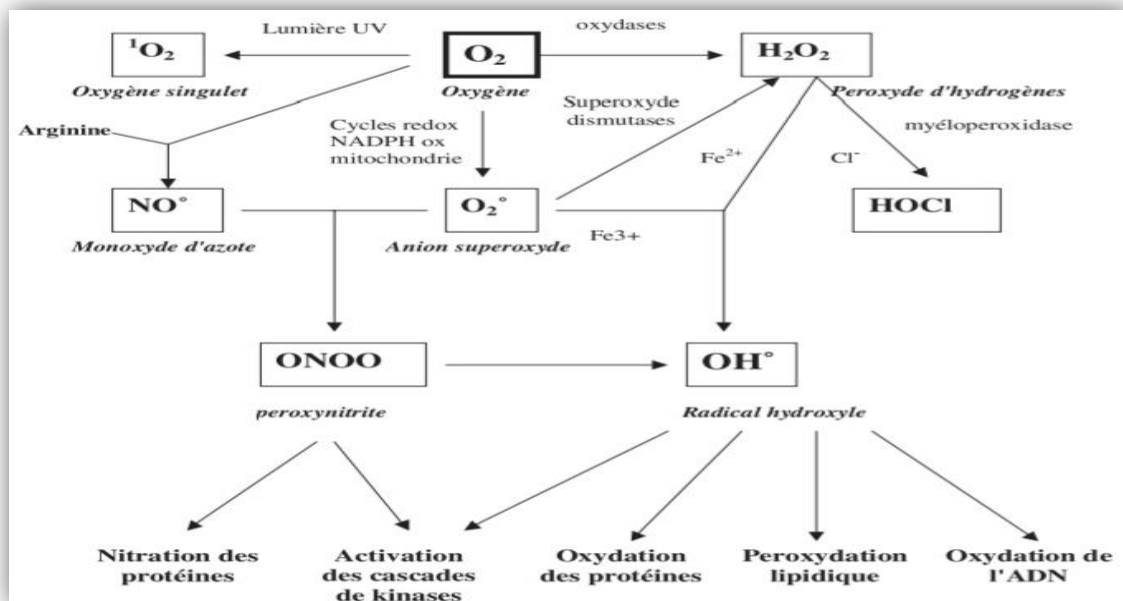


Figure 22: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (FAVIER, 2003)

### III.2.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules ayant la capacité d'inhiber la génération des espèces réactives d'oxygène ou limiter leur propagation en inactivant ce qui sont déjà produits et ainsi bloquer la réaction en chaîne de propagation produite par ces oxydants, ils sont donc des régulateurs du taux de pro-oxydants dans l'organisme. (VALKO et *al.*, 2006)

Ces antioxydants peuvent agir de plusieurs façons, par exemple en piégeant ces espèces, en les dismutants ou en les réduisant pour former un composé stable. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes pour contrôler leur niveau d'espèces réactives d'oxygène. (FAVIER, 2003)

#### III.2.2.1. Principaux antioxydants

Les antioxydants sont divisés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (DELATTRE et *al.*, 2005). On distingue :

##### III.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques endogènes

L'organisme humain possède un système de défense enzymatique constitué principalement de trois enzymes antioxydantes très efficaces, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). (AVISSAR et *al.*, 1989). Ces enzymes ont pour but l'éradication des radicaux libres et des espèces réactives d'oxygène et conduisent à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (HALLIWELL, 2009)

- **La superoxyde dismutase (SOD)**

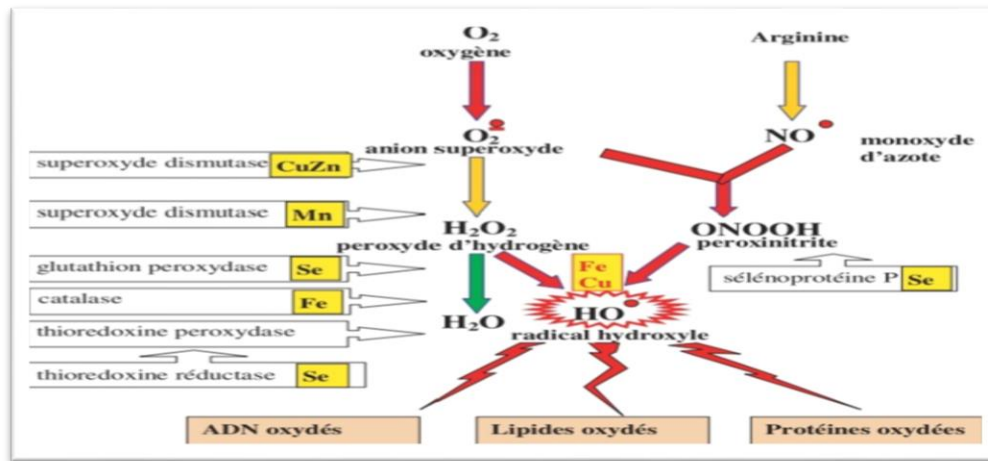
La superoxyde dismutase est une métalloprotéine ayant une activité enzymatique. Son rôle est d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation en produisant de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène. (McCORMACK et FRIDOVICH, 1988)

- **La catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme tétramérique intracellulaire, localisée principalement dans les érythrocytes, dans le foie et dans les cellules rénales. Elle catalyse deux molécules de peroxyde d'hydrogène produites par la superoxyde dismutase et les transforme en eau et en oxygène qui sont des composés stables. (HALENG et *al.*, 2007)

- **La glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase est une enzyme présente dans les lipides extracellulaires, le cytoplasme et les mitochondries, elle constitue un système de défense très important. (McCALL et FREI, 1999). Cette enzyme a la capacité de catalyser la transformation du peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau mais cela nécessite la présence du glutathion réduit et le sélénium.



**Figure 23 :** Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques. (FAVIER, 2003)

### III.2.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques endogènes

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique). (KOHEN et NYSKA, 2002)

- **Le glutathion :** est un tripeptide, constitué d'acide glutamique, de cystéine et de glycine, il est présent dans le cytosol, le noyau et la mitochondrie sous deux formes ; soit réduite (GSH) soit oxydée (GS-SG).  
Le glutathion assure le rôle de protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. (STAMLER et SLIVKA, 2009) et agit également comme Co-substrat d'enzymes antioxydantes. (RAVI et al., 2004)
- **Acide urique :** est le produit final du catabolisme des purines. À un pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate possédant des propriétés antioxydantes in vitro, il se comporte comme un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO• ...etc.) (HALENG et al., 2007)

### III.2.2.1.3. Les antioxydants non enzymatiques exogènes

#### → Les antioxydants synthétiques

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels. Ils sont généralement des composés phénoliques d'origine pétrochimiques comme l'acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique qui est un analogue de la vitamine E et il possède un fort potentiel antioxydant et sert souvent d'antioxydant de référence pour les tests biologiques le Butyl Hydroxy Toluène (BHT) et le Butyl Hydroxy Anisole (BHA) sont utilisés comme conservateurs à faible concentration dans les industries agro-alimentaires, cosmétiques et il y a également gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG)... (GUO et al., 2006)

L'utilisation de ces antioxydants reste controversée, malgré leur efficacité et leur puissance ils restent considérés comme des corps étrangers au système biologique et c'est par rapport aux produits de leur dégradation qui peuvent être toxiques.(WILLIAMS, 1994)

### → Les antioxydants naturels

Ils incluent des espèces chimiques différentes qui sont d'origine végétale pour la plupart (BERGER, 2005). Ils comprennent majoritairement la vitamine E, la vitamine C (acide ascorbique) et les polyphénols issus des végétaux (les caroténoïdes, les composés phénoliques... etc.). La plupart de ces composants se trouvent en premier lieu dans l'alimentation (les fruits, les légumes...) (BENDIF, 2017)

- **La vitamine E**

La vitamine E ou  $\alpha$ - tocophérol est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile capable de s'insérer dans les membranes cellulaires (les cellules érythrocytaires, les cellules musculaires, les cellules endothéliales et les neurones). Dans la

L' $\alpha$ - tocophérol joue un rôle dans l'atténuation du stress oxydatif, il est connu comme inhibiteur de la propagation de peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical  $RO_2$ .(DENISOV et AFANAS'EY, 2005)

- **La vitamine C**

La vitamine C ou l'acide ascorbique est le principal antioxydant hydrosoluble connu pour son pouvoir réducteur important. Il est présent dans tous les compartiments cellulaires et joue plusieurs rôles dans l'organisme, c'est un piègeur efficace de l'ensemble des espèces réactives d'oxygène en réagissant directement sur l'anion superoxyde et l'oxygène singulet.(EL-AGAMEY et al., 2004)

- **Les caroténoïdes**

Ce sont des pigments liposolubles synthétisés par les plantes et les microorganismes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante. C'est des antioxydants piègeurs de radicaux libres, ils ont la capacité d'empêcher l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet (PASTRE, 2005)

- **Les composés phénoliques**

Ce sont des antioxydants très abondants dans plusieurs matières végétales, en plus ils ont une nature chimique très complexe. En effet, dans le règne végétale les composés naturels les plus répandus sont les polyphénols, ils jouent un rôle crucial dans la prévention et le traitement de certaines maladies cardiovasculaires et anti-inflammatoires même le cancer. Ils sont également utilisés comme additifs en industrie pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire (BOUGANDOURA et BENDIMERAD, 2013)

Les plus importants sont les flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires. Naturellement ils ont la capacité de piéger l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$  et le radical anion superoxyde  $\text{O}_2^-$  en le dismutant en  $\text{H}_2\text{O}_2$ . (CHEN *et al.*, 2003)

### III.2.3. Activité antioxydante de *Laurus nobilis* L.

Actuellement l'utilisation des molécules antioxydantes synthétiques est remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Beaucoup d'attention a été prêtée aux plantes médicinales et aromatiques (PAM) qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives, c'est pour cela plusieurs recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification des antioxydants naturels à partir des substances naturelles (FADILI *et al.*, 2015)

Parmi ces PAM on a le Laurier noble qui une plante très utilisée en médecine traditionnelle, elle possède de nombreuses activités biologiques, telle que l'activité antioxydantes. Pour démontrer quels sont les composés chimiques qui confèrent cette activité, des recherches faites sur les extraits aqueux et éthanolique du Laurier ont montré qu'ils présentent une forte activité antioxydant en émulsion d'acide linoléique(ELMASTAS *et al.*, 2006), en plus des autres composés ont été isolés comme des lactones sesquiterpenoïdes, des alcaloïdes isoquinolines et de la vitamine E.(WETTASINGHE *et SHAHIDI* 2000).

Selon une autre étude, les feuilles contiennent une grande quantité de phénols ; plusieurs flavonoïdes et dérivés ont été déterminés dans les extraits de laurier comme les flavonoïdes O-glycosides ou C-glycoside, la catéchine, et du cinnamtannin.(DALL'ACQUA *et al.*, 2009)

Concernant l'huile essentielle de laurier présente une grande activité antioxydante d'après les résultats obtenus après avoir testé son activité par deux méthodes différentes : la technique de décoloration des  $\beta$ -carotène et le test de DDPH (diphénylpicrylhydrazyle).

### III.3. Activité antibactérienne

Les effets antibactériens des plantes médicinales connus depuis l'antiquité. Ces dernières années, les recherches convergent vers la découverte de nouveaux agents antimicrobiens naturels qui seraient un palliatif à l'usage excessif et anarchique des antibiotiques ce qui amènera à diminuer le risque de développer ce phénomène récurrent de la résistance bactérienne.

#### III.3.1. Les antibiotiques

Ce sont des substances chimiques naturelles, synthétiques ou semi synthétiques qui ont le pouvoir d'inhiber la croissance des microorganismes. Les antibiotiques peuvent avoir un effet bactéricide, c'est-à-dire tuent les germes (SOILLEUX, 2007), ou simplement un effet bactériostatique en inhibant la multiplication des bactéries dans un milieu donné. (GAUDY *et BUXERAUD*, 2001)

Les antibiotiques agissent en fonction des différences métaboliques et structurales qui existent entre les cellules eucaryotes et procaryotes. Lorsqu'ils sont efficaces contre de nombreuses espèces bactériennes (à Gram positif et Gram négatif) ils sont dits à « large spectre » ; ceux qui sont actifs seulement sur un certain nombre d'espèces sont dits à « spectre étroit » (JOLY, 1989).

### III.3.2. Classification des antibiotiques :

La classification des antibiotiques est basée sur le spectre d'action, nature chimique, origine, mécanisme d'action (KEZZAL, 1993).

Tableau X : Principales familles des antibiotiques. (COHEN et JACQUOT, 2001)

Famille	Antibiotiques
Bêtalactamines	Pénicilline, Céphalosporines
Aminosides	Streptomycine, Gentamycine
Phénicolés	Chloramphénicol, Thiamphénicol
Tétracyclines	Tétracycline, Doxycycline
Macrolides	Erythromycine

### III.3.3. Mode d'action des antibiotiques

Le mode d'action des antibiotiques est en fonction de leur cible.

Les cibles principales des antibiotiques sont : la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique, les ribosomes, la réplication d'ADN et la transcription. (MADIGAN et MATINKO, 2007).

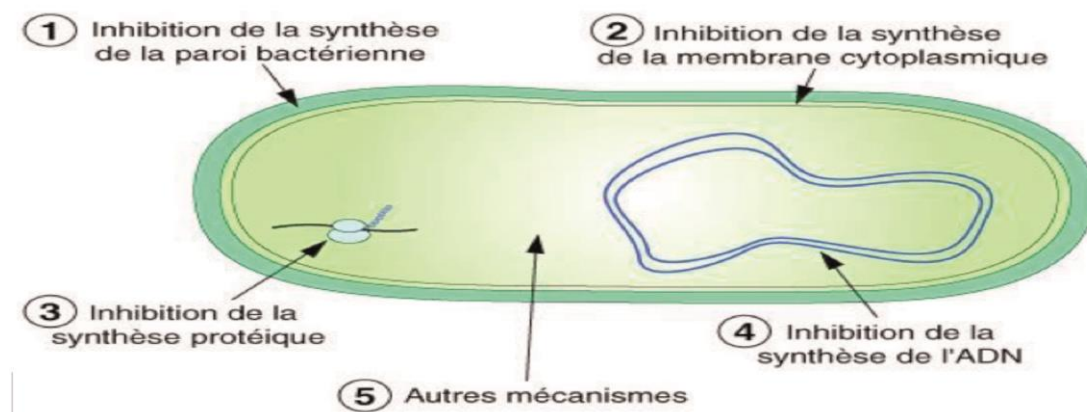


Figure 24 : Cibles d'action des antibiotiques (LESSEUR, 2014)

### III.3.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Au cours de ces dernières années, il a été observé que l'efficacité des antibiotiques a fortement diminuée. Les bactéries sont devenues plus résistantes. L'utilisation abusive et anarchique de ces agents a entraîné une adaptabilité des souches et à la formation des souches multi-résistantes. (GUILLOT, 1989)

### III.3.5. Activité antibactérienne de *Laurus nobilis* L.

L'huile essentielle des feuilles de laurier est composée de molécules actives telles que les oxydes terpéniques, monoterpénols, phénols, monoterpènes, sesquiterpènes et des esters terpéniques. Le principal composant de l'HE de laurier est le 1,8-cinéole. Les cineoles possèdent des activités biologiques importantes surtout pour le traitement des maladies des voies respiratoires. Elle est composée aussi de phénols (eugénol) qui sont de puissants et polyvalents anti-infectieux, à la fois antibactériens, antiviraux et antifongiques qui ont une très grande efficacité et un large spectre d'activité. (LIRA et al., 2009)

L'action de l'HE sur les différentes souches bactériennes est due principalement à sa grande affinité aux lipides membranaires grâce à sa nature hydrophobe. Le 1,8-cinéole associé aux phénols provoquent une augmentation de la perméabilité de la membrane suivie de sa rupture ce qui va entraîner la fuite du contenu cytoplasmique et de ce fait, la perte des constituants cellulaires. L'acidification de l'intérieur de la cellule va bloquer la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure. Le matériel génétique de la bactérie sera détruit conduisant à la mort de cette dernière. (FRANCHOMME et al., 2001)

### III.4. Autres activités

- **Activité cytotoxique**

Les sesquiterpènes ; les lactones et lauroxone isolés à partir des feuilles de laurier se sont avérés fortement cytotoxiques vis-à-vis d'une lignée cellulaire cancéreuse ovarienne. (BARLA et al., 2007)

- **Activité antifongique**

Elle est due à la teneur en 1,8-cinéol, composé majeur de l'HE. Ce dernier présente des activités antifongiques importantes liées à la présence de monoterpènes et sesquiterpènes. Les résultats d'une étude montrent qu'elle pouvait être utilisée comme fongicide naturel contre les champignons pathogènes. (ERTURK , 2006)

- **Activité toxicologique**

L'effet toxique des feuilles de laurier et de l'huile essentielle est insignifiant. Mais ces derniers peuvent provoquer des irritations de la peau ou des risques d'allergies buccales / stomacales puisqu'elles renferment des lactones sesquiterpéniques dont le principale : le costurnolide. (ANTON, 2005)

- **Activité fumigène**

Le cinéol, l'eugénol et linalol sont les composés majeurs de l'HE de *Laurus nobilis L* ayant une action répulsive contre les insectes (**ROZMAN et al., 2007**).

- **Activité gastro protectrice**

Des études récentes ont prouvé que les feuilles et l'HE des feuilles de *Laurus nobilis L* favorisent la sécrétion gastrique. Elles sont utilisées comme analgésique pour traiter les crampes intestinales, les névralgies...etc. (**BALLABIO et GOETZ, 2010**)

- **Activité anticonvulsive**

L'HE des feuilles de laurier est riche en cinéol, eugénol et méthyle eugénol qui sont les principaux composants qui protègent contre les convulsions. L'effet sédatif est lié à la teneur en flavonoïdes contenues dans les feuilles de laurier qui ont une affinité pour les récepteurs GABA<sub>A</sub> (**SAYYAH et al., 2002**)

Egalement de nombreuses autres activités telle que : l'activité cicatrisante, l'activité hypoglycémiant et l'activité antibiofilms...etc.

*Partie II :*

*Partie expérimentale*

# ***Chapitre IV :***

*Matériels et méthodes*

### VI. Matériels et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du Laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB), de la faculté des sciences biologiques et agronomiques, Université de Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou (UMMTO), durant une période comprise entre mars 2022 et juin 2022.

Ce travail a pour but la valorisation des feuilles de *Laurus nobilis L.* à travers l'évaluation de trois activités biologiques qui sont : l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne. Cette expérimentation a été réalisée en 2 parties :

- Une partie biochimique qui consiste en premier lieu à déterminer la teneur en polyphénols totaux pour l'étude phytochimique, en deuxième lieu c'est l'évaluation des deux propriétés biologiques. D'abord tester l'activité anti-inflammatoire en évaluant l'effet protecteur de l'extrait aqueux des feuilles de la plante vis-à-vis de l'hémolyse des cellules érythrocytaires induite par une solution hypotonique et par la chaleur, mais aussi l'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA. Ensuite on est passé à l'évaluation de l'activité antioxydante de notre extrait aqueux.
- Une partie microbiologique qui consiste à évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux vis-à-vis de 4 souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*).

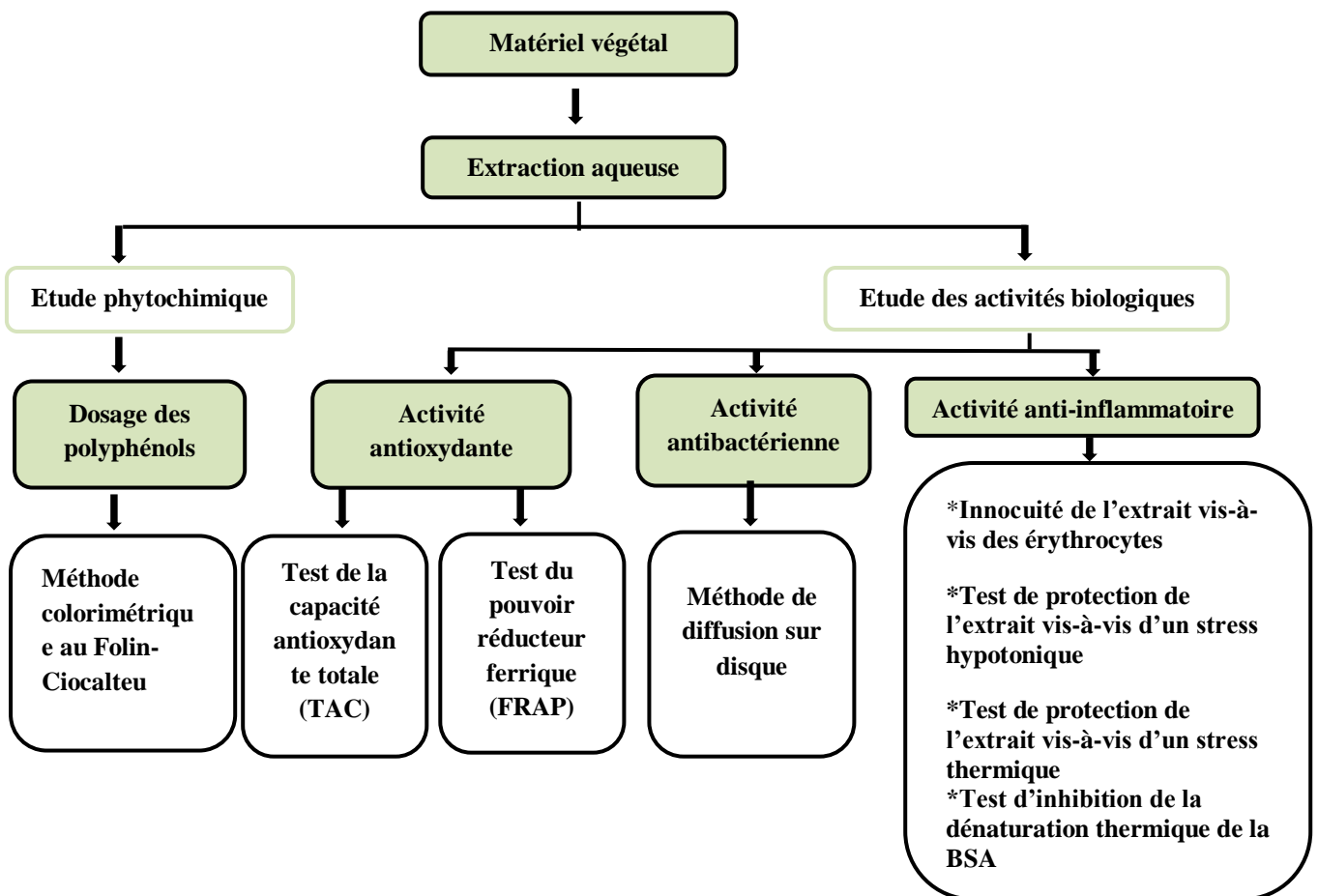


Figure 25 : Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux adoptés.

### VI.1. Matériels

#### VI.1.1 Matériel végétal

La plante *Laurus nobilis* utilisée au cours de cette expérimentation a été récoltée au mois de mars 2022 dans la région de Tizi-Ouzou, la wilaya de Tizi-Ouzou.

Une fois la récolte faite, la plante est mise à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité à une température ambiante pendant environ 3 semaines afin d'assurer que la plante est complètement sèche.

Après séchage, les feuilles ont été séparées des tiges et réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur. La poudre obtenue est ensuite conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés.



**Figure 26** : feuilles de *Laurus nobilis* (image personnelle)



**Figure 27** : feuilles sèches de *Laurus nobilis* (image personnelle)



**Figure 28** : poudre des feuilles de *Laurus nobilis* (image personnelle)

### VI.1.2. Prélèvements sanguins

Les prélèvements de sang veineux ont été effectués sur des volontaires sains, non-fumeurs et ne suivent aucun traitement. Le sang est récupéré dans des tubes héparines et conservés à 4°C.

### VI.1.3. Les souches bactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* a été mise en évidence en utilisant des souches bactériennes qui ont été fournies par le Laboratoire de recherche de la Faculté des sciences biologiques et agronomiques, Université de Tizi-Ouzou

**Tableau XI** : Description des souches bactériennes.

Famille	L'espèce	Gram	Reference
<i>Entérobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	ATCC 25922
<i>Entérobacteriaceae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram négatif	ATCC 7803
<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	ATCC 25923
<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Gram positif	ATCC 14575

## VI.2. Méthodes

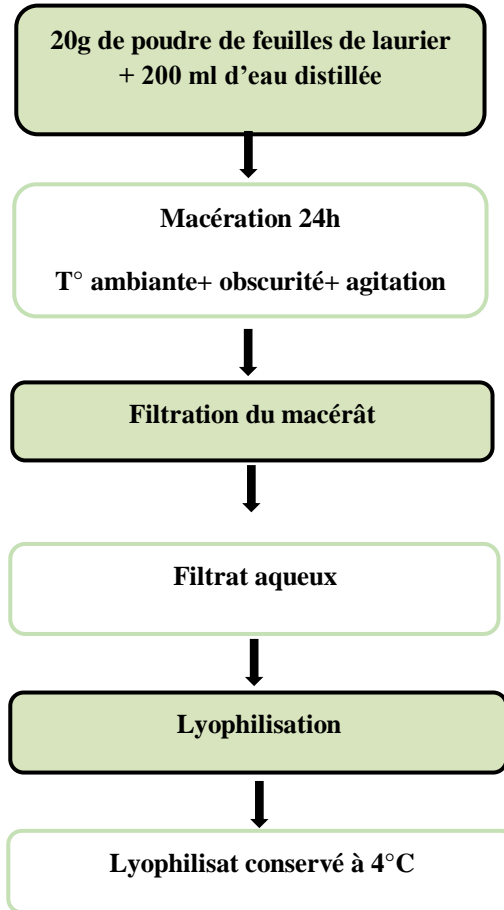
### VI.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

La technique utilisée pour la préparation de l'extrait aqueux est la macération. On prend 20g de poudre de feuilles de *Laurus nobilis* dans 200 ml d'eau distillée. Après une macération de 24h à l'obscurité sous agitation à 100rpm et à une température ambiante. Le macérât résultant est filtré successivement à l'aide de plusieurs passoires de diamètres différents afin d'éliminer un maximum de matière végétale puis avec du papier wattman n°1 jusqu'à l'obtention d'un liquide limpide et homogène. (MOUALEK, 2018)

Le filtrat obtenu de l'extraction est réparti dans des cristallisoirs (15ml dans chaque cristallisoir) puis déposé dans le lyophilisateur christ alpha1-2. Cette méthode permet de mieux préserver le matériel végétal.

La poudre végétale obtenue est conservée dans des flacons hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et de l'humidité à 4°C, dans le but de préserver la stabilité des principes actifs présents jusqu'à leur utilisation ultérieure.

Les différentes étapes de l'extraction aqueuse sont résumées dans la figure suivante :



**Figure 29** : Schéma récapitulatif des différentes étapes d'exaction aqueuse.

### VI.2.2. Méthodes d'analyse

#### VI.2.2.1. Le dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux contenue dans l'extrait aqueux des feuilles *Laurus nobilis* L. a été déterminée par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (LI *et al.*, 2008). Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

En présence du réactif Folin-Ciocalteu, les polyphénols subissent une oxydation. Cette réaction entraîne l'apparition d'une couleur bleue. L'intensité de cette couleur est proportionnelle au taux de polyphénols contenu dans l'extrait aqueux des feuilles du laurier noble.

200µl d'échantillon végétal à doser sont mélangés à 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué au dixième), ensuite on ajoute 800 µl de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 mg/ml). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité à une température ambiante pendant 45 min. Par la suite l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 760nm à l'aide d'un spectrophotomètre (figure 30)

Une gamme d'étalonnage d'acide gallique est réalisée à des concentrations allant de 10 à 100 µg dans les mêmes conditions que l'échantillon (Wong et al., 2006). L'acide gallique est utilisé comme référent pour le calcul de la teneur en polyphénols de l'extrait de feuilles de Laurier en µg équivalent acide gallique  $\text{ml}^{-1}$ .

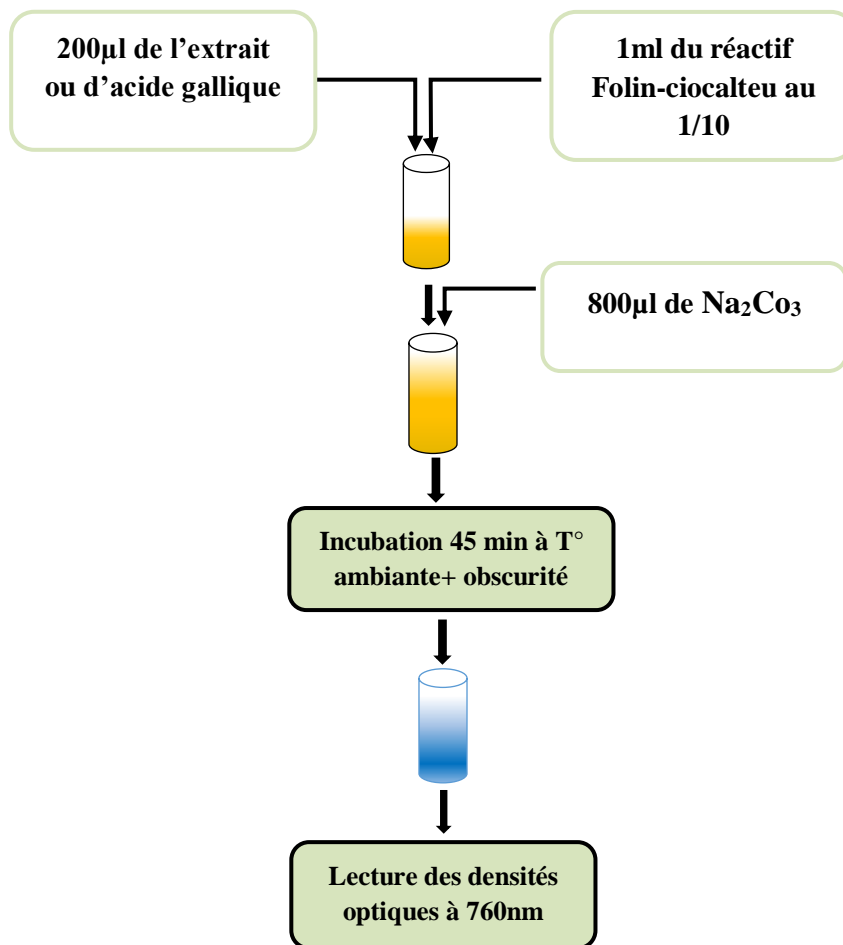


Figure 30 : Protocol de dosage des polyphénols totaux.

### VI.2.2.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Afin d'étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait végétal in vitro, nous avons utilisé comme modèle cellulaire universel les érythrocytes qui présentent une analogie avec d'autres membranes cellulaires (SHOBANA et VIDHYA, 2016)

### VI.2.2.2.1. Test d'hémolyse

L'étude de la stabilisation de la membrane érythrocytaire présente un intérêt crucial dans le traitement de certaines pathologies hémolytiques.

L'objectif de ce test est l'évaluation l'effet protecteur de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* contre l'hémolyse des globules rouges humains induite par un stress hypotonique et un stress thermique. Une fois que les cellules érythrocytaires sont en contact d'une solution saline ou de la chaleur, cela engendre la lyse de leurs membranes et la libération de l'hémoglobine. L'intensité de l'hémolyse est estimée par la mesure de l'absorbance de l'hémoglobine libérée après hémolyse (Moualek et al., 2016).

### VI.2.2.2.2. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang des donneurs sains est collecté dans tubes contenant de l'héparine. Afin de séparer les globules rouges du plasma sanguins, le sang est centrifugé à 1500 rpm pendant 10 min à 4°C pour éliminer le sérum et récupérer le culot érythrocytaire auquel on effectue des lavages successifs avec du tampon phosphate salin (PBS) (pH 7.5 ; NaCl à 0.9%).

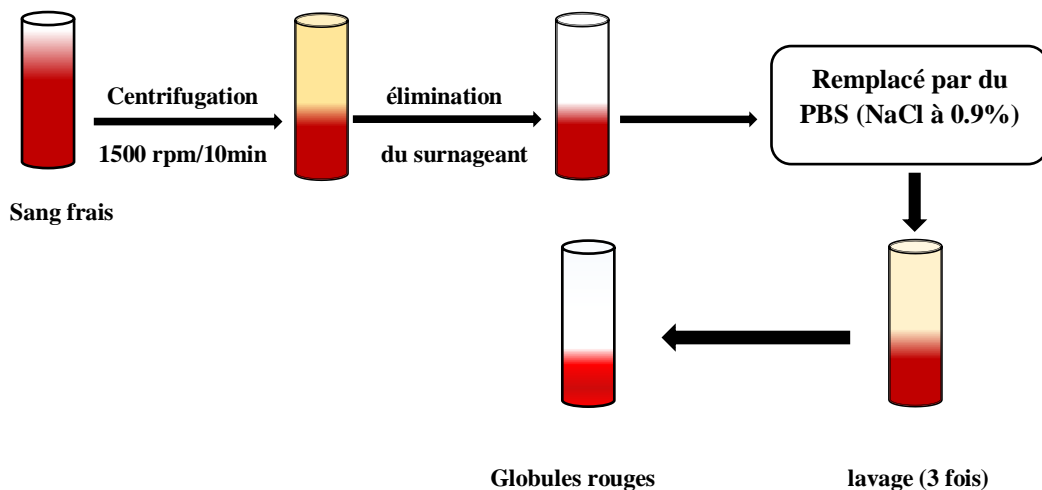


Figure 31 : Schéma de la préparation de la suspension érythrocytaire.

### VI.2.2.2.3. Test de l'innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires

Avant de procéder à l'étude d'une plante à usage thérapeutique afin d'évaluer son activité anti-hémolytique, nous devons d'abord tester son innocuité vis-à-vis des cellules érythrocytaires.

1 ml de solution érythrocytaire (2%) est additionnée à 1ml d'extrait végétal de concentrations allant de 250 à 1500 µg/ml préalablement préparée avec du PBS (pH 7.5 ; NaCl à 0.9%). Le mélange est incubé à une température ambiante pendant 10 min, puis centrifugé à 1500 tours/min à 4°C et enfin mesurer l'absorbance du surnageant à 540 nm.

Parallèlement un test control positif est réalisé dans les mêmes conditions mais en remplaçant l'extrait végétal par la saponine, étant un agent hémolytique de référence qui induit 100% d'hémolyse, ensuite on détermine la densité optique du surnageant à 540 nm. Ainsi le pourcentage d'hémolyse est calculé suivant la relation suivante :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = [\text{Do}_E - \text{Do}_C / \text{Do}_{C+}] \times 100$$

**Do<sub>E</sub>** : densité optique de l'extrait.

**Do<sub>C</sub>** : densité optique du control négatif.

**Do<sub>C+</sub>** : densité optique du control positif.

#### VI.2.2.2.4. Effet protecteur de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* vis-à-vis d'un stress hypotonique

Ce test est basé sur l'effet protecteur de l'extrait aqueux sur la stabilisation des membranes des globules rouges après induction d'un stress hypotonique qui est généré par une variation de concentration de NaCl selon le Protocole de décrit par **FREITAS et al (2008)** aboutissant à la lyse de leur membrane qui s'accompagne par le relargage de l'hémoglobine.

40 µl de la suspension érythrocytaire à 2% sont mélangés à 500 µl de tampon phosphate (pH 7.4) à des concentrations variables en NaCl (0.9%, 0.7%, 0.5% et 0.3%), chacune est combinée à 500 µl des différentes concentrations de l'extrait végétal (250, 500, 750, 1000, 1250 et 1500 µg/ml).

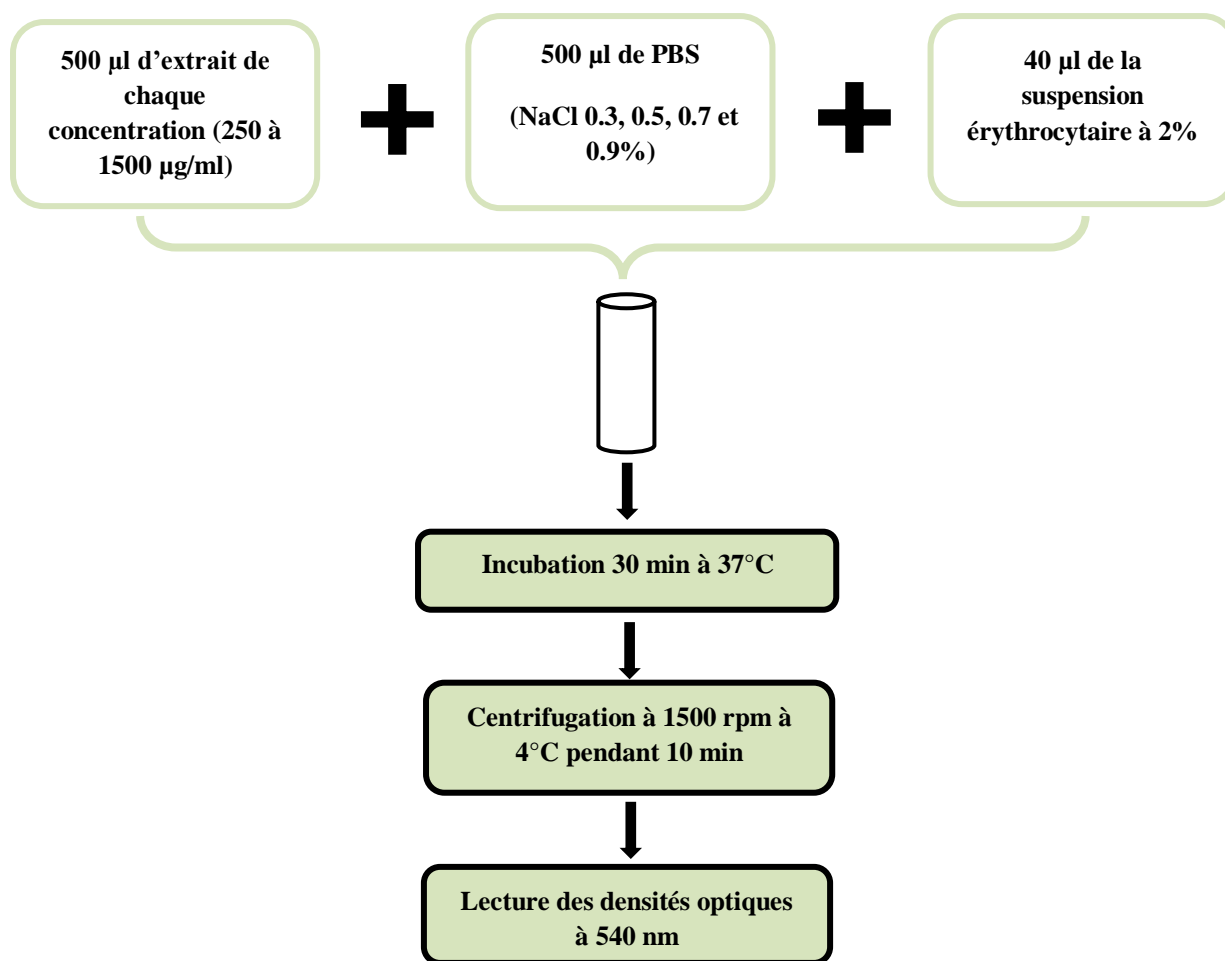
Le mélange est incubé 30 minutes à 37 °C sous agitation douce puis centrifugé à 1500 rpm pendant 10 minutes à 4°C. Après incubation, on mesure la densité optique du surnageant à 540 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition d'hémolyse} = [\text{Do}_1 - \text{Do}_2 / \text{Do}_1] \times 100$$

**Do<sub>1</sub>** : densité optique de la solution hypotonique de globules rouges sans l'extrait végétal.

**Do<sub>2</sub>** : densité optique de la solution hypotonique de globules rouges avec l'extrait végétal.



**Figure 32 :** Protocol du test de protection de l'extrait vis-à-vis d'un stress hypotonique.

### VI.2.2.2.5. Effet protecteur de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* vis-à-vis d'un stress thermique

L'évaluation de l'activité protectrice de l'extrait aqueux vis-à-vis de l'hémolyse qui est générée par un stress thermique est réalisée in vitro par la méthode spectrophotométrique décrite par **SAKAT et al (2010)**

1 ml d'extrait aqueux avec différentes concentrations (250, 500, 750, 1000, 1250 et 1500 µg/ml) dissoutes dans un tampon phosphate (pH 7.4, NaCl 0.9%), qui est mélangé avec 1ml de la suspension érythrocytaire à 2%.

Le milieu réactionnel est incubé dans un bain marie à 56°C pendant 30 minutes. Après incubation, les tubes sont refroidis à l'eau du robinet puis centrifugés à 1500 rpm à 4°C pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant est mesurée avec une longueur d'onde de 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

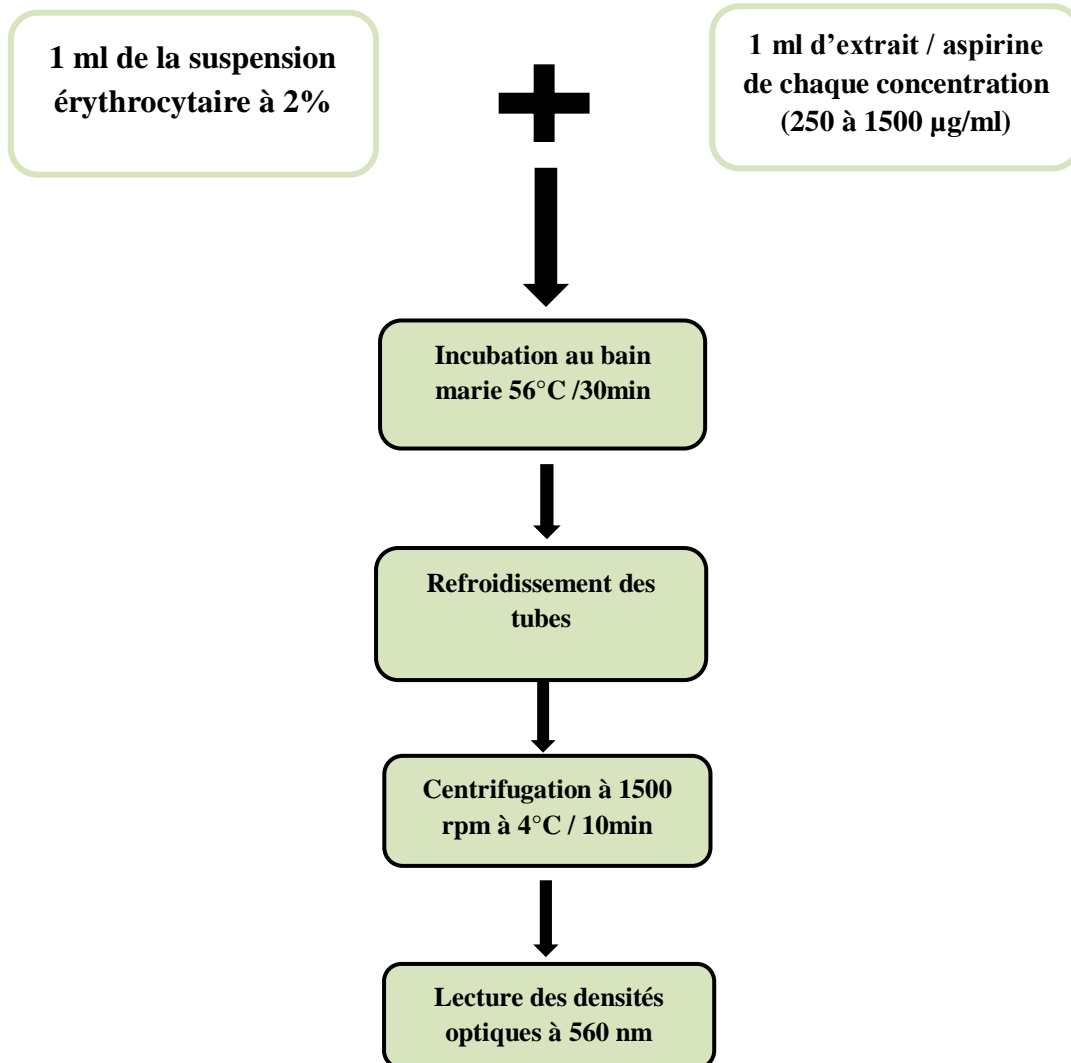
Afin de déterminer le pourcentage de protection de notre extrait, on utilise l'aspirine comme un agent anti-hémolytique de référence. Ce test est réalisé dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour l'extrait de la plante.

Parallèlement un control positif est réalisé en remplaçant l'eau physiologique par 1 ml d'eau distillée afin de provoquer 100% d'hémolyse.

Pour calculer le pourcentage de protection de l'extrait contre l'hémolyse induite par la chaleur on utilise l'équation suivante :

$$\% \text{ de protection} = (\text{Do}_{\text{échantillon}} / \text{Do}_{\text{control}}) \times 100$$

La figure (33), récapitule les différentes étapes suivies lors de la réalisation de ce test.



**Figure 33 :** Protocol du test de protection de l'extrait vis-à-vis d'un stress thermique.

### VI.2.2.2.6. Inhibition de la dénaturation thermique de la BSA

La dénaturation des protéines des tissus est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires. (Williams et al., 2008)

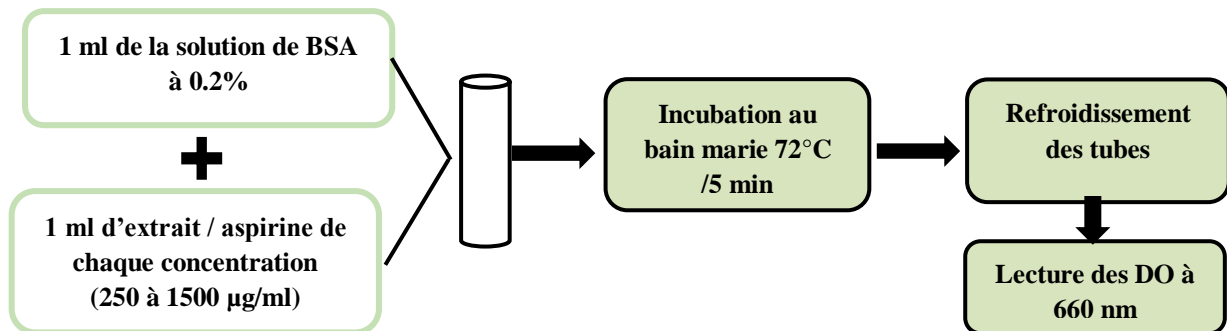
Afin d'évaluer les propriétés anti-inflammatoires *in vitro*, de l'extrait aqueux des feuilles du Laurier noble, on a choisi pour cette étude l'albumine de sérum bovin comme modèle pour la dénaturation. Cette évaluation d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA est faite suivant la méthode de **KARTHIK et al (2013)**

Pour cela, une gamme de concentration de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.*, allant de 250 à 1500 µg/ml est réalisée. Un volume de 1 ml de la solution de BSA à 0.2%, préparée dans du PBS (pH 7.5 ; 0.9% NaCl), est ajouté à 1 ml de chaque dilution de la gamme préalablement préparée. Les tubes sont incubés au bain marie à 72°C pendant 5 minutes. Après incubation on les refroidis et enfin on mesure l'absorbance à 660 nm.

Pour pouvoir calculer le pourcentage de protection de notre extrait vis-à-vis de la dénaturation thermique de la protéine, on utilise l'aspirine comme un agent anti-inflammatoire de référence. Ce test est réalisé dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour l'extrait de la plante.

On utilise l'équation suivante pour calculer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA :

$$\% \text{ de protection} = 100 - (D_o \text{ échantillon} / D_o \text{ contrôle}) \times 100$$



**Figure 34 :** Protocole du test de l'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA

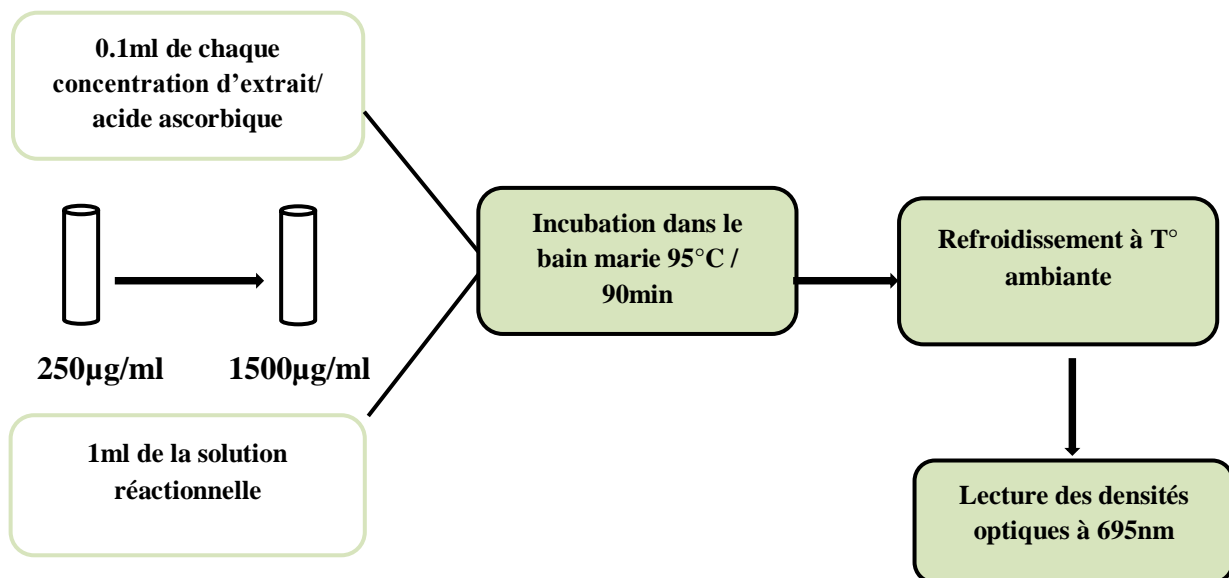
### VI.2.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.*

#### VI.2.2.3.1. Evaluation de la capacité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante des extraits végétaux est déterminé par la méthode de phosphomolybdate décrite par **PRIETO et al (1999)**. Ce test est basé sur la réduction des ions molybdate Mo (VI) en molybdène Mo (V), ainsi la formation d'un complexe vert, l'intensité de ce dernier est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait testé.

Une gamme de concentration de l'extrait végétal aqueux, allant de 250 à 1500  $\mu\text{g/ml}$  est réalisée. Le test consiste à mélanger 0.1ml de chaque concentration de la gamme avec 1 ml de la solution réactionnelle qui est composée de 0.6mM de l'acide sulfurique, 28mM de phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium. Le mélange obtenu est incubé dans le bain marie à 95°C pendant 90min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695nm.

La courbe d'étalonnage est établie en réalisant une gamme de concentration d'acide ascorbique, allant de 250 à 1500 $\mu\text{g/ml}$  dans les mêmes conditions qui va servir de témoin. La capacité de réduire le molybdate de l'extrait végétal est déterminée en le comparant à la capacité réductrice de l'acide ascorbique qui sera exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait).



**Figure 35** : Schéma récapitulatif du Protocole du test de la TAC.

### VI.2.2.3.2. Evaluation du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

Le pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L. est évaluée selon la méthode décrite par **OYAIKU (1986)**. Cette méthode est basée sur la réduction des ions du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ions de fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) par la présence d'un composé antioxydant contenu dans l'extrait végétal (**DESMIER, 2016**). Cette réduction mène à la formation d'un complexe coloré en bleu avec le ferricyanure de potassium en présence de trichloracétique et du chlorure de fer. (**Gülçin, 2011**) L'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité réductrice du fer de l'extrait aqueux.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

Cette méthode consiste à préparer une gamme de concentration de l'extrait végétal aqueux, allant de 500 à 1500 µg/ml. 400 µl de chaque concentration de la gamme est mélangé avec 400 µl de la solution tampon phosphate (0.2M, pH6.6) et 400 µl de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ). Le mélange est incubé au bain marie à 50°C pendant 20min, puis 400 µl d'acide trichloracétique ( $CCl_3COOH$ ) sont ajoutés. Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10min. 400 µl du surnageant sont mélangés avec 400 µl d'eau distillée et 80 µl de chlorure de fer ( $FeCl_3$ ). Enfin, l'absorbance est mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique l'augmentation du pouvoir réduction du fer.

L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif en réalisant une gamme de concentration, allant de 500 à 1500µg/ml dans les mêmes conditions expérimentales que la gamme de concentration de l'extrait aqueux.

La capacité de réduire le fer de l'extrait végétal est déterminée en le comparant à la capacité réductrice de l'acide ascorbique obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique et qui sera exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait).

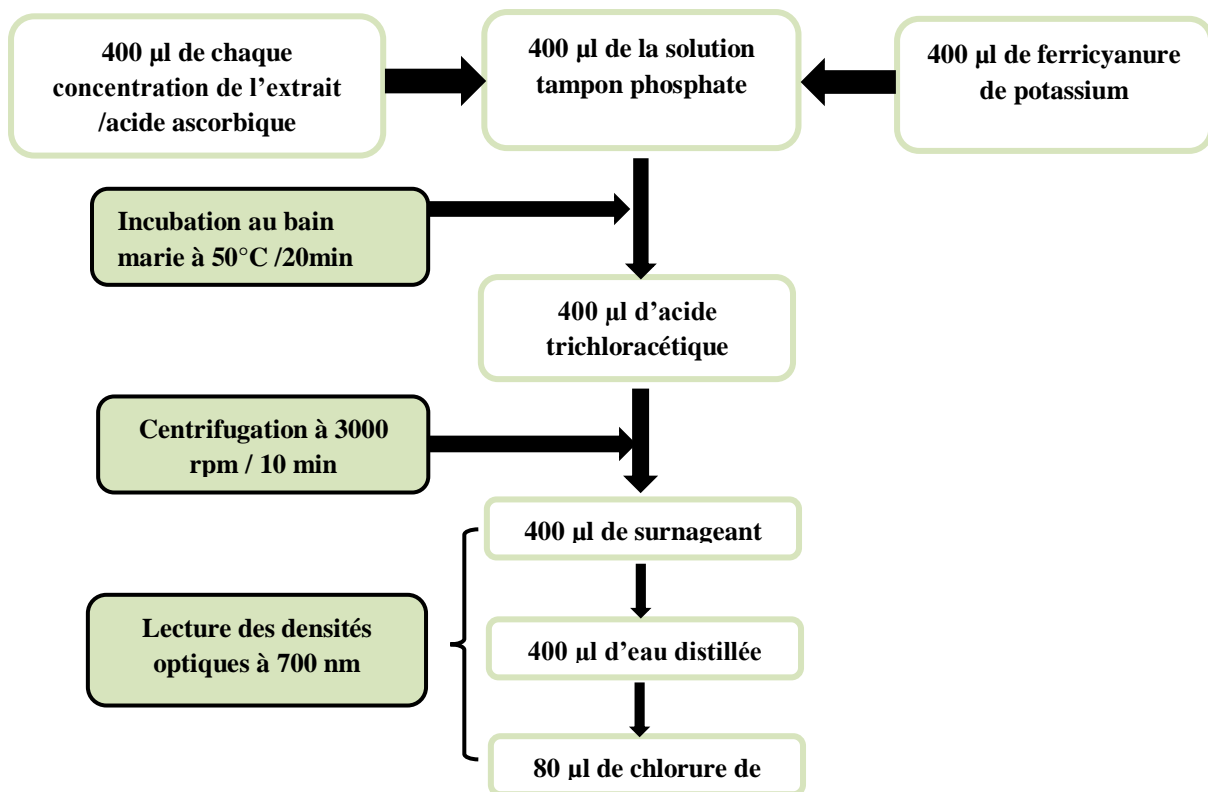


Figure 36 : Schéma récapitulatif du Protocole du test de la FRAP.

### VI.2.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux obtenu des feuilles de *Laurus nobilis*, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé Muller-Hinton décrite par **BARRY et al (1985)**. Les souches de référence utilisées sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniaea* ATCC 7803, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 14575. L'activité antibactérienne est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne produite autour des disques après incubation. (**Bouzid et al., 2011**)

### VI.2.2.4.1. Revivification des souches bactériennes

Les souches bactériennes sont préalablement revivifiées en milieu BHIB (24h à 37°C),

### VI.2.2.4.2. Préparation de l'inoculum

- **Préparation de la pré-culture**

Les souches bactériennes à tester sont cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose Muller-Hinton, puis incubées pendant 18 h dans l'étuve à une température de 37°C afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées.

- **Préparation de la suspension bactérienne**

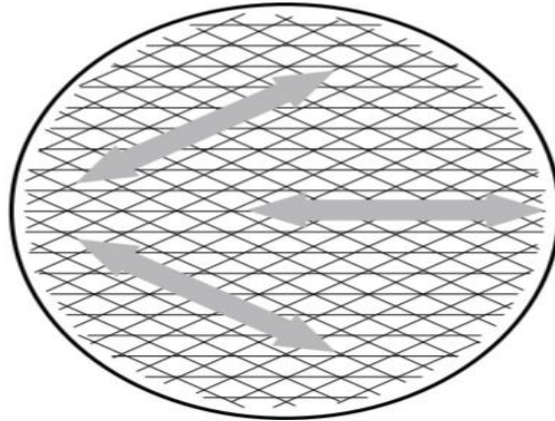
À partir de la culture jeune de 18h, 3 à 5 colonies sont prélevées pour réaliser une suspension bactérienne dans l'eau physiologique stérile à 0.9%. A l'aide d'un spectrophotomètre, on réalise la standardisation de la suspension à une longueur d'onde 625 nm, la densité optique doit être comprise entre 0.08 et 0.1.

### VI.2.2.4.3. Technique de diffusion sur milieu solide (méthode des disques)

- **Ensemencement**

Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension bactérienne, les boîtes de Muller-Hinton sont ensemencées par écouvillonnage. On trempe l'écouvillon stérile dans le tube contenant la suspension pour faire l'ensemencement. On réalise des stries en nappe sur la surface entière du milieu, cette opération est effectuée en trois reprises en tournant la boîte de

Pétri à environ 60°C de façon à obtenir une répartition égale et homogène de l'inoculum puis on passe l'écouvillon tout autour du bord de la boîte



**Figure 37 :** Ensemencement en stries par écouvillonnage.

- **Dépôt des disques**

Des disques stériles de papier wattman n° 1 de 6 mm de diamètre, sont déposés délicatement à l'aide d'une pince stérile sur la surface de milieu MH ensemencé au préalable avec la suspension bactérienne. Ces disques sont imprégnés d'un volume de 20 µl de l'extrait aqueux à tester à une concentration de 200 µg/ml, et parfois pour certaines souches bactériennes on augmente la concentration jusqu'à 400 µg/ml voir même 600 µg/ml lorsque c'est nécessaire. Un disque d'antibiotique est également déposé comme témoin positif pour la comparaison avec les résultats de l'extrait testé et on a déposé un disque d'antibiotique auquel on a ajouté le même volume d'extrait afin de déterminer s'il y a une synergie ou non.

Les boîtes de Pétri sont fermées et laissées pré-diffuser pendant 30 min à température ambiante, ensuite sont incubées à 37°C à l'étuve pendant 24h. (BOLOU *et al.*, 2011)

- **Les antibiotiques**

**Tableau XII :** les antibiotiques utilisés.

La souche bactérienne	L'antibiotique
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colistine
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 7803	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gentamycine
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14575	Pipemidic acid

- **Lecture :**

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux sur les bactéries est évaluée en mesurant les diamètres des zones d'inhibitions autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse. (BOLOU *et al.*, 2011). Ce diamètre montre la sensibilité de la souche vis-à-vis de l'extrait.

***Chapitre V :***  
***Résultats et discussions***

### V.1. Détermination de la teneur en polyphénols

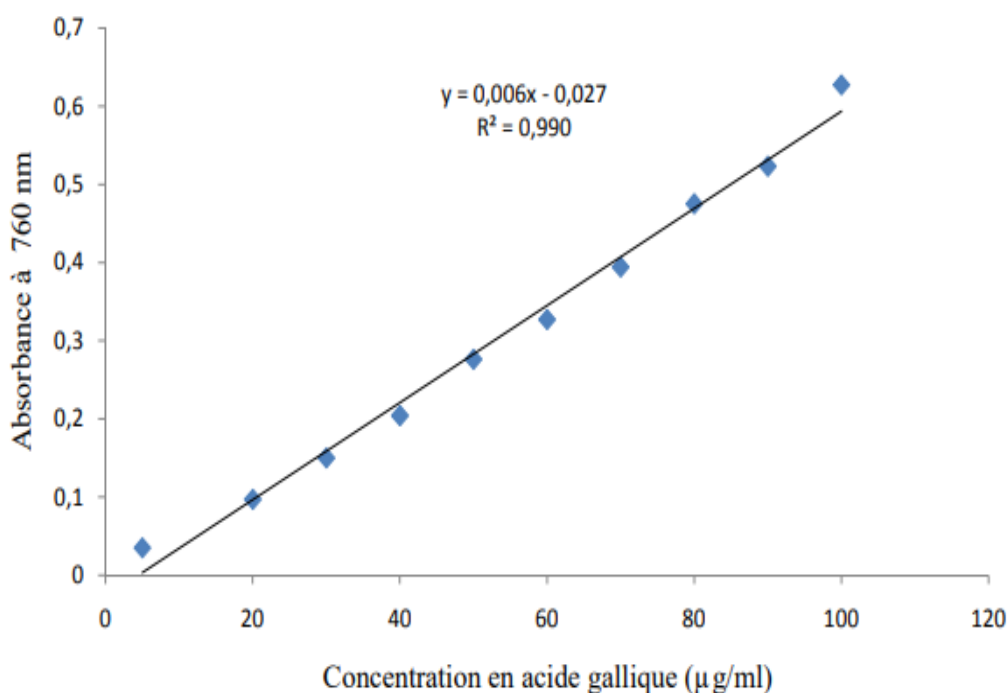
L'extrait brut obtenu par macération dans de l'eau distillée a subi une analyse quantitative par une méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L. a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon.

$$Y = 0.006x - 0.027$$

$$R^2 = 0.990$$

Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique / gramme d'extrait sec (mg EGA/g).



**Figure 38** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le résultat obtenus montre que l'extrait aqueux des feuilles de laurier noble possède une teneur en polyphénols totaux de l'ordre de  $139.66 \pm 6.16$  mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

D'après une étude réalisée par **DIAS et al (2014)** le taux en polyphénols totaux trouvé dans l'extrait aqueux des feuilles de laurier noble est de 55.38 mg EAG/ g ES.

Une autre étude réalisée par **YAKHLEF et al (2011)** a montré que l'extrait aqueux des feuilles de laurier noble présente une teneur en polyphénols totaux de  $129.07 \pm 7.50$  mg EAG/ g ES.

Ces résultats sont relativement proches au résultat obtenu lors de notre étude, ce qui révèle la richesse de notre extrait aqueux en composés phénoliques.

En revanche, d'après **DHIFI et al (2018)** l'extrait méthanolique de *Laurus nobilis L.* est plus riche que l'extrait aqueux. Il présente une teneur en polyphénols totaux de 174,1 mg EAG/g ES. Ces résultats prouvent que le rendement de l'extraction méthanolique est meilleur que celui de l'extraction aqueuse. Selon **MOHSEN et AMMAR (2009)**, le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques est l'éthanol suivis du méthanol et finalement par l'eau.

La variation des résultats obtenus par ces différentes études est due aux différents paramètres d'extraction des polyphénols et le solvant utilisé pour la réalisation de cette dernière (**DJAHRA, 2014**). Cependant, la période de récolte et le stade de développement de la plante (**NASUKHOVA et al., 2017**) ainsi que les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique, la sécheresse, le sol...) peuvent contribuer aussi à cette variance (**NEJAD EBRAHIMI et al., 2008**)

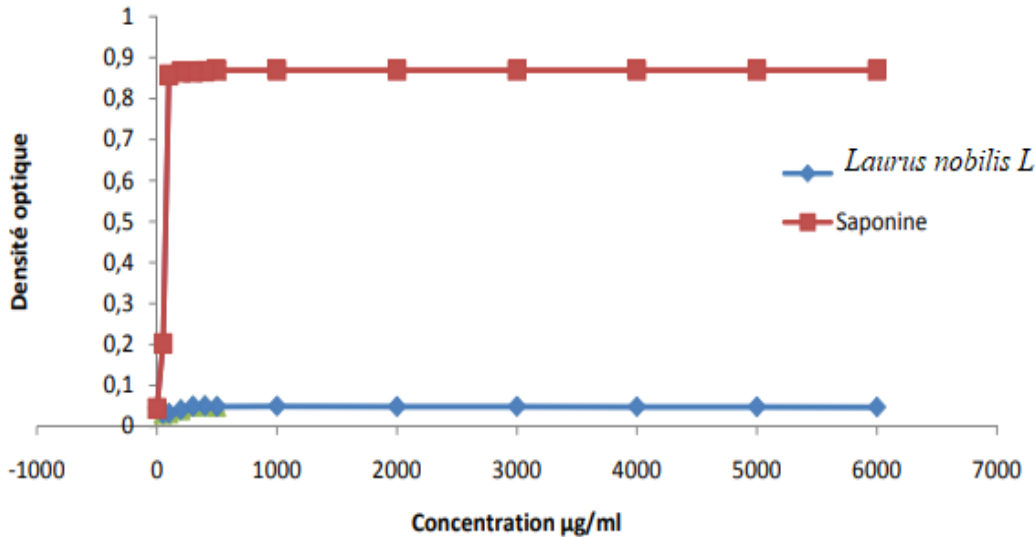
### V.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

#### V.2.1. Innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires

Afin de procéder à l'étude de l'activité protectrice de l'extrait aqueux du laurier, nous avons d'abord testé son effet hémolytique sur les globules rouges en se référant à la saponine, composé hémolytique de référence.

La saponine est hémolytique par interaction avec les stérols de la membrane érythrocytaire entraînant la libération des hémoglobines (**BAUMANN et al., 2000**). Cette propriété a conduit à la mise en place des tests d'hémolyse dans le but de détecter les saponines dans des extraits de plantes différentes (**SPARG et al., 2004**)

Le test d'hémolyse a été réalisé sur une gamme de concentration allant de 250 à 1500  $\mu\text{g/ml}$ . La figure représente les courbes d'hémolyses obtenues pour l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.* et la saponine.



**Figure 39 :** Comparaison entre la densité optique de l'extract aqueux et de la saponine.

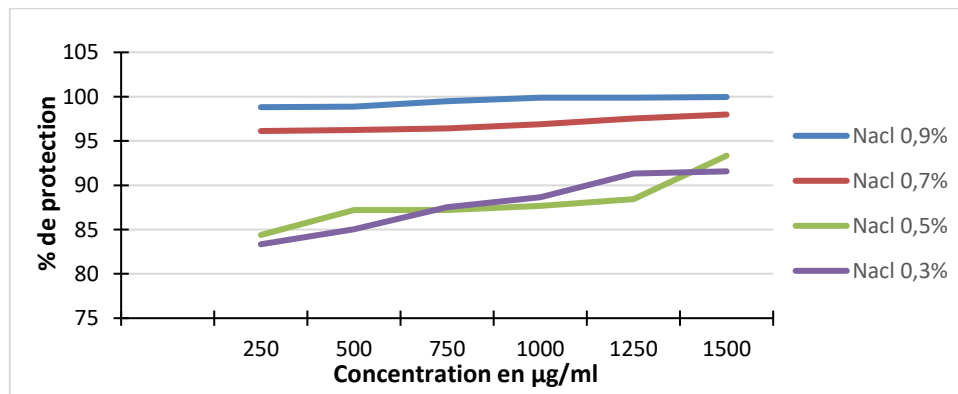
Les résultats indiquent que l'extract aqueux de *Laurus nobilis L.* aux concentrations utilisées ne présente pas d'activité hémolytique.

Selon **LOUERRED et al (2016)**, les composés phénoliques de l'extract s'incorporent dans la partie hydrophile externe de la membrane érythrocytaires ce qui constitue un bouclier protecteur de la cellule vis-à-vis des substances qui peuvent l'endommager.

### V.2.2. Effet protecteur de l'extract aqueux vis-à-vis d'un stress hypotonique

L'influence de l'extract aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* sur la lyse osmotique des hématies est déterminée en mesurant l'inhibition de l'hémolyse à différentes concentrations en NaCl (0,9%, 0,7%, 0,5% et 0,3%) en commençant par un milieu isotonique jusqu'à l'hypotonique.

Les résultats obtenus sont illustrés en figure (40) qui exprime le pourcentage de protection vis-à-vis de l'hémolyse induite par hypotonicité en fonction des concentrations en extract.



**Figure 40 :** Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis d'un stress osmotique en fonction des différentes concentrations en extract de *Laurus nobilis L.*

Nous notons une croissance proportionnelle entre la concentration en extrait aqueux et le pourcentage de protection pour toutes les concentrations salines utilisées.

L'effet protecteur maximal est enregistré à une concentration de 1500 µg/ml de l'extrait aqueux. Le pourcentage de protection est respectivement de  $91.57 \pm 0.006$  % ;  $93.34 \pm 0.003$  % ;  $95.53 \pm 0.006$  % et  $96.5 \pm 0.007$  % pour les concentrations en NaCl suivantes 0.3% ; 0.5% ; 0.7% et 0.9%.

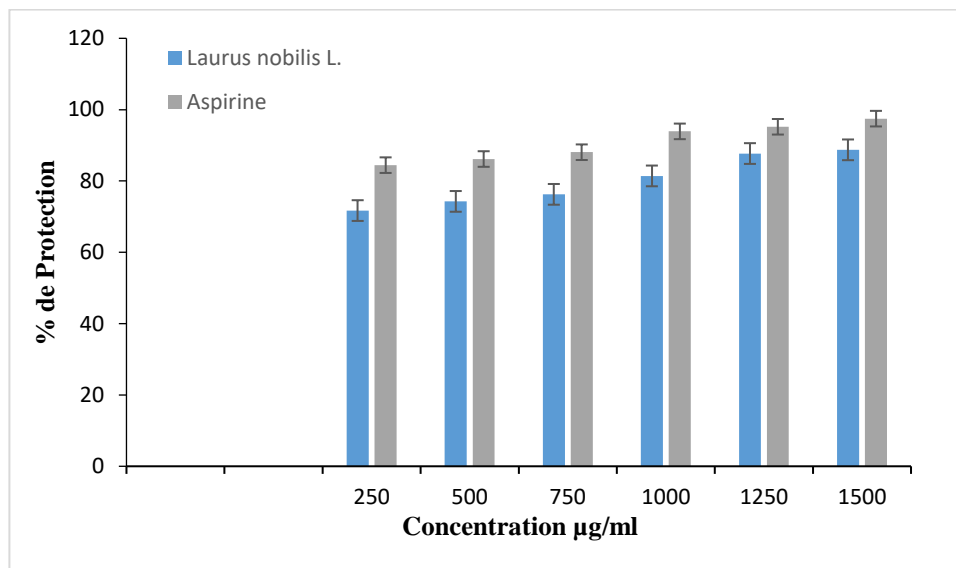
Ces résultats sont comparables à ceux obtenues par **MOUALEK et al (2016)** sur l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo*, avec des pourcentages de protection qui sont respectivement de 46.15, 79.53, 70.78, 71.95 et 76.46 % aux concentrations de 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 et 0.9 % de NaCl, mais aussi à d'autres travaux précédemment réalisés. Prenant comme exemple l'étude réalisée par **SALEEM et al (2011)** sur l'extrait aqueux et éthanolique de *Gendarussa vulgaris Nes*, qui présente des pourcentages de protection qui sont respectivement de 26.71% et 28.15% à une concentration de 400 mg/ml. Une autre étude de **RAHMAN et al (2015)** sur l'extrait de *Oryza sativa*, présente un pourcentage de 63.77% à une concentration de 500µg/ml alors que notre extrait à la même concentration montre une activité anti-hémolytique significative qui est égale à 91.02%. Également d'autres résultats enregistrés par **CHIPPADA et al (2011)** sur l'extrait éthanolique de *Centella Asiatica*, montrent qu'à 2000 µg/ml cet extrait protège à 94.97% tant dit que notre extrait présente un meilleur effet protecteur de 96.5% et à une concentration inférieure à celle-ci qui est égale à 1500µg/ml.

Ces données indiquent que l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* à diverses concentrations présente un effet protecteur, qui est relativement important vis-à-vis de l'hémolyse induite par les solutions hypotoniques.

La stabilisation de la membrane érythrocytaire implique la stabilisation de la membrane lysosomale qui est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomiques des neutrophiles activés, qui provoquent une inflammation et des lésions tissulaires lors de la libération extracellulaire (**SALEEM et al., 2011**), et ceci grâce à la présence des alcaloïdes, des polyphénols et des composés comme les tanins qui entrent dans la stabilisation de la membrane lysosomale par la formation des liaisons avec des cations divalents comme  $Ca^{+2}$  et  $Mg^{+2}$ . De plus, la déformabilité et le volume cellulaire des érythrocytes sont étroitement liés au contenu intracellulaire en calcium. Par conséquent, nous pouvons penser que l'effet protecteur de l'extrait serait dû à la capacité de ce dernier à modifier l'afflux de calcium dans les érythrocytes (**CHOPADE et al., 2012**) ou peut être attribué au fait que l'extrait équilibre la pression osmotique entre les deux milieux, ou se fixe sur l'aquaporine qui empêche l'eau d'entrer à l'hématie (**LOUERRAD et al., 2016**)

### V.2.3. Effet protecteur de l'extrait aqueux vis-à-vis d'un stress thermique

Les résultats du test de stabilisation de la membrane de globule rouge via l'exposition des érythrocytes à une température relativement élevée sont représentés dans la figure ci-dessous.



**Figure 41 :** Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis d'un stress thermique en fonction des différentes concentrations en extrait de *Laurus nobilis*.

Ces résultats sont exprimés en pourcentage de protection par rapport à la concentration en extrait aqueux utilisé et comparés à l'aspirine.

L'extrait a montré une activité anti-hémolytique significative et dose dépendante avec une bonne protection des globules rouges avec des pourcentages allant de 71,7 ± 0,007 % à 88,74 ± 0,007 % pour des concentrations allant de 250 à 1500 µg/ml.

D'après cette étude, on a enregistré un effet protecteur maximal de 97,48 ± 0,006 % pour l'aspirine à une concentration de 1500 µg/ml. Le pourcentage de protection contre l'hémolyse par l'aspirine est plus important à ceux obtenus avec l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* L.

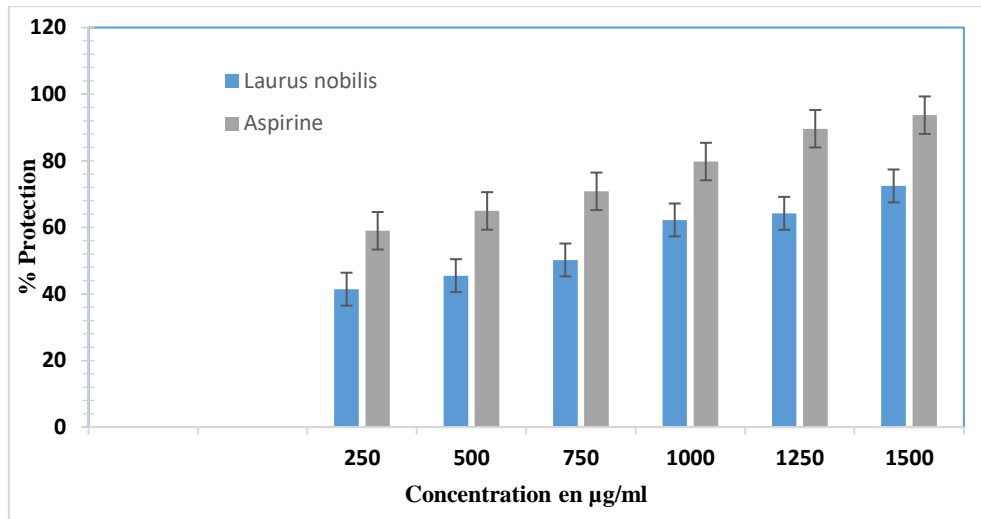
Néanmoins, selon une étude réalisée par **MOUALEK et al (2016)** pour l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo* (79,66 ± 1,92%) et comparé aux travaux réalisés par **SHARMA et al (2013)** sur l'extrait d'*Operculina turpethum* qui présente un pourcentage de protection de 42,86%, notre extrait montre un meilleur effet avec un pourcentage de protection maximale de 88,74 ± 0,007 % à 1500 µg/ml.

Lorsque les érythrocytes sont exposés à de fortes températures, elles se déforment et ceci induit à la diminution de leur capacité à résister à l'hémolyse. Cet effet protecteur contre l'hémolyse des globules rouges induite par la chaleur peut s'expliquer par la présence de composés phénoliques dans l'extrait testé qui interagit avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation. (**BAYNE et al., 1989**)

### V.2.4. Inhibition de la dénaturation thermique de la BSA

La méthode de dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes (RATHISRE *et al.*, 2013)

La figure (42) représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis de la dénaturation thermique de la BSA en fonction des différentes concentrations en extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis*. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour l'aspirine qui est utilisé comme référent.



**Figure 42 :** Pourcentage de protection de la BSA vis-à-vis d'une dénaturation thermique.

L'aspirine et l'extrait montrent une capacité à inhiber la dénaturation de la BSA dose dépendante. Les pourcentages de protection passent de  $41.42 \pm 0.011\%$  à  $72.43 \pm 0.010\%$  pour des concentrations en extrait allant de 250 µg/ml à 1500 µg/ml, comparés à l'aspirine qui présente une protection plus importante que l'extrait, allant de  $58.96 \pm 0.008\%$  à  $93.68 \pm 0.017\%$  pour les mêmes concentrations.

La dose optimale de l'extrait pour qu'il puisse inhiber la dénaturation de la BSA varie de l'extrait d'une plante à une autre. D'après l'étude réalisée par MOUALEK *et al* (2016) sur l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo*, à 500µg/ml le pourcentage de protection de la dénaturation est de  $74.28 \pm 0.86\%$ . Aussi d'après les résultats enregistrés par RAMANI *et al* (2010), montre que l'extrait aqueux de *Zizyphus oenoplia* à la concentration de 500µg/ml protège à 57%. Nous constatons que notre extrait présente un effet protecteur moins important comparativement aux résultats des différents extraits de plantes.

Tant dit que (BAKHOUCHE *et al* (2021) ont trouvés que l'extrait aqueux des feuilles de *Linonium delicatulum*, à 500µg/ml présente un effet protecteur ( $43.32 \pm 0.13\%$ ) légèrement inférieur comparativement au pourcentage de protection de l'extrait aqueux du Laurier ( $45.48 \pm 0.013\%$ ) à la même concentration.

La présente étude a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* reste efficace c'est-à-dire qu'il inhibe la dénaturation de la BSA.

Plusieurs médicaments anti-inflammatoires ont montré une capacité dose dépendante à inhiber la dénaturation thermique des protéines. L'une des caractéristiques de plusieurs anti-inflammatoires non stéroïdiens est leur capacité à stabiliser la BSA soumise à une température élevée.

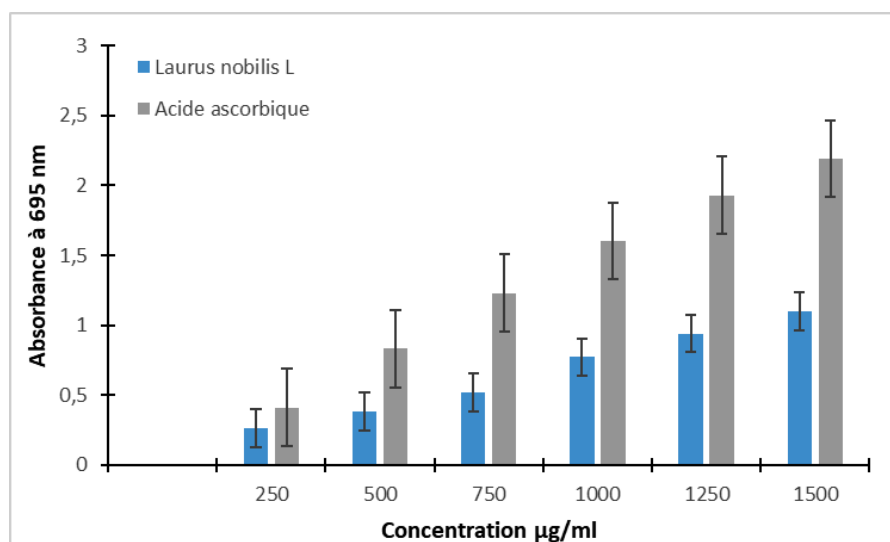
L'activité inhibitrice de la dénaturation de la BSA peut être due à la présence de différents composés bioactifs dans l'extrait, qui vont exercer leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité d'interagir avec deux sites de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine (WILLIAMS et al., 2002)

### V.3. Evaluation de l'activité antioxydante

#### V.3.1. La Capacité antioxydante totale (TAC)

Afin d'évaluer l'activité antioxydante, nous avons testé la capacité réductrice du molybdène de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L* et celle de l'acide ascorbique, molécule de référence.

La figure ci-dessous représente les différentes absorbances pour l'acide ascorbique et l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L*. Selon les résultats obtenus, l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L* présente un effet réducteur modéré avec un  $IC_{50}=674,6\pm 29,21$   $\mu\text{g/ml}$  comparativement à celui de l'acide ascorbique qui est relativement supérieur ( $IC_{50}=478\pm 18,53$   $\mu\text{g/ml}$ ).



**Figure 43 :** Capacité antioxydante totale de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L*.

Une étude menée par IRATNI (2015) sur l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* dont l' $IC_{50}=400\pm 22,3$   $\mu\text{g/ml}$  et celle faite par MOUALEK (2016) sur l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo* avec un  $IC_{50}$  de  $461.67 \pm 4.16$   $\mu\text{g/ml}$ , montrent que le pouvoir réducteur de notre extrait testé est nettement plus faible.

En parallèle, les travaux réalisés par LAHCENE (2019) sur l'extrait aqueux de l'olivier de Laperrine montrent que ce dernier a une activité antioxydante plus importante que celle de notre extrait ( $IC_{50} = 267,26 \pm 2,67 \mu\text{g/ml}$ ).

Nous constatons que les  $IC_{50}$  retrouvés dans les études précédentes sont plus importantes que celle présentée dans nos travaux.

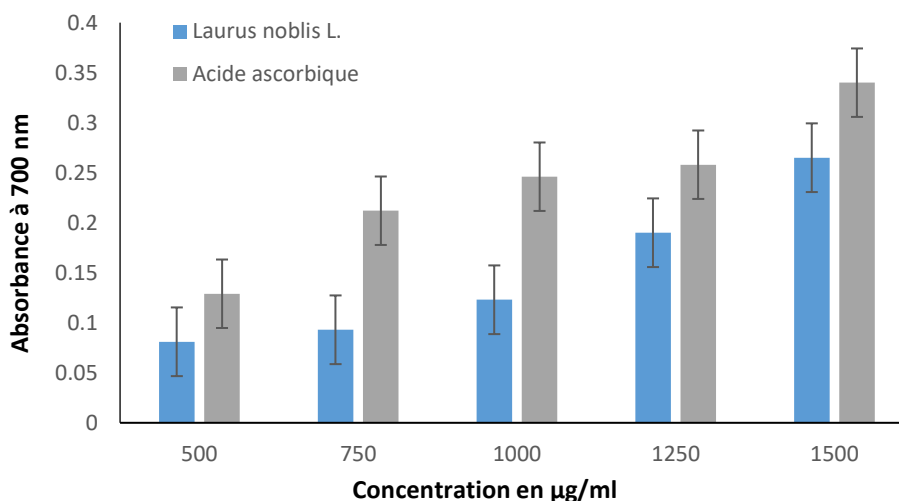
Les composés phénoliques contenus dans les extraits végétaux sont responsables de leur activité antioxydante. La diminution de la teneur de ces substances bioactives affecte négativement le pouvoir antioxydant. (JAYAPRAKASHA *et al.*, 2001)

Cependant, peu de travaux ont été réalisés sur l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* ce qui rend difficile la comparaison de nos résultats.

### V.3.2. Réduction du fer (FRAP)

La technique réalisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante de notre extrait végétal est la réduction des ions ferriques.

Le pouvoir réducteur de l'extrait de *Laurus nobilis* est déterminé en se référant de l'acide ascorbique à des concentrations allant de 500 à 1500  $\mu\text{g/ml}$ . Les valeurs des absorbances ont permis de tracer l'histogramme pour la plante étudiée ainsi que pour l'acide ascorbique. Elles sont représentées sur la figure ci-dessous.



**Figure 44:** Evaluation du pouvoir réducteur ferrique de l'extrait végétal et l'acide ascorbique.

Nous constatons à travers l'histogramme comparatif entre l'extrait aqueux et l'acide ascorbique que la capacité du pouvoir réducteur ferrique fait preuve d'une évolution dose dépendante, elle est proportionnelle à l'augmentation de concentrations utilisées. Plus l'absorbance est élevée plus le pouvoir réducteur est important. (OYAIZU, 1986)

Les concentrations inhibitrices à 50% ont été calculées. Elles ont montré des valeurs d'IC<sub>50</sub> de  $836.16 \pm 27.68$  µg/ml pour la plante et  $601 \pm 133.97$  µg/ml pour l'acide ascorbique.

Nous pouvons voir que l'acide ascorbique montre une valeur relativement inférieure à notre extrait. Ce qui témoigne du fort pouvoir réducteur ferrique de l'acide ascorbique comparativement à l'extrait aqueux feuilles de laurier. En effet plus cette valeur est faible plus le pouvoir réducteur est grand.

Des valeurs proches ont été retrouvées chez *Z. Jujuba* par l'emploi d'un test différent qui est le DPPH avec une valeur de IC<sub>50</sub> =  $845.6 \pm 6.1$  µg/ml (CHAOUICHE et al., 2020)

D'après la bibliographie nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par XIE et al (2015) dans leur étude des feuilles de *Olea europaea L.* qui a montré une IC<sub>50</sub> de 1550 µg/ml, ce qui veut dire que notre extrait aqueux de laurier présente une activité antioxydante très modérée mais qui reste supérieure à celle-ci. On retrouve également des plantes qui présentent un pouvoir réducteur nettement plus important avec des IC<sub>50</sub> de  $243.91 \pm 7.69$  µg/ml,  $115.25 \pm 6.51$  µg/ml et  $94 \pm 0.02$  µg/ml respectivement pour l'extrait aqueux d'*Olea laperrinei* (LAHCENE, 2020), *Erica arborea L.* (YAICI et al., 2021) et *Lawsonia inermis* (ZBADI et al., 2018)

Le pouvoir réducteur ferrique de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* pourrait s'expliquer par la présence de polyphénols, qui réagissent en réduisant le fer grâce à leur pouvoir donneur d'électrons, ils neutralisent donc les radicaux libres pour les transformer en composés plus stables. Les ions ferreux Fe<sup>3+</sup> sont ainsi réduits en leur forme ferrique Fe<sup>2+</sup> (GUENANE et al., 2016). Cette activité antioxydante peut être due également à la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques.

C'est ainsi que les antioxydants naturels sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (BEKARA et al., 2016)

### V.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### V.4.1. Test de diffusion sur gélose.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L* a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton vis-à-vis de quatre souches bactériennes de référence qui peuvent être divisées en deux groupes : les bactéries Gram négatif dont fait partie : *Escherichia coli* ATCC 25923 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7803 et les bactéries Gram positif dont fait partie : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 14575.

La sensibilité des souches est manifestée par l'apparition de zones d'inhibition. La lecture des résultats est faite par la mesure du diamètre des zones d'inhibition au tour de chaque disque imprégné de 20µl de l'échantillon.

Les résultats du test antibactérien de l'extrait aqueux sont la moyenne de 3 répétitions. Ils sont déterminés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XIII** : Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches mesurés au mm.

Souche microbiennes		Extrait aqueux (C=200mg/ml)	Antibiotiques	
<b>Bactéries Gram négatif</b>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	Colistine sulfate 10µg	14
	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 7803	0		12
<b>Bactéries Gram positif</b>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12±0	Gentamicine 10µg	30
	<i>B.cereus</i> ATCC 14575	14±0	Pipemidic acide 20µg	19

L'eau distillée stérile utilisé comme témoin négatif n'a montré aucune activité sur la croissance bactérienne des souches utilisées.

Nous avons observé que les quatre souches testées réagissent différemment aux antibiotiques utilisés. Les diamètres des zones d'inhibition sont les suivants : *Escherichia coli* 14mm, *Klebsiella pneumoniae* 12mm, *Staphylococcus aureus* 30mm, et *Bacillus cereus* 19mm.

L'activité de l'extrait aqueux est légèrement faible par rapport à celles des témoins (antibiotiques) pour les souches qui ont présenté une sensibilité vis-à-vis de l'extrait aqueux à savoir : *Staphylococcus aureus* 12±0 mm et *Bacillus cereus* 14±0 mm.

Suite à ces résultats, nous pouvons déduire que l'activité antibactérienne de l'antibiotique est supérieure à l'extrait aqueux.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L* à la concentration de 200mg/ml présente une activité antibactérienne uniquement vis-à-vis des souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* testées.

L'analyse de ces résultats montre clairement un effet plus important de cet extrait chez les bactéries à Gram positif. *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 12±0 mm et *Bacillus cereus* avec 14 ±0 mm, se révèlent les plus sensibles envers l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L*. L'absence de zone d'inhibition avec *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* indique leur résistance à notre extrait.

Nous remarquons que l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L* agit uniquement sur les bactéries à Gram (+). La raison de cette différence de sensibilité peut être liée soit à la température, au pH du milieu, mais aussi à une différence structurale ; l'absence de la membrane externe (**BALENTINE et al., 2006**). De nombreuses études montrent que les composés phénoliques exercent une activité plus importante sur les Gram (+) que Gram (-) (**TODA et al., 1989**)

Les Gram positifs sont constitués d'une seule couche de peptidoglycane qui est perméable aux molécules qui réussissent à atteindre leur cible. A l'inverse des Gram négatif qui possèdent une structure multicouche liée par une membrane externe qui fait office de barrière imperméable (**SCHERRER et GERHARDT, 1971**).

Comparativement à une étude réalisée par **REBZANI et HANNICHE (2014)** sur l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L*, les zones d'inhibition des germes ont donné des diamètres plus importants vis-à-vis des souches suivantes : *Escherichia coli* 33mm, *Staphylococcus aureus* 12mm, *Bacillus cereus* 19mm. Les travaux de **SHEILA et al (2014)** confirment ces résultats.

Cette différence des diamètres des zones d'inhibition est due d'une part à la capacité de diffusion de l'extrait dans le milieu gélosé ; elle dépend de multiples facteurs : concentration de la substance diffusante, sa solubilité, l'épaisseur de la gélose...etc. Mais aussi à la teneur en polyphénols essentiellement en flavonoïdes et en tanins (**FERREIRA et al., 2012**).

### V.4.2. Test de combinaison « extrait végétal- antibiotique »

L'usage des antibiotiques à de fortes concentrations est la principale cause de l'émergence de bactéries multi résistantes.

Afin de minimiser l'utilisation de ces derniers à des doses importantes et dans le but de réduire leurs effets secondaires, nous avons testé la combinaison entre antibiotique-extrait aqueux de *Laurus nobilis L*. Chaque disque d'antibiotique a été imprégné de 20µl de l'extrait de laurier. Les résultats obtenus sont la moyenne de 3 répétitions et sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau VX :** Résultats du test de combinaison de l'antibiotique avec l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.*

Souche bactériennes		ATB	ATB	EAQ	Différence	
				+EAQ		
<b>Bactéries Gram négatif</b>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Colistine sulfate 10µg	14mm	10mm	0mm	-4mm
	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 7803		12mm	14mm	0mm	+2mm
<b>Bactéries Gram positif</b>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Gentamicine 10µg	30mm	31mm	12mm	+1mm
	<i>B.cereus</i> ATCC 14575	Pipemidic acide 20µg	19mm	18mm	14mm	-1mm

D'après les résultats, nous constatons un élargissement de la zone d'inhibition chez les souches *K. pneumoniae* ATCC7803 et *S. aureus* ATCC 25923 respectivement de 2mm et 1mm. L'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.* a un effet synergique sur l'antibiotique ; il augmente son activité.

En parallèle, on remarque un rétrécissement de la zone d'inhibition chez *E. coli* ATCC 25922 et *B. cereus* ATCC 14575 respectivement de 4mm et 1mm. L'extrait testé exerce un effet antagoniste vis-à-vis de l'antibiotique ; il diminue l'effet de ce dernier.

L'interaction avec les antibiotiques survient lorsque les composés bioactifs des plantes partagent les mêmes mécanismes pharmacocinétiques d'absorption, de distribution ou d'excrétion que les ATB. La compétition entre ces différents composés peut causer une hausse ou une baisse de la concentration de l'antibiotique sur le site d'action. (ASHER *et al.*, 2017)

Cependant, peu de travaux ont été réalisés sur l'extrait aqueux des feuilles *Laurus nobilis L.* ce qui rend difficile la comparaison de nos résultats.

# ***Conclusion***

### Conclusion

De nos jours, la phytothérapie constitue un vrai patrimoine de l'humanité. Les plantes médicinales représentent un réservoir de substances bioactives naturelles alternatives des composés synthétiques très utilisés et connus pour leurs effets délétères sur la santé humaine.

L'objectif dans le présent travail est l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.*

Dans un premier lieu, l'évaluation quantitative des polyphénols par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que l'extrait de *Laurus nobilis L.* présente une quantité importante en polyphénols estimée à  $139,66 \pm 6,16$  mg EAG/g de matière sèche.

Dans un second lieu, nous avons testé la sensibilité des membranes érythrocytaires à différentes concentrations de l'extrait. Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.* ne provoque pas d'hémolyse comparativement à la saponine qui est un référent hémolytique.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par de nombreux tests. Premièrement, le test d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA, qui présente un taux de protection qui varie entre  $41,42 \pm 0,011$  % et  $72,430 \pm 0,010$  % pour des concentrations allant de  $250 \mu\text{g/ml}$  à  $1500 \mu\text{g/ml}$ . Deuxièmement, l'activité anti-hémolytique a été appréciée par le test de stabilisation des érythrocytes vis-à-vis d'un stress osmotique et thermique, où l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* présente un pouvoir protecteur qui est respectivement de  $96,5 \pm 0,007$  % et  $88,74 \pm 0,007$  à une concentration de  $1500 \mu\text{g/ml}$ . Ces résultats témoignent de l'excellente protection que présente l'extrait étudié.

Le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.* a été évalué *in vitro* en mettant en œuvre deux méthodes : le test de capacité antioxydante totale (TAC) au molybdate d'ammonium et le test de pouvoir réducteur ferrique (FRAP).

Les résultats de la présente étude ont révélé que l'extrait aqueux de cette plante exerce un pouvoir antioxydant modéré avec une  $IC_{50}$  de  $674,6 \pm 29,21$   $\mu\text{g/ml}$  pour le test de la TAC et de  $836,16 \pm 27,68$   $\mu\text{g/ml}$  pour le test de la FRAP.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.* a été testée sur quatre souches de références *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* par la méthode de diffusion sur gélose.

Les résultats indiquent que l'extrait présente une activité uniquement sur les souches à Gram (+), à savoir : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.

Les résultats obtenus dans cette étude sur l'effet anti-inflammatoire, antioxydant et antibactérien sur l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis L.* sont intéressants, mais des études complémentaires et approfondies sont nécessaires pour la caractérisation des principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques. Il serait aussi souhaitable de

## Conclusion

---

compléter avec une étude *in vivo* pour comprendre leurs mécanismes moléculaires et cellulaires et obtenir une vue globale sur ces activités testées.

***Références  
bibliographiques***

## Références bibliographiques

### A

- **Ait El Cadi, M., Makram, S., Ansar, M., Khabbal, Y., Alaoui, K., Faouzi, M.A., Cherrah, Y., Taoufik, J.**, (2012). Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Ann. Pharm. Fr.* 70, 113–116.
- **Akgül,A.; Kivanc,M.; Bayrak,A.** (1989). Composition chimique et effet antimicrobien de l'huile de feuille de laurier turc. *Journal of Essential Oil Research* , 1:277-280.
- **Alejo-Armijo, A., Altarejos, J. ; Salido, S.** (2017). Phytochemicals and Biological Activities of Laurel Tree ( *Laurus nobilis*). *Natural Product Communications* , 743-757.
- **Anton, R.** (2005). *Plantes aromatiques.Epices, aromates, conduites et huiles essentielles.* Paris: Tec & Doc .
- **Anzai, T., Yoshikawa, T., Kaneko, H., Maekawa, Y., Iwanaga, S., Asakura, Y., Ogawa, S.**, (2004). Association Between Serum C-Reactive Protein Elevation and Left Ventricular Thrombus Formation After First Anterior Myocardial Infarction. *Chest* 125, 384–389.
- **Asher, G., Corbett, A., Hawke, R.** (2017, Juillet 15). Common Herbal Dietary Supplement-Drug Interactions . *Am Fam Physician* , pp. 101-107.
- **Avissar, N., Whitin, J.C., Allen, P.Z., Wagner, D.D., Liegey, P., Cohen, H.J.**, (1989). Plasma Selenium-dependentGlutathionePeroxidase. *J. Biol. Chem.* 264, 15850–15855.

### B

- **Bakhouché, I., Aliat, T., Boubellouta, T., Gali, L., Şen, A., Bellik, Y.**, (2021). Phenolic contents and in vitro antioxidant, anti-tyrosinase, and anti-inflammatory effects of leaves and roots extracts of the halophyte *Limonium delicatulum*. *South Afr. J. Bot.* 139, 42–54
- **Balentine, C.W. ; Crandall , P.G. ; O'Bryan, C.A. ; Duong, D.Q. ; Pohlman , F.W.** (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science* , 413-421.
- **Balfour, J.** (2011). *Class Book of Botany.*Nabu Press.
- **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.* France.
- **Barla,A. ; Topçu,G. ; Oksuz,S. ; Tumen,G. ; Kingston D.G.I.** (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food Chemistry.*
- **Barnes, P.J.**, (1998). Anti-inflammatory Actions of Glucocorticoids: Molecular Mechanisms. *Clin. Sci.* 94, 557–572.
- **Baumann, E. ; Stoya, G. ; Volkner, A. ; Ritcher, W. ; Lemke, C. ; Linss, W.** (2000). Hemolysis of human erythrocytes with saponin affects the membrane structure. *Actahistochemica* , 21-35.

## Références bibliographiques

---

- **Beloud, A.** (2005). Plantes médicinales d'algerie. Alger: 5<sup>ème</sup> édition.
- **Beloued, A.** (2003). Plantes médicinales d'Algérie. Alger: Office des publications universitaires.
- **Bendif, H.**, (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae : *Ajugaiva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus sericeocalyx* Jord & Fourr.
- **Berger, M.**, (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally Clin. Nutr. 24, 172–183.
- **Bidie, A.P., N'Guessan, B.B., Yapo, A.F., N'Guessan, J.D., Djaman, A.J.**, (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sci. Nat. 8, 1–12.
- **Boizot, N., Charpentier J.P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fruitier . Dans Le cahier des techniques de l'INRA (pp. 79-82).
- **Boizot, N., Charpentier, J.-P.**, (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA 79-82 2006.
- **Bolou, G.E.K., Attioua, B., N'guessan, A.C., Coulibaly, A., N'guessan, J.D., Djaman, A.J.**, (2011). Bolou V80 2011 p772-790
- **t-Botineau, M., Pelt, J.** (2015). Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques . Paris: Tec & Doc.
- **Botineau.** (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris: Tec&Doc.
- **Bougandoura, N., Bendimerad, N.**, (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq. Rev. Nat. Technol. 5, 14–19.
- **Bourkhiss, M., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., Satrani, B.**, (2010). Propriétés antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles des différentes parties de *TETRACLINIS ARTICULATA* (VAHL) MASTERS DU MAROC. Bull. Société R. Sci. Liège. 141-154.
- **Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C.**, (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'*AUBEPINE MONOGYNE*. Leban. Sci. J. 12-11.
- **Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales, technique et documentation. Paris: Lavoisier 2<sup>ème</sup> édition.
- **Bruneton, J.** (1993). Phrmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris sud: 2<sup>ème</sup> Edition.

### C

- **Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Boudjemai, O., Ghellai, I.,** (2020). Antioxidant and hemolytic activity of *Ziziphus jujuba* Mill and *Rhamnus alaternus* L (Rhamnaceae) extracts from Algeria. : Activité antioxydante et hémolytique des extraits de *Ziziphus jujuba* Mill et *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae) d'Algérie. Bull. Société R. Sci. Liège 1–14.
- **Charles A. Dinarello,** (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. Cell 140, 935–950.
- **Chen, L., Yang, X., Jiao, H., Zhao, B.,** (2003). Tea Catechins Protect against Lead-Induced ROS Formation, Mitochondrial Dysfunction, and Calcium Dysregulation in PC12 Cells. Chem. Res. Toxicol. 16, 1155–1161.
- **Chippada, S.C., Volluri, S.S., Bammidi, S.R., Vangalapati, M.,** (2011). In vitro anti-inflammatory activity of methanolic extract of *CENTELLA ASIATICA* BY HRBC membrane stabilisation. Rasayan J. Chim. 4, 457–460.
- **Chopade, A., Somade, P., Sayyad, F.,** (2012). Membrane Stabilizing Activity and Protein Denaturation : A Possible Mechanism of Action for the Anti-Inflammatory Activity of *Phyllanthus amarus*. J. Krishna Inst. Med. Sci. Univ. 1, 67–72.
- **Cohen, Y., Jacquot, C.** (2001). Pharmacologie. Paris: Masson.

### D

- **Daayf, F., Lattanzid, V.** (2008). Recent advances in poly phenol research . wiley-blackwell.
- **Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Speroni, E., Costa, S., Guerra, M.C., Stella, L., Greco, E., Innocenti, G.,** (2009). Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of *Laurus nobilis* L. Leaf Infusion. J. Med. Food 12, 869–876.
- **Davies, A., Mazza, G.** (1993). Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds . Journal of agriculture and food chemistry , 716-720.
- **De Freitas, M.V., Netto, R. de C.M., da Costa Huss, J.C., de Souza, T.M.T., Costa, J.O., Firmino, C.B., Penha-Silva, N.,** (2008). Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA 22, 219–224.
- **Demir, V. ; Gunhan, T.; Yagcioglu, A.K; Degirmencioglu, A.** (2004). Mathematical Modelling and the Determination of Some Quality Parameters of Air-dried Bay Leaves.
- **DEMO, A. ; Petrakis , C. ; Kefalas, P ; Boskou, D.** (1998). Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. Dans Food Research International (pp. 351-354).

## Références bibliographiques

- **Denisov, E.T., Afanas'ev, I.B.,** (2005). Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology, 0 ed. CRC Press.242-251.
- **Desmier, T.,** (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications 88.
- **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Nasr, S., El Beyrouthy, M., Mnif, W.,** (2018). Phytochemical composition and antioxidant activity of Tunisian *Laurusnobilis*. Pak. J. Pharm. Sci. 31, 2397–2402.
- **Di Carlo,G ; Mascolo, N ; Izzo A.A ; Capasso,F.** (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life sciences (pp. 337-353).
- **Dias, M.I., Barros, L., Dueñas, M., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R.,** (2014). Nutritional and antioxidant contributions of *Laurusnobilis* L. leaves : Would be more suitable a wild or a cultivated sample Food Chem. 156, 339–346.
- **Diegelmann, R., F.,** (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front. Biosci. 9, 283p.
- **Djahra, A.B.,** (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne antioxydanteantihépatotoxique de Marrube blanc ou *Marrubiumvulg are* L (PhDThesis). Thèse de doctorat Unique. Université Badji Mokhtar–Annaba (Algérie) 114p.
- **Djeridan, A.** (2006). Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds. food chemistry , 654-660.
- **Dobroslavic, E. ; Repajic , M ; Dragovic-Uzelac, V ; Elez Garofulic, I.** (2022). Isolation of *Laurus nobilis* Leaf Polyphenols: A Review on Current Techniques and Future Perspectives. Foods , 2-3.
- **Dorward, D.A., Lucas, C.D., Rossi, A.G., Haslett, C., Dhaliwal, K.,** (2012). Imaging inflammation : Molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. Pharmacol. Ther. 135, 182–199.
- **Durazzo, A. ; Lucarini , M. ; Souto , E.B. ; Cicala,C. ; Caiazzo, E. ; Izzo A.A. ; Novellino, E. ; Santini,A.** (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence,and human health. WILEY , 3-4.

### E

- **Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., Yousefzadi, M.,** (2008). Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food Chem. 110, 927–931.
- **El kalamouni, C. ; Raynaud, C. ; Talou, T.** (2010). Design of an Artificial Crushing Finger Device for Rapid Evaluation of Essential Oils from Aromatic plants.
- **El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, A., Phillip, D.M., Truscott, T.G., Young, A.J.,** (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. Arch. Biochem. Biophys. 430, 37–48.

## Références bibliographiques

---

- **Elmastaş, M., Gülçin, İ. , Işildak, Ö., Küfrevioğlu, Ö.İ., İbaoglu, K., Aboul-Enein, H.Y.,** (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *J. Iran. Chem. Soc.* 3, 258–266.
- **Erturk, O.** (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extract from eleven spice plants. Dans *Biologia* (pp. 275-278). Turkey: Bratislava.

### F

- **Fadili, K., Amalich, S., N’dedianhoua, S., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., Hilali, F., Zair, T.,** (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l’activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* [Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*] 24–33.
- **Favier, A.,** (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d’un marqueur. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 55, 9–16.
- **Favier, A.,** (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique 8.
- **Favier, A.,** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Phram.* 64,390-396.
- **Ferreira, S. ; Santos, J. ; Duarte, A. ; Duarte, A.P.; Queiroz, J.A.; Domingues, F.C.**(2012). Screening of antimicrobial activity of *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo*. *Natural product research* , 1558-1560.
- **Fiorini, C. ; David, B. ; Fourasté, I.; Vercautern, J.** (1998). Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. Dans *Phytochemistry* (pp. 821-824).
- **Fleuriet, A. ; Jay-Allemand, C. ; Macheix, J.** (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses* , 121-216.
- **Franchomme, P. ; Jollois, R.; Penoel, D.** (2001). L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois.

### G

- **Gaudy, C. ; Buxeraud, P.** (2001). Antibiotiques: Pharmacologie et thérapeutique. Paris: Elsevier.
- **Geerts P. ; Rammeloo, J. ; Van Cauteren, G.** (2002). *Laurus nobilis*: le livre du laurier. Edition Ludion.

## Références bibliographiques

---

- **Goudable, J., Favier, A.,** (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr. Clin. Métabolisme* 11, 115–120.
- **Guenane, H., Gherib, A., Carbonell-Barrachina, A., Cano-Lamadrid, M., Krika, F., Berrabah, M., Maatallah, M., Bakchiche, B.,** (2016). Minerals analysis, antioxidant and chemical composition of extracts of *Laurusnobilis* from southern Algeria. *J. Mater. Environ. Sci.* 7, 4253–4261.
- **Guillot, J.** (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Elsevier.
- **Gülçin, İ., Topal, F., Sarıkaya, S., Bursal, E., Bilsel, G., & Gören, A. C.,** (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products*, 5(3): 158-175.
- **Guo, L., Xie, M.-Y., Yan, A.-P., Wan, Y.-Q., Wu, Y.-M.,** (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 1881–1887.

### H

- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., Chapelle, J.-P.,** (2007). Le stress oxydant. *Rev. Médicale Liège* 62.
- **Halliwell, B.,** (2009). Antioxidants and Human Disease: A General Introduction. *Nutr. Rev.* 55, S44–S49.
- **Hartmann, T.** (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 68, 2831-2846.
- **Hirasa, K., Takemasa, M.,** (1998). *Spice science and technology*. Marcel Dekker, New York

### I

- **Iratni, G.** (2015). Activités Biologiques, d'intérêts médical d'extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et d'*Origanum majorana*. 130
- **Iwalewa, E.O., McGaw, L.J., Naidoo, V., Eloff, J.N.,** (2007). Inflammation the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *Afr. J. Biotechnol.* 6, 2868–2885.

## Références bibliographiques

---

### J

- **Joly, B.** (1989). Données générales sur les antibiotiques . Dans Biotechnologie des antibiotiques . Paris: Masson.
- **Jayaprakasha, G.H. ; Singh R.P. ; Sakariah, K.K.** (2001). Antioxydant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts pn peroxidation models in vitro. Food chemistry , 285-290.

### K

- **Karthik, K., Rathna, B., Kumar, P., Venupriya, R., Kumar, S. K., Singh, R.,** (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *CANTHIUM PARVIFLORUM* by in-vitro method. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology, 1, 2320–3471.
- **Kessel, L., Tendal, B., Jørgensen, K.J., Erngaard, D., Flesner, P., Andresen, J.L., Hjortdal, J.,** (2014). Post-cataract Prevention of Inflammation and Macular Edema by Steroid and Nonsteroidal Anti-inflammatory Eye Drops. Ophthalmology 121, 1915–1924.
- **Kezzal, K.** (1993). Les antibiotiques, classification, mode d'action, résistance, action in vitro. Alger: Office des publications universitaires.
- **Khalili, A.** (2005). Extraction et effet antibactérien d'extraits polyphénoliques bruts de *Limonium pruinosum*. Doctoral dissertation . Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, Algérie.
- **Kohen, R., Nyska, A.,** (2002). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. Toxicol. Pathol. 30, 620–650.
- **Kumari, A., Kakkar, P.,** (2008). Screening of Antioxidant Potential of Selected Barks of Indian Medicinal Plants by Multiple in vitro Assays. Biomed. Environ. Sci. 21, 24–29.

### L

- **Lahcene, S.,** (2020). Caractérisation biochimique et activités biologiques des extraits de l'olivier de Laperrine *Olea europaea subsp. laperrinei* (Batt. et Trab.) (Thesis). Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou.
- **Lelong, H., Ly, C., Blacher, J.,** (2013). Risque cardiovasculaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens. J. Eur. Urgences Réanimation 25, 191–196.
- **Lepock, J. ; Frey, H. ; Bayne, H. ; Markus, J.** (1989). Relationship of hyperthermia-induced hemolysis of human erythrocytes to the thermal denaturation of membrane proteins. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) , 191-201.

## Références bibliographiques

---

- **Lesueur, P.** (2014, avril 7). Antibiotiques: modes d'action, mécanismes de la résistance . Paris.
- **Leverve, X.,** (2009). Stress oxydant et antioxydants Cah. Nutr. Diététique 44, 219–224.
- **Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W., Chen, F.,** (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. LWT - Food Sci. Technol. 41, 385–390.
- **Lira, P. ; Retta , D. ; Tkacik, E. ; Ringuet, J. ; Coussio, J.D. ; Baren, C.V. ; Bandoni, A.L.** (2009). Essential oil and products of bay leaves ( *laurus nobilis*). Argentina-industrial corps and products , 259-264.
- **Louerred, Y. ; Haddi, R. ; Kaid Harche, M.** (2016). Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale *Haloxylon scparium*. Journal of bioresources valorisation , 28-33.
- **Lugasi, A. ; Hovari, J. ; Sagi, K. ; Biro , L.** (2003). role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta biologica , 119-125.
- **Lutge, U ; Kluge, M. ; Bauer, G.** (2002). Technique de documentation. Botanique 3éme édition. Lavoisier. Paris.211p

### M

- **Madigan, M. ; Matinko, J.** (2007). Biologie des microorganismes. Paris: Boeck.
- **Martínez-Cayuella, M.,** (1995). Oxygen free radicals and human disease. Biochimie 77, 147–161.
- **Mayouf, N.,** (2019). Propriétés antioxydante anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d' *Asphodelusmicrocarpus* (Thesis).151.
- **McCord, J.M., Fridovich, I.,** 1988. Superoxide dismutase : The first twenty years (1968–1988). Free Radic. Biol. Med. 5, 363–369.
- **McGettigan, P., Henry, D.,** (2013). Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs That Elevate Cardiovascular Risk: An Examination of Sales and Essential Medicines Lists in Low-, Middle-, and High-Income Countries. PLOS Med. 10, e1001388. 3-5.
- **Mohsen, S. ; Ammar, A.** (2009). Contenu phénolique total et activité antioxydante des extraits de glands de maïs. ELSEVIER , 595-596.
- **Mohsen, S.M., Ammar, A.S.M.,** (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. Food Chem. 112, 595–598.

## Références bibliographiques

---

- **Moualek, I.**, (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. 176.
- **Moualek, I., Aiche, G., Guechaoui, N., Lahcene, S., Houali, K.**, (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. AsianPac. J. Trop. Biomed. 6.937-944.

### O

- **Orliaguet, G., Gall, O., Benabess-Lambert, F.**, (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Prat. En Anesth. Réanimation 17, 228–237.
- **Oyaizu, M.**, (1986b). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr. Diet. 44, 307–315.

### P

- **Pastre, J.**, (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (other).120.
- **Pillon, F.**, (2014). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Actual. Pharm. 53, 43–46.
- **Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M.**, (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal. Biochem. 269, 337–341.

### R

- **Rahman, H., Eswaraiah, H.M.C., Dutta, A.M.**, (2015). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). Am.-Eurasian J AgricEnv. Sci 15, 115–121.
- **Ramani, R., Madhavi, B., Anisetti, R.N., Duganath, N., Sri, E., Banji, D.**, (2010). In-vitro anti-denaturation and antibacterial activities of *Zizyphusoenoplia*. Pharm. Lett. 2, 87–93.
- **Ramawat, K.G. ; Mérillon, J.** (2013). Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Natural products (pp. pp 1821-1847). Reference work entry.
- **Rankin, J.A.**, (2004). Biological Mediators of Acute Inflammation. AACN Adv. Crit. Care 15, 3–17.

## Références bibliographiques

- **Ravi, K., Ramachandran, B., Subramanian, S.,** (2004). Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sci.* 75, 2717–2731.
- **Rozman, V. ; Kalinovic, I. ; Korunic, Z.**(2007). Toxicity on naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of stored products research* , 349-355.

### S

- **Sakat, S., Juvekar, A., Gambhire, M.,** (2010). In-vitro antioxidant and anti-inflammatory of methanol extract of *OXALIS CORNICULATA LINN.*
- **Saleem, T.M., Azeem, A., Dilip, C., Sankar, C., Prasanth, N., Duraisami, R.,** (2011). Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Gendarussa vulgaris* Nees. *AsianPac. J. Trop. Biomed.* 1, 147–149.
- **Sangun, M.K. ; Aydin, E. ; Timur, M. ; Karadeniz, H. ; Caliskan, M. ; Ozkan, A.** (2007). Comparaison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis L* leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. *Journal of Environmental Biology* , 731-733.
- **Sayyah, M., Saroukhani, G., Peirovi, A., Kamalinejad, M.,** (2003). Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis Linn.* *Phytother. Res.* 17, 733–736.
- **Scherrer, R.; Gerhardt, P.** (1971). Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall and protoplast. *Journal of Bacteriology* , 718-735.
- **Seyoum, A. ; Asres, K. ; El-Fiky, F.K.** (2006). structure- radial scavenging activity relationships of flavonoids . *Phytochemistry* (pp. 2058-2070).
- **Sharma, V., & Manu, S.** (2013). In vitro anti-arthritis and hemolysis preventing membrane stabilising efficacy of ethanolic extract of *Operculina Turpethum*. *World Journal of pharmacy & Pharmaceutical Sciences* , 102-112.
- **Shobana, S., Vidhya, R.,** (2016). Evaluation of in-vitro hemolytic activity of different parts of *ABUTILON INDICUM* (LINN.). *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 5-15.
- **Sigla, R.K. ; Dubey, A.K. ; Garg, A. ; Sharma, R.K. ; Fiorini, M. ; Ameen, S.M. ; Haddad, M.A. ; Al-Hiary, M.** (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of. *Journal of AOAC International* , 1397-1400.
- **Soilleux, M.** (2007). Antibiotiques . Dans *DCEM antibioty poly réel* (pp. 1-12).

## Références bibliographiques

---

- **Sparg, S. G ; Light, M.E. ; Staden , J.V.** (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of ethnopharmacology* , 219-243.
- **Stamler, J.S., Slivka, A.,** (2009). Biological Chemistry of Thiols in the Vasculature and in Vascular-related Disease. *Nutr. Rev.* 54, 1–30.

### T

- **Tekale,S ; Mashele, S. ; Pooe, O. ; Thore, S. ; Kendrekar, P. ; Paxar, R.** (2020). Rôle biologique des chalcones en chimie médicinale. Dans D. claborn, *Maladies à transmission vectorielle - Developpements récents en épidémiologie et en lutte*. IntechOpen.
- **Tenover, F.** (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medecine* , 3-10.
- **Tessier, F., Marconnet, P.,** (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Sci. Sports* 10, 1–13.
- **Teuscher, E. ; Anton, R. ; Lobstein, A.** (2005). *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles*. Paris: Tec & Doc.
- **Therond, P.,** (2006). Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant. *Ann. Pharm. Fr.* 64, 383–389.
- **Toda, M. ; Okubo, S. ; Hiyoshi,R. ; Shimamura, T.** (1989). The bactericidal activity of tea and coffee. *Letters on applied microbiology* , 123-125.

### V

- **Valko, M., Jomova, K., Rhodes, C.J., Kuča, K., Musílek, K.,** (2016). Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch. Toxicol.* 90, 1–37.
- **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M.,** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1–40.
- **Vasey, C.** (2013). *Les anti-inflammatoires naturels*. France: Jouvence.

### W

## Références bibliographiques

---

- **Wettasinghe, M., Shahidi, F.,** (2000). Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chem.* 70, 17–26.
- **Williams, G.M.,** (1994). Interventive prophylaxis of liver cancer : *Eur. J. Cancer Prev.* 3, 89–100.
- **Williams, L. a. D., O’Connor, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H., Kraus, W.,** (2008). The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med. J.* 57, 327–331.
- **Wong, S.P., Leong, L.P., William Koh, J.H.,** (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem.* 99, 775–783.

### Y

- **Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., Houali, K.,** (2021). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l’espèce *Erica arborea L.* (Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l’Est Algérien. *Phytothérapie* 19, 226–234.
- **Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M.-C., Ayachi, A.,** (2011). Évaluation de l’activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie* 9, 209–218.

### Z

- **Zbadi, R., Mohti, H., Moussaoui, F.,** (2018). Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Med. Ther.* 24, 134–141.
- **Zhu, F., Du, B., Xu, B.,** (2018). Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 58, 1260–1270.

# *Annexes*

### I. Matériels utilisés

Appareillage	Verrerie et outillage	Produits et réactifs chimique
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Lyophilisateur.</b></li> <li>• <b>Spectrophotomètre.</b></li> <li>• <b>Balance de précision.</b></li> <li>• <b>Broyeur électrique.</b></li> <li>• <b>Bain-marie.</b></li> <li>• <b>Etuve à 37°C.</b></li> <li>• <b>Autoclave.</b></li> <li>• <b>Réfrigérateur.</b></li> <li>• <b>Congélateur.</b></li> <li>• <b>Agitateur magnétique.</b></li> <li>• <b>Bec-bunsen.</b></li> <li>• <b>Vortex.</b></li> <li>• <b>Centrifugeuse.</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cristallisoirs.</li> <li>• Tubes à essai en plastique et en verre.</li> <li>• Tubes à vis stériles.</li> <li>• Bêchers.</li> <li>• Erlenmeyers.</li> <li>• Eprouvettes.</li> <li>• Micropipettes de 1000 µl, 200 µl et 10 µl.</li> <li>• Barreau magnétique.</li> <li>• Pipettes pasteur.</li> <li>• Anse à boucle.</li> <li>• Ecouvillons.</li> <li>• Boîtes de Pétri.</li> <li>• Disques de papier wattman N°1.</li> <li>• Disques d'antibiotiques.</li> <li>• Papier film alimentaire.</li> <li>• Papier aluminium.</li> <li>• Pince stérile.</li> <li>• Flacons.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau distillée</li> <li>• Acide ascorbique C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> (vitamine C)</li> <li>• Ammonium molybdate</li> <li>• Phosphate dibasique de sodium N<sub>a2</sub>HPO<sub>4</sub></li> <li>• Acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></li> <li>• Tampon phosphate (N<sub>a</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+N<sub>a2</sub>HPO<sub>4</sub>)</li> <li>• Chlorure ferrique F<sub>e</sub>Cl<sub>3</sub></li> <li>• Ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></li> <li>• Réactif Folin-Ciocalteu</li> </ul>

## II. Composition des solutions et milieux de culture

- ✚ Eau physiologique stérile (composition en g/l)
  - Chlorure de sodium (NaCl).....9g.
  - Eau distillée.....1000ml.
  - PH=7
  - Stérilisation à 120°C/15mn
- ✚ Tampon phosphate (composition en g/l)
  - NaCl.....8g.
  - KCL.....0.2g
  - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....1.44g.
  - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....0.24g.

✚ Milieu MH

<b>Gélose Mueller Hinton</b>	
Infusion de viande bovine	3g
Hydrolyat acide de caséine	17.5g
Amidon soluble	1.5g
Agar	15.0g
Eau distillée	QST

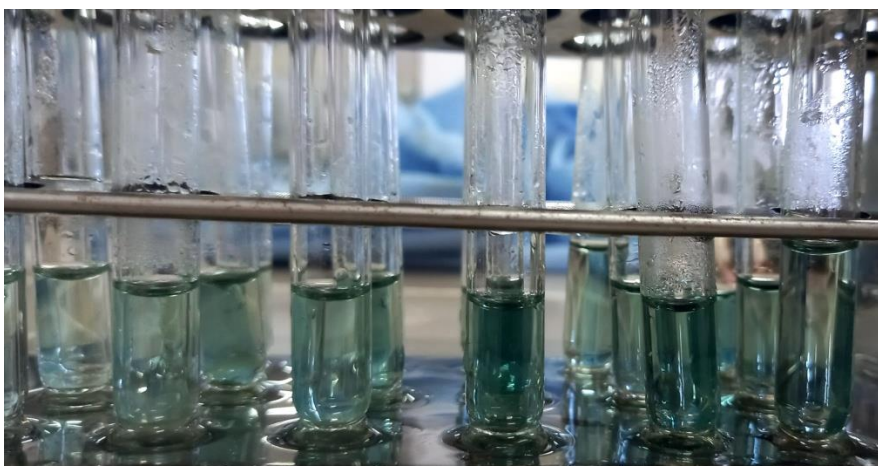
✚ Milieu BHIB

<b>Brain Heart Infusion Broth</b>	
Extrait cœur-cervele	17.5g
Peptone pancréatique de gélatine	10.0g
Chlorure de sodium	05.0g
Phosphate di sodique	02.5g
Glucose	02.0g
Eau distillée	QST

## III. Caractéristiques des souches

<b>Gram négatif</b>	
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25923</b>	Bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet de 2 à 6 µm de long et 1,1 à 1,5 µm, asporulé, qui peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches ou être non mobile, aérobic facultative, constitue la majeure partie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.
<b><i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 7803</b>	Bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet non mobiles de 0,6 à 6 µm de long et 0,3 à 1 µm de largeur, fermentant le lactose, encapsulés, aérobic-anaérobic facultatif, peuvent être mobiles ou immobiles, présente dans la flore normale des intestins.
<b>Gram positif</b>	
<b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</b>	Cocci à Gram positif de 0,1 à 1 µm de diamètre, isolés en diplocoques ou en amas en forme de grappe de raisin, asporulés, aéro-anaérobic facultatif, les colonies apparaissent en 18H, à 37°, constitue la flore de la peau de l'homme et des animaux.
<b><i>Bacillus cereus</i> ATCC 14575</b>	Bacilles longs à Gram négatif, de formes régulières, aéro-anaérobic facultatif, peuvent être sporulés, pousse sur gélose ordinaire à 37°, responsables des TIA.

**IV. Résultats du test de l'activité antioxydante (TAC)**

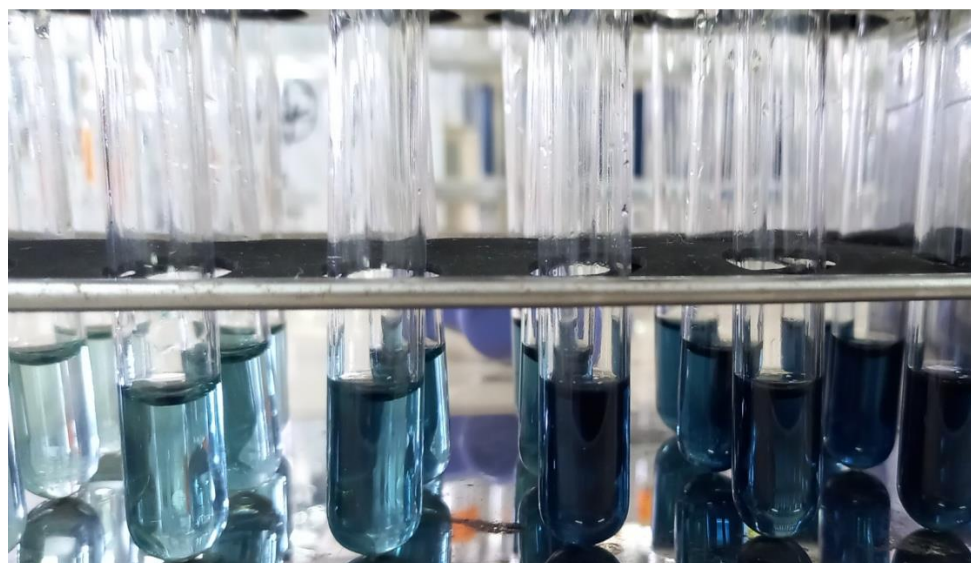


**Figure1** : Activité antioxydante de l'acide ascorbique



**Figure2** : Activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.*

**V. Résultats du test de réduction du fer (FRAP)**

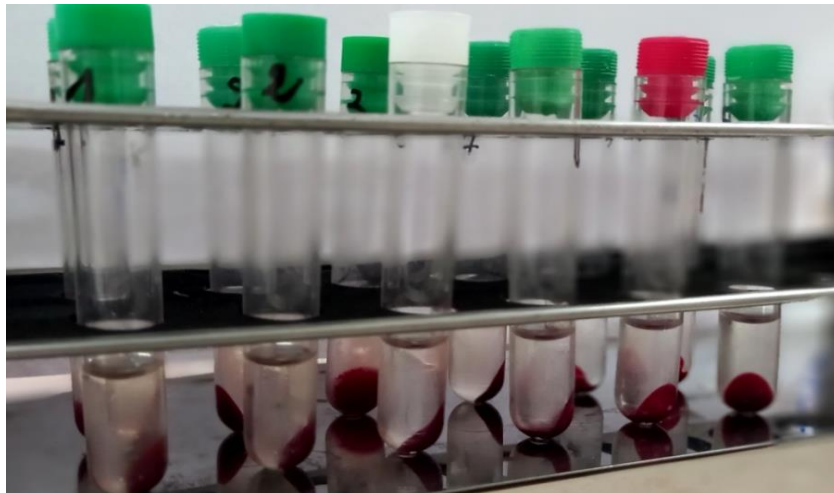


**Figure3** : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique



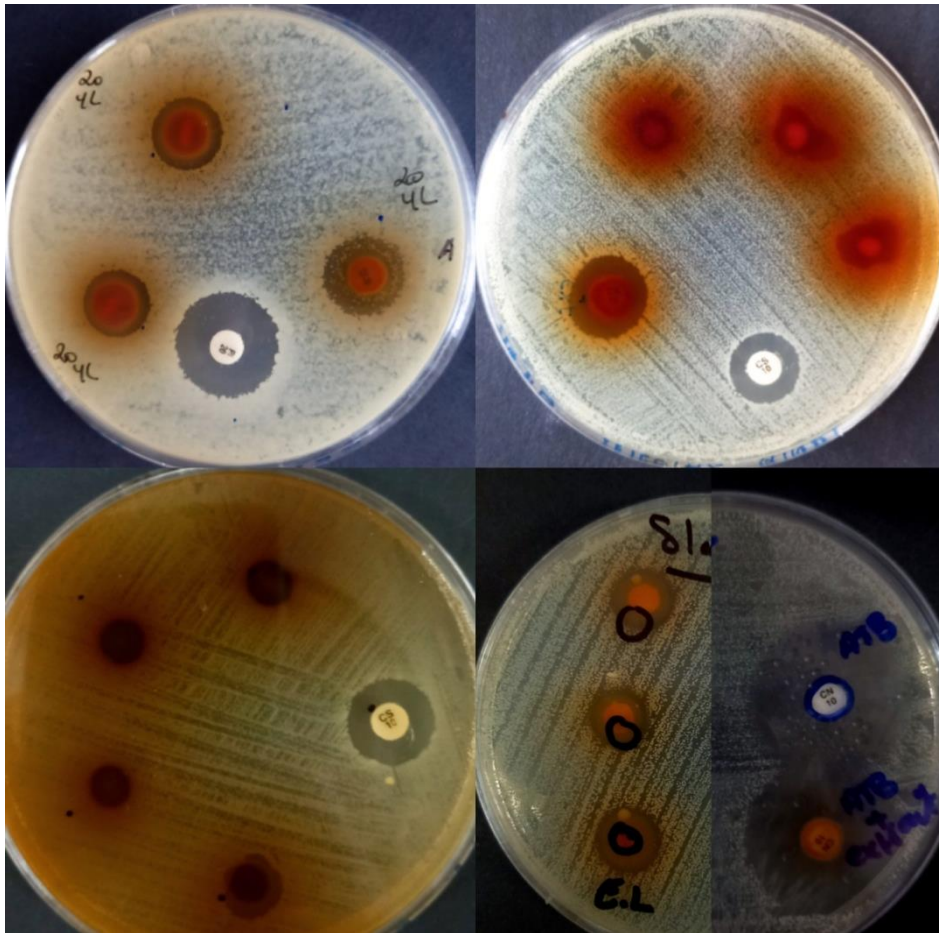
**Figure4** : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.*

#### VI. Résultats du test d'hémolyse



**Figure5** : Erythrocytes non-hémolysé en présence de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.*

VII. Résultats du test antibactérien



**Figure6** : Action de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis L.* sur le développement des souches testées.