



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية
والجزئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de quelques activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne *Laurus nobilis L*

Présenté et soutenu par :

Le : 28/09/2020

BOUTOUMOU Bouchra

ZIAT Sabrina

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr BOULAHROUF. K.

(MCB - UFM Constantine1).

Rapporteur : Mme KLIBET.F.

(MCB - UFM Constantine1).

Examinatrice : Mme TENIOUS.S.

(MAA - UFM Constantine1).

Année universitaire
2019 – 2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais ALLAH dispose.
Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas.

Très chanceuses d'avoir eu comme encadreur l'honorable Mme **KLIBET.F** Maître de conférences « B » à l'université des Frères Mentouri Constantine-1. On la remercie tout particulièrement pour son acceptation de nous encadrer, pour le temps qu'elle nous a consacré, pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour sa compréhension, sa patience, ses relectures et ses conseils précieux, pour sa disponibilité à tout instant et pour ses orientations judicieuses, le chemin aurait été beaucoup plus ardu sans sa présence. Merci chère madame, puissiez-vous trouver notre profonde reconnaissance.

Notre profonde gratitude va également à Mr **BOULAHROUF. K** Maître de conférences « B » à l'université frères Mentouri Constantine1, pour le remercier de l'honneur qu'il nous a accordée en acceptant de présider le jury de ce mémoire, et d'apporter ses regards d'expert sur ce travail.

C'est avec un grand plaisir que nous remercions. Mme. **TENIOU.S** Maitre-assistante « A » à l'université Frères Mentouri Constantine 1. Pour avoir accepté de participer au jugement de ce travail.

Un énorme merci à Mr **BOUDERSSA. N** Chef de laboratoire biochimie à l'université Frères Mentouri Constantine-1, pour son aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nous remercions toute l'équipe de Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT), et spécialement le chef de laboratoire biochimie Dr. **BENSOUICI. CH** Pour son grand aide de l'acceptation et l'opportunité d'effectuer un stage dans les meilleures conditions.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à Mr **BOUTOUMOU.S** Chef service des anciennements à l'université Frères Mentouri Constantine-1, pour son énorme soutien et sa bonne humeur. Il a été toujours disponible pour nos innombrables besoins.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes et nos amies qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et espérons que ce travail donnera satisfaction au jury et fera honneur à notre département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.

Bouchra et Sabrina

Dédicace

Je commence ma dédicace au nom de **Dieu** et le salut sur **Mohamed** le messager de Dieu
Je voudrais dédier ce modeste travail :

A la mémoire de mon Père que j'aurais aimé que tu sois à mes côtés, et d'être fier de mon. Que Dieu tout-puissant ait pitié de vous

A la mémoire de ma Grand-mère, la plus chère dans ma vie. Ma j'aurais tellement aimé que tu sois auprès de moi aujourd'hui. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A celle qui est sacrifiée pour mon éducation, qui est ma source de tendresse de don et de confiance et qui fait tout pour ma réussite ma chère mère : Ilhem lahbiba que j'adore.
Que dieu la garde pour moi.

A mon adorable Grand-père, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir. Que Dieu vous garde et vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A mes très chères tantes : Sabrina, Soumia, Hanen, et Amina merci d'être toujours à mes côtés.

A mes c cousines adorables : Roukia, Kami, et Amira, que. Je vous souhaite un avenir radieux.

A mes petite cousines Miral, Mellissa, Layane, et Meriem que je l'aime beaucoup.

A ma cher encadreur Madame. KLIBET pour son soutien, encouragement, et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout le long de ce parcours en vue de la concrétisation de ce mémoire

A mon binôme Sabrina et sa famille celle qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments : les rires et les pleurs, la joie et la tristesse, les différentes pressions, la faim ainsi que le fast Food. Que dieux nous garde si tendre si aimante l'une envers l'autre

A toute Mes amies, et toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un Encouragement. Je dis
« Merci ».

Bouchra

Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé
Le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :
A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la
Flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur : **Maman**
Lahbibba que j'adore.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien
Moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours Sacrifié pour me voir réussir,
à toi **mon père**
Le3zize.*

*A mes belles sœurs **Meriem** et **Roukia** et A mes chers frères **Ali** et **Boubaker** pour leurs
encouragements permanents.*

*A toute la famille **ZIAT***

*A ma cher encadreur Madame. **KLIBET** pour son soutien, encouragement, et l'aide
précieuse qu'elle m'a apportée tout le long de ce parcours en vue de la concrétisation de ce
mémoire*

*Je ne peux clôturer cette dédicace sans adresser à ma chère amie et ma binôme **bouchra**
et sa famille un grand remerciement pour sa patience et sa tenacité durant les bons et
parfois durs Moments qu'on a passés ensemble*

*A mes chères amies proches : **Kaouther, Wahiba, Nour Elhouda***

*A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir
dans les moments difficiles.*

Merci d'être toujours là pour moi.

Sabrina

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENT

DÉDICACE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GÉNÉRALE 01

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : *LAURUS NOBILIS L*

I. Les plantes médicinales 03

I.1. *Laurus nobilis L* 03

I.1.1. Etymologie du nom *laurus nobilis L* 03

I.1.2. Le nom vernaculaire 04

I.1.3. Famille des lauracées 04

I.1.4. Caractérisation botanique et morphologique 04

I.1.5. Position systématique 07

I.1.6. Répartition géographique 08

I.1.7. Composition chimique de *laurus nobilis L* 08

 a. Composition chimique des feuilles 09

 b. Composition chimique des huiles essentielles 09

I.1.8. Utilisations traditionnelles de *Laurus nobilis L* 10

I.1.9. Activités biologiques de *Laurus nobilis L* 11

CHAPITRE II : LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

II. Les activités biologiques 16

II.1. Généralités 16

II.2. L'activité antioxydante 17

II. 3. Les activités enzymatiques 19

II. 3.1. L'activité anti-Alzheimer 19

II. 3.2. Activité anti- diabétique 20

II.4. L'activité anti-inflammatoire *in vivo* 21

PARTIE II : PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Matériels et Méthodes	23
I.1. Matériel végétal	23
II. Etude phytochimique de la plante	23
II. Méthodes.....	25
II.1. Extraction	25
II.1.1. Extraction solide-liquide.....	25
II.1.2. Extraction en phase liquide- liquide	26
II.1.3. Rendement d'extraction	28
II.2. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	30
II.2.1. Quantification des polyphénols totaux (TPC).....	30
II.2.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)	31
II.3. Les activités anti-oxydants <i>in vitro</i>	32
II.3.1. Activité antiradicalaire au DPPH.....	33
II.3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS.....	34
II.3.3. Activité de piégeage du radical Galvinoxyl (GOR).....	36
II.3.4. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC).....	37
II.3.5. Activité de phenanthroline	38
II.3.6. Activité pouvoir réducteur (FRAP)	39
II.3.7. Activité Silver nanoparticle (SNP) assay	40
II.4. Activités enzymatiques	41
II.4.1. Evaluation de l'activité anti cholinestérase (anti Alzheimer <i>in-vitro</i>).....	41
II.4.2. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase.....	42
II.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in-vitro</i>	44
III. Traitement statistique des résultats	45

CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

II. Résultats et discussions.....	46
II.1. Rendement d'extraction.....	46
II.2. L'analyse quantitative des composés phénoliques	48
II.2.1. Quantification des Polyphénols totaux	48
II.2.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC).....	50
II.3. Les activités antioxydants <i>in vitro</i>	53

II.3.1. Activité antiradicalaire du DPPH	54
II.3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS	57
II.3.3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)	59
II.3.4. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) ...	62
II.3.5. Activité de phenanthroline	64
II.3.6. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	67
II.3.7. Activité Silver nanoparticle (SNP) assay	70
II.3.8. La Comparaison entre les différents tests antioxydants	72
II.4. Activité enzymatique.....	74
II.4.1. Evaluation de l'activité anticholinestérase.....	74
II.4.2. Evaluation de l'activité alpha amylase.....	76
II .5. Activité Anti – inflammatoire.....	78
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	83
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXE	
RÉSUMÉ	

LISTE DES ABREVIATIONS

%INH	: pourcentage d'inhibition
(K₃Fe(CN) 6)	: ferrocyanure de potassium
ABTS	: sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis-(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonique
AcEt	: acétate d'éthyle
AChE	: acétylcholinestérase
ACI	: acétylthiocholine iodide
ACTI	: acétylthiocholine
ADN	: Acide désoxyribonucléique
Ag⁺	: ion d'argent
AINS	: Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AlCl₃	: trichlorure d'aluminium
AQ	Aqueuse.
BChE	: butyrylcholinestérase
BHA	:Butylhydroxyanisole
BHT	:Butylhydroxytoluène
BSA	: bovine sérum albumine
BuOH	: Butanol
CUPRAC	: <i>Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
DPPH	: diphenyl-picrylhydrazyle.
DTNB	:Acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)
EtDi	: éther diéthylique
EtPe	: Ether de pétrole
FCR	: Folin-Ciocalteu
Fe⁺²	: Fer ferreux
Fe⁺³	: Fer ferrique
FeCl₃	: chlorure ferrique
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>

GOR	: Radical Galvinoxyl
GP	: Gallate de propyle
HCl	:chlorure hydrogène
IKI	:Potassuim iodide.
MeOH	: Methanol
mg EQ/g	: Milligrammes équivalents de quercétine par gramme
mg GAE/g	: Milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme
O₂•	: radical superoxydes
OH•	: radical hydroxyles
ppm	: Partie par million
ROS	: espèces réactives oxygénées
SNP	:Silver nanoparticle
THBQ	: tert-butyhydroquinone
TNB	: acide -5- thio 2-nitrobenzoïque
UV	:Ultra-Violet
A_{0.5}	: Concentration indiquant 0,50 d'absorbance

LISTE DES FIGURES

Figure1. Arbuste de <i>Laurus nobilis</i> L.....	05
Figure2. (A) Feuilles et branches (B) Fleurs (C) Fruits	07
Figure3. Repartitions géographique de <i>Laurus nobilis</i> L	08
Figure 4. Structure des antioxydants synthétiques	18
Figure 5. Les étapes de la préparation de la plante.....	24
Figure6. Schéma illustrant le Protocol des activités biologiques sur <i>laurus nobilis</i> l ...	24
Figure7. Les étapes de l'extraction solide -liquide.....	25
Figure 8. Schéma illustrant les différentes étapes d'extraction	29
Figure 9. Mécanisme réactionnel du teste polyphénols totaux	30
Figure10. Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	31
Figure 11. Transformation du radical DPPH• en DPPH, H.....	33
Figure 12. Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H.....	35
Figure 13. Réduction du radical libre Gox• en GoxH	36
Figure 14. Réduction du complexe chromogène de (Cu ⁺² -Nc).....	37
Figure 15. Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline	38
Figure 16. Mécanisme réactionnel du test Pouvoir réducteur.....	39
Figure 17. Réduction de l'Ag ⁺ en nanoparticules d'argent sphériques Ag.....	40
Figure 18. Principe de la réaction.....	41
Figure 19. Formation du complexe amylose-iode en absence d'a-amylose.....	43
Figure 20. Les Rendements d'extraction des différents extraits.....	46

Figure 21. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	48
Figure 22. Courbe d'étalonnage de la quercétine	51
Figure 23. Comparaison entre la teneur en polyphénols et flavonoïdes	53
Figure 24. Courbes des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits.....	55
Figure 25. Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test DPPH.....	56
Figure 26. Courbe des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration des six extraits.....	58
Figure 27. Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test ABTS.....	59
Figure 28. Courbes des pourcentages d'inhibition du radical GOR en fonction de la concentration des extraits.....	61
Figure 29. Histogramme représentant les valeurs des IC_{50} des extraits et standards obtenus par le test GOR	62
Figure 30. Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des extraits (CUPRAC).....	63
Figure 31. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0,5}$ des extraits et standards obtenus par le test CUPRAC	64
Figure 32. Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des extraits (phenanthroline).....	66
Figure 33. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0,5}$ des extraits et standards obtenus par le test phenanthroline	67
Figure 34. Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des extraits (FRAP)	68
Figure 35. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0,5}$ des extraits et standards obtenus par le test (FRAP).....	69
Figure 36. Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des extraits (SNP)	71
Figure 37. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0,5}$ des extraits et standards obtenus par le test SNP	72

Figure 38. Comparaison entre les différents tests antioxydants des extraits	73
Figure 39. Courbes des pourcentages d'inhibition du test anti- AChE par différents extraits.....	75
Figure 40. Histogramme représentant les valeurs des IC50 des extraits et obtenus par le test anti- AChE	76
Figure 41. Courbes des pourcentages d'inhibition du test alpha amylase par différents extraits.....	77
Figure 42. Histogramme représentant les valeurs des IC50 des extraits et standards obtenus par le test alpha amylase.....	78
Figure 43. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par différents extraits	80
Figure 44. Histogramme représentant les valeurs des IC50 des extraits et standard obtenus par activité anti-inflammatoire	81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Dénomination internationale de <i>Laurus nobilis</i> L.....	04
Tableau 2. Classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	07
Tableau 3. les principaux composants des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L	09
Tableau 4. Composition phytochimique de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L	10
Tableau 5. Fractionnement de l'extrait brut en phase liquide- liquide.....	27
Tableau 6. Couleur, aspect et masse de chaque extrait de <i>laurus nobilis</i> L	46
Tableau 7. Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits de laurus...	49
Tableau 8. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux des extraits.....	51



*INTRODUCTION
GÉNÉRALE*

Introduction

L'utilisation des plantes médicinales remonte à un passé lointain, à plusieurs siècles et à plusieurs civilisations. Les plantes médicinales sont utilisées comme remèdes pour les maladies humaines car elles contiennent des composants naturels ayant un intérêt thérapeutique. Selon des études pharmacologiques plus de 1200 plantes utilisées à travers le monde en médecine traditionnelle, pour leurs activités biologiques contre divers maladies (Ould et al., 2016 ; Kaurinovic et djendii ,2019).

Ces maladies sont à l'origine du stress oxydatif et sont dues généralement à la production excessive des espèces d'oxygène (ERO) et qui pourraient devenir toxiques pour les composants majeurs de la cellule comme ; les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Valko et al., 2006). Ceci provoquerait un dysfonctionnement cellulaire et serait impliqué dans diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) et le processus de vieillissement (Aruoma, 2003).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires tels que ; les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes ..., qui sont largement utilisés, comme des agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, inhibiteur enzymatique, mais essentiellement antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif.

En effet, les principes actifs des plantes médicinales présentent un trésor pour la découverte scientifique où elles sont l'objectif de nombreuses recherches pour le développement des agents thérapeutiques potentiellement utiles et de nouveaux constituants naturels qui ont un pouvoir antioxydant, anti enzymatique et anti-inflammatoire considérable (Bourgau et al., 2001).

Dans ce contexte, nous avons choisi une plante médicinale qui est nommée *Laurus nobilis L* qu'est l'une des espèces des plantes aromatiques les plus utilisée en Algérie. Elle attire beaucoup l'attention en raison de son importance économique, sa richesse en composition bioactive et ses propriétés thérapeutiques.

INTRODUCTION

Dans le but, d'évaluer leurs activités biologiques principalement l'activité antioxydante mesurée par plusieurs tests (DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, GOR, PHEN, SNP ...), l'activité enzymatique anticholinestérase et antidiabétique et l'activité anti-inflammatoire, afin de trouver des molécules naturelles plus actives et puissantes que celle des molécules synthétiques.

Notre travail a été divisé en deux parties ; nous aborderons dans la première partie une étude bibliographique qui regroupe deux chapitres dont :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités bibliographiques sur la plante médicinale qui est nommée *Laurus nobilis L*, avec leur composition chimique, leurs classifications botaniques et leur utilisation ;
- Le deuxième chapitre concerne l'étude des activités antioxydante, anticholinestérase, antidiabétique, et anti-inflammatoire.

La deuxième partie concerne la partie expérimentale comportant :

- La description du matériel biologique ;
- Les méthodes d'extraction ;
- Les méthodes d'évaluation *in vitro* des activités antioxydante, anticholinestérase et antidiabétique, ainsi que l'activité anti-inflammatoire.

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



*REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE
CHAPITRE I :
LAURUS NOBILIS L*

I. Les plantes médicinales

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Chabrier, 2010 ; Sofowora, 2010). C'est -à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales ((Iserin, 2001 ; Chabrier, 2010).

Ces drogues végétales sont très utilisées en médecine traditionnelle comme remèdes qui présentent un réservoir immense de composés de structure chimique diverse (métabolites primaires ou secondaires) (Sanago,2006 ; Gazengel et Orecchioni,2013).

Ils sont donc importants pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, soit comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (Sanago,2006 ; Newman et Cragg, 2007 ; Kahlouche,2014 ; Belkhodja, 2016).

I.1. *Laurus nobilis* L

Laurus nobilis Lest une plante médicinal aromatique abondante, bénéficiant de propriétés thérapeutiques qui attribué la médecine traditionnelle, et la pharmacologie divers propriétés anti-inflammatoire et antiseptique grâce à ses composants (Bouchaale et al.,2015).

I.1.1. Etymologie du nom *Laurus nobilis* L

Etymologiquement, le nom latin *laurus* signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et *nobilis* du latin « fameux » (Pariente, 2001). Son nom et aussi symbole du succès dans nos jours à travers le baccalauréat du latin « Bacca Lauri » soit baies de laurier (Zhiri et al., 2005).

I.1.2. Le nom vernaculaire

Rand « le nom le plus connue en Algérie », Thsselte. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelées dans plusieurs différentes régions (**Anonyme 1**).

Pour les autres dénominations voire le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L. (**Anton et Lobstein, 2005**).

Pays	Dénomination vernaculaire
Français	Laurier commun, Laurier sauce, Laurier d'apollon, Laurier franc, Laurier noble.
Allment	Bay, Lorbeebaum, Gewurzlorbee.
Anglais	Bay, Sweet bay, Bay laurel, True laurel, Roman laurel, Noble laurel.
Arabe	Rand (رند), Warakate sidna mousa, (ورقة سيدنا موسى), El ghar (الغار).
Kabille	Thasselte.

I.1.3. Famille des lauracées

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

I.1.4. Caractérisation botanique et morphologique

Le laurier est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps (**Quezel et Santa, 1963**) (**Voir fig. 1**).



Figure 1. Arbuste de *Laurus nobilis* L (Anonyme 2).

Laurus nobilis L est caractérisée par :

☆ **Les ports**

Arbrisseau ou petit arbre aromatique glabre de 1m à 8m (atteignant parfois 20m en culture), dressé et densément ramifié dès la base. Tête conique s'arrondissant avec l'âge, supporte très bien la taille, dioïque (Quezel et Santa, 1963).

☆ **Les feuilles**

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

☆ **Les fleurs**

Dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), de 0,4 à 0,8 cm avec une couleur jaune verdâtre, à périanthe simple soudé à la base. Groupées en 4 à 6 ombelles. Les fleurs mâles possèdent 8 à 12 étamines rudimentaires, tandis que les fleurs femelles sont dotées d'un ovaire hypogyne à un compartiment avec un stigmate.

Elles apparaissent en mois de mars-avril de l'année (Quezel et Santa, 1963 ; Reynaud, 2002) (Voir fig. 2B).

☆ **Les branches**

Les branches sont remontées en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4cm (Quezel et Santa, 1963) (Voir fig. 2B).

☆ **Les fruits**

Une baie ovoïde, soutenue par le tube périthaïre peu dilaté de 2cm de longueur à 1cm de largeur, il est noir vernissé et renferme une seule graine libre (Beloued, 2005). Le mésocarpe charnu renferme de l'huile et des cellules à huile essentielle. Les cotylédons épais sont également riches en lipides. D'abord vert, devenant noir bleuté à maturité (Myose et Paris, 1976) (Voir fig. 2C).

☆ **Le calice**

Le calice est à quatre ou à cinq divisions, les mâles ont depuis huit jusqu'à douze étamines, les femelles produisent des fruits bleuâtres, gros comme une cerise, et dépouillés du calice qui tombe après la floraison (Quezel et Santa, 1963).

☆ **L'écorce**

Ecorce gris foncé à très foncé, mate plus ou moins lisse chez les jeunes sujets et s'écaillant chez les très vieux arbres (Quezel et Santa, 1963).

☆ **La tige**

Droite et grise dans sa partie basse, verte en haut (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Beloued, 2005).



Figure 2. (A) Feuilles et branches (Anonyme 3). (B) Fleurs (Anonyme 4). (C) Fruits (Anonyme 2) de *Laurus nobilis* L.

I.1.5. Position systématique

La position systématique de la plante est décrite dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2. Classification botanique de *Laurus nobilis* L (Quezel et Santa ,1962).

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

I.1.6. Répartition géographique

Le laurier est la seule espèce représentant la famille des lauracées dans la région méditerranéenne en particulier en (Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France). Pousse dans les lieux humides et ombragés, également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment. Actuellement, la plante est largement cultivée comme plante ornementale dans le sud et l'ouest de l'Europe, l'Amérique centrale et aux États-Unis. Il fait l'objet de production commerciale dans beaucoup de pays tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les États-Unis Méridionaux (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Barla et al., 2007) (Voir fig. 3).

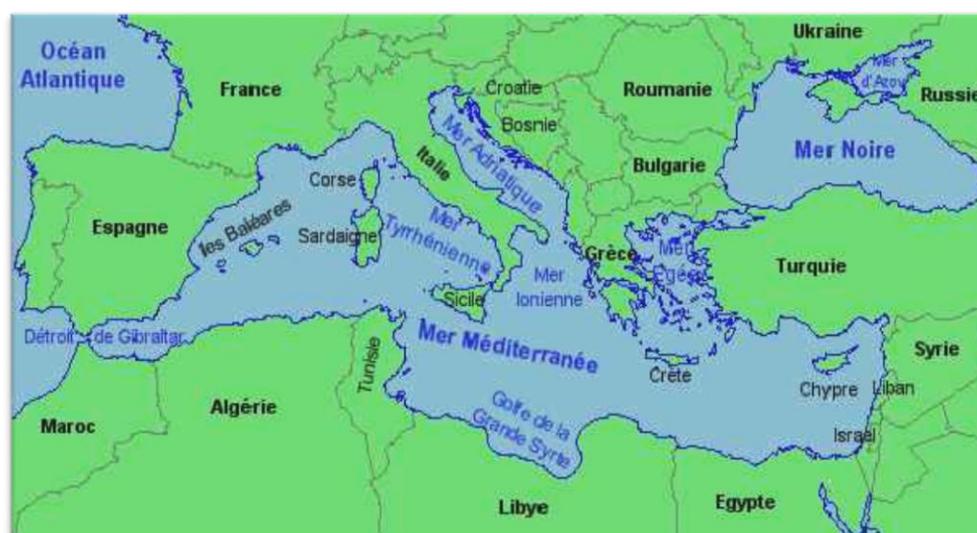


Figure 3. Répartitions géographique de *Laurus nobilis* L (Aouchiche et Boumghar ,2015).

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

I.1.7. Composition chimique de *Laurus nobilis* L

Plusieurs extractions dans différents solvants ont été utilisées, pour dévoiler la composition chimique de cette plante, l'analyse des extraits a montré que cette espèce contient plusieurs constituants, ces derniers sont très variables, à la fois qualitativement et quantitativement selon les provenances, et la période du récolte (Fiorini et al.,1998 ; Simic et al., 2003 ; Fang et al.,2005).

a. Composition chimique des feuilles

La composition chimique des feuilles est décrite dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Les principaux composants des feuilles de *Laurus nobilis L.*

Classes	Composés	Références
Acides phénoliques	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p-coumarique, fénulique, sinapique, gentsuque et vanillique	(Barla et al.,2007).
Flavonoïdes	Principalement la rutine, l'isoquercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et3- arabinoside. Le kaempférol-3-rhamnoside, 2-p-coumaroyles	(Fiorini et al.,1998 ; Kang et al.,2002).
Hétérosides de lignanes	Méthoxyisolarecirénol -9-0-xylosides, -0- sécoisolariciresinol-9-0-xylosides.	(Uchiyama et al.,2002).
Alcaloïdes	Actinodaphonine, isodomecicine, launobine,N- méthylactinodaphonine, nandigérine , néolitsine etréticuline	(Bricittpee et Bruneton ,1982).
Lactones sesquiterpéniques	La déhydrocostuslactone, artémoneine, érémantine, désacétyllaurénobiolide, laurénobiolide, reynosine, santamarine.	(Yoshikawa et al., 2000).

De plus, Demo et al. (1998) ainsi que Gomez-Coronado et al. (2004) ont montré la richesse de ses feuilles par les tocophérols (vitamine E), principalement la gama- tocophérol.

b. Composition chimique des huiles essentielles

La composition de l'huile essentielle du laurier est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols

, des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques (Flamini et al., 2007).

Tableau 4. Composition phytochimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L* (Flamini et al., 2007).

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

I.1.8. Utilisations traditionnelles de *Laurus nobilis L*

Les feuilles de *Laurus nobilis L* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce, ...) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant (Simi et al., 2003), le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (Iserin, 2001).

L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (**AqiliKhorasani, 1992**).

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

- ❖ Par ailleurs, l'infusion aqueuse obtenue à partir des feuilles de *laurier noble* a été utilisé pendant de nombreuses années chez les femmes européennes pour soulager les douleurs du placenta. En outre, le laurier favorise l'apparition des règles et agit contre les règles douloureuses (**Bouchaale et al., 2015**).

I.1.9. Activités biologiques de *Laurus nobilis L*

☆ **Activité antioxydante**

L'activité antioxydante des extraits méthanolique (bruts et dégraissé) des feuilles d'écorce et de fruit de *Laurus nobilis L*, ont été étudiés au niveau de la peroxydation lipidique dans les liposomes, (**Simi, 2003**).

Ozcan et al. (2010) ont déterminé l'activité antioxydante de l'huile essentielle et extrait méthanolique d'huile de graines de *L. nobilis* en employant le piégeage des radicaux libres DPPH (diphénylpicrylhydrazyle) et les systèmes de test à l'acide β -carotène / acide linoléique. Dans les deux systèmes de test l'huile essentielle et l'extrait méthanolique d'huile de graine de *Laurus nobilis L* a montré des propriétés antioxydantes.

Ferreira et al. (2006) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis L*, cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante pour chacun des trois extraits et elle est plus haute pour les extraits polaires.

Dans une autre étude, **Demo et al. (1998)** ont démontré la présence des tocophérols (Vitamine E), principalement la gamma- tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis L* obtenue dans la fraction apolaire par extraction hexane. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité antioxydante de l'extrait hexane des feuilles.

☆ Effet inhibiteur d'enzyme

Ferreira et al. (2006) ont étudié l'effet de l'huile essentielle, l'extrait éthanol et la décoction des feuilles de *Laurus nobilis L* sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine donnant la choline et l'acétyl. La fraction éthanol a montré une valeur élevée d'inhibition d'AChE de 64% (1g/ml), donc la plante *Laurus nobilis L* peut aider à traité ou soulager des patients souffrant de la maladie d'Alzheimer, puisque les drogues approuvées pour la thérapie de cette maladie agissent en contrecarrant le déficit d'acétylcholine.

☆ Effet rééquilibrage de la glycémie

Les feuilles du *Laurus nobilis L*, ont été rapporté d'avoir un effet antidiabétique et de renforcer en glutathion S-transférase hépatique. L'administration de 200 et 600mg/kg de doses de l'extrait éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis L* produit une diminution significative de la glycémie (**bechkri et meslem ,2018**). Une autre étude prouve que l'HE de *Laurus nobilis La* une capacité d'inhiber l' α -glycosidase intestinale (à plus de 90% à la concentration, de 7.5 g/ml, par inhibition compétitive) peut être mise à profit pour réguler la glycémie (**Khanetal.,2009**).

☆ L'activité anti-inflammatoire

L'extrait éthanolique (80%) des feuilles de laurier séchées, administré par intubation gastrique à des rats à une dose de 100 mg / kg, a entraîné une inhibition de 19% de l'œdème induit. L'acétate d'éthyle et l'extraits d'hexane des feuilles, appliquée extérieurement [(TPA)-inflammation de l'oreille] sur des souris à une dose de 20,0 microlitres /animal, étaient actifs comparativement au tétradécanoyl acétate de phorbol (**Olivier et Imael ,2017**).

L'isolement des composés actifs des fruits et des feuilles du *Laurus nobilis L* a été réalisé par **Fang et al.(2005)**, six composés ont été identifiés; ils sont tous des lactones sesquiterpènes. Ces composés possèdent différentes propriétés pharmacologiques y compris l'effet anti-inflammatoire.

☆ Effet gastroprotectif

Une seule étude a été réalisée à ce sujet par **Gurbuz et al. (2002)**. Cinq plantes aromatiques dont *Laurus nobilis L*, usuellement employées pour traiter le mal d'estomac. Une décoction et un extrait méthanolique ont été préparés à partir des fruits du Laurier pour déterminer leurs effets sur un modèle d'ulcère gastrique induit chez le rat. Les expériences pharmacologiques et les études histopathologiques ont clairement montré que ces extraits administrés oralement ont significativement protégé l'estomac contre les ulcérations.

☆ Effet inhibiteur d'absorption d'alcool

L'extrait méthanolique des feuilles de *Laurus nobilis L* a efficacement empêché l'élévation du taux d'éthanol dans le sang chez un rat chargé d'éthanol. Sept sesquiterpènes actifs ont été isolés en tant qu'inhibiteurs d'absorption d'alcool. La partie active dans ces sesquiterpènes s'est avéré la partie alpha-méthylène-gama-butyrolactone qui était essentielle pour montrer la suppression de l'absorption d'éthanol. En outre, le retard de vider gastrique a été présumé impliqué partiellement dans leur effet inhibiteur (**Matsuda et al.,1999 ; Yoshikawa et al., 2000**).

Ces sesquiterpènes ont non seulement un effet préventif efficace pour la toxicité aiguë d'alcool mais peuvent également aider des patients à éviter l'abus d'alcool (**Yoshikawa et al., 2000**).

☆ Effet anticonvulsif

L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis L* a été évaluée pour l'activité Anticonvulsif contre des saisies expérimentales, l'huile a protégé des souris contre des convulsions toniques induites par électrochoc maximal et particulièrement par pentylène-tétrazol. Aux doses d'anticonvulsif, l'huile essentielle a produit la

sédation et relâchement du cœur. Les composants responsables de cet effet peuvent être le cinéol, eugénol et le méthyle eugénol mais d'autres études sont exigées avant que toutes conclusions puissent être tirées (Sayyah et al., 2002).

☆ **Activité antibactérienne**

L'étude de Dadalioglu et Evernddilek. (2004) a montré une efficacité d'HE sur *Salmonella typhymurium*, *Staphylococcus aureus* et *E. coli*. L'HE a une capacité d'inhiber les souches buccales de *S. aureus* avec une importante activité anti-biofilm (Annelise et al., 2017).

Yakhlef et al. (2011) montrent que les extraits de *Laurus nobilis L* possède une capacité antimicrobienne mais faible en comparaison avec les extraits d'autre espèce (*Thymus vulgaris*) avec un spectre antimicrobien plus large et à des doses plus faibles.

☆ **Activité antifongique**

Une étude de l'activité antifongique d'huile essentielle de la plante *Laurus nobilis L* sur les souches de *Fusarium sporotrichoide*. A été réalisé par la méthode d'hydrodistillation. Le teste est réaliser par méthode de contact direct sur le *Fusarium sporotrichoide* dans des différentes concentrations d'huile (0.05, 0.25 et 0.5% de HE). Les résultats de cette étude montrent que HE de *laurus nobilis L* possède une importante d'activité antifongique sur cette souche ; un indice d'inhibition de 100% avec la concentration de 0.5%. (Salhiet al., 2015).

☆ **Effets fumigènes et insecticides**

Les huiles essentielles des feuilles du *Laurus nobilis La* une action répulsive, réduit la fécondité, la couvaison d'œufs et augmente la mortalité larvaire de nouveau-né. Une étude similaire a été réalisée par Erlor et al. (2006), où l'huile essentielle extraite à partir des feuilles fraîches du *Laurus nobilis L* a été examinée pour son activité répulsive contre les femelles adultes d'une espèce de moustique (*Culex pipiens*), cette huile a montré un degré de répulsion intéressant contre ces parasites vecteurs de plusieurs

maladies Comme la malaria, fièvre jaune, dengue, encéphalite...etc (Erlar et al., 2006 ; Roznam et al., 2007).

☆ Effet curatif de blessures

L'effet curatif de blessures de l'huile de feuille de *Laurus nobilis L* a été examiné par Khalil et al. (2007). Une blessure en pleine épaisseur a été faite dans le secteur dorsal des souris *Mus musculus*. Les blessures ont été traitées quatre fois avec la préparation d'huile pendant deux jours successifs. Cette opération est répétée pendant plusieurs jours avec 12 d'intervalle. Après 16 jours, les blessures ont été visuellement observées, photographiquement documenté et le secteur de blessure a été mesuré. Après le 16^{ième} jour, les animaux ont été sacrifiés et l'histologie du secteur de blessure est examinée. L'huile de *Laurus nobilis La* montré une bonne activité curative de blessures.

☆ Effets toxicologiques et cytotoxique

Les feuilles de laurier et l'huile essentielle qu'ils ne semblent pas avoir d'effets toxiques significatifs. Mais ces derniers peuvent provoquer des réactions de sensibilisation (dermatite de contact allergique) puisqu'elles renferment des lactones sesquiterpéniques dont le principal est le costunolide (Bruneton, 2002).

Certains composés isolés à partir des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis L* se sont avérés cytotoxiques, il s'agit essentiellement de ces deux sesquiterpènes ; lactones et lauroxone, qui selon ces expériences sont fortement cytotoxiques vis-à-vis d'une lignée cellulaire cancéreuse ovarienne ; la A2780 (Barla et al., 2007).

The page features decorative floral swirls in purple and green, located in the top-right, bottom-left, and bottom-right corners. The central text is in a black, handwritten-style font.

CHAPITRE II :
LES ACTIVITÉS
BIOLOGIQUES

II. Les activités biologiques

II.1. Généralités

Les activités biologiques des plantes médicinales sont connues depuis la préhistoire. Cependant, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques débutent à s'y intéresser, ces propriétés sont dues absolument aux métabolites secondaires (composés phénoliques) contenues dans les plantes (Djeridane et al., 2006).

Plusieurs études et travaux ont montré que les composés phénoliques jouent un rôle important dans la santé humaine en raison de leurs activités pharmacologiques diverses comme antivirales, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antiallergiques, antimicrobiennes, cardioprotectives et vasodilatoires (Ladoh et al., 2015).

Ces Actions sont attribuées majoritairement à leur effet antioxydant, où ils peuvent agir par différents mécanismes d'action, tels que le piégeage des radicaux libres, la trempe de l'oxygène singulier, la chélation des métaux de transition et l'inhibition des enzymes oxydatives (Chirinos et al., 2008).

❖ **Les polyphénols** sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes pendant leur développement (Harborne, 1982). Elle est utilisée comme réponse aux conditions de stress tels que ; infections, blessures, radiation UV (Nicholson et al., 1992 ; Beckman et al., 2000).

Ils sont classés en plusieurs groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques de leurs structures et les substituants qui les relie : les flavonoïdes, acides phénoliques, tannins, saponines, stilbenes, lignanes (Kaurinovic et vastag, 2019).

Il constituant une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes (Kessoum, 2014).

Certaines propriétés antioxydantes de ces composés proviennent de leur capacité à perdre un proton, à chélater les métaux et à dismuter les radicaux libres (Aksoy et al., 2013).

❖ **Les flavonoïdes** sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. Ils regroupent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Manach et al., 2004 ; Ouyang et al., 2018).

Ils sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes (Ghedira, 2005).

Les propriétés antioxydants sont attribuées aux flavonoïdes par les groupes hydroxyles phénoliques attachés aux structures cyclique et ils peuvent agir comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, piègeurs des radicaux superoxydes et même comme chélateurs de métaux, Ils activent également les enzymes antioxydants, réduisent les radicaux libres et inhibent les oxydases (Carocho et Ferreira, 2013).

II.2. L'Activité antioxydante

Les antioxydants sont des agents réducteurs bioactifs qui peuvent prévenir les dommages causés par les espèces réactives oxygénées (ROS), y compris les radicaux anioniques superoxydes, l'hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singlet, retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates. Ils sont donc protecteurs contre diverses maladies chroniques, dont le cancer, les maladies coronariennes, les maladies cardiaques, les maladies auto-immunes, le diabète, la sclérose, athérosclérose et inflammation chronique (Sudip et al., 2015).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A),

l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), la quercétine, la rutine et le picnogénol (Bartosz, 2003).

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que Hydroxyanisole butylé (BHA), Hydroxytoluène butylé (BHT), tert-butylhydroquinone (THBQ) et Gallate de propyle (GP) (Voir Fig.4), (Suhaj, 2006 ; Tadhani et al., 2007).

La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) (Rice-Evans et al., 1995 ; Burda et Oleszek, 2001 ; Antolovich et al., 2002 ; Bartosz, 2003)

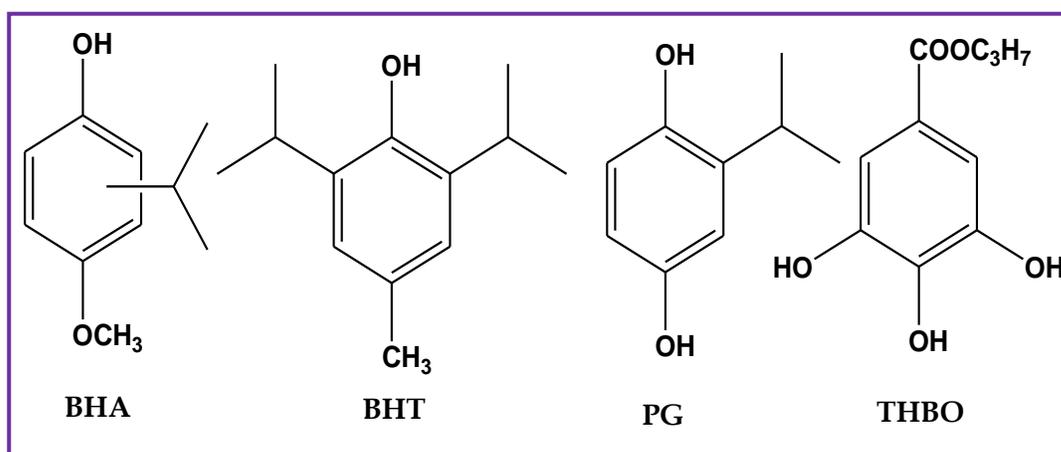


Figure 4. Structure des antioxydants synthétiques (Ferhat,2016).

La capacité antioxydante des molécules peut être évaluée *in vivo* ou *in vitro* sur le vivant organisme, à l'aide de tests qui imitent les phénomènes physiologiques, pour évaluer l'activité antioxydante dans l'extrait naturel, différentes méthodes ont été développées, ces méthodes impliquent des mélanges

d'espèces oxydantes, telles que les radicaux ou les complexes métalliques oxydés avec un échantillon qui contient antioxydants qui peuvent inhiber la genèse des radicaux. Ces antioxydants peuvent procéder selon deux mécanismes majeurs soit par transfert d'atomes d'hydrogène soit par transfert d'électrons. (Prioret *al.*, 2005).

Ces techniques sont différentes les unes des autres par les réactifs utilisés, les conditions d'application, leurs protocoles ainsi le mécanisme d'action par lequel l'extrait ou la molécule testée se manifeste dans le milieu (Madi ,2018). Les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), α -tocophérol (vitamine E) et les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) (Molyneux ,2004).

II. 3. Les activités enzymatiques

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques (également appelés biocatalyseurs) qui accélèrent les réactions biochimiques dans les organismes vivants (Robinson, 2015). Leur quantification précise par mesure de l'activité catalytique dans les échantillons biologiques est importante dans divers domaines, de nombreuses méthodes différentes ont été appliquées pour le dosage des activités enzymatiques (Glatz ,2006).

II. 3.1. L'activité anti-Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative incurable du tissu cérébral qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions mentales et notamment de la mémoire. Des faibles concentrations d'acétylcholine spécifiquement et de butrylcholine dans l'hippocampe et le cortex du cerveau sont généralement considérées comme la cause de cette maladie dont l'inhibition de deux enzymes cholinestérases, l'acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE) par des inhibiteurs provenant de sources naturelles a été

utilisée avec succès comme une cible thérapeutique pour la maladie d'Alzheimer (Terry et Buccafusco, 2003).

L'activité anti- Alzheimer d'un échantillon est déduite de sa capacité à inhiber l'activité de l'enzyme AChE, ce qui entraîne une diminution de la dégradation de l'acétylcholine. Par l'utilisation d'un analogue de substrat naturel de l'AChE, l'acétylthiocholine iodide (ACI) qui est hydrolysé en acide acétique et thiocholine, cette dernière forme avec l'acide 5,5'- dithiobis (2 nitrobenzoïque) (DTNB) présent dans le milieu réactionnel un dérivé de coloration jaune, l'acide - 5- thio 2-nitrobenzoïque (TNB) qui absorbe à une longueur d'onde maximale 412 nm.

A partir de la variation de cette absorbance indique s'il y'a ou non une activité anti- AChE, dont la diminution d'absorbance en présence des agents ayant une complémentarité avec le site actif d'AChE dans l'extrait (les alcaloïdes), les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer la métabolisation d'acétylthiocholine iodide et diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer. (Ellman et al., 1961 ; Rhee et al., 2001)

II. 3.2. Activité anti- diabétique

Le diabète est un trouble métabolique complexe résultant soit d'une insuffisance d'insuline, soit d'un dysfonctionnement de l'insuline, caractérisé par des altérations du métabolisme des glucides, des protéines et des lipides qui se manifestent par une série de complications, à savoir l'hyperglycémie postprandiale est l'une des premières anomalies observables, dans laquelle la glycémie reste élevée après un repas ,donc la régulation de la glycémie est essentielle pour réduire le taux du sucre ou prévenir le développement du diabète de type 2, dont la capacité des médicaments à base de plantes à retarder la production ou l'absorption intestinale du glucose en inhibant les enzymes hydrolysant les glucides, telles que l' α -

amylase et l' α -glucosidase, est l'une des approches thérapeutiques permettant de réduire l'hyperglycémie postprandiale (Gaikwad et al.,2014 ; Kidane et al., 2018 ; Sachan et al.,2019 ;Yang et al.,2019) .

L' α -amylase est une enzyme digestive, produite par les glandes salivaires et les glandes pancréatiques comme étant une enzyme glycolytique à travers le suc pancréatique dans l'intestin, dont le rôle essentiel est d'hydrolyser les liaisons $\alpha(1-4)$ glycosidiques de l'amidon sur des sites aléatoires pour donner le maltose. Cette enzyme est principale pour l'absorption et la digtin de l'amidon et l'hydrate de carbone intégré dans la nourriture, ceci peut être une cible pour le traitement du diabète type 2 (Khan et al.,2018 ; Yang et al., 2019) .

L'inhibition de l'hydrolyse des hydrates de carbone(glucides) par l'alpha-amylase dans le tractus digestif retardent leurs digestions et prolongent leurs temps causant une réduction dans le taux d'absorption du glucose (Meghraj et al., 2008) et par conséquent diminution des niveaux de glucose plasmatique et abaissement de l'hyperglycémie (Hong et al., 2008).

Actuellement ,ils existent des inhibiteurs de l' α -amylase d'origine naturelle tell que les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes sont conseillés comme une nouvelle thérapie pour le traitement du diabète type 2 sucré sans risque ou moins d'effets secondaires (Khan et al., 2018).

II.4. L'activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'inflammation peut être potentiellement nocive, provoquant des réactions d'hypersensibilité potentiellement mortelles et des lésions progressives des organes (Robbins, 2008). Les Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) auraient une action préventive contre la dénaturation des protéines, qui agissent comme des antigènes et conduisent à des maladies auto-immunes (Insel, 1996).

La capacité d'inhiber la dénaturation des différentes protéines par les extraits végétaux et les recherches sur leurs voies biochimiques peuvent aboutir au développement d'un agent anti-inflammatoire puissant avec une faible toxicité et un meilleur indice thérapeutique (**Kandikattu et al., 2013**).

L'effet anti-dénaturation (stabilisation) *in vitro* de la bovine sérum albumine (BSA) traitée par la chaleur, induit par les substances naturelles ainsi que les produits anti-inflammatoire non-stéroïdiens, constitue une méthode alternative aux tests anti-inflammatoire *in vivo* pour le criblage préliminaire de nouvelles molécules pour la découverte de nouveaux produits anti-inflammatoires (**Mizushima et al., 1964 ; Williams et al., 2008**).



PARTIE PRATIQUE
CHAPITRE I :
MAÉRIELS ET MÉTHODES

I. Matériels et Méthodes

Nous présentons dans cette partie les travaux expérimentaux réalisés au :

- Laboratoire de biochimie, faculté de science de la nature et de la vie. Université des Frères Mentouri Constantine Algérie.
- Centre de recherche en biotechnologie **CRBT**. Constantine. Algérie.

I.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de *Laurus nobilis L*, que nous avons récoltées en mois de février 2020, auprès d'un jardin de la région de Chemin Forestier située à Constantine. La récolte de la plante a été effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents.

I.2. Etude phytochimique de la plante

Après la récolte, les feuilles ont été nettoyées, lavées avec de l'eau du robinet, afin de se débarrasser de toute poussière et matières étrangères comme le sable, le sol et d'autres. Puis ont été séchées pendant 15 jours dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, pour préserver au maximum l'intégrité des molécules. Ensuite ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui a été servi pour la préparation des extraits, afin de les utilisés dans l'étude phytochimiques et biologiques.



Figure 5. Les étapes de la préparation de la plante.

Les expériences rapportées dans cette recherche sont réalisées comme suit :

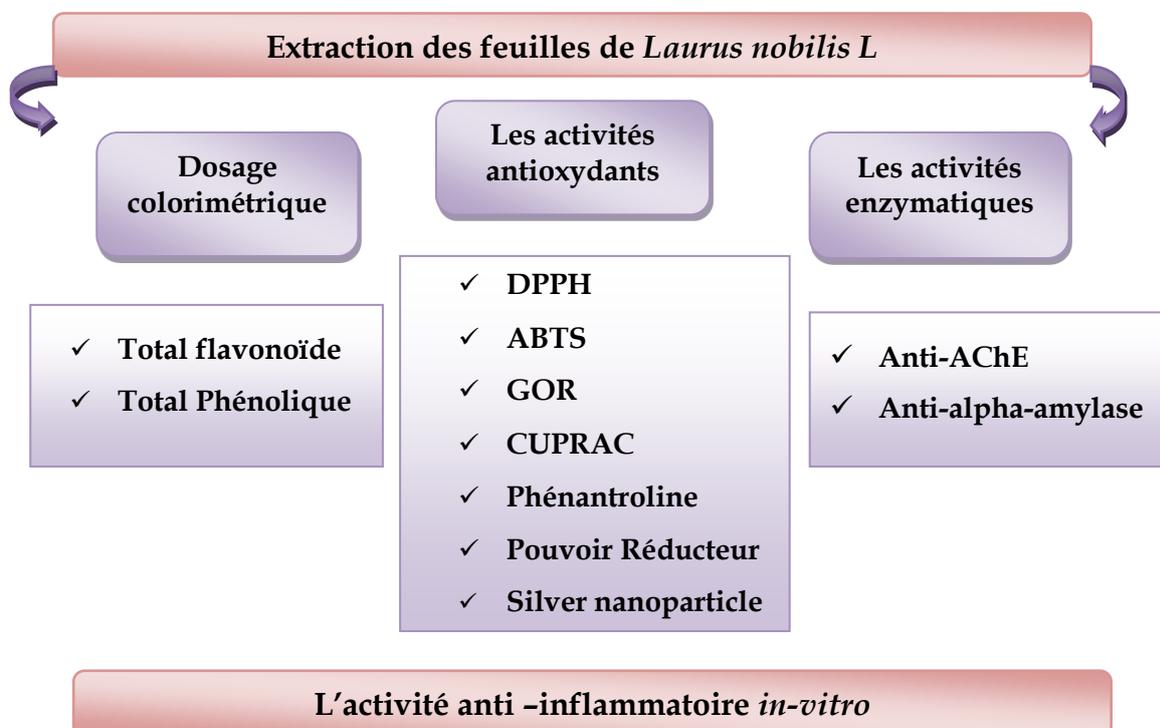


Figure 6. Schéma illustrant le Protocole des activités biologiques sur *Laurus nobilis* L.

II. Méthodes

II.1. Extraction

Notre travail est effectué par deux méthodes d'extraction successives, solide-liquide et liquide-liquide, le protocole d'extraction a été effectué selon la méthode (Markham, 1982) (Voir. fig 8).

II.1.1. Extraction solide-liquide

150 g de la poudre végétale a été macéré dans un mélange hydroalcoolique méthanol / eau (85%, v/v) sous agitation pendant 24 heures. Le mélange est filtré sur papier filtre Whatman (0,5 um) par filtration sous vide, la macération a été répété trois fois pendant 72 heures avec renouvellement du solvant chaque 24 heures pour permettre la solubilisation maximum des composés. Les trois macérats filtrés sont réunis pour donner l'extrait méthanolique (brut), celui-ci est évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au rotavapor et pesé pour déterminer son rendement, un poids du résidu sec est conservé dans une boîte de pétri comme extrait méthanolique jusqu'à leur utilisation.

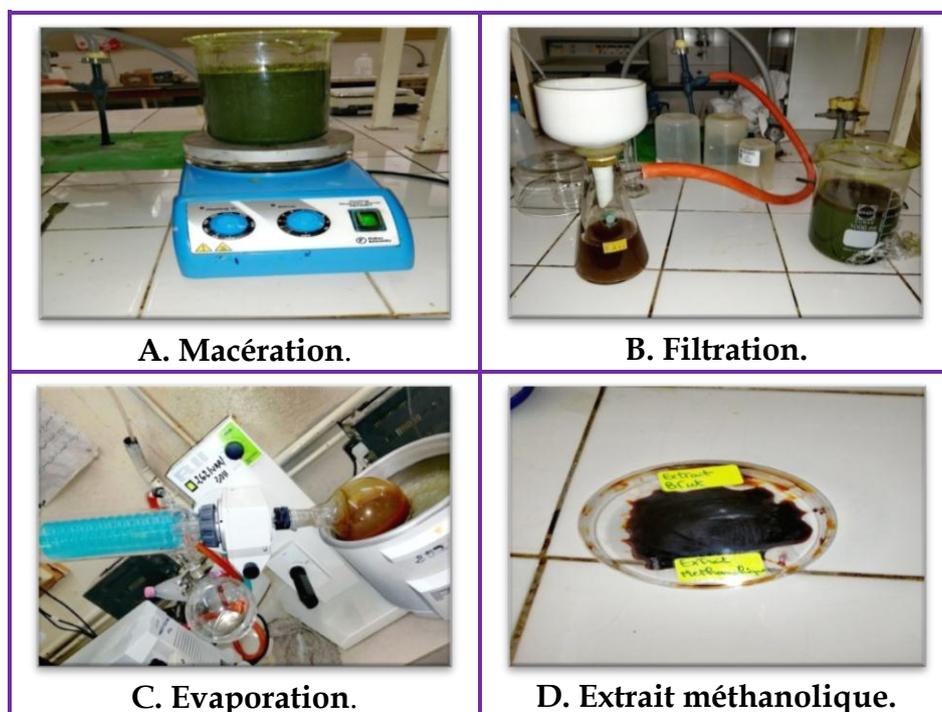


Figure 7. Les étapes de l'extraction solide -liquide.

II.1.2. Extraction en phase liquide- liquide

Le reste de l'extrait méthanolique sec est repris dans l'eau distillée bouillante (300 ml) qui solubilise proportionnellement les flavonoïdes. La solution obtenue est filtrée sur papier filtre Whatman (0,5) afin d'éliminer les substances non phénoliques (Impuretés, graisses, ...).

La solution aqueuse obtenue est soumise à des affrontements successifs à l'aide de solvants de polarité croissante :

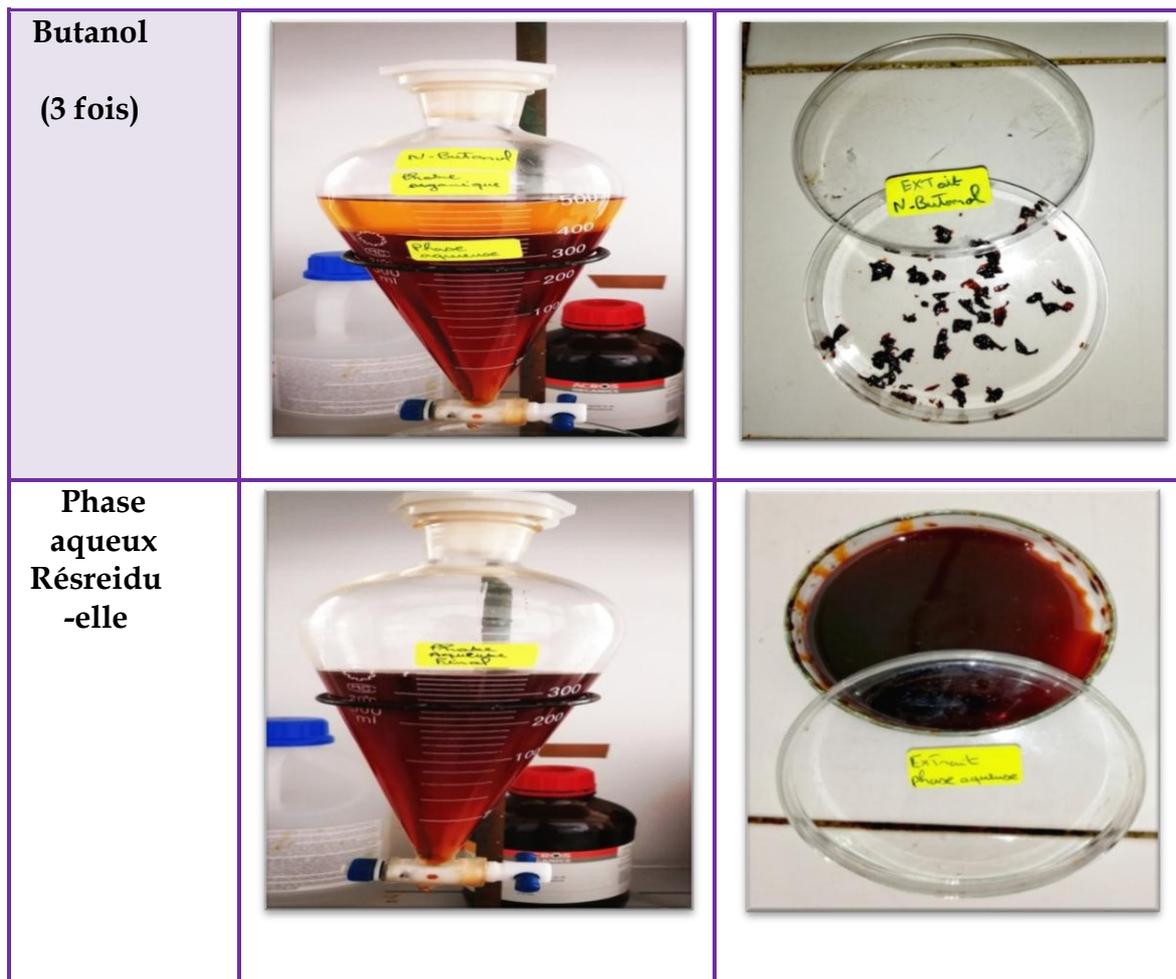
- Affrontement par l'éther de pétrole ;
- Affrontement par l'éther diéthylique ;
- Affrontement par l'acétate d'éthyle ;
- Affrontement par le n-butanol.

A l'aide d'une ampoule à décanté, la phase aqueuse subit un premier affrontement pour débarrasser des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs par l'éther de pétrole avec (3X100 ml), le deuxième avec l'éther diéthylique (3X100 ml) qui permet d'extraire les aglycones (composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes), le troisième par l'acétate d'éthyle (3X100 ml) afin de récupérer dans la phase organique certains flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides, et finalement avec le n-butanol (3X100 ml) pour récupérer notamment les flavonoïdes di et triglycosides, la fraction aqueuse finale résiduelle contient surtout les flavonoïdes glycosylés les plus polaires. Le fractionnement est réalisé pendant 20 minutes et l'opération est répétée trois fois pour chaque solvant.

Les cinq phases sont à la fin récupérées (la phase éther de pétrole, phase éther diéthylique, phase acétate d'éthyle, la phase n-butanol et aqueuse), évaporées à sec sous pression réduite 45°C au rotavapor et conservées dans des boîtes de pétri à 4 °C jusqu'à leur utilisation.

Tableau 5. Fractionnement de l'extrait méthanolique en phase liquide- liquide.

Solvant	Fractionnement (deux phases)	Récupération
Ether de pétrole (3 fois)		
Ether diéthylique (3 fois)		
Acétate d'éthyle (3 fois)		



II.1.3. Rendement d'extraction

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

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

R % : Rendement des extraits exprimés en pourcentage (%).

M1 : la masse de l'extrait sec.

M0 : la masse de la poudre végétale

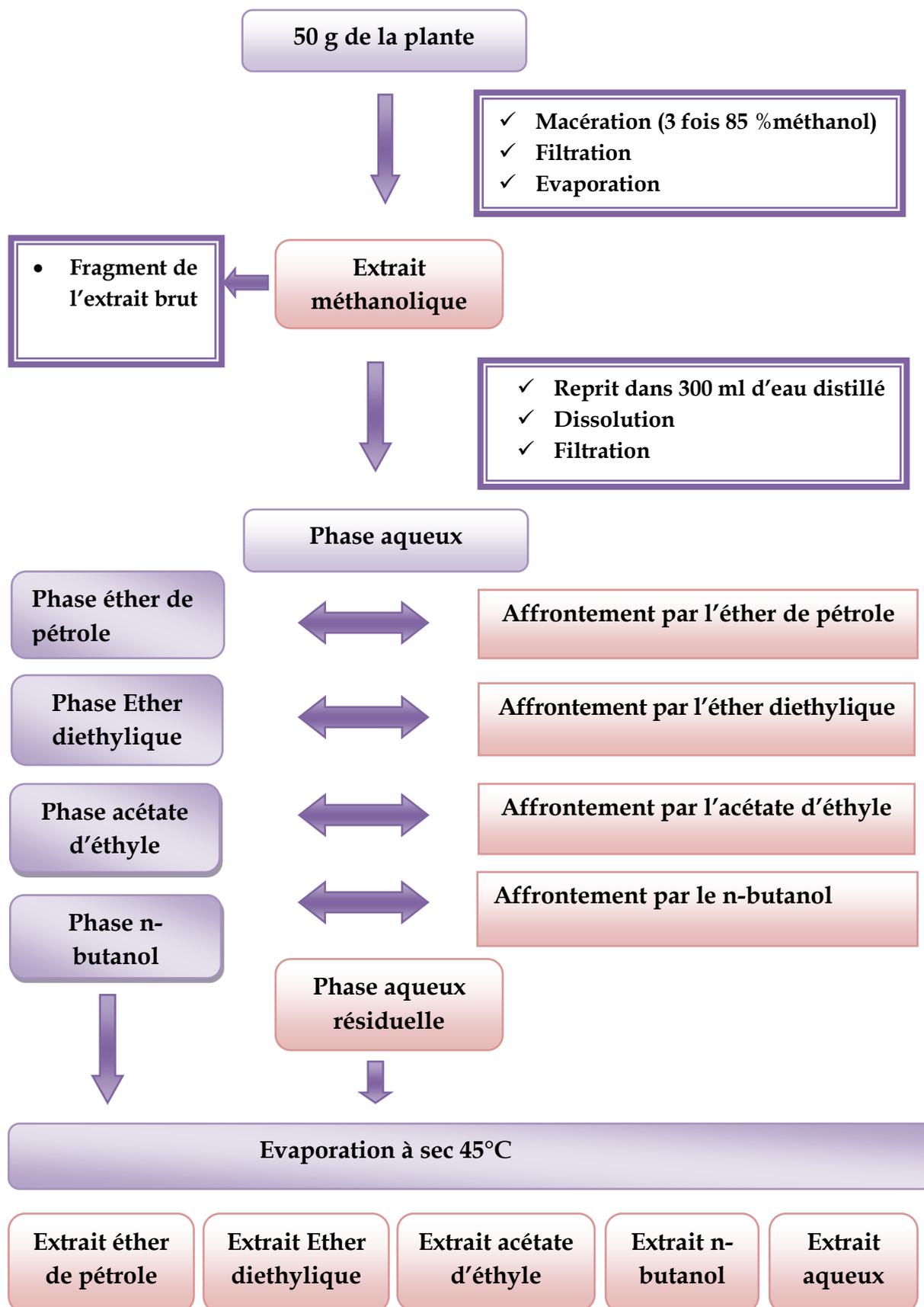


Figure 8. Schéma illustrant les différentes étapes d'extraction.

II.2. Analyse quantitative des composés phénoliques

II.2.1 Quantification des polyphénols totaux (TPC)

❖ Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur la réduction de Folin-Cobalteux par les composés phénoliques qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleue. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

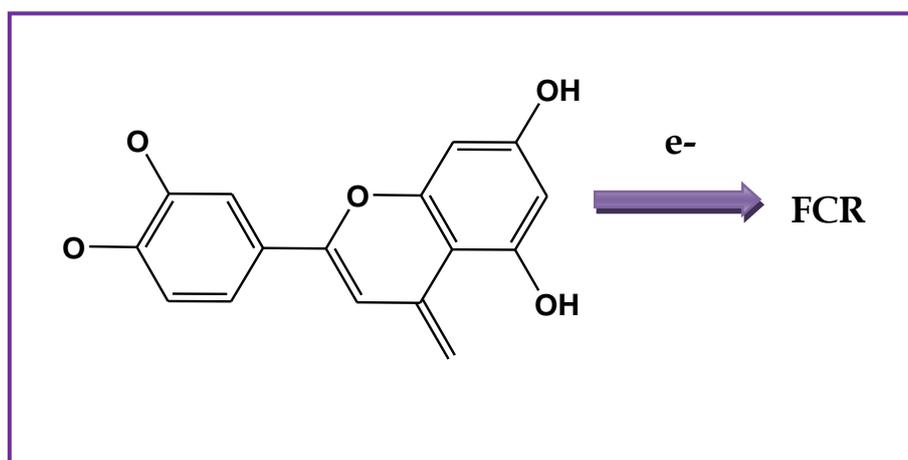


Figure 9. Mécanisme réactionnel du teste polyphénols totaux (Muller et al. ,2010).

❖ Procédure

Selon le protocole de Muller et al. (2010), 20 μ l de chaque extrait dissous dans le méthanol sont ajoutés à 100 μ l du réactif de Folin Ciocalteu (1 :10). Puis, 75 μ l de Na_2CO_3 (7,5%) sont additionnés au mélange, le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures. Pour chaque concentration, le test est

répété trois fois. Parallèlement, le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). L'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV (Perkin Elmer) (**voir annexe 1**).

L'acide gallique est utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage des polyphénols à une concentration de 0,2 mg/ml.

❖ Expression des résultats

La détermination de la concentration des composés phénoliques totaux pour chaque extrait est faite à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage standard (l'acide gallique) dont une gamme d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) est déjà réalisée dans les mêmes conditions expérimentales et le même protocole que les extraits. La teneur des composés phénoliques totaux des extraits est alors exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg GAE/g MS).

II.2.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

❖ Principe

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe jaune entre trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al. (2007)** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

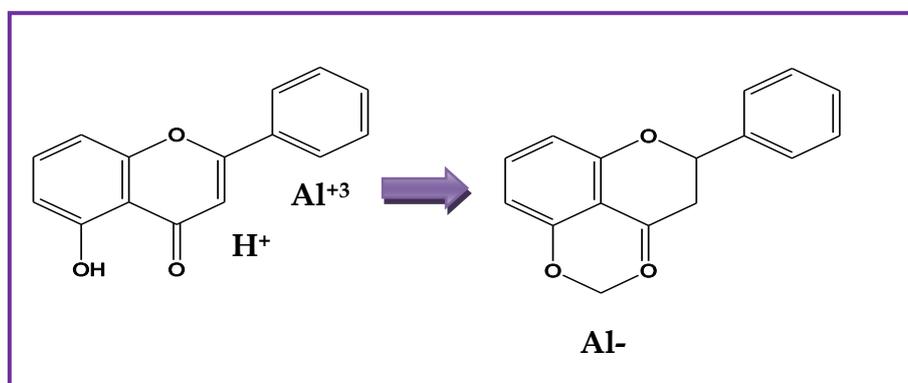


Figure 10. Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

❖ Procédure

Selon le protocole de **Kumaran et al. (2007)**, une plaque à 96 puits a été rempli avec 50 µl de chaque dilution des différents extraits de plante, puis 130 µl de méthanol (MeOH) ont été ajoutés. Ensuite 10 µl de la solution de potassium acétate (CH_3COOK) (S1) et 10 µl de la solution de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (S2) ont été ajoutés. Le test est répété dans trois puits pour chaque extrait (**voir annexe2**).

Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 µl extrait + 150 µl méthanol). L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 415 nm à l'aide de lecteur Perkin-Elmer.

La quercitrine a été utilisée comme standard pour la courbe d'étalonnage des flavonoïdes à une concentration de 0,2 mg/ml.

❖ Expression des résultats

Les taux des flavonoïdes totaux pour chaque extrait est faite à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage standard (quercitrine) dont une gamme d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) est déjà réalisée dans les mêmes conditions expérimentales et le même protocole que les extraits. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétines par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

II.3. Les activités anti-oxydants *in-vitro*

Les concentrations préparées sont utilisées pour toutes les méthodes. La concentration des solutions mères de chaque échantillon est exprimée en ppm (partie par million). La ppm est la fraction valant (10^{-6}), c'est-à-dire un millionième.

Une quantité de 4 mg de chaque extrait, ont été dissoutes 4 mg dans 1 ml du méthanol (Solution mère de 4000 ppm) avec 7 concentrations différentes (une série de dilution de $\frac{1}{2}$) de l'échantillon en ordre décroissant.

II.3. 1. Activité antiradicalaire au DPPH

❖ Principe

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par le dosage du DPPH (Blois, 1958). Le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant son absorption diminue (Bensouici, 2015). Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

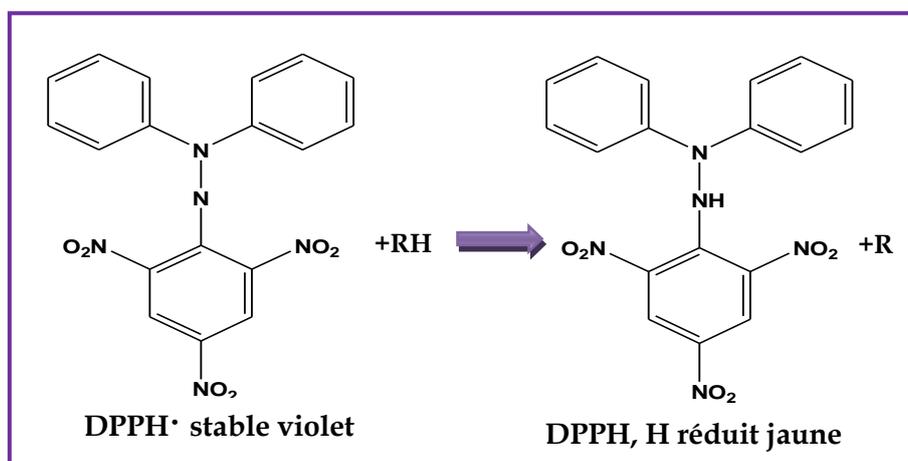


Figure 11. Transformation du radical DPPH• en DPPH, H (Gülçin, 2012).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par Blois. (1958), un volume de 40 μ l de chaque extrait avec un volume de 160 μ l de DPPH (0,1 mM) ont été ajoutés dans chaque puits de la microplaque. Après le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produits testés, parallèlement un contrôle négatif (blanc) a été préparé en remplaçant l'extrait par le MeOH. La lecture des absorbances a été mesurée à 517 nm (voir annexe 3).

❖ Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de différents extraits a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A C - A E) / A C] * 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'extrait.

Nous avons déterminé le paramètre CI_{50} (valeur de concentration inhibitrice), c'est la concentration de l'extrait qui provoque une inhibition de 50% de l'activité du DPPH (changement de la couleur). Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées. Donc IC_{50} de chaque extrait est calculé :

$$CI_{50} = (Y - b) / a$$

II.3.2 Activité du piégeage du cation radical $ABTS^{\bullet+}$

❖ Principe

Le radical $ABTS^{\bullet+}$, (l'acide 2,2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de couleur bleu-vert est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec persulfate de potassium (Re et al., 1999). Lorsque le radical est piégé par les substances antioxydants présentes dans l'extrait qui va réduire ce radical, en provoquant une décoloration du mélange, l'intensité de la décoloration dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

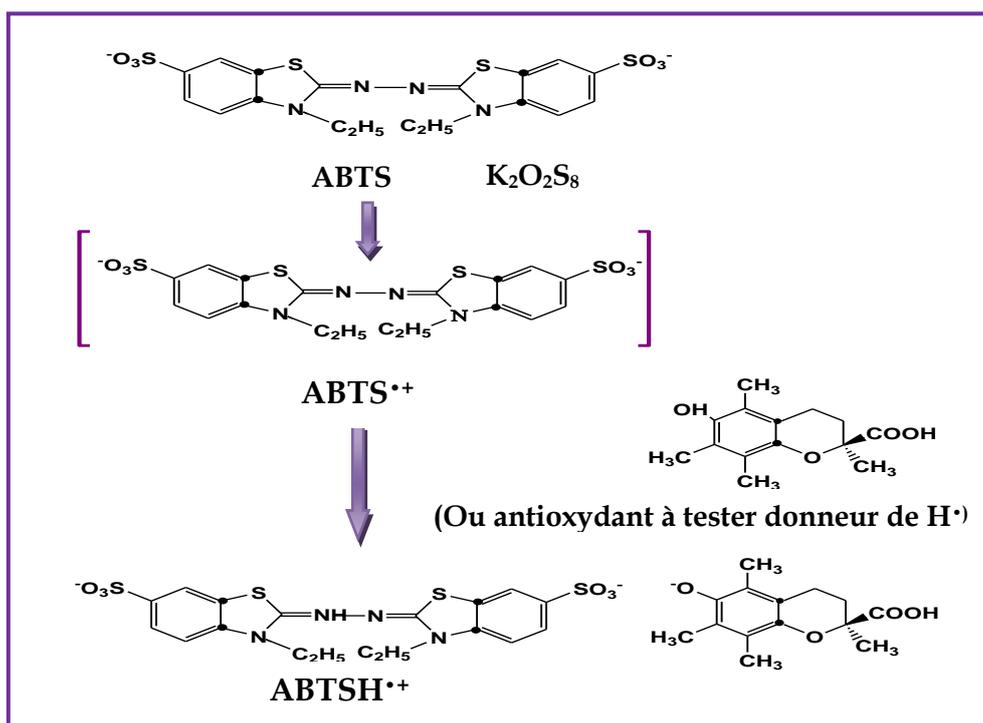


Figure 12. Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Gülçin, 2012).

❖ Procédure

Selon le protocole de **Re et al. (1999)**, un volume 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangé avec 160 µl de l'ABTS^{•+}. Le mélange est laissé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 10 min. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produits testés. Un blanc est parallèlement préparé suivant le même protocole tout en remplaçant l'échantillon testé par le méthanol. La lecture est réalisée à l'aide d'un lecteur microplaque à 734 nm (**Voir annexe 4**).

- Le pourcentage de réduction du radical ABTS^{•+} est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité ABTS (\%)} = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

II.3.3. Activité de piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)

❖ Principe

L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay est déterminée par la méthode décrite par **Shi et al. (2001)**. Le Galvinoxyl est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur jaune foncé à haute absorbance. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances antioxydantes, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du Galvinoxyl confère à la solution une couleur jaune clair à faible absorbance. On mesure le changement de la couleur à 428 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

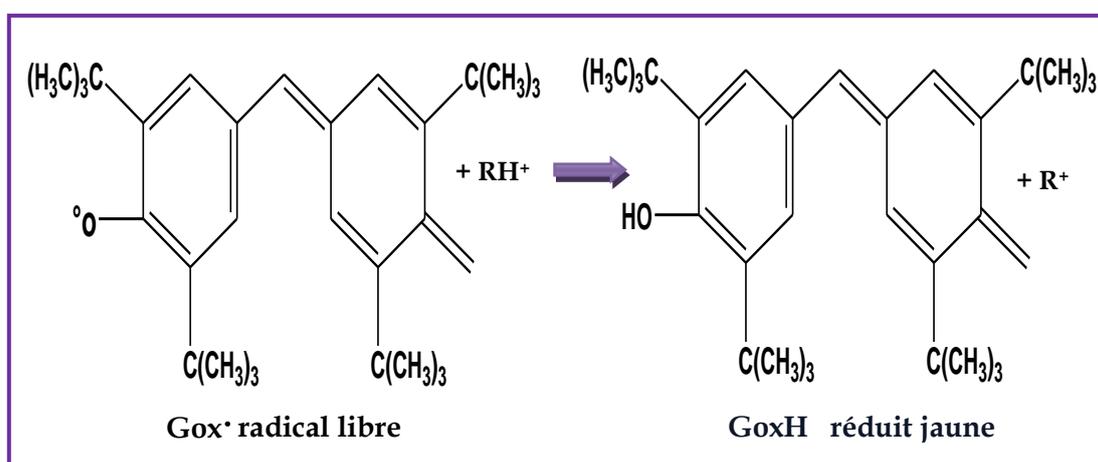


Figure 13. Réduction du radical libre Gox• en GoxH (Shi et al., 2001).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par **Shi et al. (2001)**, un volume de 40 µl de chaque solution des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 160 µl de solution GOR. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 120 min.

Le blanc d'échantillon est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol, et la lecture de l'absorbance est faite à 428 nm (**voir annexe 5**).

II.3.4. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)

❖ Principe

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée aussi par la méthode de CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) décrite par **Apak et al. (2004)**. Elle est basée sur l'utilisation de réactif cuivre (2⁺)-néocuproïne (Cu (2⁺)-Nc) comme agent oxydant chromogène, ce dernier est réduit en présence d'un antioxydant qui conduit à la formation d'un chromophore de couleur jaune orangé où l'absorbance est enregistrée à 450 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

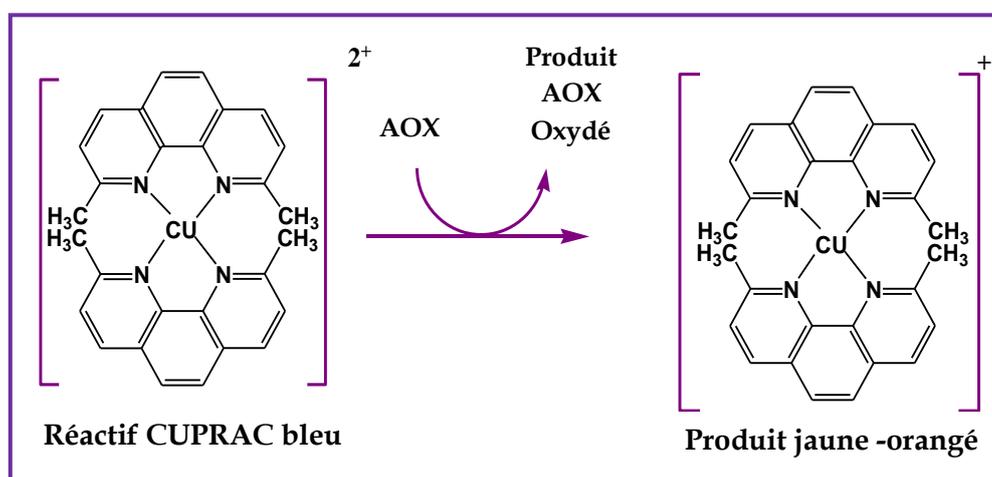


Figure 14. Réduction du complexe chromogène de (Cu²⁺-Nc) (Özyürek et al., 2011).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par **Apak et al. (2004)**, un volume de 40 µl de chaque extrait et ses concentrations ainsi que 60 µl de tampon NH₄Ac (1 M, pH = 7) puis un volume de 50 µl de néocuproïne (7.5 mM), et 50 µl de la solution aqueuse Cu (II) (10 mM) sont déposés dans chaque puits de la microplaque. Après le mélange est incubé à l'obscurité durant 1h à température ambiante, trois répétitions sont réalisées pour chaque extrait, un blanc a été préparé en parallèle, en remplaçant les extraits par le MeOH. L'absorbance a été mesuré à 450 (voir annexe 6).

II.3.5. Activité de Phénantroline

❖ Principe

L'activité de phénantroline est déterminée par la méthode de **Szydlowska-Czerniaka. (2008)**. Elle est basée sur la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} ion en présence d'un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagit avec l'ortho-phénantroline pour donner un complexe rouge orange. L'absorbance est enregistrée à 510 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

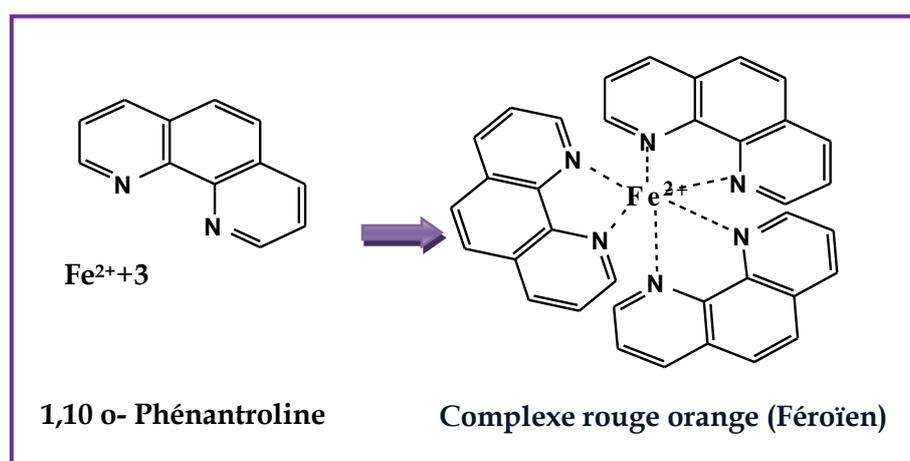


Figure 15. Formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline (Apak et al., 2007).

❖ Procédure

Selon le protocole de **Szydlowska-Czerniaka et al. (2008)**, un volume 10 μl extrait a été ajouté à 50 μl Chlorure ferrique FeCl_3 (0.2%) et 30 μl Phenanthroline (0.5%) puis 110 μl MeOH. Le mélange est laissé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 20 min à 30°C. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). L'absorbance a été mesurée à 510 nm (voir annexe 7).

II.3.6. Activité pouvoir réducteur (FRAP)

❖ Principe

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode de **Oyaizu. (1986)** avec une légère modification. Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance (**Wang et al., 2008**). Le principe de cette méthode consiste à évaluer l'aptitude d'un antioxydant donné à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Philips et al., 2010**).

La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert du fer ferreux. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm (**Karagözler et al., 2008**). L'acide ascorbique et l' α -tocophérol sont utilisés comme standards antioxydants.

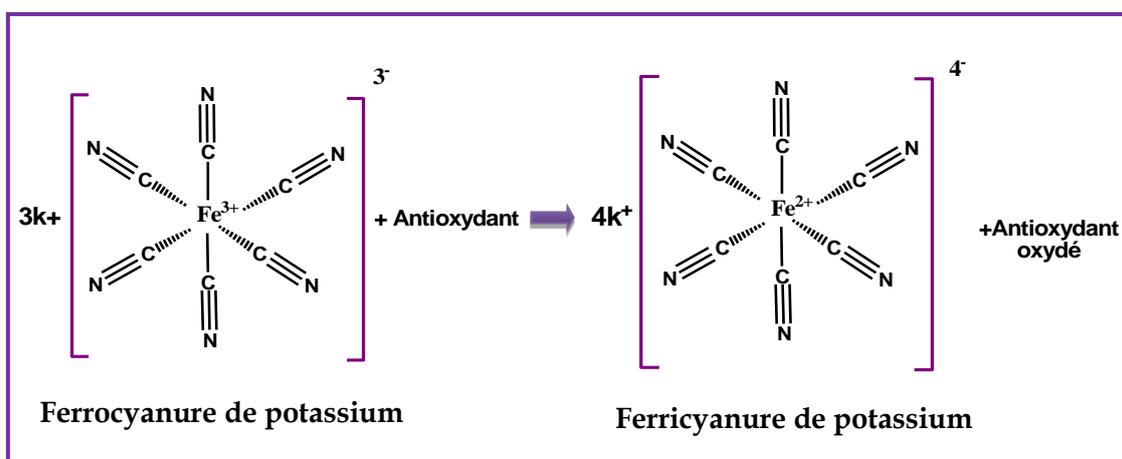


Figure 16 .Mécanisme réactionnel du test Pouvoir réducteur (**Gülçin, 2012**).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par **Oyaizu. (1986)**, un volume de 40 μl du phosphate buffer (pH=6,6) et 50 μl de potassium ferricyanide 1% sont ajoutés à 10 μl des différentes concentrations des extraits. Après 20 min d'incubation à température ambiante de 50°C, 50 μl du tri-chloro acétique acide (TCA) (10%) plus 40 μl d' H_2O et 10 μl de ferriquelchloride sont ajoutés au milieu réactionnel. Le blanc est préparé en

parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'échantillon par le méthanol. Puis l'absorbance est déterminée à 700nm (voir annexe 8).

II.3.7. Activité Silver nanoparticule (SNP) assay

❖ Principe

L'activité métal chélate est déterminée selon la méthode de **Mustafa ozyurek. (2012)**. Elle est basé sur la réduction de l' Ag^+ en nanoparticules d'argent sphérique Ag^0 . Le trolox est utilisé comme standard.

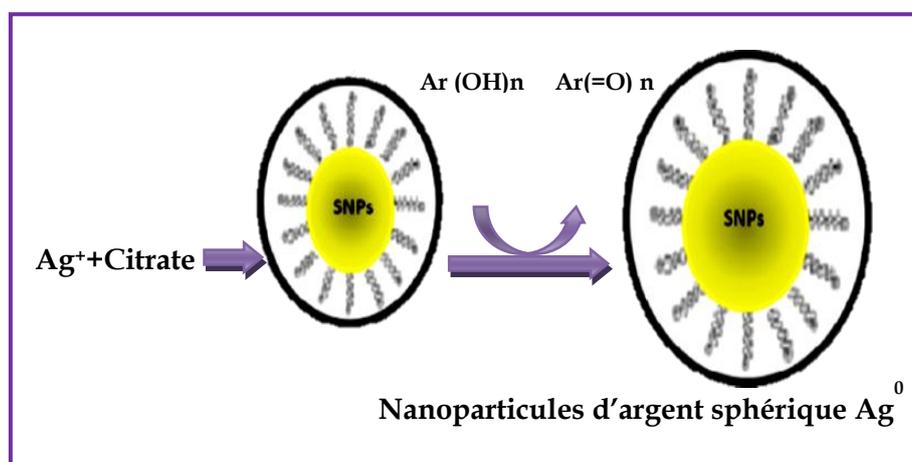


Figure 17. La Réduction de l' Ag^+ en nanoparticules d'argent sphériques Ag^0 (Ozyurek et al.,2012).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par **Mustafa ozyurek. (2012)**, un volume de 10 μ l de chaque extrait avec un volume de 130 μ l solution SNP, et de 50 μ l de H_2O ont été induits dans chaque puits. Ensuite le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30min à 25°C. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). La lecture des absorbances a été mesurée à 423 nm (voir annexe 9).

II.4. Activités enzymatiques

II.4.1. Evaluation l'activité anti cholinestérase (anti Alzheimer *in-vitro*)

❖ Principe

L'activité est déterminée par la méthode d'Ellman *et al.* (1961). L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme responsable d'hydrolyse le substrat d'acétylcholine (ATCI) en acide acétique et thiocholine qui réagit avec DTNB pour donner des produits de réaction coloré en jaune, les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer la métabolisation d'ATCI et diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer. L'intensité de la couleur du produit est mesurée à 412 nm, elle est proportionnelle à l'activité enzymatique. La galantamine a été utilisé comme composé de référence.

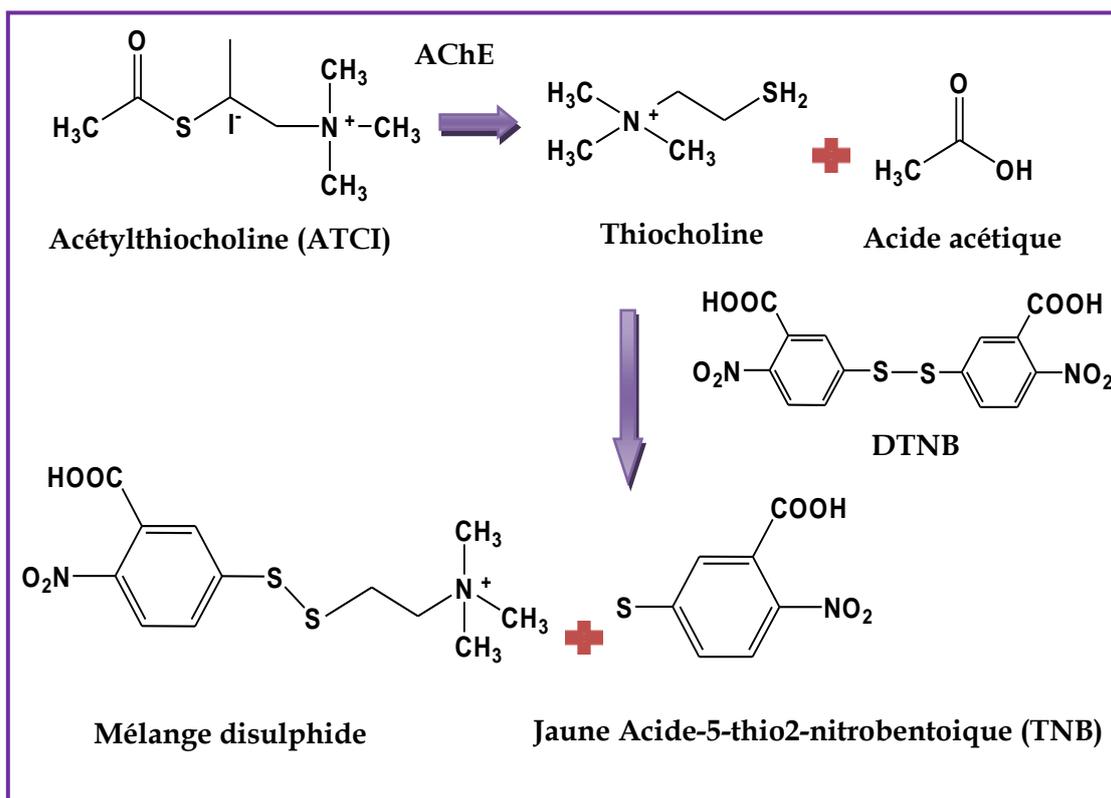


Figure 18. Principe de la réaction d'Ellman *et al.* (1961).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par **Ellman et al. (1961)**, 150 µl de tampon phosphate de sodium (pH=8), 10 µl de solution mère d'extrait avec les différentes concentrations convenables et 20 µl de la solution enzymatique AChE ont été induits dans chaque puits. Après une période d'incubation de 15 min à température ambiante 25°C. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 10 µl de DTNB et 10 µl de substrat ACI (l'iodure d'acétylthiocholine). La lecture se fait à t=0 et t=15 min à 412 nm .

Le contrôle négatif (blanc) a été préparé par le mélange du MeOH et le phosphate buffer (pH 8) (**voir annexe 10**).

- Le pourcentage d'inhibition de l'enzyme d'AChE est déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule suivante :

$$\%INH = (abs E - abs S) / abs E$$

E : L'activité de l'enzyme sans extrait.

S : L'activité de l'enzyme avec l'extrait.

II.4.2. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase

❖ Principe

L'activité inhibitrice de l'α-amylase a été réalisée à l'aide de la méthode iode / iodure de potassium (IKI) (**Zengin et al., 2014**) avec quelques modifications. L'alpha amylase de mammifère, sécrétée par la glande pancréatique et de la salive comme étant une enzyme glycolytique à travers le suc pancréatique dans l'intestin est une enzyme dont le rôle essentiel est d'hydrolyser l'amidon alimentaire. L'inhibition de l'hydrolyse des hydrates de carbone par l'alpha-amylase dans le tractus digestif retardent leurs digestions et prolongent leurs temps causant une réduction dans le taux d'absorption du glucose (**Meghraj et al., 2008**) et par conséquent diminution des niveaux de glucose plasmatique et abaissement de l'hyperglycémie (**Hong et al., 2008**).

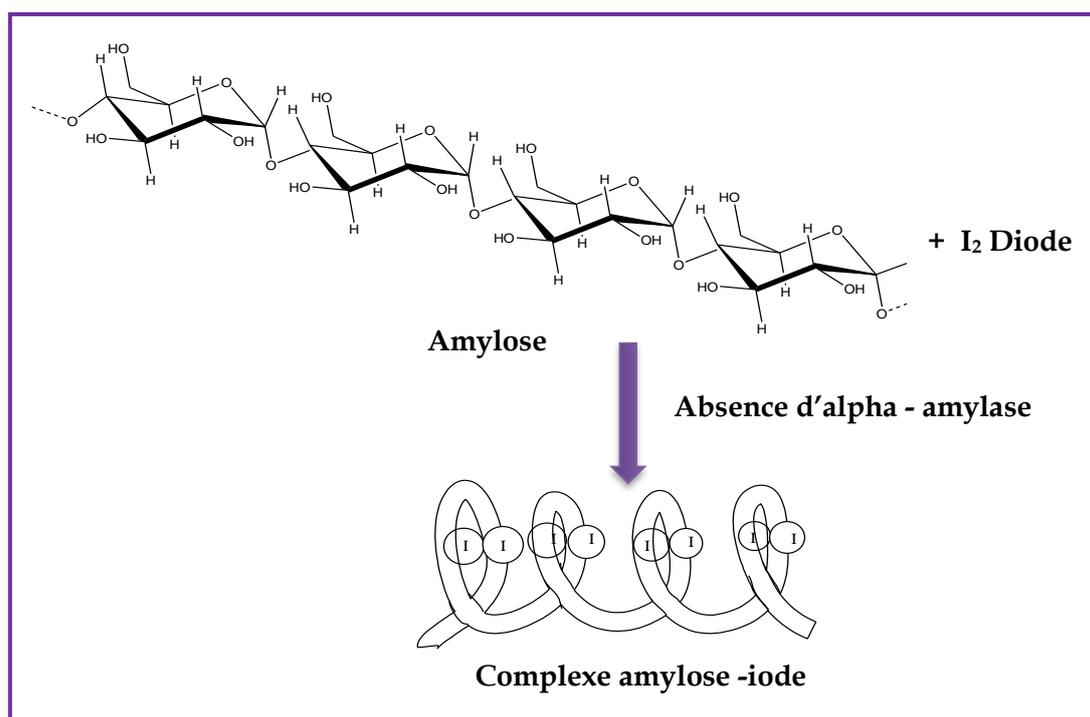


Figure 19. Formation du complexe amylose-iodine en absence de l'alpha -amylase.

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par **Zengin et al. (2014)**, un volume de 25 µl de chaque solution des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 50 µl de solution α-amylase. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 10min à température ambiante 37°C. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 50 µl d'amidon, puis le mélange est laissé à l'obscurité pour une deuxième fois dans les mêmes conditions. La réaction ensuite a été arrêtée par l'addition de 25 µl d'HCl et 100 µl IKI. Parallèlement un contrôle négatif (blanc) est préparé en remplaçant l'extrait par le MeOH. L'absorbance a été mesurée à 630 nm (**voir annexe 11**).

- Le pourcentage d'inhibition de l'alpha-amylase est calculé selon l'équation suivante :

$$\%INH = 1 - [(Ac - Ae) - (As - Ab) / (Ac - Ae)]$$

Ac: Absorbance [Amidon+ IK I+ HCl + Vol de solvant d'extrait + Vol tampon Enzyme].

Ae: Absorbance [Enzyme + Amidon + IKI + HCL+ Vol de solvant d'extrait].

As : Absorbance [Enzyme + Extrait + Amidon + IKI + HCl].

Ab: Absorbance [Extrait + IKI + 125µl de tampon].

II.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in-vitro*

❖ Principe

L'activité anti-inflammatoire *in-vitro* est déterminée par la méthode de **Kandikattu. (2013)** avec de légères modifications. Le principe consiste à inhiber la dénaturation du BSA (bovine sérum albumine), provoqué par la chaleur (72°C) .

❖ Procédure

Une solution BSA de 0,2% (p/v) a été préparée dans une solution saline tampon Tris et le pH a été ajusté à 6,6 en utilisant l'HCl.

À partir des solutions mères, on a préparé cinq concentrations différentes utilisant de l'eau comme solvant. 1ml de chaque extrait ont été transférés dans des tubes. 1ml de BSA à 0,2 % ont été ajoutés à la totalité des tubes. Parallèlement, pour chaque concentration d'extrait un blanc est préparé dans lequel 1 ml d'extrait est ajouté à 1 de Tris-HCl ainsi, un contrôle positif est préparé contient 1 mL de BSA et 1 ml du tampon. Ensuite une double incubation, la première à 37 C° pendant 15 min suivie par une deuxième dans le bain marie à 72 C° pendant 5 min. Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm. Les résultats sont comparés par rapport à un standard qui est le Voltarène (**voir annexe 12**).

❖ Expression des résultats

Le taux d'inhibition de la dénaturation thermique de BSA à 72°C est exprimé par la formule suivante :

$$\%INH = [(Ac - Ae) / Ac]. 100$$

A_c: absorbance du contrôle négatif.

A_e: absorbance de l'échantillon ou standard.

III. Traitement statistique des résultats

Les résultats exprimés en moyenne \pm une erreur standard. Tous les calculs et les valeurs de $CI_{50}/A_{0,5}$ ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par le logiciel EXCELSTAT 2016 sur Windows 7.



*CHAPITRE II: RÉSULTATS
ET DISCUSSIONS*

II. Résultats et discussions

II.1. Rendement d'extraction

Dans cette étude, le rendement a été déterminé par rapport à une masse de 150 g de la poudre végétale (M0). Des différents rendements obtenus, ainsi que les aspects et les couleurs des différents extraits, sont présentés dans le **tableau 6** et **figure 20**.

Tableau 6. Couleur, aspect et masse de chaque extrait de *Laurus nobilis L.*

Type d'extraction	Extraits	Masse (g)	Couleur	Aspect
Solide -liquide	MeOH	32.07g	Couleur miel	Visqueux
Liquide-liquide	EtPe	1.11g	Marron	Pâteux
	EtDi	0.38g	Vert clair	Visqueux
	AcEt	1.33g	Jaune clair	Poudre
	BuOH	1.05g	Marron foncé	Cristallisé
	AQ	12.52g	Marron foncé	Liquide

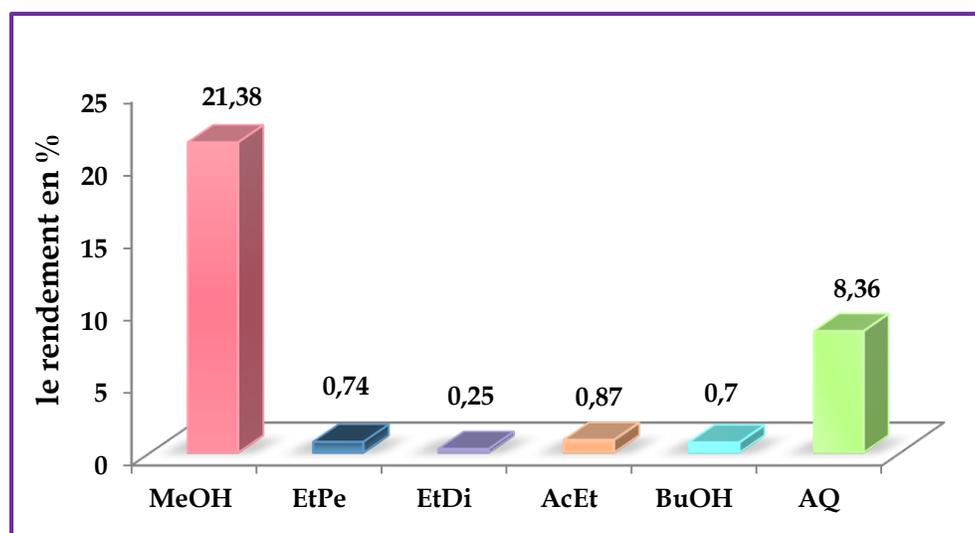


Figure 20. Les Rendements d'extraction des différents extraits.

Les résultats obtenus montrent une variabilité des caractéristiques ; couleur, aspect et les rendements entre les six extraits. L'extrait MeOH représente le rendement le plus élevé 21,38%, suivi par l'extrait AQ 12,52%, suivi par l'extrait AcEt, EtPe et BuOH qui ont les valeurs de 0,88 % ; 0,74% ; 0,70 % respectivement. Alors que l'extrait EtDi possède le rendement le plus bas 0,25%.

➤ Discussion des résultats

La variation du rendement d'extraction peut être expliquée par la différence de solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, à leur degré de polymérisation ou à leur implication dans autres structures moléculaires formant ainsi des complexes insolubles (Cacace et Mazza, 2000), puisque la polarité des solvants utilisés est influencée par la solubilité différentielle des différents composés phénoliques et d'autres métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique et ses fractions (Garciasalas et al., 2010). Mais il y a également d'autres paramètres peuvent attribuer cette différence telle que : le pH et la température du milieu, le temps d'extraction qui est dans notre méthode de macération est très longue 72 heures par rapport à la méthode de décantation...etc (Quy Diem Do et al., 2014).

A titre comparatif, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Ayman et al. (2019), qui ont trouvé à partir de la méthode d'extraction solide et liquide réalisée par macération des feuilles de *Laurus nobilis* L avec le méthanol (80%) un rendement d'extraction faible de l'ordre de (MeOH : 15,49% ; AcEt : 0,88% ; BuOH : 0,33%). Par contre nos résultats MeOH et BuOH sont très faibles par rapport aux résultats d'étude de Humaira et al. (2019) de l'ordre de (MeOH 52% et BuOH 12%).

Donc la comparaison avec d'autres travaux est difficile car le rendement qui est lié à la quantité de métabolites présents dans la plante n'est que relatif et dépend des propriétés génétiques, de l'origine géographique, la durée de stockage, la récolte et de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee et al., 2003).

II.2. L'analyse quantitative des composés phénoliques

II.2.1. Quantification des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux a été déterminée par une méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu (FCR). L'acide gallique est utilisé comme un étalon le résultat obtenu est présenté dans une courbe d'étalonnage (Voir fig.21) dont l'équation : $Y = 0,0034X + 0,1044$ avec $R^2 = 0,9972$.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG / g d'extrait) (Voir Tableau 7).

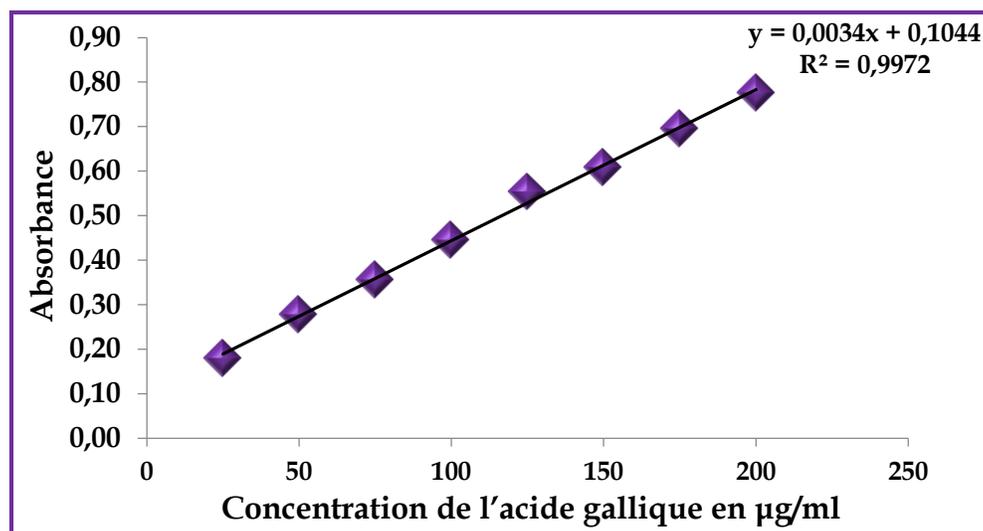


Figure 21. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 7. Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits de laurus.

Extraits	Polyphénols (mg EAG /d'extrait)
MeOH	31,18 ±0,02
EtPe	21,27 ±0,02
EtDi	30,25 ±0,08
AcEt	212,31±0,04
BuOH	102,50 ±0,08
AQ	15,42 ±0,29

Les valeurs représentent la moyenne de 3 répétitions ± SD.

A partir des résultats obtenus (**Voir tableau 7 et figure 23**), nous avons observé qu'il y a une variabilité des teneurs en polyphénols totaux dans nos différents extraits, l'AcEt représente l'extrait le plus riche en polyphénols avec une teneur de 212,31±0,02 mg EAG/g d'extrait, suivi par l'extrait BuOH avec un taux important de 102,50±0,04 mg EAG/g, alors que l'extrait MeOH, EtDi et EtPe présentent presque des teneurs proches en polyphénols (31,18±0,04 ; 30,25±0,08 ; 21,27±0,02) mg EAG/g respectivement, cependant l'extrait AQ représente l'extrait le plus faible en polyphénols avec une teneur de 15,42±0,14 EAG/mg d'extrait.

➤ Discussion des résultats

Cette variation du taux de polyphénols peut être due à la diversité aux différents procédés d'extraction tels que ; le type de solvant, la température et le temps d'extraction (**Popovici et al.,2009**), parce que les polyphénols sont des classes de molécules caractérisées comme l'indique son nom par la présence de plusieurs groupes phénoliques

associe en structures plus au moins complexes, sont solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants moins polaires (Macheix et al.,2005), ainsi les solvants qui ont donnés les teneurs les plus élevées sont l'AcEt et BuOH qu'ils ont une polarité plus élevée.

Dans une étude comparative, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Biljana et Djendji. (2019)**, ayant travaillé sur les extraits AcEt, BuOH et EtDi des feuilles de *Laurus nobilis L* avec la méthode de Folin Ciocalteu. Ils ont relevé des valeurs (4,53 ±0,02 ; 3,96±0,08 ; 2,41±0,04 mg EAG/g) respectivement, donc la teneur en TPC de notre plante est 2 fois supérieur à celle rapportée par leur étude. Cependant, nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Yakhlef et al. (2011)**, ayant obtenus des teneurs en polyphénols des extraits MeOH, AQ et EtPe (166,81±8,69 ; 129,09±7,50 ; 33,18±0,65 mg EAG/g) respectivement. En outre, nos résultats sont relativement similaires avec les résultats de **Fernandes et al. (2015)** (Taux en polyphénols :37,26±2,12 mg EAG/g d'extrait MeOH) et de **Ana et al. (2015)** (Taux en polyphénols :14,37±0,79 mg EAG/g d'extrait AQ).

Ces différences de résultats peuvent être dues à la faible spécificité du réactif de « Folin-Ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique. Il a été montré que le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des compose phénoliques, mais également de certains sucres et protéines (**Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006**).

II .2.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

La quantification des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de **Topçu et al. (2007)**. La quercétine a été utilisé comme un standard, les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**Voir fig.22**) ayant l'équation : $Y= 0,0047x + 0,0165$ avec $R^2 = 0,9978$.

Dont la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent d'acide quercétine par g d'extrait (mg EQ / g) (**Voir Tableau 8**).

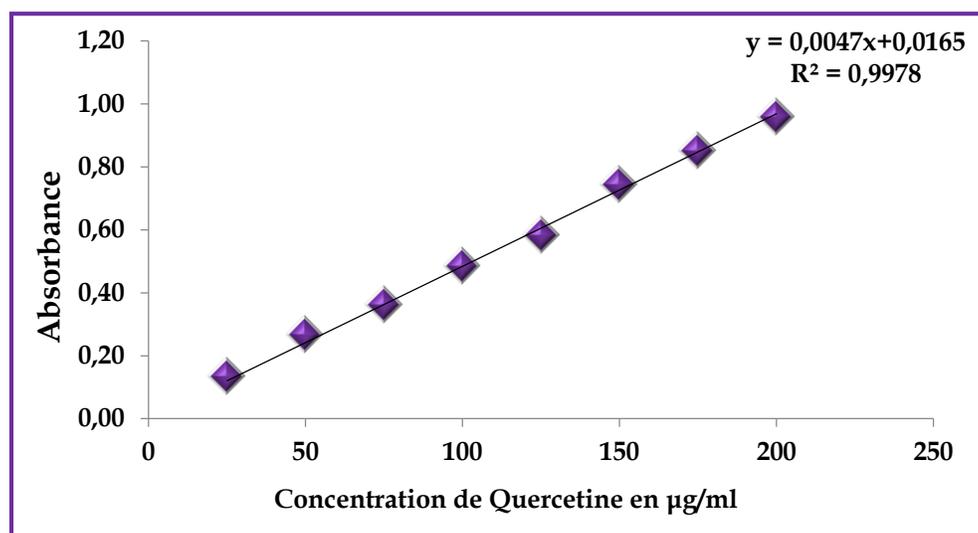


Figure 22. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 8. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux des extraits

Extraits	Flavonoïdes (mg EQ/d'extrait)
MeOH	24,07±0,14
EtPe	14,88 ±0,02
EtDi	17,04±0,04
AcEt	112,04 ±0,02
BuOH	77,43 ±0,04
AQ	7,14±0,08

Les valeurs représentent la moyenne de 3 répétitions ± SD.

D'après nos résultats présentés dans le **tableau 8 et figure 23**, les teneurs en flavonoïdes totaux des feuilles de *Laurus nobilis L* révèlent que l'extrait AcEt est plus riche en flavonoïdes avec une teneur $112,04 \pm 0,02$ mg EQ/g d'extrait, suivi par l'extrait BuOH avec une teneur de $77,43 \pm 0,04$ mg EQ /g d'extrait. Tandis que les extraits MeOH, EtDi et EtPe présentent des teneurs en flavonoïdes moyenne de l'ordre ($24,07 \pm 0,14$; $17,04 \pm 0,04$; $14,88 \pm 0,02$ mg EQ/g) respectivement.

L'exception est soulevée uniquement avec la fraction AQ qui enregistre une faible teneur en flavonoïdes qui ne dépassant pas $7,14 \pm 0,08$ mg EQ/g d'extrait.

➤ Discussion des résultats

Ces différences des teneurs en flavonoïdes entre les extraits peuvent s'expliquer d'une part, par le nombre différent des structures sécrétoires dans les divers tissus végétaux d'autre part, par la sélectivité de chaque solvant utilisé pour le fractionnement, car les flavonoïdes constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques, dont certaines classes sont solubles dans les solvants polaires tandis que, d'autres (les flavonoïdes aglycones) sont solubles dans les solvants apolaires donc on peut dire que *Laurus nobilis L* est riche en flavonoïdes polaires qu'apolaires (**Macheixet al.,2006 ; Kaurinovic et vastag , 2019 ; Gulcin ,2020**).

Les flavonoïdes totaux trouvés dans les extraits AcEt, BuOH et EtDi de notre plante sont beaucoup plus élevée que celles trouvés par **Kaurinovic et vastag. (2019)** sur les feuilles de la même espèce avec des teneurs ($1,56 \pm 0,24$; $1,07 \pm 1,12$; $0,76 \pm 2,14$ mg EQ/g d'extrait).

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

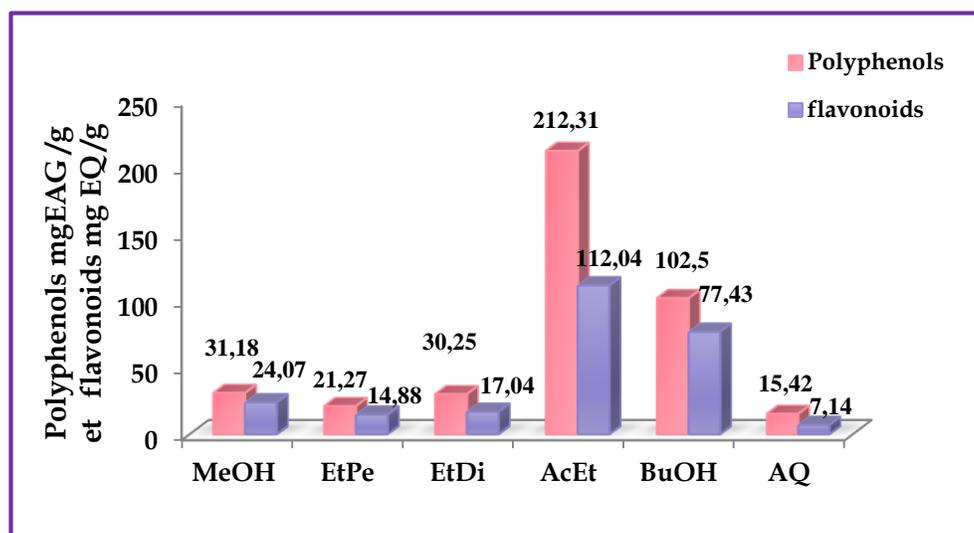


Figure 23. Histogramme représentant les teneur en polyphénols et flavonoïdes des différents extraits.

D'après nos résultats présentés dans la **figure 23**, nous constatons que le classement de TPC et TFC dans ces extraits est comme suit : AcEt > BuOH > MeOH > EtDi > EtPe > AQ.

II .3. Les activités antioxydants *in -vitro*

Le compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, manifeste clairement qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel oxydant d'un échantillon, il faut donc combiner plusieurs testes complémentaire pour pouvoir offrir des résultats cohérents et exhaustifs.

Donc il nous a fallu une combinaison de sept méthodes complémentaires pour évaluer l'activité antioxydante des extraites, méthanolique (MeOH), éther de pétrole (EtPe), éther diéthylique (EtDi), acétate d'éthyle (AcEt), n-butanolique (BuOH) et aqueuse (AQ) de *Laurus nobilis L* basées sur deux mécanismes d'action :

- ☆ Effet du piégeage des radicaux c'est-à-dire les tests mesurant le transfert d'hydrogène vers un radical coloré stable facile à détecter (DPPH•, ABTS•+et Galvinoxyl) ;

☆ Une activité réductrice du fer (Pouvoir réducteur, activité phenanthroline) ,du cuivre (CUPRAC) et du métal chélate Ag^+ (SNP).

II .3.1. Activité antiradicalaire du DPPH

Nos résultats obtenus on permit de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des d'extraits et des standards (voir Fig .24).

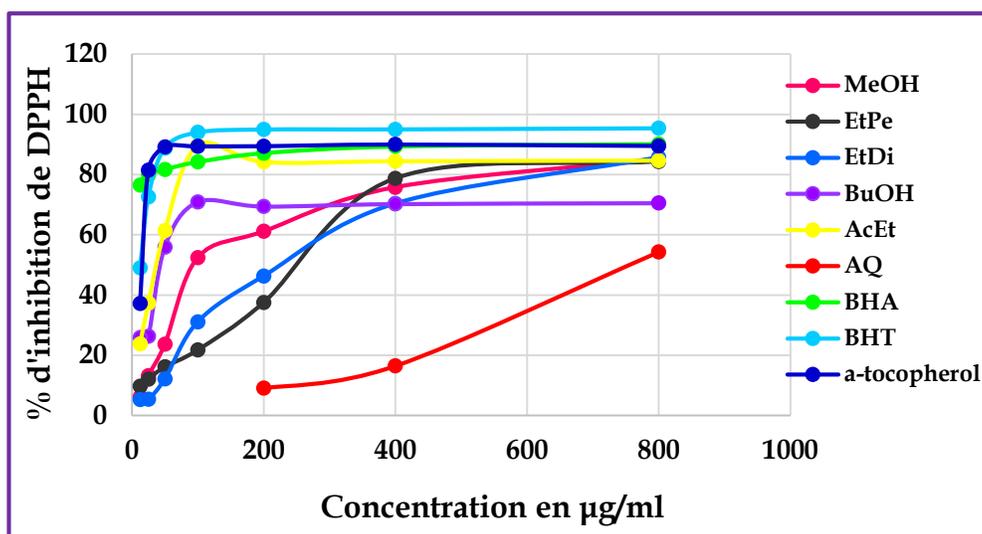


Figure 24. Courbes des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits.

La comparaison de l'activité scavenger du radical DPPH des différents extraits et des standards (BHT, BHA et a- tocophérol) montrent une activité antiradicalaire dose dépendante vis-à-vis du radical DPPH. C'est-à-dire le piégeage des radicaux libres DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits et par conséquent l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

Dans la plage des concentrations de 12,5 - 800 µg /ml, ces extraits montrent des niveaux différents d'activité de réduction des radicaux DPPH• dont à une concentration de 100 µg /ml l'extrait AcEt et l'extrait BuOH ont montré le pourcentage d'inhibition les

plus élevés par rapport aux autres extraits (89,64% et 70,88 %) suivi par Les extraits MeOH, EtDi et EtPe (52,45% ; 31,13% ; 21,79%) respectivement , l'exception est faite pour l'extrait aqueux qui manifeste par une absence de pourcentage d'inhibition par rapport à celle obtenu avec l'ensemble des extraits .

➤ Détermination des CI_{50}

Pour mieux comprendre le pouvoir antioxydant de nos extraits, nous avons déterminé la valeur d' CI_{50} $\mu\text{g} / \text{ml}$ qui est définie comme étant la concentration de l'extrait antioxydant nécessaire pour inhiber et réduit 50% du radical DPPH \bullet . Dont les valeurs d' CI_{50} calculées, nous a permis d'évaluer et comparer l'efficacité des extraits plus la valeur est petite, plus l'activité antioxydant à piéger les radicaux libres est élevée. Les valeurs d' CI_{50} des différents extraits, sont illustrées dans la **figure 25**.

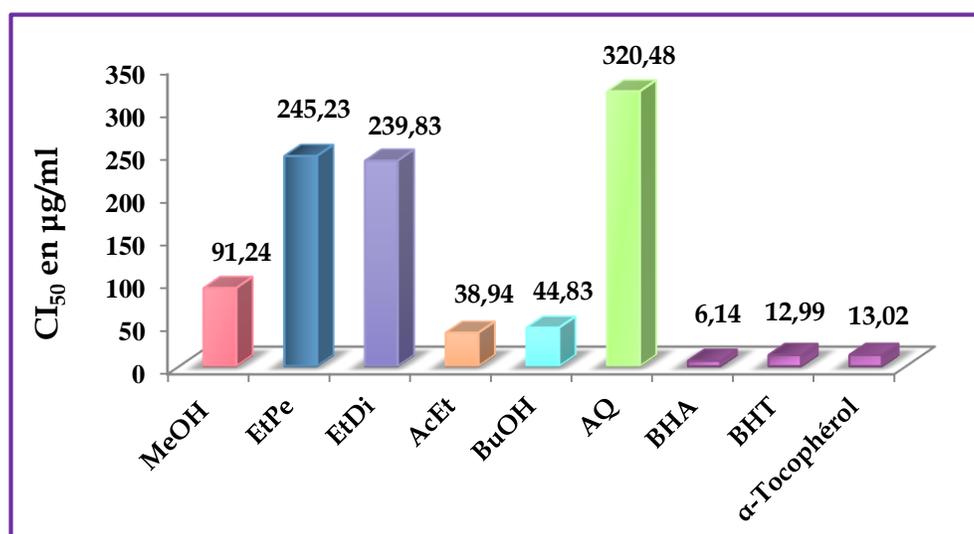


Figure 25. Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test DPPH.

D'après les résultats obtenus par la **figure 25**, on constate que parmi les fractions testées, la fraction AcEt et la fraction BuOH présentent une bonne capacité à piéger le radical DPPH avec des valeurs CI_{50} de l'ordre de $38,94 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{ml}$ et $44,83 \pm 0,33 \mu\text{g}/\text{ml}$,

mais cette activité antiradicalaire elle reste inférieure à celle du BHA, BHT et α -Tocophérol ($CI_{50}=6,14\pm 0,41 \mu\text{g/ml}$; $12,99\pm 0,41 \mu\text{g/ml}$; $13,02\pm 5,17 \mu\text{g/ml}$) respectivement. Suivi par la fraction MeOH ($CI_{50}=91,24\pm 0,82 \mu\text{g/ml}$) qui possède une activité antiradicalaire moins importante par rapport aux standards.

Tandis que, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par les fractions EtDi, EtPe et AQ avec des valeurs CI_{50} plus élevées ($239,83\pm 0,40 \mu\text{g/ml}$; $245,23\pm 0,62 \mu\text{g/ml}$; $320,48\pm 0,01 \mu\text{g/ml}$). Dont le classement de l'activité antiradicalaire de nos extraits est comme suit : AcEt > BuOH > MeOH \geq EtDi > EtPe > AQ.

➤ Discussion des résultats

la forte inactivation des radicaux DPPH par les flavoïdes présents dans les feuilles de laurier pourraient s'expliquer par le degré élevé de corrélation qu'est observé entre la teneur totale en phénol et la capacité de l'extrait AcEt à neutraliser les radicaux DPPH. Ceci est indiqué par le fait que les composés phénoliques jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres qui se produit par le mécanisme du transfert d'hydrogène (Kaurinovic et al., 2019). Ils existent aussi Trois caractéristiques structurelles étaient des facteurs importants du potentiel d'élimination des radicaux ou bien du potentiel antioxydant des flavonoïdes

- ☆ La fonction o-dihydroxy du cycle B, qui sert de cible aux radicaux ;
- ☆ La double liaison 2,3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo, qui est responsable de la délocalisation des électrons du cycle B ;
- ☆ La présence supplémentaire de groupes 3- et 5-hydroxyle pour le potentiel maximal d'élimination des radicaux (Pekkarinen et al., 1999).

Ainsi que Ces résultats obtenus peuvent être mis en relation avec les expériences dans lesquelles la quantité totale des phénols et des flavonoïdes a été déterminée (tableaux 7 et 8), qui montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de laurier contient la plus grande quantité en polyphénols et flavonoïdes.

Nos extraits BuOH, AcEt ont montré une activité antiradicalaire nettement supérieure à celles des extraits BuOH et AcEt obtenus par **Kaurinovic et al. (2019)** sur les feuilles de la même espèce avec des CI_{50} ($181,35 \pm 3,14 \mu\text{g/ml}$; $83,24 \pm 2,22 \mu\text{g/ml}$) respectivement. Alors que notre extrait EtDi a trouvé une faible activité antiradicalaire par rapport à celle obtenu par **Kaurinovic et al. (2019)** avec une valeur d' CI_{50} ($127,38 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$).

II .3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

Les résultats obtenus de ce test, nous ont permis de tracer le graphe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque échantillon et l'histogramme des CI_{50} de chaque extrait (**Figure 26 et figure 27**).

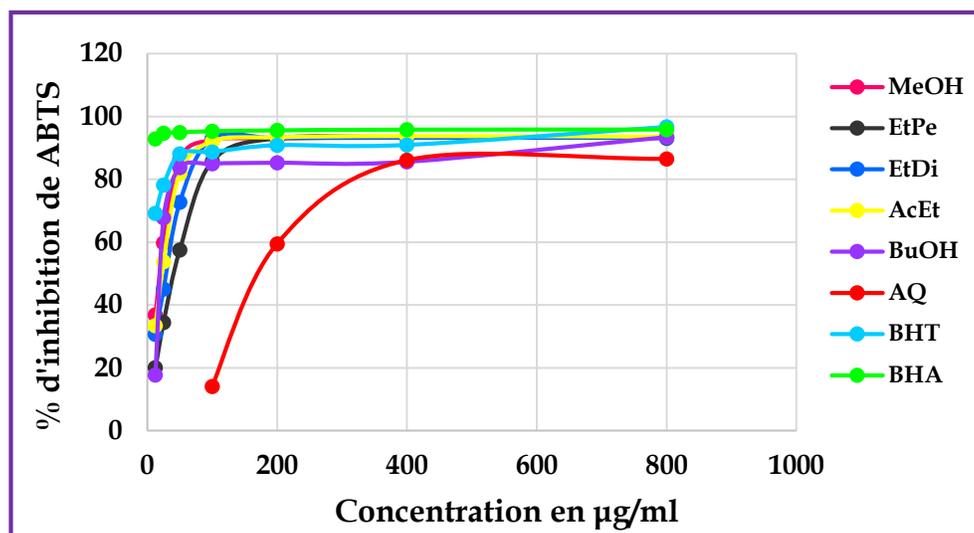


Figure 26. Courbe des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration des six extraits.

D'après la **figure 26** des pourcentages d'inhibitions, nous observons que le taux d'inhibition augmente en fonction de l'augmentation de la concentration utilisée. Les résultats montrent que toutes les fractions étudiées sont dotées d'une activité antioxydante qui varie d'une fraction à une autre, dont l'intensité de cette activité dépend

des différentes concentrations des extraits. A une concentration maximale (800 µg/ml), on constate que tous les extraits (AcEt, BuOH, MeOH, EtDi, EtPe et AQ) représentent une activité antiradicalaire avec des pourcentages d'inhibition proche de l'ordre de (93,41% ; 93,58 % ; 93,44 % ; 93,33% ; et 93,06% ; 86,50%) respectivement.

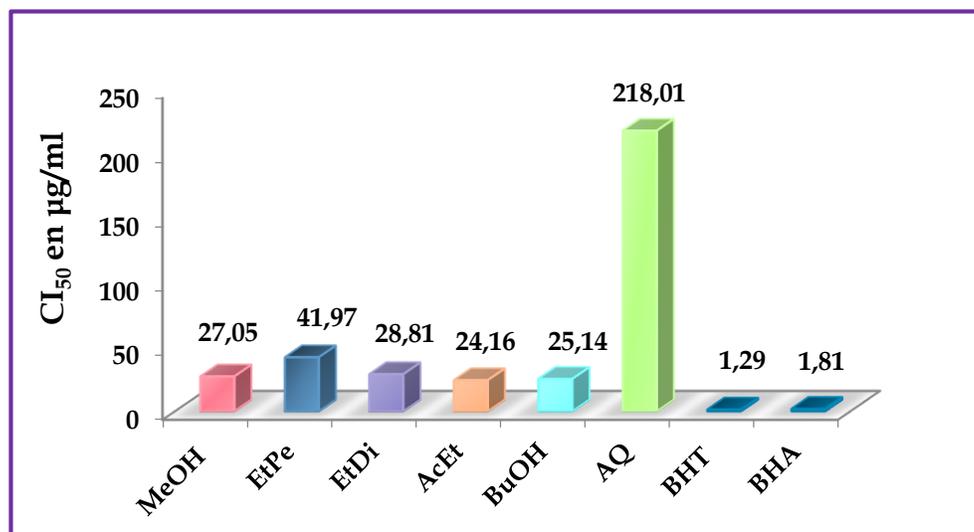


Figure 27. Histogramme représentant les valeurs des CI₅₀ des extraits et standards obtenus par le test ABTS.

Les CI₅₀ des extraits et des standards montre que l'extrait AcEt possède un potentiel de piégeage du radical ABTS⁺ le plus important qui est estimé par une CI₅₀ (24,16±0,38 µg/ml), mais il reste plus faible que l'activité antioxydante du BHA et BHT (1,81±0,10 µg/ml ; 1,29±0,30 µg/ml), alors que les extraits BuOH, MeOH et EtDi exhibent des CI₅₀ de l'ordre (25,14±0,91 µg/ml ; 27,05 µg/ml ; 28,81±0,51 µg/ml respectivement) avec des activités moins puissantes par rapport aux BHA et BHT. Tandis que les extraits EtPe et AQ présentent les plus faibles capacités avec des CI₅₀ de l'ordre (41,97±0,28 µg/ml et 218,01±0,83 µg/ml) par rapport à celles des standards.

Statistiquement, l'analyse comparative entre les différents extraits aboutit aux résultats suivants : AcEt > BuOH > MeOH > EtDi > EtPe > AQ.

➤ Discussion des résultats

La fraction méthanolique, acétate d'éthyle, et butanolique possèdent une bonne activité inhibitrice de radical ABTS⁺ par rapport aux autres extraits cette activité due généralement à sa richesse en composés phénoliques ayant des propriétés redox qui peuvent soutenir l'efficacité de ces composés comme piègeurs des radicaux libres et antioxydants (Baba et Malik, 2015). De plus nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre les quantités des composés phénoliques et l'activité antioxydante (Olfa et al., 2011).

En outre, il devrait être pris en considération que les capacités antioxydantes pourraient être attribuées à la structure chimique des composés présents dans l'extrait brut (Benabdallah et al., 2016).

Le potentiel de la réduction de l'ABTS de notre plante reste plus performant par rapport à certaines activités antioxydantes ABTS relevées dans la littérature obtenue par Brahmi et al. (2015). En outre, Stefano et al. (2009) et Ester et al. (2011) trouvent un potentiel plus important de l'activité antiradicalaire (ABTS⁺•), avec un CI_{50} $0,650 \pm 0,03$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* L.

A la fin, il faut signaler que la variabilité des résultats obtenus pour plusieurs espèces et dans des régions multiples est bien évidemment liée à la différence dans la composition chimique des espèces et à des facteurs saisonniers.

II .3.3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)

Les résultats enregistrés ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et des standards ainsi de calculer les valeurs d' CI_{50} de ces derniers selon la même formule précédemment utilisée pour les activités DPPH et ABTS (Figure 28).

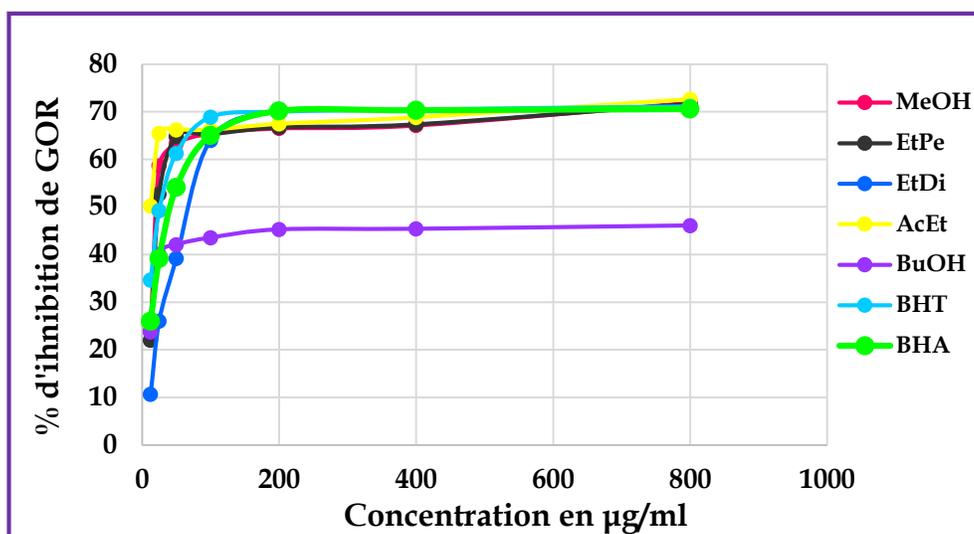


Figure 28. Courbe des pourcentages d'inhibition du radical GOR en fonction de la concentration des six extraits.

Les résultats des pourcentages d'inhibition indiquent que tous les extraits possèdent clairement une activité antiradicalaire sauf l'extrait aqueuse résiduelle. A partir de la représentation graphique et à une concentration de 800 mg/mL (**Figure 28**) nous a permis de déduire le classement des extraits avec leurs pourcentages d'inhibition, qui est de l'ordre de 72,63% pour l'extrait AcEt qui présente le plus grand pouvoir antioxydant par rapport aux autres extraits MeOH, EtPe et EtDi qui ont l'ordre de 71,88 % ,71,68 % et 70,88% respectivement. Pour les extraits BuOH et AQ, le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 46,12 % et 34,60% respectivement.

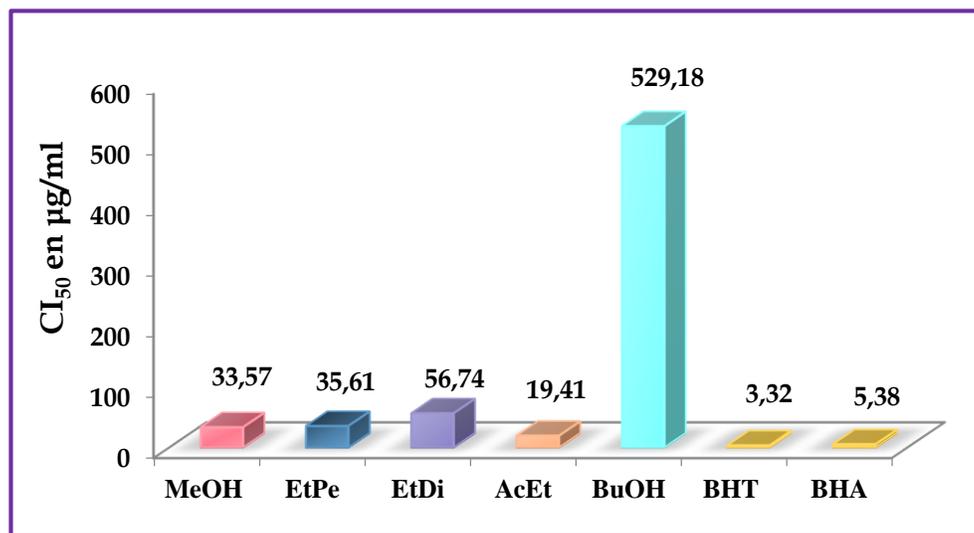


Figure 29. Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test GOR.

L'activité antiradicalaire est confirmée par les faibles valeurs des CI_{50} . Parmi les extraits testés, l'AcEt représente l'extrait le plus actif avec une CI_{50} de l'ordre de $19,41 \pm 0,01$ µg/ml, suivi par le MeOH et l'EtPe avec des CI_{50} ($35,61 \pm 0,01$ et $35,57 \pm 0,03$) µg/ml, suivi par l'EtDi avec une CI_{50} moins importante ($56,74 \pm 0,05$). Tandis que, le BuOH a enregistré l'activité la plus faible avec une CI_{50} ($529,18 \pm 0,01$ µg/ml) (voir fig.29). Cependant, l'extrait AQ ne représente aucune activité contre ce radical.

Les résultats du pourcentage d'inhibition et les valeurs CI_{50} ont montré que l'activité antioxydante Galvinoxyl du *Laurus nobilis L* est de l'ordre suivant : AcEt > MeOH > EtPe > EtDi > BuOH.

➤ Discussion des résultats

Cette variabilité d'activité des extraits est due aux types de composés phénoliques contenus d'un extrait à un autre. En effet, il est bien connu que l'antioxydant donneur d'hydrogène réagit rapidement avec le radical Galvinoxyl. Donc on constate que le piégeage de Galvinoxyl est dû à la présence des composés ayant des propriétés antioxyd-

antes connues comme les ; hydroxybenzoïques, hydroxycinnamique et les flavonoïdes en quantité considérable dans les extraits et beaucoup plus dans l'extrait AcEt. (Shahidi et Chandrasekara ,2010).

II .3.4. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)

Les résultats obtenus on permit de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des d'extraits et des standards (figure 30).

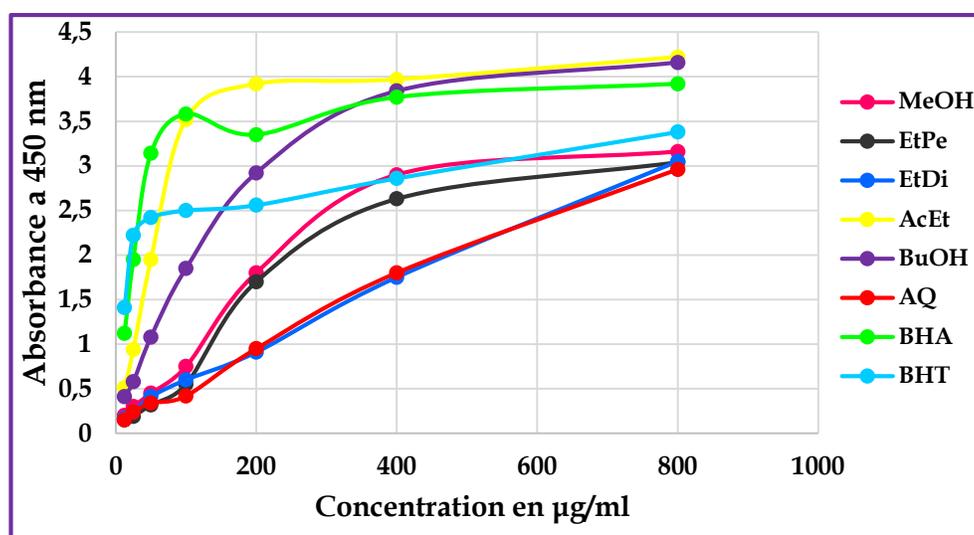


Figure 30. Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits(CUPRAC).

D'après nos résultats présentés dans la **Figure 30** nous observons que l'absorbance augmente en fonction de l'augmentation de la concentration des extraits et des standards, dont plus l'absorbance est élevée, plus la capacité réductrice est intéressante. Dans une concentration 800 µg/ml on observe que la fraction AcEt possède une excellente activité inhibitrice du complexe cuivre-néocuproïne avec une densité optique plus élevée ($4,22 \pm 0,03$ nm), suivi par la fraction BuOH ($4,16 \pm 0,07$ nm) puis par les extraits MeOH, EtDi et EtPe avec des absorbances atteignant jusqu' ($3,16 \pm 0,75$ nm), ($3,05 \pm 0,09$ nm) et ($3,04 \pm 0,56$ nm) respectivement. Tandis que, une faible activité inhibitrice a été enregistrée avec la fraction AQ ($2,96 \pm 0,41$ nm).

➤ Détermination des $A_{0.5}$

Les valeurs $A_{0.5}$ (la concentration qui correspond à 0.5 d'absorption) sont déterminées graphiquement à partir des droites de régression linéaire des absorbances en fonction des concentrations afin de pouvoir évaluer l'activité des extraits vis-à-vis des standards. Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme ci-dessus :

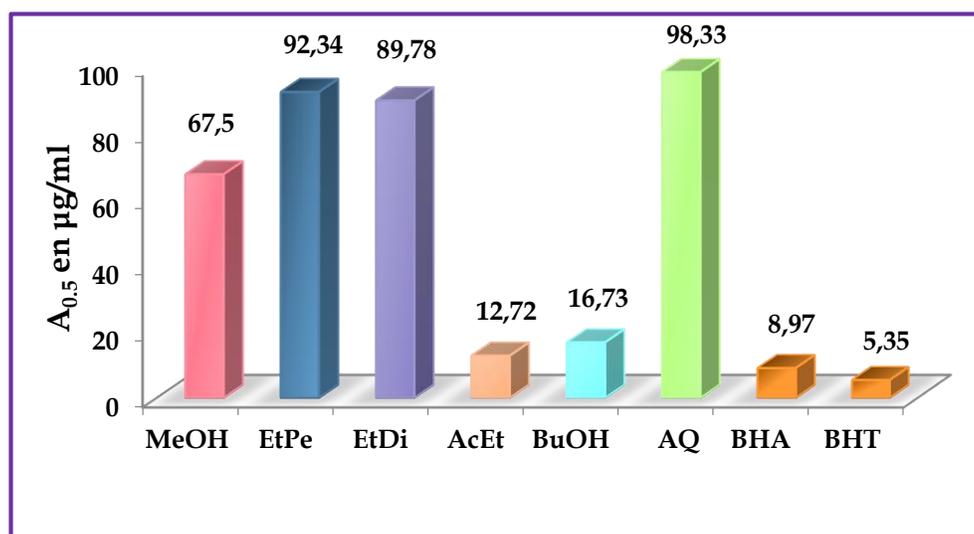


Figure 31. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0.5}$ des extraits et standards obtenus par le test CUPRAC.

D'après la **figure 31**, les extraits AcEt et BuOH présentent une meilleure activité réductrice du cuivre ($A_{0.5}=12,72\pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ et $16,73\pm 0,02\mu\text{g/ml}$) qui est presque comparable aux antioxydants de synthèse BHA et BHT ($A_{0.5} = 5,35\pm 0,71$ et $8,97\pm 3,94 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Alors que les extraits MeOH, EtDi, EtPe et AQ présentait des faibles activités réductrices du complexe cuivre-néocuproïne avec des $A_{0.5}$ de l'ordre de ($67,50\pm 0,14$; $89,78\pm 0,04$; $92,24\pm 0,03$; $93,33\pm 0,11 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Donc l'efficacité de la réduction cuprique des six extraits est de l'ordre de : AcEt > BuOH > MeOH \geq EtDi > EtPe > AQ.

➤ Discussion des résultats

Cette différence d'activité vis-à-vis au complexe cuivre-néocuproïne pourraient s'expliquer par plusieurs critères qui caractérisent la structure des composés phénoliques (les flavonoïdes particulièrement) tel que; le nombre et la position (positions 3', 4' et 5') de groupements hydroxyles (OH) dont l'activité réductrice de cuivre augmente avec l'augmentation de nombre de ces groupements, aussi bien que le degré de conjugaison de la molécule entière (double liaison C2-C3), le groupe carbonyle en position 4 (oxo) et la structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui sont importants pour le transfert facile d'électrons (Apak et al., 2004).

Ainsi que le degré de glycosylation des flavonoïdes influence le pouvoir antioxydant en le diminuant de manière significative puisque les flavonoïdes diglycosylées ou trisglycosylées ont des activités inférieures à celles des flavonoïdes monoglycosylées. Par exemple, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine (Cai et al., 2000). On peut dire que les extrait AcEt et BuOH présentent la plus fort activité antioxydante ce qui en rapport avec forte concentration en polyphénols.

Notre extrait AQ a révélé une activité réductrice de cuivre inférieure à celle obtenue par Gulcin et al. (2019) sur l'espèce *cinnamomum verum* qui est une espèce de la même famille que *Laurus nobilis L* (famille de lauracées), avec une valeur $A_{0.5}$ ($30 \pm 2,12 \mu\text{g/ml}$). Par ailleurs, une autre étude réalisée par Jose et Anilkumar. (2018) sur l'espèce *Litsea quinqueflora* (famille de lauracées), a donné une activité réductrice du complexe cuivre-néocuproïne avec une $A_{0.5}$ supérieure à celle de notre extrait MeOH ($29,81 \pm 1,56 \mu\text{g/ml}$).

II .3.5. Activité -Phenanthroline

Les résultats obtenus on permit de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des d'extraits et des standards et l'histogramme des concentrations réductrices ($A_{0.5}$) (figure 32 et figure 33).

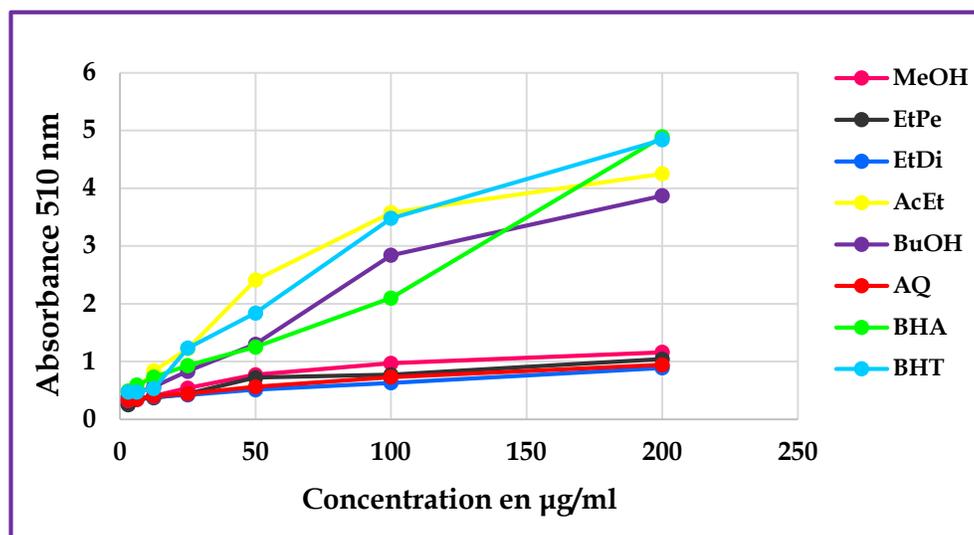


Figure 32. Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des extraits phenoltranline

A partir de l'analyse statistique des résultats, on a trouvé que tous les extraits présentent une capacité réductrice de fer ferrique (Fe^{3+}) dose dépendante. A une concentration 200 mg/ml, l'extrait AcEt possède une excellente activité réductrice de fer ferrique (Fe^{3+}) avec une absorbance maximale de l'ordre de ($4,25 \pm 0,15$ nm) suivi par l'extrait BuOH ($3,87 \pm 0,03$ nm), puis les extraits MeOH et EtPe avec des absorbances atteignant jusqu'à $1,16 \pm 0,05$ nm ; $1,04 \pm 0,02$ nm respectivement à la même concentration. Cependant que les deux extraits AQ et EtDi manifestent par des faibles absorbances $0,94 \pm 0,01$ nm et $0,89 \pm 0,07$ nm respectivement

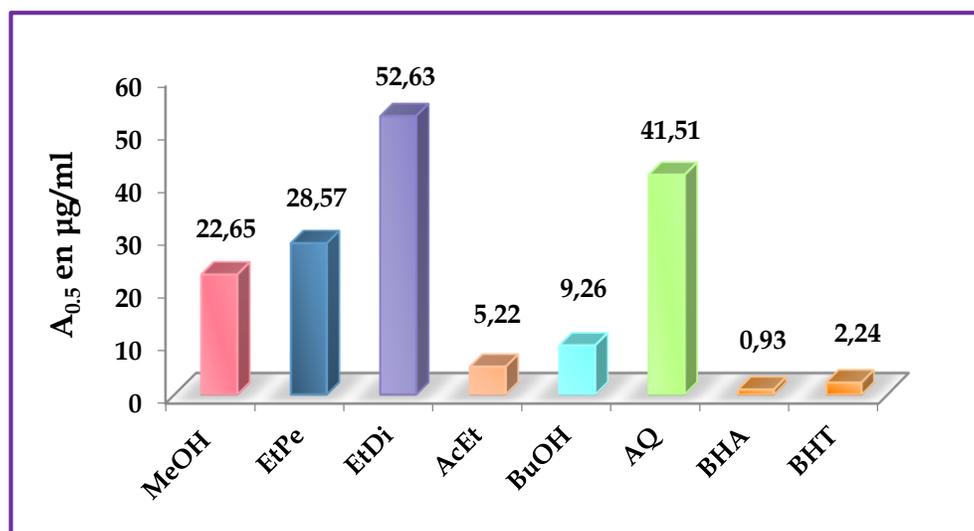


Figure 33. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0,5}$ des extraits et standards obtenus par le test phenanthroline.

D'après les résultats représentés dans l'histogramme illustré au-dessus, on constate que l'extrait AcEt exhibent une meilleure activité réductrice du (Fe^{3+}) ($A_{0,5} = 5,22 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$), suivi par le BuOH avec ($A_{0,5} = 9,26 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$).

Concernant les extraits MeOH et EtPe indiquent une activité réductrice du (Fe^{3+}) moyenne par rapport aux deux fractions précédentes avec ($A_{0,5} = 22,65 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$) et ($A_{0,5} = 28,57 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Alors que les extraits AQ et EtDi manifestent un pouvoir réducteur le Plus faible par rapport aux autres extraits ($A_{0,5} = 41,51 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ et $52,63 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$).

Tous les extraits ont montré une faible activité réductrice de (Fe^{3+}) par rapport au BHA et BHT en tant que contrôle positif. Ceci dû à la pureté des standards utilisés mais cela n'empêche pas qu'un certain nombre d'extraits sont très actifs après le BHA et le BHT, dont l'efficacité de la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) des six extraits est de l'ordre suivant : $\text{AcEt} > \text{BuOH} > \text{MeOH} > \text{EtPe} > \text{AQ} > \text{EtDi}$.

➤ Discussion des résultats

Cette différence du pouvoir réducteur vis-à-vis au complexe Fe^{+2} -phenanthroline est due à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants qui dépend du degré d'hydroxylation et du degré de conjugaison, spécifiquement pour les flavonoïdes qui sont capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en Fe^{+2} , donc une augmentation de la formation des complexes ferroïne. C'est pour ça que les deux extraits AcEt et BuOH des feuilles de laurier présentent une excellente activité réductrice de fer, grâce à leurs quantités importantes en contenu phénolique total et flavonoïde total (Pulido et al., 2000).

II .3.6. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Les valeurs des absorbances des extraits sont illustrées dans la courbe de la figure, et les concentrations réductrices ($A_{0.5}$) des extraits et du standard sont présentés graphiquement par un histogramme (figure 34 et figure 35).

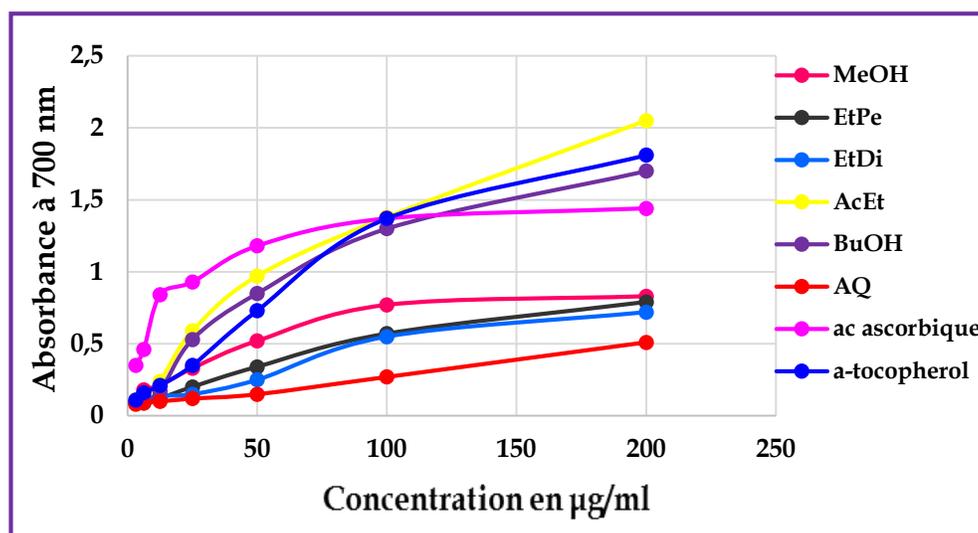


Figure 34. Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des extraits (FRAP).

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

On a constaté à une concentration finale de 200 mg/mL que les extraits AcEt et BuOH ont exprimés un pouvoir réducteur très élevé par rapport aux autres extraits avec une absorbance maximale de $2,05 \pm 0,42$ nm et $1,70 \pm 0,38$ nm respectivement, suivi par l'extrait MeOH qui montre une efficacité réductrice moyenne par rapport aux deux fractions précédentes avec une absorbance maximale de l'ordre de $0,83 \pm 0,06$ nm à la même dose. Tandis que, les extraits EtPe, EtDi et AQ ont respectivement le pouvoir réducteur le plus faible de tous les extraits avec des absorbances maximales égale à $0,79 \pm 0,01$; $0,72 \pm 0,08$ et $0,51 \pm 0,08$ nm.

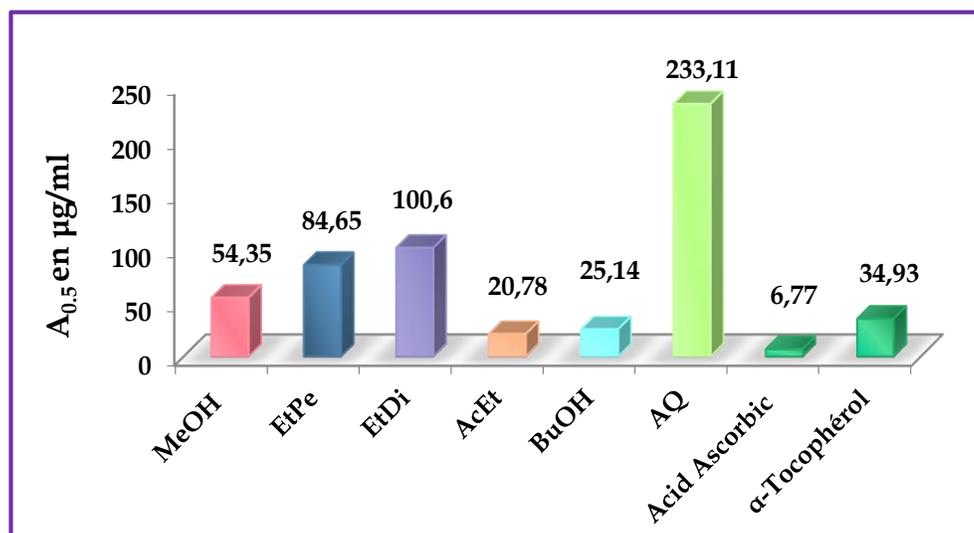


Figure 35. Histogramme représentant les valeurs des $A_{0.5}$ des extraits et standards obtenus par le test (FRAP).

La comparaison entre les standards (acide ascorbique et alpha-tocophérol) et les différents extraits indique que les extraits AcEt et BuOH exhibent une très bonne activité réductrice ($A_{0,5} = 20,78 \pm 0,08$ et $25,14 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement), elle est supérieure à celle de l'alpha-tocophérol ($A_{0,5} = 34,93 \pm 2,38$ $\mu\text{g/ml}$) mais relativement plus faible par rapport à l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 6,77 \pm 1,15$ $\mu\text{g/ml}$).

Concernant l'extrait MeOH, EtPe, et EtDi manifestent un potentiel réducteur ($A_{0,5} = 54,35 \pm 0,07$, $84,65 \pm 0,02$, et $100,60 \pm 0,20$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement), elle est faible par rapport aux deux fractions précédentes et plus faible à celui de l'acide ascorbique qu'à celui de l'alpha-tocophérol. Tandis que l'extrait AQ représente l'échantillon le plus faible en matière de réduction de l'ion Fe^{3+} par rapport aux standards et aux extraits ($A_{0,5} = 233,11 \pm 0,12$ $\mu\text{g/ml}$).

Le classement de l'activité FRAP des extraits est comme suit : AcEt > BuOH > MeOH > EtPe > EtDi > AQ. Plus l' $A_{0,5}$ est petit, plus la réaction est intense, plus l'échantillon est actif vis-à-vis l'oxydation.

➤ Discussion des résultats

Les extraits AcEt et BuOH possèdent la plus grande activité pour réduire le Fer (Fe^{3+}), par rapport aux autres extraits. Cette activité est probablement dû à sa richesse en composés phénoliques et leurs classes individuelles (les acides phénoliques, flavonoïdes, tannins hydrolysables et tannins condensés, et les sucres libres.) qui comportant des groupements hydroxyles peuvent servir comme donneur d'électron (Siddhuraju et Becker, 2007), et pouvant réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits plus stables, mettant ainsi fin aux réactions en chaîne des radicaux libres (Yen et Chen, 1995). Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dépendant de leur concentration, plus que l'extrait est riche en composés phénolique, plus qu'il a un pouvoir réducteur élevé (Amarowicz et al., 2004).

Parmi les travaux réalisés sur l'activité FRAP, l'étude de **Rafaela et al. (2013)** sur l'extrait méthanolique de la même espèce a révélé une activité FRAP inférieure par rapport à nos résultats avec une $A_{0.5}$ de $294,90 \pm 10,97 \mu\text{g/ml}$. Par ailleurs, lors d'une autre étude réalisée par **Brahmi et al. (2015)** sur l'extrait méthanolique de la plante *Laurus nobilis* L, l'auteur a enregistré un pouvoir réducteur supérieur à celui de notre étude avec une $A_{0.5}$ de $6,99 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$. Cette différence pourrait être expliquée par les possibles fluctuations qu'on peut observer dans la composition qualitative et quantitative d'une même plante (**Rice- Evans et al., 1996 ; Bahorun et al., 2004**).

II .3.7. Activité Silver nanoparticle (SNP) assay

Nos résultats obtenus ont permis de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des extraits et des standards, et l'histogramme des concentrations réductrices ($A_{0.5}$) (**figure 36 et figure 37**).

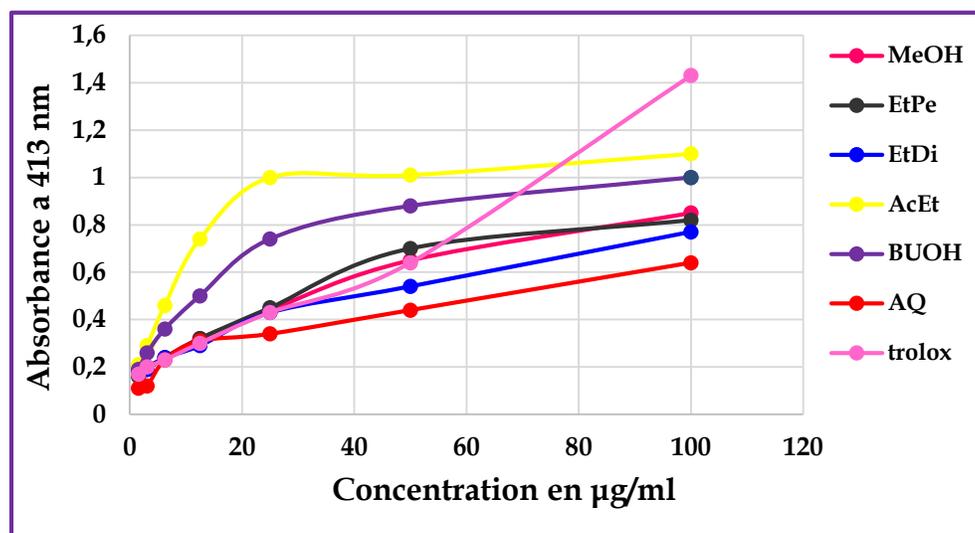


Figure 36. Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits (SNP).

A partir de l'analyse statistique de ces résultats, on a révélé une proportionnalité entre les absorbances des extraits et leur concentration, plus l'absorbance est élevée, plus la capacité réductrice est importante.

En effet, à une concentration 100 µg/ml on remarque que les fractions AcEt et BuOH ont exprimées une meilleure capacité réductrice des ion Ag⁺ avec une densité optique plus élevée (1,10±0,18nm ; 1,00±0,01nm) suivi par l'extrait MeOH, qui montre une efficacité réductrice moyenne par rapport aux deux fractions précédentes avec une absorbance maximale de l'ordre de (0,85±0,01nm) à la même concentration. Tandis que, les fractions EtPe et EtDi et AQ possèdent une capacité réductrice des ion Ag⁺ la plus faible avec des absorbances 0,82±0,06 nm ; 0,77±0,02 nm et 0,64±0,05 nm respectivement.

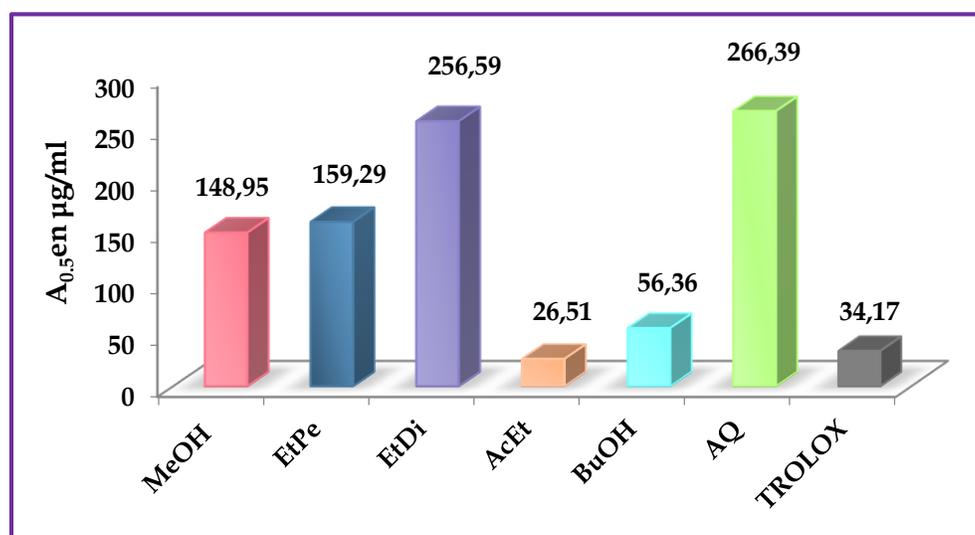


Figure 37. Histogramme représentant les valeurs des A_{0,5} des extraits et standards obtenus par le test SNP.

A partir de ces résultats, on constate que la fraction AcEt est la plus active avec une (A_{0,5}=26,51±0,26µg/ml) supérieure à celle du trolox, suivie par la fraction BuOH qui montre une activité réductrice des ion Ag⁺ avec (A_{0,5}=56,36±1,18µg/ml) qui est légèrement faible à celle de trolox (A_{0,5}=34,17±1,23 µg/ml).

Concernant, les extrait MeOH, EtPe, EtDi et AQ ont une capacité réductrice des ion Ag⁺ très faible comparativement aux standards et aux extraits précédents, avec ($A_{0.5}$ =148,95±0,82, 159 ; 29± 0,25 ; 256,39±0,38 ; 266,39±0,28 µg/ml) respectivement.

Statistiquement, l'analyse comparative entre les différents extraits à aboutit aux résultats suivants : AcEt> >BuOH>MeOH>EtPe >EtDi>AQ.

➤ Discussion des résultats

Cette variabilité d'activité des extraits est due à la présence des composés phénoliques comportant des groupements hydroxyles qui peuvent servir comme donneur d'électron, alors ils peuvent montrer un lien direct entre la présence de composés phénoliques et la capacité réductrice. En fait, certains chercheurs ont mis l'accent sur un lien étroit entre les composés phénoliques (c'est-à-dire les flavonoïdes, les phénols simples et les acides hydroxycinnamiques) et les capacités réductrices ion Ag⁺ (Ozyurek et al.,2012).

II .3.8.La Comparaison entre les différents tests antioxydants.

L'évaluer du potentiel antioxydant des extraits dans les différents tests antioxydants, est représentée dans l'histogramme (voir fig.38).

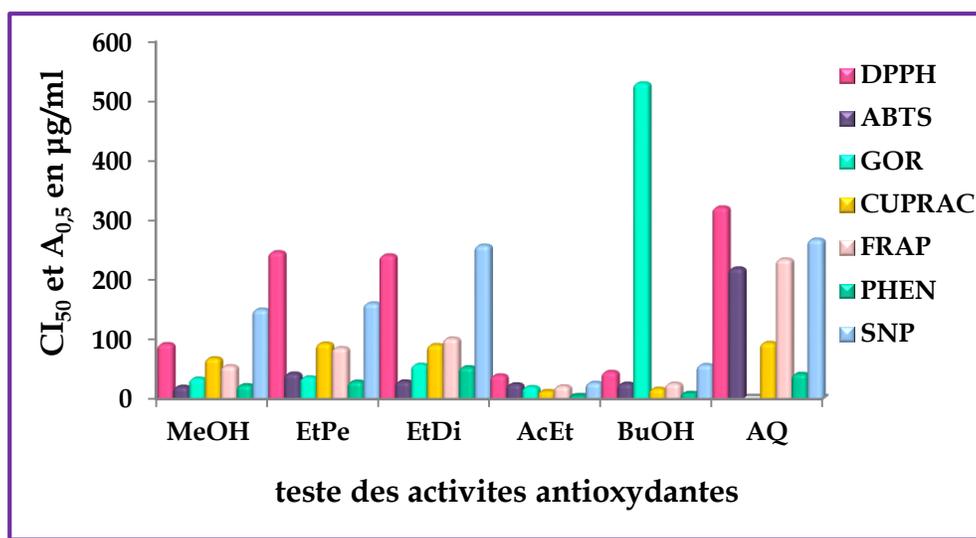


Figure 38. Histogramme représentant la Comparaison entre les différents tests antioxydants des extraits.

La comparaison de la capacité antioxydante des différents échantillons, testés par les sept activités (DPPH, ABTS, GOR, CUPRAC, Pouvoir réducteur, Phenanthroline et SNP), a montré que les extraits AcEt, BuOH, et MeOH étaient les fractions les plus actives dans la plupart des tests, suivies par les extraits EtPe, EtDi et AQ qui ont une activité antioxydante faible à très faible pour les tests utilisés.

La corrélation entre les méthodes étudiées et la bonne pratique expérimentale est confirmée par l'ordre d'efficacité des extraits étudiés les sept méthodes suivantes :

MeOH : ABTS > PHEN > GOR > FRAP > CUPRAC > DPPH > SNP.

EtPe: PHEN > GOR > ABTS > FRAP > CUPRAC > SNP > DPPH.

EtDi: PHEN > GOR > ABTS > FRAP > CUPRAC > DPPH > SNP.

AcEt: PHEN > CUPRAC > GOR > FRAP > ABTS > SNP > DPPH. BuOH: PHEN > CUPRAC > (FRAP=ABTS) > DPPH > SNP > GOR.

➤ Discussion des résultats

Les résultats issus des différents tests utilisés pour évaluer l'activité antioxydante ont révélé que les extraits d'acétate et l'extrait butanolique ont exprimé une forte activité antioxydante comparativement aux autres extraits. Cela reviendrait peut-être à la complexité chimique de l'extrait, la nature, le type des composants photochimiques, la polarité du solvant d'extraction et à l'origine des activités biologiques de chaque extrait ou fraction, et aussi aux interactions intermoléculaires des différentes fractions susceptibles de réduire l'effet antioxydant total et la quantité des polyphénols de chaque extrait. Ce constat a été confirmé par les résultats précédents du dosage des polyphénols et des flavonoïdes qui ont montrés que l'AcEt, et le BuOH contient une teneur élevée en flavonoïdes et polyphénols, rapport aux autres extraits.

Par conséquent, on peut déduire que l'activité antioxydante est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes (Mariod et al., 2009).

II .4. Activité enzymatique

II .4.1. Evaluation de l'activité anticholinestérase

Les valeurs de l'absorbance obtenues ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition et la concentration inhibitrice (CI_{50}) des différents extraits selon la même formule précédemment utilisée pour les activités (figure 39 et figure 40).

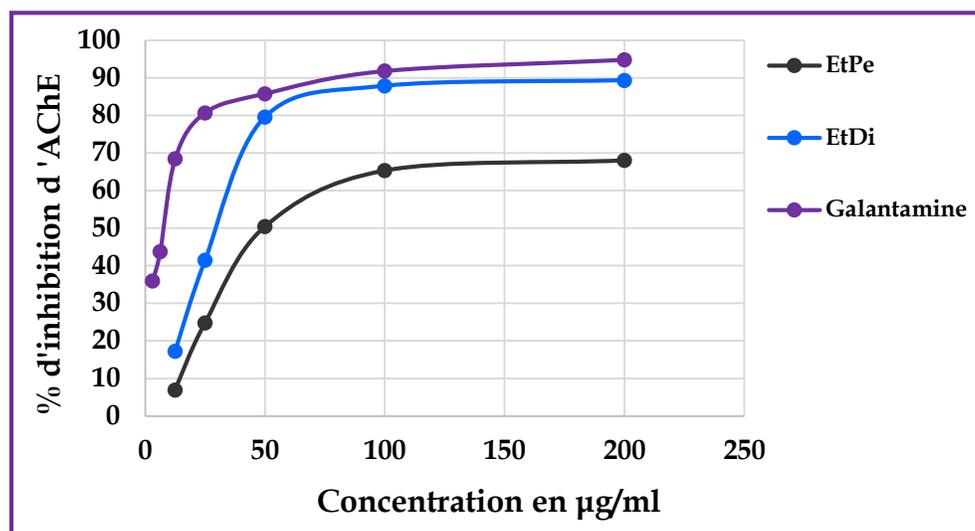


Figure 39. Courbes des pourcentages d'inhibition du test anti- AChE par différents extraits.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique (AChE) pour les extraits et le standard est proportionnel à la concentration. D'après les résultats mentionnés dans la courbe ci-dessus, on constate que les extraits MeOH, AcEt, BuOH, et AQ n'ont aucun effet inhibiteur sur l'enzyme acétylcholinestérase, cependant, les extraits EtDi et EtPe semble avoir une activité inhibitrice à une concentration de 100 et 200 µg/ml avec des pourcentages d'inhibitions de 89,33% et 68,02% respectivement.

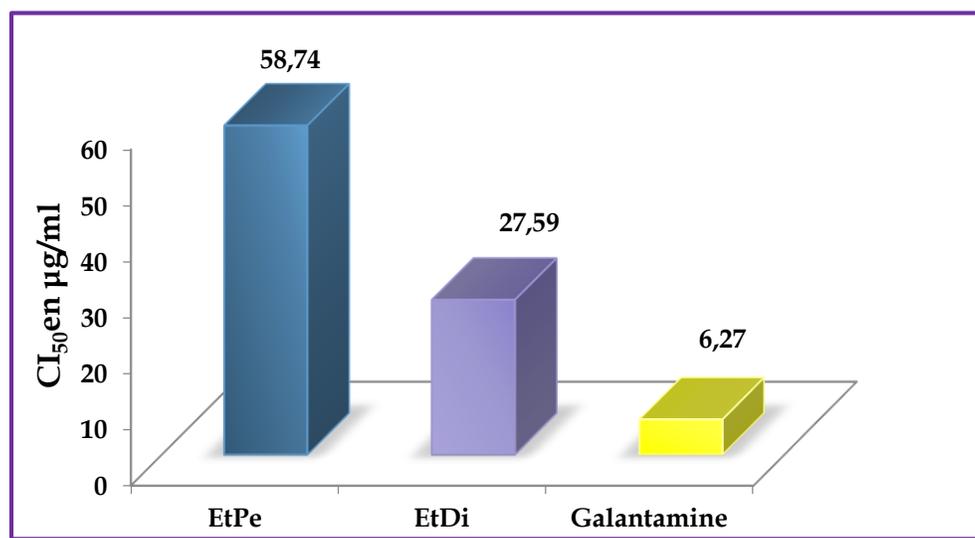


Figure 40. Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des extraits et standard obtenus par le test anti- AChE.

Dans ce test, nous avons testé les six extraits de *Laurus nobilis L*, mais seulement les extraits EtDi et EtPe qui montrent une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase avec CI_{50} de l'ordre de $27,59 \pm 0,02$ et $58,74 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement, cependant, cette activité reste moins importante que celle présentée par la galanthamine avec une CI_{50} de $6,27 \pm 1,15$ $\mu\text{g/ml}$.

➤ Discussion des résultats

Des études ont prouvé que plusieurs composés bioactifs que les alcaloïdes, présentent une grande capacité d'inhiber l'enzyme AChE, tels que ; les terpénoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes et les iso-coumarines (Houghton et al., 2006).

Malgré que, la recherche antérieure de notre plante a montré l'existence de différents composés bioactifs, avec un taux beaucoup plus élevé dans les extraits polaire (AcEt, BuOH), mais ces derniers n'ont pas présenté une activité inhibitrice vis-à-vis l'enzyme acétylcholinestérase, donc cela veut dire que, soit ces extraits sont pauvre en certains types de flavonoïdes, soit ces composés bioactifs existent vraiment mais ne possèdent pas une complémentarité avec le site actif.

Cependant, l'extrait EtDi présente une bonne activité inhibitrice d'AChE par rapport au l'extrait EtPe, ceci est dû probablement à l'action du solvant l'éther d'éthy- lique qui permet d'extraire les aglycones (composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes), ayant une structure complémentaire avec le site actif (Markham,1982).

II .4.2. Evaluation de l'activité alpha amylase

Les résultats obtenus on permit de tracer les courbes de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des d'extraits et de standard, et les histogrammes qui représentent l' CI_{50} de chaque extrait (Figure 41 et figure 42).

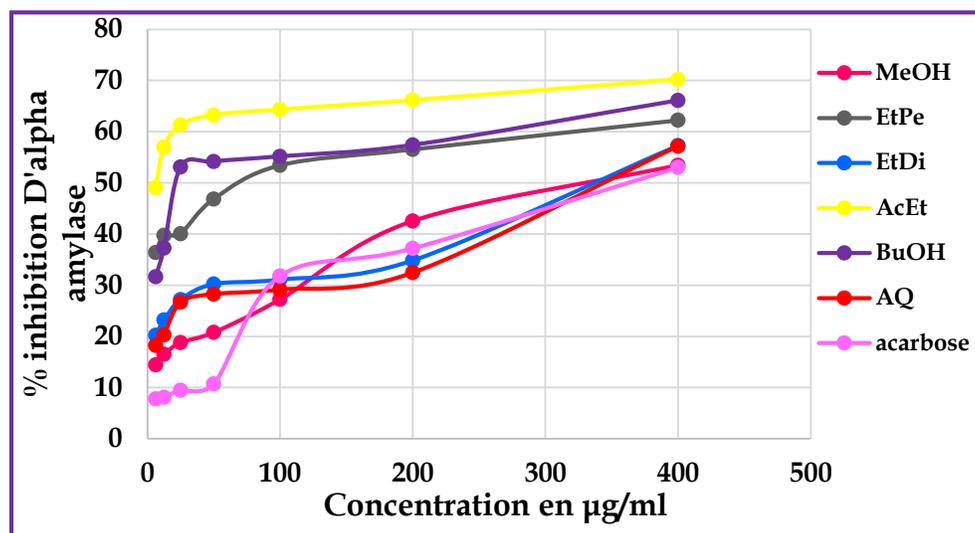


Figure 41. Courbes des pourcentages d'inhibition du test alpha amylase par différents extraits.

Les résultats révèlent que nos extraits (MeOH, EtPe, EtDi, AcEt, BuOH et AQ) possèdent une activité antidiabétique dose dépendante, c'est-à-dire l'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des six extraits et par conséquent l'augmentation de l'activité antidiabétique.

A une concentration 400 mg/ml, l'extrait AcEt a montré le pourcentage d'inhibition d'alpha-amylase le plus élevé par rapport aux autres Extraits (70,22%) suivi par les extraits BuOH et EtPe (66,13% et 62,25 %) respectivement à la même concentration. Tandis que, les extraits EtDi, AQ et MeOH ont enregistré un faible pourcentage inhibition d'alpha amylase de l'ordre (57,30% ; 57,16% ; 53,44 %).

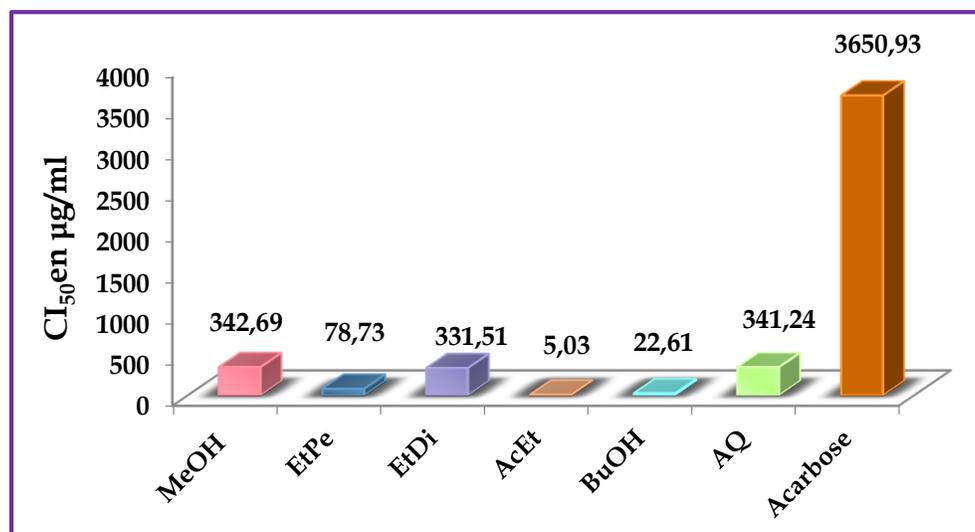


Figure 42. Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des extraits et standards obtenus par le test alpha amylase.

D'après les résultats obtenus, l'extrait AcEt exerce le plus grand effet inhibiteur sur l' α -amylase, avec CI_{50} égal $5,03 \pm 3,72$ $\mu\text{g/ml}$, suivi par les extraits BuOH et EtPe avec des CI_{50} égal ($22,61 \pm 4,30$ $\mu\text{g/ml}$ et $78,73 \pm 0,30$ $\mu\text{g/ml}$) respectivement. Alors que, les extraits EtDi, AQ et MeOH s'avèrent moins d'effet sur l'alpha-amylase avec des CI_{50} d'ordre ($331,51 \pm 1,34$; $341,24 \pm 2,98$; $342,69 \pm 0,76$ $\mu\text{g/ml}$) respectivement.

En comparant avec le standard, tous les extraits testés s'avèrent plus actif que l'acarbose, qui présente une CI_{50} égale à 3650,93 $\mu\text{g/ml}$. Dont l'activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase a augmenté entre les extraits dans l'ordre suivant : AcEt > BuOH > EtPe > EtDi > AQ > MeOH.

➤ Discussion des résultats

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase enregistrée dans les différents extraits des feuilles de *Laurus nobilis L* pourrait s'expliquer probablement par la présence des tanins (les tanins condensés). Ces derniers se caractérisent par la présence de molécules inhibitrices non spécifiques de diverses enzymes hydrolytiques, telles que ; les α -amylases, les α -glucosidase et les lipases (Braga et al., 2019). Cette forte inhibition d'acétate éthyle vis-à-vis d'alpha amylase peut être associée à leur capacité à se lier fortement aux protéines salivaires (α -amylases), dont l'interaction non covalente entre les tanins et les protéines salivaires, impliquent généralement les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogène ainsi que les interactions électrostatiques. A la suite de cette interaction, il se produit un blocage des sites catalytiques des enzymes et donc inhibe l'activité de l'alpha- amylase, (WatreLOT et Norton, 2020).

En comparant, nos résultats sont très élevés par rapport aux travaux de Boaduo. (2014) sur l'espèce *Cinnamomum cassia* (famille des lauracées) qu'ont trouvés des valeurs des CI_{50} $230 \pm 2,34 \mu\text{g/ml}$ et $120 \pm 1,36 \mu\text{g/ml}$ pour les extraits AcEt et MeOH respectivement. De plus, une étude réalisée par Gulcin. (2019) sur l'extrait aqueux de *cinnamomum verum* (famille des lauracées) a donné une activité inhibitrice d'alpha-amylase plus importante par rapport à notre extrait avec une valeur CI_{50} égale à $189,86 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$.

II .5. Activité Anti-inflammatoire

Les résultats enregistrés ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition des différents extraits selon la même formule utilisée pour les autres activités et, de tracer les courbes des extraits ainsi de standard (Voltarène) en fonction des concentrations de ces derniers et de calculer leurs valeurs d' CI_{50} (Figure 43 et figure 44).

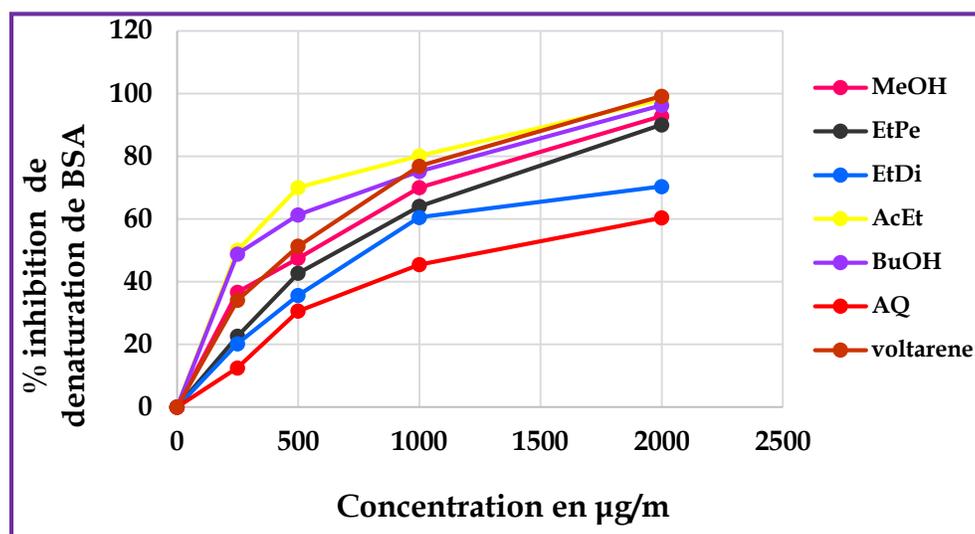


Figure 43. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par différents extraits.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA est proportionnel à la concentration des extraits et des standards. A partir de la représentation graphique et à une concentration réelle de 2000mg/mL(**Figure 43**),le test a montré que l'extrait AcEt , possèdent le pouvoir le plus élevé pour inhiber la dénaturation de BSA ,ce pouvoir est confirmé par un pourcentage d'inhibition important (98,13%), Cependant, les extraits BuOH ,MeOH et EtPe semble avoir aussi une bonne activité inhibitrice à avec des pourcentages d'inhibitions de l'ordre de 96,25 ; 92,81% et 90,07% respectivement ,tanque les extraits EtDi et AQ, exhibent des faibles pourcentages d'inhibition de l'ordre de 70,37 % et 60,38% respectivement.

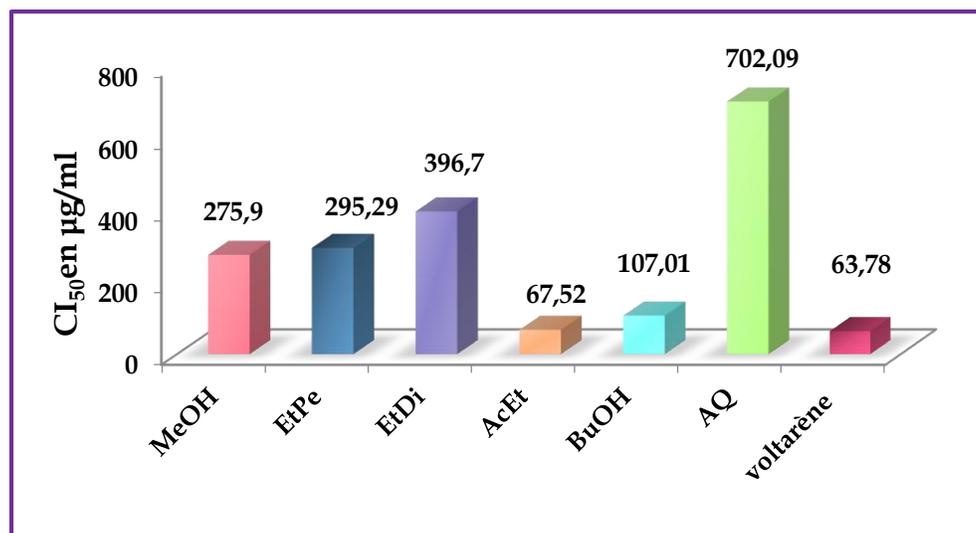


Figure 44. Histogramme représentant les valeurs des CI₅₀ des extraits et standard obtenus par activité anti-inflammatoire

A partir des valeurs d' CI₅₀ , on constate que l' extrait AcEt a un bon potentiel avec une CI₅₀ de $67,52 \pm 0,27$ µg/ml, comparable à celle de standard (Voltarène CI₅₀ $63,78 \pm 0,73$ µg/ml), par ailleurs, les valeurs d' CI₅₀ des extraits BuOH, MeOH et EtPe ($107,01 \pm 5,71$; $275,90 \pm 0,46$; $295,29 \pm 0,679$ µg/mL respectivement) montrent une faible activité par rapport aux Voltarène. Tandis que, Les CI₅₀ des extraits EtDi et AQ ($396,70 \pm 1,60$ et $702,09 \pm 0,23$ et µg/mL respectivement) montrent la plus faible activité en comparant avec le standard.

Le classement des extraits en fonction des CI₅₀ comme suit : AcEt> BuOH>MeOH> EtPe> EtDi>AQ.

➤ Discussion des résultats

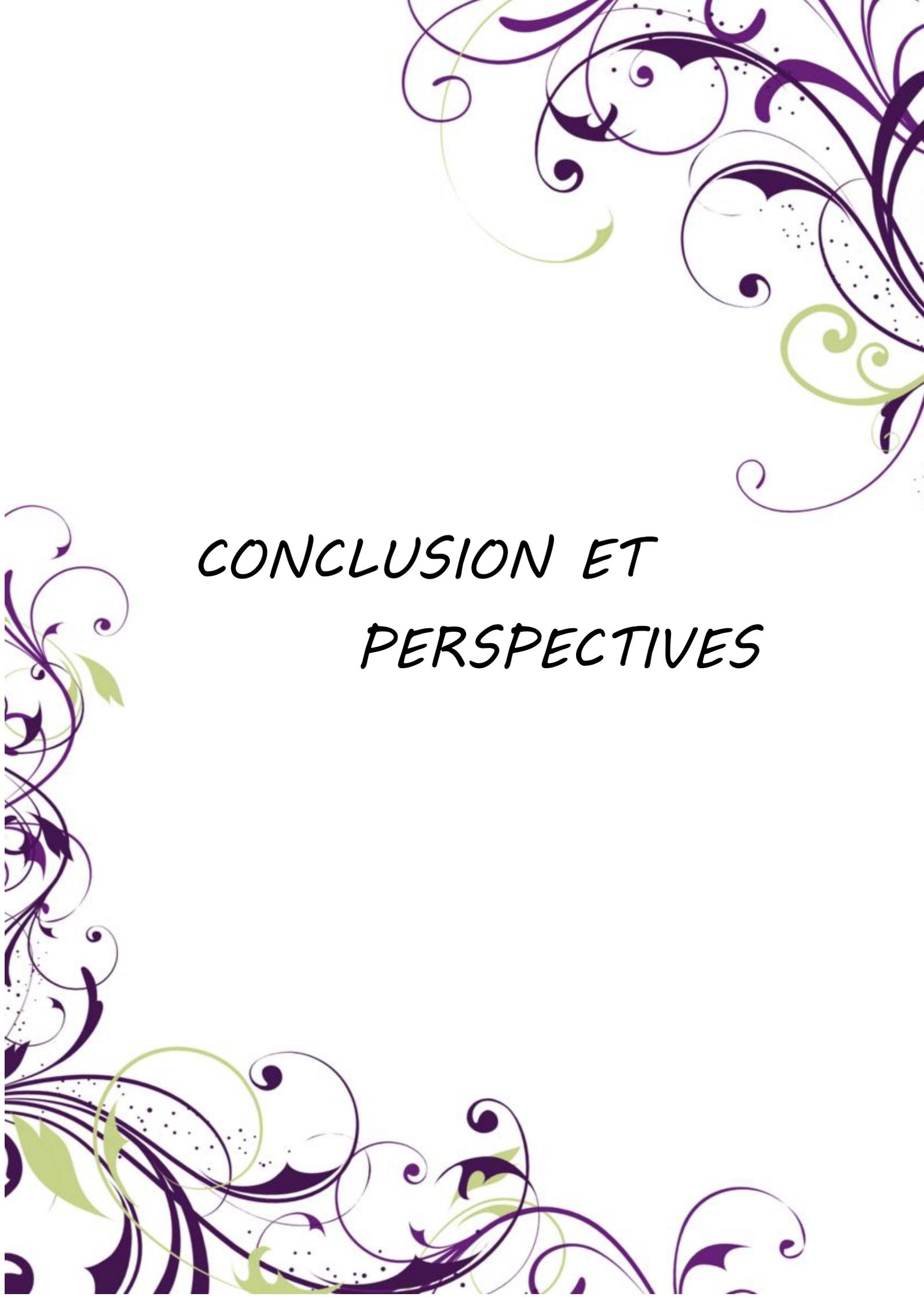
La dénaturation des protéines est parmi les causes de l' inflammation (**Barros et al., 2008 ; Bagad et al., 2011**). La production d' auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l' altération des liaisons électrostatique,

hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (Mizushima et al., 1968 ; Barros et al., 2008).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométhazine n'inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines proinflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (Sangeetha et al., 2011). Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique.

D'après les résultats, l'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut-être attribuée à la présence de différents composés bioactifs, tels que ; les flavonoïdes dans les extraits trouvés lors de la quantification des TFC.

Parmi les peux travaux réalisés par la méthode de la dénaturation des protéines (BSA) sur la même espèce pour tester l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, le travail de Maajida et al. (2019) sur l'extrait méthanolique a montré un pouvoir inhibiteur inferieure à celui de nos résultats avec un pourcentage d'inhibition d'environ 74,56% pour une concentration de 500 µg/ ml, et une valeur CI_{50} d'environ $350,0 \pm 1,00$ µg / ml.



*CONCLUSION ET
PERSPECTIVES*

Conclusion générale et perspectives

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle nécessaires à la mise au point de futurs médicaments qui contribuent de manière significative à la prévention de diverses maladies.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à l'étude phytochimique par le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, suivi par l'évaluation de certaines activités biologiques comme l'activité antioxydante, l'activité enzymatique (anti-alzheimer et antidiabétique) ainsi que l'activité anti-inflammatoire des différents extraits des feuilles de la plante *Laurus nobilis* L.

De point de vue phytochimique, nous avons réalisé deux types d'extraction liquide -solide, pour obtenir l'extrait brute (MeOH), et la deuxième extraction est de type liquide - liquide pour obtenir des différents fractions (EtPe, EtDi, AcEt, BuOH et AQ).

A propos de l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les six extraits de notre plante, les résultats obtenus, indiquent que les extraits AcEt et BuOH sont les plus riches en ces composés.

Le pouvoir antioxydant des différents extraits de la plante a été évalué *in vitro* par sept méthodes complémentaires ; DPPH•, ABTS•+, CUPRAC, GOR•, SNP, PHEN ainsi le test de FRAP, Cette évaluation a montré que l'extrait AcEt avait un très fort effet scavenging vis-à-vis les radicaux DPPH•, ABTS•+ et GOR•. Ainsi qu'un très bon pouvoir réducteur face aux ions cuprique, ions ferrique et les ions Ag+.

Ces tests montrent donc que la plante possède une activité antioxydante très élevée, cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits en composés phénoliques, particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes.

En ce qui concerne, l'activité anticholinestérase notre plante a montré un effet inhibiteur seulement pour les extraits EtPe et EtDi.

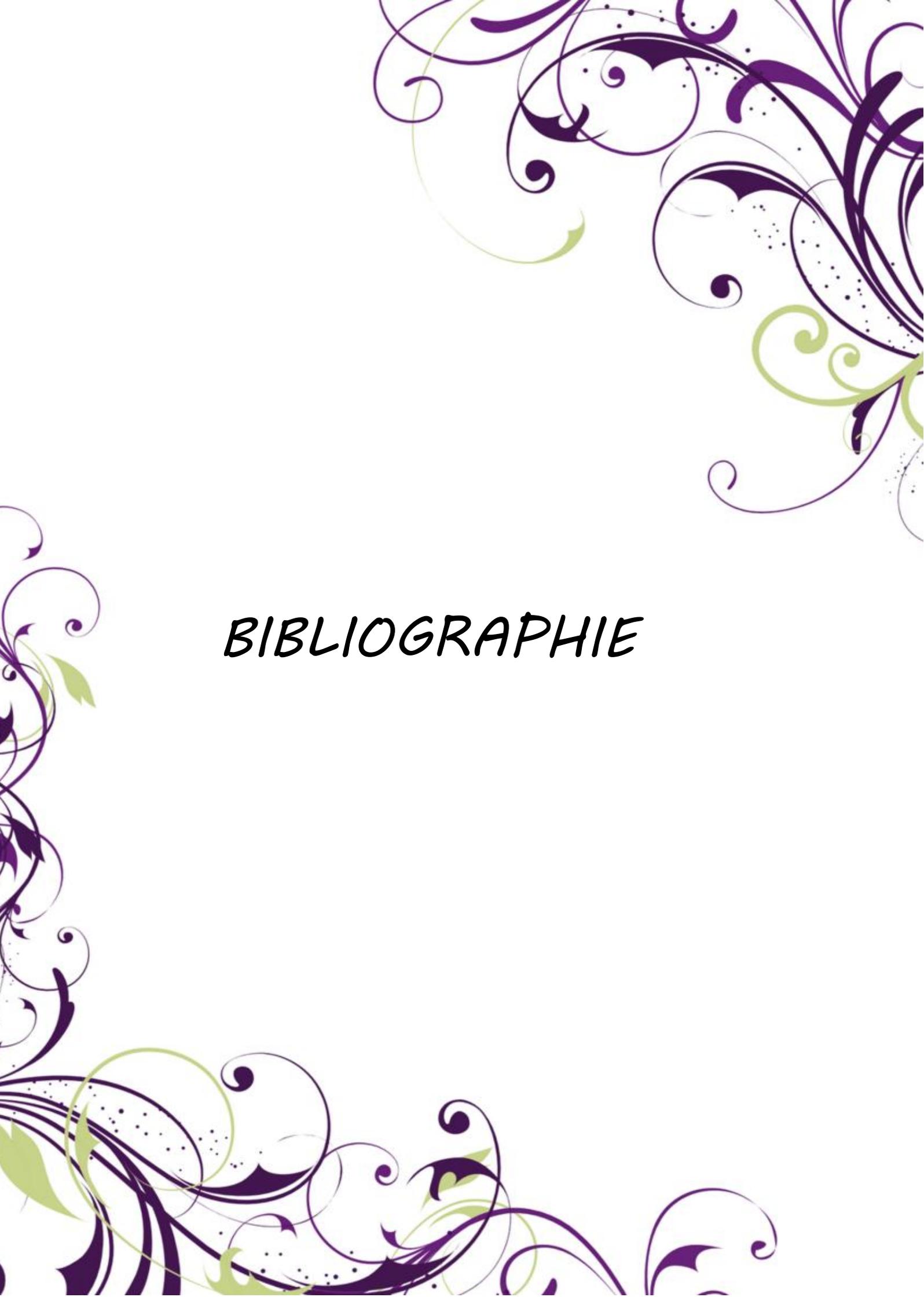
Par ailleurs, l'activité antidiabétique de *laurus nobilis* a été évaluée par le test alpha-amylase, d'après les résultats obtenus on a constaté que cette plante présente non seulement, un excellent effet antihyperglycémiant pour les extraits AcEt et BuOH, mais, cet effet est meilleur que celui enregistré par les standards utilisés.

Pour l'activité anti-inflammatoire, nos résultats montrent que les extraits testés ont généralement une très faible activité, l'exception est soulevée pour les extraits AcEt et BuOH qui ont donné une excellente activité anti -inflammatoire.

Enfin, les résultats obtenus de cette étude montrent que *laurus nobilis* est riche en composés bioactifs qui peuvent être employés pour différentes applications thérapeutiques.

En perspectives, nous envisageons d'utiliser ces résultats comme un point de départ de recherche de nouvelles molécules biologiquement actives. Pour cela on propose

- ☆ L'utilisation d'autres méthodes d'analyse chimique (Chromatographie sur Colonne, HPLC).
- ☆ L'évaluation biologique approfondie de cette plante afin d'isoler les substances responsables aux activités biologiques étudiées.
- ☆ La validation de nos résultats antioxydant, anti enzymatique et antiinflammatoire *in vitro* par des tests *in vivo* chez les rats.
- ☆ La réalisation d'autres activités biologiques telles que ; les activités antifongique, antimicrobiennes, antivirales, analgésiques et anti-carcinogènes...



BIBLIOGRAPHIE

Abe E, Delye SG, Alvarez JC. (2010). Liquid-liquid extraction: theory, applications and difficulties. *Annales de Toxicologie Analytique*, Vol. 22, n° 2, p 51-59.

Aksoy L, Kolay E, Ağılönü Y, Aslan Z, and Kargıoğlu, M. (2013). Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol. 20, n°3, p 235-239.

Amarowicz, R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, and Weil JA. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, Vol. 84, p 551-562.

Ana FV, Luís F, Guido, Anabela SGC, Rita CA, and Beatriz M PPO. (2015). Monomeric and oligomeric flavan-3-ols and antioxidant activity of leaves from different *Laurus* sp. *The Royal Society of Chemistry*. Vol, 11, p 12-58.

Annelise L, Françoise C-M, Camille B. (2017). Huile essentielle de Laurier noble. *Actualités pharmaceutiques*, Vol. 56, n°571, p 57-60.

Antolovich M, Prenzler D, Patsalides E, McDonald, S Robards. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, Vol. 127, p183-198.

Anton R, Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition. Paris : de Tec & Doc.

Aouchiche R, Boumghar N. (2015). Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extraits de feuilles de laurier et de sous-produits de l'olivier. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en biologie : Microbiologie appliquée : Université Mouloud Mammeri de Tizi -Ouzou. P 9.

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, & Karademir SE. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 52, n° 26, p7970-7981.

Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik S, Bektaşoğlu B, Berker K, and Ozyurt D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, Vol. 12, p1496-1547.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aqilikhorasani MS. (1992). Collection of drugs (Materia media). *Enqelab-e-Eslami Publishing and Educational Organization, Tehran*, p624-630.

Aruoma OI. (2003).Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research*, p 9 -20.

Ayman T, Jong HA, Yang HJ, Jin YS, Hala KK, Hala G-M, Youngsoo K, Bang YH, Mi KL. (2019).NF-κB inhibitory sesquiterpene lactones from Lebanese *Laurus nobilis*.*Phytochemistry Letters*, Vol.30, p 120-123.

Ayoola GA, Coker HAB, Adesegun SA, Adepoju-Bello A, Obaweya K, Ezennia EC, Atangbayila TO. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 7, n° 3, P1019-1024.

Baba SA., Malik SA. (2015). Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaemajacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*, Vol.9 ,n °4,p 449-454.

Bagad YM, Umarkar AR, Tatia AU. (2011).SuranaSJ.Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *brideliaairyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*, Vol.4, n° 5, p 1326- 1332.

Bahorun T, Luximon-Ramma A, Crozier A and Aruoma O. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidins and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of science of food Agriculture*, Vol. 84, p 1553-1561.

Barla A, Topçu G, Oksuz S, Tumen G, Kingston, DG. (2007).Identification of cytotoxic sesquiterpene from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*, Vol. 104, n° 4, p 1478-1484.

Barros L, Falcão S, Baptista P, Freire C, Vilas-Boas M, Ferreira ICFR. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays, *Food Chem*, Vol.111, p 61-66.

Bartosz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems.*Comments Toxicol*, Vol. 9, p 5-21.

RÉFÉRANCES BIBLIOGRAPHIQUES

Beckman CH. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in in general defence responses in plants. *Physiol. Mol.Plant Pathol*, Vol.57, p 101-110.

Bechkri C et Meslem B.(2018). L'évaluation de l'activité anticoagulante des polysaccharides isolés de feuille de *Laurus nobilis L.* Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master : Spécialité : Toxicologie : Université des Frères Mentouri Constantine.P19.

Beckman CH. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses inplants. *Physiol. Mol.Plant Pathol*, Vol.57, p 101-110.

BelkhodjaH.(2016). Effetdesbiomoléculesextraitesàpartirdedifférentesplantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique. Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur : Sciences Biologiques : université de Mustapha Stambouli Mascara. P27.

Beloud A. (2005). **Plantes** médicinales d'Algérie .5ème édition. Ben aknoun Alger.P124-125.

Benabdallah A, Rahmoune C, boumenjel M, Aissi O, Messoud C. (2016). Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (*Lamiaceae*) from Northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,Vol.6 ,n°9 ,p760-766.

Bensouici C. (2015). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sesuvium* (*Crassulaceae*). Thèse pour l'obtention le diplôme du Doctorat en : Sciences en Chimie organique : Université des Frères Mentouri Constantine. P77-108.

Biljana K, djendii V. (2015). Flavonoïdes et acides phénolique en tant que antioxydants naturels potentiels.

Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, vol .4617, n°181, p1119-1200

Boaduo NKK, Katerere D, Eloff JN, & Naidoo V. (2014). Evaluation of six plant species used traditionally in the treatment and control of diabetes mellitus in South Africa using in vitro methods. *Pharmaceutical biology*, vol .52,n° 6, p756-761.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bouchaale I, Kahalerras A, Zouaoui S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie). Diplôme de la fine étude : Science de la nature et de la vie : Université 08 mai 1945 de Guelma.P17.

Bounihi A. (2016). Criblage phytochimique, étude toxicologique et valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (lamiacées). Thèse de doctorat national. Formation : Sciences du Médicament : Université Mohammed V. Faculté de médecine et de pharmacie rabat.P 199.

Bourgaud F, gravot A, Milesi S, Gontier. (2001). Production of plant secondary metabolites: ahistorical perspective; *plant science*, vol 161, p839-851.

Boursier B. (2005). Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires. *Techniques de l'Ingénieur*, p33-38.
Braga M, Silva AT, Trento MVC, Machado GHA, Pereira LLS, Simão AA, and Marcussi S. (2019). Prospection of Enzyme Modulators in Aqueous and Ethanolic Extracts of *Lippia sidoides* Leaves: Genotoxicity, Digestion, Inflammation, and Hemostasis. *Chemistry & Biodiversity*, vol .16, n°3.

Brigittpee C, Bruneto J. (1982). Alcaloides du laurier noble, *laurus nobilis*. *journal of Natural Products*, Vol. 45, n° 5, p 560-563.

Burda S, Oleszek W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric.Food Chem*, Vol.49, n° 6, p 2774-2779.

B R, GHEDBANE C. (2019).Étude phytochimique et l'évaluation des activités biologique de sept épices consommées en Algérie. Mémoire présente en vue de l'obtention du diplôme de master : Biochimie Appliquée : Université des Frères MentouriConstantine1.p 55.

Cacace JE, et Mazza G. (2000). Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with sulfured water. *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol.50, n°21, p 5939-5946.

Cai yz, sun m, Xing j, luo q, corke h. (2006). structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *life science*, Vol.78, n°25, p2872-2888.

Carocho M, Ferreira ICFR. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, vol .51, p 15-25.

Chabrie JY. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie :Diplôme d'état de docteur : pharmacie : Université Henri Poincaré Nancy 1.P 165.

Chirinos R, Campos D, Warnier M, Pedreschi R, Rees J-F, & Larondelle Y. (2008). Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. *Food Chem*, vol. 111, n°1, p 98-105.

Cristina P, Ilonka, S Bartek T, (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réaction avec le radical libre DPPH. *Rev. sGénie Ind, Vol. 4*, p 25-39.

Dadalioglu I, Evrendilek G. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano, bay laurel, Spanish lavender and fennel on common foodborne pathogens. *J Agric Food Chem*, Vol .52, n°26, p 8255-60.

Demir V, Guhan T, Yagcioglu AK, Degirmencioglu A. (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*, Vol .88, n° 3, p325-335.

Demo A, Petrakis C, Kefalas P, Boskou D. (1998). Nutrient antioxidants insome herbs and Mediterranean plant leaves. *Food research international*, Vol.31, n° 5, p 351-354.

Djeghim H. (2016). "Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne du Genre Genista (Fabaceae)". Mémoire de master : Université des Frères Mentouri Constantine 1. P1-73.

Djeridan A, Yousfi M, Nedjmi D, Boutassouna D, Stoker Vidal N. (2006).Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds. *foods chemistry*, vol .97, n° 4, p654-660.

EllmanKD, CourtneyV,AndresRM,Featherston.(1961).Anewandrapidcolorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol*, Vol. 7, p88-95.

Erler F, Ulug I, Yalankaya B. (2006). Repellent activity of five essential oils against *Cubx pipiens*.*Fitoterapia*, Vol.77, p 491-494.

Ester S, Rinaldo C, Stefano DA, Maria CG, Emanuela G, Paolo G, and Gabbriella I. (2011). Gastroprotective Effect and Antioxidant Properties of Different *Laurus nobilis* L. Leaf Extracts.*J Med Food*, Vol.14, n°5, p499-504.

Fang F, Shengmin S, Kuang YC, Alexander G, Chi-Tang H, Robert TR. (2005). Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (*Laurus nobilis*). *Food Chemistry*, Vol. 93, p 497-501.

Fernandes RPP, Trindade MA, Tonin FG, Lima CG, Pugine SMP,Munekata PES. Lorenzo JM, and Melo MP. (2015). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers.*J Food Sci Technol*.

Ferreira A, Proenc C, Serralheiro M, Araujo M. (2006). The in vitro screening foracetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal.*Journalof Ethnopharmacology*, Vol. 108, p 31-37.

Fiorini C, Daid B, Fourastet I, Vercauteren J. (1998). Acylated kaempferol glycosides from *laurus nobilis* leaves. *phytochemistry*, Vol.41, n°5, p 821-824.

Flamini G, Tebano M, Cioni PL, Ceccarini L, Ricci AR, Longo I. (2007). Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *Journal of ChromatographyA*, Vol.1143, p 36-40.

Gaikwad WB, Mohan GK and Rani MS. (2014).Phytochemicals for Diabetes Management. *Pharmaceutical Crops*, vol.5, p11 -28.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Garcia-Salas G, P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, Vol.15, n°12, p 8813- 8826.

Gazengel JM, Orecchioni AM. (2013). Le préparateur en pharmacie. 2e Edition. Paris : de Lavoisier.P1226.

Gaziano J M, Gibson CM. (2006). Potential for drug-drug interactions in patientstaking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection.*Am J Cardiol*, Vol.97, n°9, p23-29.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*, vol .3,n°4, p 162-169.

Ghichi N. (2018). Synthèse et caractérisation d'imines et benzoquinoléines, active biologiquement. Thèse présentée pour obtenir le diplôme de doctorat en sciences en chimie. Option :Chimiecrystallographie : Université frères Mentouri/ Constantine 1. P27.

Glatz, Z. (2006).Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, Vol.841, p 23-37.

Gómez-Coronado DJM, Elena I, Javier RuperezF, Coral B. (2004). Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *Journal of Chromatography A*, Vol.105, p 227-233.

Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, and Fernández-Gutiérrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 41, p 1220- 1234.

Gulcin İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, Vol. 86, p345-391.

GurbuzI, Ustun O, Yesilada E, Sezik E, Akyurek N, (2002). in vivo gastroprotective effects of Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 83, p 241- 244.

Hartwell JL. (1982). Plants Used Against Cancer: A Survey. Quarterman Publications. *Massachusetts*, p 274-278.

Hong G, Huang YN, Gao B, Xu PY, Chika I, et Kawabata J. (2008). Glucosidase inhibitory effect by the flower buds of *Tussilago farfara* L, *Journal of Food chemistry*, p 1195-1201.

Houghton PJ, Agbedahunsi JM, Adegbulugbe A (2004). Choline esterase inhibitory properties of alkaloids from two Nigerian *Crinum* species. *Phytochemistry*, Vol.65, p 2893-2896.

Humaira R, Noorah Al K, Nadeen N, Al-Meghailaith, Nadine MS M, and Gadah A. (2019). Evaluation of Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Activity of *Laurus nobilis* L Grown in Saudi Arabia. *J Pure Appl Microbiol*, Vol.13, n°4, p2073-2085.

Inseil PA (1996). Analgesic-antipyretic and anti-inflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW and Goodman Gilman A. *The pharmacological Basics of Therapeutics*. McGraw Hill, ninth edition. New York, p 617-657.

Iserin P. (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Edition. Paris : de Larousse. P10-335.

Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Tome 2 Edition. Londres : de Larousse. P143- 225-226.

Jose SM and Anilkumar M. (2018). *In vitro* antioxidant activity of *Litsea quinqueflora* (Dennst.) Suresh. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, Vol.7, n°4, p 3217-3221.

Kahlouche R. (2014). Évaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse présentée en vue de L'obtention du doctorat des sciences : Institut des sciences vétérinaires : Université Constantine 1. P 3.

Kandia S, Charles AL. (2019). Statistical comparative study between the conventional DPPH% spectrophotometric and dropping DPPH% analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. *Food Chemistry*, vol. 287, p338–345.

Kandikattu K, Bharath Rathna Kumar P, Venu Priya R, Sunil Kumar K, Ranjith Singh. BR. (2013.) Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, Vol.1n°5, p729-730.

Kang HW, Yu KW, Jun W J, Chang I S, Han SB, Kim H Y. (2002). Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compounds from leaves of *Laurus nobilis*. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, Vol.25, p 102–108.

Karagözler A, Erdag B, CalmazEmek Y. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, Vol. 111, n°2, p400-407.

Kaurinovic B, Popovic M, Vlajsavljevic S. (2010). In vitro and in vivo effects of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Molecules*, Vol.15, n° 5, p3378-3390.

Kessoum Samia, (2014). Activité antioxydant des polyphénols d'*Artemisia herbalba*. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en : biologie : Université Abderrahmane Mira de Bejaia. P13-14.

Khalil E A, Afifi F U, Al-Hussaini M, (2007). Evaluation of the Wond healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Musmusculus*). *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.109, p 104-112.

Khan A, Zaman G, Richard A, Anderson. (2009). bay leaves improve glucose and lipid profile of people with type 2 diabetes. *J Clin biochem Nutr*, Vol 44, p52-56.

Khan M, Alam A, Khan KM, Salar U, Chigurupati S, Wadood A, Ali F, Mohammad JI, Riaz M, and Perveen S. (2018). Flurbiprofen derivatives as novel α -amylase inhibitors: Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation. *Bioorganic Chemistry*, vol. 81, p 157-167.

Kidane Y, Bokrezion T, Mebrahtu J, Mehari, Gebreab YB, Fesseways N, Achila OO. (2018). In Vitro Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Extracts from *Psiadiapunctulata* and *Meriandrabengalensis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, p1 -9.

Kivçak B, Mert T. (2002) Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurusnobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, Vol. 73, p 242-243.

Kumaran and R, Joel K. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Science and Technology*, Vol.40, n°2, p344-352.

L adoh Y, Dibong S, NyegueM, DjembissiT, LentaN, MpondoM, YinyangJ, and Wansi, J. (2015).Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera Capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, vol.84, p7636-7643.

Lee kw, Kim YJ, Lee HJ, and Lee CY. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher. *J. Agric. Food Chem*, Vol.51, n°25, p7292-7295

M aajida A, Geetha R, Lakshmi T. (2019). Evaluation of anti-inflammatory action of *Laurus nobilis*-an in vitro study. *GeethaRVetal.,Int.J.Res.Pharm.Sci.*, Vol.10, n°2, p1209-1213.

Madi A. (2018).Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*.ThèseEn vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Option : Biotechnologie Végétale : Université des freres Mentouri. Constantine 1.P 31.

ManachC, ScalbertA,Morand C RemesyC, Jimenez L. (2004). Polyphénols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, vol .79, p727-747.

Markham KR. (1982). Technics of flavonoids identification. *Academic Press*.

Matsuda H, Shimoda H, Uemura T, Yoshikawa M. (1999). Preventive effect of sesquiterpenes from Bay leaf on blood ethanol elevation in ethanol-loaded Rat: Structure requirement and suppression of gastric emptying. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 9, p 2647-2652.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mébarki N. (2010). Extraction des huiles essentielles de Thymus et application à la formation d'une forme médicamenteuse antibactérienne. Thèse de magistère : Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques : Université MhamedBougara Boumerdes. P 185.

Meghraj B, Nilubon JA, GAO H, jun K. (2008). Glucosidase and amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb pakhanbhed *Bergenia ciliata* haw. *journal of food chemistry*, p247- 252.

Mizushima Y. (1964). Inhibition de la dénaturation de protéines par des agents antirhumatiques ou antiphlogistiques. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, Vol. 149, p 1-7.

Mizushima Y, Kobayashi M. Mariod AA, Ahmed YM, Matthaus B, Khaleel G, Siddig A, Gabra AM, Siddig, Ibrahim, Abdelwahab. (2009) A comparative study of the properties of six Sudanese cucurbit seeds and seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol.86, n°12, p 1181-1188.

Müller L, Gnoyke S, Popken AMV, Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 43, n°6, p992-999.

Mustafa O, Nilay G, Sefa B, Kubilay G, and Resat A. (2012). Development of a Silver -Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols. *Analytical Chemistry*.

Myose M, Paris R. (1976). Précis de matières médicales. Edition. Paris :de Masson. P161-162.

Nabila B, Monica S, Severina P, Aida M, Khodir M, Antonio F, Pietro M. (2015).

1H NMR based metabolic profiling of eleven Algerian aromatic plants and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties. *Food Research International*.

Newman DJ, Cragg G M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, vol. 70, n° 3, p461-477.

Nicholson RL. (1992). Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathology*, Vol.30, p 369-389.

Olfa O, Thouraya C, Riadh K, Mouna BT, Hanen F, Chedly A, Mohamed EK,

Brahim M. (2011). The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol.24, p 103–110.

Olivier G and Imaël H N B. (2017). Essential Oils as an Alternative to Pyrethroids' Resistance against Anopheles Species Complex Giles (Diptera: Culicidae). *Molécules*, Vol, 22, n°10, p13-21.

Ould YK, Meddah B et Tir touil A. (2016). Proprieties of *Laurus nobilis* from Mascara (Algeria). *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*, Vol 4, p 2321-3124.

Ouyang X, Li X, Lu W, Zhao X, Chen D. (2018). A Null B-Ring Improves the Antioxidant Levels of Flavonols: A Comparative Study between Galangin and 3,5,7-Trihydroxychromone. *Molecules*, vol .23, p30-83.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese. *Journal of Nutrition*, Vol.44, p307–315.

Ozcan B, Esen M, Sangun MK, Coleri A, Caliskan M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*, Vol. 31, n°5, p 637-641.

Ozyurek M, Guculu K, Apak, R. (2011). The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement. *Trends in Analytical Chemistry*, vol.30, p 644-652.

Pakkariinen SS, Heinonen IM, Hopia IA. (1999). Flavonoids quercetin, myricetin, kaempferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol79, p 499-506.

Pariente L. (2001). Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Edition. Paris : d'Académie nationale de pharmacie. P 1643.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Philips A, Philips S, Arul V, Padmakeerthiga B, Renju V, Santha S. (2010). Free radical scavenging activity of leaf extracts of *Indigofera aspalathoides* – An in vitro analysis. *Journal of PharmSciRes*, Vol. 2, p322-328.

Popovici C, Saykova I, Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, Vol.4, p 25-39.

Prior RL, Wu X, Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.53, n°10, p 4290-4302.

Pulido R, Bravo L, and Saura-Calixto F. (2000). Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols as Determined by a Modified Ferric Reducing/ Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol .48, p3396-3402.

Q **Quy-Diem D, Artik E, Phuong L, Lien H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *J. food and drug analysis*, Vol.22, n°3, p 296-302.

Quezel P, Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome I Edition. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique. P565.

Quezel P, Santa S. (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome II Edition. Paris : Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. P 360-361.

R **Rafaela G, Lillian B, Montserrat D, Ricardo CC, Ana Maria C, Celestino SB, Maria Joao RP, Quiroz, Isabel CFRF. (2013).** Nutrients, phytochemicals and Bioactivity of wild Roman chamomile: A comparison between the herb and its preparations. *Food Chemistry*, Vol. 136, p 718–725.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, and Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 26, n°9-10, p1231-1237.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Reynaud J. (2002). La flore du pharmacien. In : solanacées. Edition : tec et doc. P200.

Rhee IK, van de Meent M, Ingkaninan K, et Verpoorte R. (2001). Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography A*, Vol.915, n° (1-2), p 217-223.

Ribéreau-G.(1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. Paris. P57,10-13,55-86.

Rice-Evans C, Sampson J, Brameley M and Holloway E. (1997). Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vitro. *Free Radical Research*, Vol.26, p 381-398.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM., Pridham JB. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic. Res*, Vol.22, n°4, p375-383.

Robbins, Cotron, Vinay K, Abdul KA, Nelson F, Pathologic Basis of Disease. (2008). Elsevier publication. seventh edition. P 47-53.

Robinson PK. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, Vol .59, p1-41.

Rozman V, Kalinovic I, Korunic K. (2007). Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauracées to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, Vol. 43, p 349-355.

Sachan AK, Rao CV, Sachan NK. (2019). *In vitro* studies on the inhibition of α amylase and α -glucosidase by hydro-ethanolic extract of *Pluchea lanceolata*, *Alhagi pseudalhagi*, *Caesalpinia bonduc*. *Pharmacognosy Research*, vol .11, n° 3, p310-314.

Salhi N, Goumni Z, Salhi A, mehani M, Vleria et Terzi. (2015). Évaluation de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Laurus nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichoide*. *Revue Elwihat pour les recherches et tude* ISSN, vol .8, n° 2, p34-44.

Sangeetha M, Kousalya K, Lavanya R, Cherukuru S Chamundeeswari D, UmaMaheswara R. (2011). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-Arthritic Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS* Vol. 2, n°1, p 822-827.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sanogo R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako-Mali. P 53.

Sayyah M, Valizadeh J, Kamalinejad M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures. *Phytotherapy Research*, Vol. 9, n°3, p 212-216.

Shahidi F, & Chandrasekara A. (2010). Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Phytochemistry Reviews*, Vol. 9, p 147-170.

Shi H, Noguchi N, Niki E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymology*, Vol.2001, n°335, p157-66.

Siddhuraju P, and Becker K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata (L.) Walp.*) seed extracts. *Food Chemistry*, Vol.101, p 10-19.

Simic M, Kundakovic T, Kovacevic N. (2003). Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, Vol 4, p613-616.

Singleton VL and Rossi JAJ. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult*, Vol .16, p 144-158.

Sofowora A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition :de Karthala. P22.

Sokol LA J, Oszmianski, Wojdylo A. (2007). "Antioxidant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap." *Food chemistry*, Vol.103, p 853-859.

Spichiger RE, Savolainen VV, Figeat M, Jeanmonod D. (2002). Botanique Systéma – tiques des plantes à fleurs. Edition. :Presses polytechniques et universitaires romandes. P 413.

Stavric B, Matula TI. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health, Lipid soluble and antioxidants. *Biochemistry and clinical applications*, p274-294.

Stephanie D, Xavier V, Philippe CE, Marion W, and Jean-michel M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem*, Vol.57, p1768-1774.

Sudip P, Sakib H, Tanvir M, Aminul I, Rizwana A, Istiyak A, Moumoni S, Siew H G and Ibrahim K. (2015).Antioxidant Properties of Citrus macroptera Fruit and Its *in vivo* Effects on the Liver, Kidney and Pancreas in Wistar Rats.*International Journal of Pharmacology*, vol .11, n°8, p899-909.

Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Comp. Anal*, Vol.19, p 531–537.

Szydłowskaczerniak A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, and Szlyk E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, vol.76, n°4, p899-905.

Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. (2007). In vitro antioxidant activities of *Steviarebaudiana* leaves and callus. *J. Food Comp. Anal*, Vol.20, p 323-329.

Telaidji AN. (2018). Caractérisation chimique et activités biologique (in-vitro et in-vivo) de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea.l.* Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme master : Spécialité biochimie/Nutrition Moléculaire et Santé. Université des Frères Mentouri Constantine. P 35.

Topçu G, Ay A, Bilici A, Sarıkürkcü C, Öztürk M, and Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistaciaterebinthus*. *Food Chemistry*, Vol. 103, p816–822.

Uchiyama N, Matsunaga K, Kiuchi F, Honda G, Tsubouchi A, Nakajima Shimada J. (2002). Trypanocidal terpénoïdes from *Laurus nobilis L.* *Chemical Pharm – aceutical Bulletin*, Vol. 50, p 1514–1516.

Valko M, Rhodes C J, Moncol J, Izakovic M. et Mazur M. (2006). Freeradicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, vol 160, n°1, p1–40.

Wang J, Ho L, Zhao W, Ono K, Rosensweig C, Chen L. (2008).

"Grape-derived polyphenolics prevent Abeta oligomerization and attenuate cognitive deterioration in a mouse model of Alzheimer's disease". *Journal of Neurosci*, Vol.28, p 6388-6392.

Watrelot AA, Norton el. (2020). chemistry and reactivity of tannins in vitis spp.: a review. *Molecules*, vol .25, p1- 24.

Williams LAD, O'Connar A, Latore L, Dennis O, Ringer S, Whittaker, JA, Conrad J, Vogler B, HRosner H, W 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*, Vol. 57, n°4, p 327-331.

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. *Ethnopharmacologie*. Vol.9, p 209-218.

Yang CY, Yen YY, Hung KC, Hsu S W, Lan SJ and Lin HC. (2019). Inhibitory effects of pu-erh tea on alpha glucosidase and alpha amylase: a systemic review. *Nutrition & Diabetes*, vol.9, n° 23.

Yen G-C, and Chen, H-Y. (1995). Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.43, p 27-32.

Yoshikawa M, Shimoda H, Uemura T, Morikawa T, Kawahara Y, Matsuda H. (2000). Alcohol Absorption Inhibitors from Bay Leaf (*Laurus nobilis*): Structure-Requirements of Sesquiterpenes for the Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 8, p 2071-2077.

Zengin et al. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization

of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, Vol.53, p244-251.

RÉFÉRANCES BIBLIOGRAPHIQUES

Zhiri A, Baudoux D, Breda M. (2005). Huile essentielles chémotypées et leurs Synergies. Edition : Inspir développement. P 46.

Zhong, Y., and Shahidi, F. (2015). Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Woodhead Publishing. p287-333.

Sites-Web consultés

Anonyme 1: <http://la-flore-de-mostaganem.emonsite.com/pages/arbustes/le-laurier-noble.html>. Consulté le: 27/03/2020.

Anonyme 2: <https://www.monaconatureencyclopedia.com/laurus-nobilis/?lang=fr>. Consulté le: 04/04/2020.

Anonyme 3: <https://jaime-jardiner.ouest-france.fr/laurier-sauce/>. Consulté le: 04/04/2020.

Anonyme 4: https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Laurus_nobilis_20130409.jpg. Consulté le: 04/04/2020.



ANNEXE

I. Préparation des solutions

1. Quantification des polyphénols totaux (TPC)

➤ Préparation de l'extrait

Une masse de 1 mg de chaque extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de Méthanol puis on le met dans le bain à ultrason pour la dissolution complète.

➤ Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% :

Une quantité de 7,5 g de Na_2CO_3 est dissoute dans 100 mL d'eau distillée sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant.

➤ Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois

1mL de la solution FCR concentrée (2M) est complété à 10 mL avec l'eau distillée (9 mL).

➤ Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Une masse de 0,5 mg de l'étalon l'acide gallique a été dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir une solution mère de concentration égale à 200 ppm (S_m), une gamme de dilutions a été faite à partir cette dernière

2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

➤ Préparation de l'extrait

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir l'extrait diluée.

➤ Préparation des solutions

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissolvé 9.80 grammes dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S_1

Pour 10% nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine**

On prend 1 mg de la quercétine et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2 mg/ml (SM). Les dilutions sont faites à partir de cette dernière.

3. Activité antiradicalaire au DPPH

➤ **Préparation des échantillons**

Les concentrations préparées sont utilisées pour toutes les méthodes. La concentration des solutions mères de chaque échantillon est exprimée en PPM.

PPM = **P**artie **P**ar **M**illion = 1 mg/l = 10⁻⁶ mg/μl.

Une quantité de 4mg de chaque extrait, ont été dissoutes dans 1 ml du méthanol (Solution mère (SM) de 4000 ppm) respectivement avec 7 concentrations différentes (une série de dilution de 1/2) de l'échantillon en ordre décroissant.

➤ **Préparation de la DPPH**

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 6 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

4. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

➤ **Préparation de la solution d'ABTS**

Une quantité de 19,2 mg de l'ABTS (7 mM) et 3,3 mg du persulfate de potassium (K₂S₂O₈ 2.45 mM) et 10 ml H₂O sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H₂O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

5. Activité de piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)

➤ Préparation des solutions

La solution de GOR (0,1mM) est préparée par solubilisation de 4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol.

6. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)

➤ Préparation des solutions

Le mélange réactionnel contient les solutions suivantes : Une solution de chlorure de cuivre (II) à une concentration de 170,50 g/mol a été préparée à partir de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pesant 0,042625g, à dissoudre dans 25 ml d' H_2O .

Un tampon d'acétate d'ammonium (AcNH_4) à pH 7,0 a été préparé en dissolvant 19,27 g d' AcNH_4 (M= 77 g/mol) dans 25 ml de l'eau. Une solution de néocuproïne (Nc) à une concentration de 208.27 g/mol a été préparée en dissolvant 0,039 g de Nc dans 25 ml de l'éthanol (EtOH) à 96%.

7. Activité Phenanthroline

➤ Préparation des solutions

Préparation de la solution Phenanthroline (0.5%) par la solubilisation de 0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH, et la dissolution sous agitation de 0.02g de FeCl_3 dans 10 ml de H_2O pour la solution Ferricchloride FeCl_3 (0.2%).

8. Activité Pouvoir réducteur (FRAP)

➤ Préparation des solutions

La dissolution sous agitation de 1 g d'acide tri-chloroacétique (TCA) dans 10 mL H_2O , 1 g de potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) dans 100 mL H_2O , et 0,1 g de chlorure ferrique FeCl_3 dans 100 mL.μ

9. Activité Silver nanoparticle (SNP) assay

➤ Préparation des solutions

La dissolution sous agitation de 0.170 g de Silver nitrate (10Mm) dans 100 mL H₂O , et 1g de Trisodium citrate (1%) dans 100 mLH₂O.

➤ Préparation de la solution SNP

50 ml de (AgNO₃) est chauffé pendant 10 min puis 5ml de Trisodium citrate est ajouté goutte à goutte jusqu'à le changement de la couleur vers le jaune pâle après la solution est laisser à température ambiante.

10. Evaluation de l'activité anticholinestérase (Alzheimer in-vitro)

➤ Préparation de la solution tampon

On mélange un volume V1 de (Na₂HPO₄, 2H₂O) (8,890 g dans 500 mL de H₂O) avec un volume V2 de (NaH₂PO₄, 2H₂O) (1,56 g dans 100 mL H₂O) et on ajoute le NaOH pour augmenter la valeur de pH (pH= 5.8 à 8).

➤ Préparation de la solution DTNB (5,5,-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid))

On ajoute à 16 mg DTNB 1 mL de tampon (PH=7), 7,5 mg de NaHCO₃, 3 mL de tampon (PH=7) et 4 mL (PH=8).

➤ Préparation des solutions de substrats

Par la dissolution de 16 mg de l'acétylthiocholine iodide (ACI)/ dans 4 mL d'eau distillée puis on ajoute 4 mL de solution tampon (pH =8).

➤ Préparation des solutions d'enzymes

Une masse de 0,2 mg AChE est dissolvée dans 4 mL de solution tampon (PH=8) pour donner la solution A, puis on prend 20 µl de cette solution et on ajoute 3 mL de tampon (PH = 8).

11. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase

➤ Préparation de l'Amidon (0.1%)

Par la dissolution de 1 mg de l'amidon dans 4 mL d'eau et mettre la solution d'amidon dans la microonde à plusieurs cycles de 15 sec.

➤ Préparation La solution HCl (1M)

Ajouter doucement à 45.83 ml d'eau sur un volume de 4.17 ml d'HCL pure.

➤ Préparation La solution IKI

Dissoudre 3 g de KI dans 100 ml d'eau, ensuite ajouter 127 mg d'iode (5mM) et agiter jusqu'à dissolution complète.

➤ Préparation Tampon

Un Tampon phosphate (pH 6.9) avec 6mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon).

➤ L'alpha-amylase

Dissoudre 01 mg d'enzyme dans 8,6 ml de tampon et conserver la solution mère dans le congélateur à -20°C. Pour le test la dilution de 01 ml de l'enzyme (solution mère conservé) dans 09 ml de tampon, la concentration finale de l'enzyme devient 1U/mL.

12. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in-vitro*

➤ Préparation de d'échantillon

Une quantité de 16 mg de chaque extrait, ont été dissoutes dans 1ml de l'eau distillé (Solution mère (SM) de 4000 ppm) respectivement avec 7 concentrations différentes (une série de dilution de 1/2) de l'échantillon en ordre décroissant.

➤ Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH : 6,6

1,2144g est dissous dans 200 ml de l'eau bi distillée. Le PH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

➤ **Préparation du standard**

Différente concentration de Diclofénac sodique (forme injectable) sont préparée dans l'eau distillée à partir d'une solution mère de 500 ppm.

➤ **Préparation des blancs**

A- Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans le quel 01ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-Hcl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

B- un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice)

➤ **Réparation de la solution BSA 0,2%**

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-Hcl.

Tableau 1. Réactifs des activités antioxydantes.

Réactifs	Compositions	Quantités
DPPH•	DPPH	6 mg
	Méthanol	100 ml
Galvinoxyl	Galvinoxyl	4 mg
	Méthanol	100 ml
ABTS•+ (7 mM)	ABTS	19,2 mg
	H ₂ O	5 ml
	K ₂ S ₂ O ₈ (2.45 mM)	3,3 mg
	H ₂ O	5 ml
Néocuproïne	Néocuproïne	0,039 g
	Ethanol	25 ml
Phénantroline (0.5%)	1,10-Phénantroline monohydraté	0,05g 10ml
	Méthanol	
Silver nitrate(10Mm)	0.170 Silver nitrate	50ml
	Trisodium (1%)	5mlml
	H ₂ O	100ml

Tableau 2. Standards des activités.

Standards	Compositions	Quantités
Acide gallique	Acide gallique	0,5 mg
	Méthanol	5 ml
Quercétine	Quercétine	1 mg
	Méthanol	5 ml
BHA	BHA	0,5 mg
	Méthanol	1 ml
BHT	BHT	0,5 mg
	Méthanol	1 ml
Acide ascorbique	Acide Ascorbique	4 mg
	Méthanol	1 ml
α-Tocophérol	α -Tocophérol	4 mg
	Méthanol	1 ml
Acarbose	Acarbose	4 mg
	Méthanol	1 ml
Galantamine	Galantamine	4 mg
	Méthanol	1 ml
Voltarène	Diclofénac sodique	75ul
	L'eau distillée	100ml

Tableau 3. Solutions chimiques.

Solutions chimiques	Compositions	Quantités
Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois	FCR concentré (2M)	1ml
	H ₂ O	10 ml
Carbonate de sodium anhydre (7,5%)	Na ₂ CO ₃	7,5 g
	H ₂ O	100 ml
Acétate de potassium (1M)	CH ₃ COOK	9,80 g
	H ₂ O	100 ml
Nitrate d'aluminium	Al(NO ₃) ₃ , 9H ₂ O	10g
	H ₂ O	100ml
Acétate d'ammonium	CH ₃ COONH ₄	1,927 g
	H ₂ O	25 ml
Chlorure de cuivre II dihydraté	CuCl ₂ , 2H ₂ O	0,042625 g
	H ₂ O	25 ml
Tampon phosphate pH 6,6	NaH ₂ PO ₄	62,5 ml
	Na ₂ HPO ₄	37,5 ml
Ferricyanide de potassium (1%)	K ₃ Fe(CN) ₆	1 g
	H ₂ O	100 ml
Acide trichloracétique (10%)	TCA	1 g
	H ₂ O	10 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.1%)	FeCl ₃	0,1 g
	H ₂ O	100 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.2%)	FeCl ₃	0,02g
	H ₂ O	10 ml

ANNEXE

Chlorure de fer III tetrahydraté (0,2 mM)	FeCl ₂ , 4H ₂ O	4 mg
	H ₂ O	100 ml
Tampon phosphate (pH 6.9) (0.2 M)	NaH ₂ PO ₄	51 ml
	Na ₂ HPO ₄	49 ml
Acide hydrochlorique (1M)	HCl	4.17 ml
	H ₂ O	45.83 ml
Iodure de potassium iode (IKI)	KI	3 g
	H ₂ O	100 ml
	Iodine (5mM)	127 mg
Tampon phosphate (pH 8) (100 mM)	NaH ₂ PO ₄	5,3
	Na ₂ HPO ₄	94,5
DTNB	DTNB	16 mg
	Tampon phosphate (pH 7)	4 ml
	NaHCO ₃	7,5 mg
	Tampon phosphate (pH 8)	4 ml
Tampon phosphate (pH 7)	NaH ₂ PO ₄	39 ml
	Na ₂ HPO ₄	61 ml

Tableau 4. Solutions enzymatiques et substrats.

Solutions	Compositions	Quantités
Enzyme α-amylase (1U)	Enzyme α -amylase	1 mg
	Tampon phosphate (pH 6,9)	9ml
Amidon (0.1%)	Amidon	0,1 g
	H ₂ O	100 ml
AChE	AChE	1 mg
	Tampon phosphate (pH 8)	22,6 ml
ACI (Acetylthiocholine iodide) (0,2 mM)	ACI	4 mg
	H ₂ O	4 ml
	Tampon phosphate (pH 8)	4 ml



RÉSUMÉ

Résumé

Laurus nobilis L est une plante médicinale appartient à la famille lauracée, elle est très utilisée en Algérie dans la médecine traditionnelle ou alternative, en raison de leurs multiples effets thérapeutiques.

L'objectif de notre travail est porter sur une étude phytochimique des différentes fractions issues des feuilles de *Laurus nobilis L*, l'estimation quantitative des polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, l'activité anti-enzymatique et activité anti-inflammatoire *in vitro*.

Les résultats obtenus, après l'analyse quantitative des polyphénols totaux a révélé des teneurs considérables pour la fraction AcEt ($212,31 \pm 0,04$ mgEAG/g), et BuOH ($102,50 \pm 0,08$ mgEAG/g), de même la teneur la plus élevée des flavonoïdes totaux est constatée dans la fraction AcEt ($112,04 \pm 0,02$ mg EQ /g), et BuOH ($77,43 \pm 0,04$ mg EQ /g).

Concernant, l'évaluation du pouvoir antioxydant par sept méthodes DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR, SNP, FRAP et PHEN a révélée des capacités antioxydantes chez tous les extraits et que les fractions ; AcEt et BuOH sont les plus puissantes.

Cependant, l'évaluation de l'activité anti-enzymatique par le test anti-acétylcholinestérase a montré la capacité des extraits ; EtPe et EtDi de notre plante à inhiber l'acétylcholinestérase. Tandis que, les extraits AcEt et BuOH exhibent une activité inhibitrices importante contre alpha amylase ($IC_{50} = 5,03 \pm 3,72$ µg/ml), ($IC_{50} = 22,61 \pm 4,30$ µg/ml) respectivement. Nos résultats indiquent également, que les deux extraits ; AcEt et BuOH de la plante possèdent une activité anti-inflammatoire très significative.

En conclusion, on peut considérer que les polyphénols et les flavonoïdes sont les plus responsables de l'activité antioxydante, anti -enzymatique et anti -inflammatoire de la plante *Laurus nobilis L*.

Mots-clés : *Laurus nobilis L* ; Polyphénols ; Flavonoïdes ; Activité antioxydante ; Antidiabétique ; Anticholinestérasique ; Anti-inflammatoire.

Abstract

Laurus nobilis L is a medicinal plant belonging to the lauracea family, it is widely used in Algeria in traditional or alternative medicine, because of their multiple therapeutic effects.

The objective of our work is to carry out a phytochemical study of the various fractions resulting from the leaves of *Laurus nobilis L*, the quantitative estimate of the total polyphenols and the total flavonoids, as well as the evaluation of the antioxidant activity, the anti-activity -enzyme and anti-inflammatory activity *in vitro*.

The results obtained, after the quantitative analysis of total polyphenols revealed considerable contents for the; AcEt (212.31 ± 0.04 mgEAG/g), and BuOH (102.50 ± 0.08 mgEAG/g), similarly the highest content of total flavonoids is found in the fraction AcEt (112.04 ± 0.02 mg EQ/g), and BuOH (77.43 ± 0.04 mg EQ/g).

Regarding, the evaluation of antioxidant power by seven methods DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR, SNP, FRAP and PHEN revealed antioxidant capacities in all extracts and fractions; AcEt and BuOH are the most potent.

However, evaluation of the anti-enzymatic activity by the anti-acetylcholinesterase test showed the capacity of the extracts; of EtPe and EtDi from our plant to inhibit acetylcholinesterase. While, AcEt and BuOH extracts exhibit significant inhibitory activity against alpha amylase ($IC_{50} = 5.03 \pm 3.72$ μ g / ml), ($IC_{50} = 22.61 \pm 4.30$ μ g / ml) respectively. Our results also indicate that both AcEt and BuOH extracts of the plant have very significant anti-inflammatory activity.

In conclusion, it can be considered that the polyphenols and the flavonoids are most responsible for the antioxidant, anti-enzyme and anti-inflammatory activity of the plant *Laurus nobilis L*.

Keywords: *Laurus nobilis L*; Polyphenols; Flavonoids; Antioxidant activity; Antidiabetic; Anticholinesterase; Anti-inflammatory.

ملخص

Laurus nobilis L هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Lauracées ، ويستخدم على نطاق واسع في الجزائر في الطب التقليدي أو البديل ، بسبب آثاره العلاجية المتعددة.

الهدف من عملنا هو الدراسة الفيتو الكيميائية للمستخلصات المختلفة المشتقة من أوراق *Laurus nobilis L* ، والتقدير الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد ، بالإضافة الى ذلك النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للإنزيمات والنشاط المضاد للإلتهابات *in vitro* .

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها، بعد التحليل الكمي لمجموع البوليفينول، مستويات كبيرة في مستخلص AcEt (0.04 ± 212.31 ملغ /EAG غ)، و BuOH (0.08 ± 02.50 ملغ /EAG غ)، وبالمثل وجد أعلى محتوى من إجمالي الفلافونويد في مستخلصات AcEt (0.02 ± 112.04 ملغ /EQ غ)، و BuOH (0.04 ± 77.4 ملغ /EQ غ).

فيما يتعلق، بتقييم النشاط المضاد للأكسدة فقد تم بسبع طرق DPPH و ABTS و CUPRAC و GOR و SNP و FRAP و PHEN وأظهرت النتائج أن جميع المستخلصات لها قدرة مضاد لأكسدة عالية و خاصة AcEt و BuOH هي الأكثر فعالية.

في حين ، اثبت النشاط المضاد للإنزيمات أن المستخلصات EtPe و EtDi لها قدرة عالية على تثبيط أنزيم أستيل كولين إستراز ، بينما تظهر مستخلصات BuOH و AcEt نشاطاً مثبطاً ضد ألفا أميلاز (IC50 = 3.72 ± 5.03 ملغ /كلغ)، (IC50 = 4.30 ± 22.61 ملغ /كلغ) ، على التوالي. و كما تشير نتائجنا أيضاً إلى أن كل من مستخلصات AcEt و BuOH لها نشاط مضاد للإلتهابات جد مهم.

في الختام، يمكننا أن نعتبر أن البوليفينول و الفلافونويد هي المسؤولة بشكل كبير عن الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للإنزيمات والالتهابات للنباتات العطرية.

الكلمات الرئيسية: *Laurus nobilis L* البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد لمرض السكر ، أستيل كولين إستراز ، النشاط المضاد للإلتهابات.

Étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de quelques activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne *Laurus nobilis L.*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie Appliquée

Résumé

Laurus nobilis L est une plante médicinale appartient à la famille lauracée, elle est très utilisée en Algérie dans la médecine traditionnelle ou alternative, en raison de leurs multiples effets thérapeutiques.

L'objectif de notre travail est porté sur une étude phytochimique des différentes fractions issues des feuilles de *Laurus nobilis L*, l'estimation quantitative des polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux, ainsi que l'évaluation de certaines activités ; l'activité antioxydante, l'activité anti-enzymatique et l'activité anti-inflammatoire *in vitro*.

Les résultats obtenus, après l'analyse quantitative des polyphénols totaux a révélé des teneurs considérables pour les fractions AcEt et BuOH (212,31±0,04 et 102,50 ±0,08 mg EAG/g), de même la teneur la plus élevée des flavonoïdes totaux est constatée dans les fractions ; AcEt et BuOH (112,04 ±0,02 et 77,43 ±0,04 mg EQ /g).

Concernant, l'évaluation du pouvoir antioxydant par les sept méthodes ; DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR, SNP, FRAP et PHEN a révélée des capacités antioxydantes chez tous les extraits et que les fractions ; AcEt et BuOH sont les plus puissantes. En revanche, le test anti-acétylcholinestérase a montré la capacité des extraits EtDi et EtPe de notre plante à inhiber l'acétylcholinestérase. Tandis que, les extraits AcEt et BuOH exhibent une activité inhibitrice importante contre alpha amylase ($IC_{50} = 5,03 \pm 3,72$; $22,61 \pm 4,30$ µg/ml) respectivement. Nos résultats indiquent également, que les deux extraits AcEt et BuOH de la plante possèdent une activité anti-inflammatoire très significative.

En conclusion, on peut considérer que les phénoliques et les flavonoïdes sont les plus responsables de l'activité antioxydante, anti-enzymatique et anti-inflammatoire de la plante *Laurus nobilis L*.

Mots-clés: *Laurus nobilis L* ; Polyphénols; Flavonoïdes; Activité antioxydante ; Antidiabétique ; Anticholinestérasique ; Anti-inflammatoire.

Jury d'évaluation :**Président du jury : Mr BOULAHROUF.K.**

(MCB - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mme KLIBET. F.

(MCB - UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme TENIOU. S.

(MAA-UFM Constantine 1) .

Date de soutenance : 28/09/2020