



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Biologie Animale**

**قسم : بيولوجيا الحيوان**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : *Toxicologie***

Intitulé :

**Etude de l'activité antioxydant in vitro et l'activité laxative in vivo des polysaccharides extraits du *Laurus Nobilis L.***

**Présenté et soutenu par :**

- Aouag Asma
- Boutout Afef
- Chenniki Khaoula

**Le : 01 /07/2017**

**Jury d'évaluation :**

- **Président du jury :** Menad Ahmed (Pr- UFM Constantine).
- **Rapporteur :** Dehili Nedjwa (MAA - UFM Constantine).
- **Examineurs :** Belmahi Mohamed El Habib (Pr- UFM Constantine).  
Baali Nacera (MMA- UFM Constantine).

***Année universitaire***  
***2016- 2017***

# Remerciement



*Nous remercions DIEU le tout puissant qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour accomplir ce modeste travail. Nous tenons à formuler mon gratitude et mon profonde reconnaissance.*

*Nous tenons à remercier nôtres encadreur MADAME DEHLI N maitre assistante classe A au département de biologie et Ms Kandouli.C pour ses conseils, encouragements et ses confiances pour la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions également Beghriche Imene, Dalia Farid, derouiche taha, Aouag.M et le chef du département de pharmacie Ms BEN LAHLASSA pour l'aide grand, ses compréhensions, ses tolérances et ses patiences.*

*Nous remercions les membres de jury, pour nous avoir honorés de leur présence. J'exprime également notre gratitude à tous les professeurs et enseignants qui collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin.*

*Finalemnt nous souhaitons que ce mémoire puisse être un support assez valorisant et profitable pour ceux qui auront à l'utiliser.*



# Dédicaces

*A la mémoire de mon honorable  
père yazid Boutout*

*A ma très chère mère*

*Aucune dédicace ne saurait être  
assez éloquente pour rendre justice a tes sacrifices, tes  
encouragements, ton courage et ton amour .Puis se  
Dieu le tout puissant, te préserver et t'accorder santé,  
longue vie et bonheur*

*A ma très précieuse sœur Anfel*

*Je tiens également à dédier ce travail à mon très cher  
grand père*

*A mes tantes Hassina , Mounira et Naima  
Pour leur soutien inconditionnel*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands*

*A ma compagne d'enfance Chehinez et toutes mes amies :Haoua  
,Khaoula , Asma et Meriem*

*Afef BOUTOUT*



## Dédicaces

*La louange est à Allah Le Clément et  
Le Miséricordieux et que la prière et le  
salut de mon Seigneur soient sur son  
Prophète et son Serviteur Mohammed.*

*Je dédie cet humble travail :*

*A mes très chers parents, faible  
témoignage de ma reconnaissance  
pour leurs inestimables efforts  
consentis dans l'unique souci de ma réussite  
et de mon bien être ; A mes frères, mes sœurs,  
et tous les membres de la famille chaniki.*

*A tous mes amis surtout Aouag Asma,  
bourachrouche meriem, botoute affef,  
tebjoune haoua, hamadou meriem , et ma  
cousine loubna.*

*A tous mes collègues laborantins et  
biologistes de l'EH Didouche Mourad*

**CHANIKI KHAOULA**



## Dédicaces

*A nos très chères personnes au monde, qui sans eux nous Ne serons arrivées là, ma très chère mère, source de tendresse et de courage, et mon très cher père.*

*Je tiens à dédier ce travail à ma famille. Ma chère sœur : Mouna Mes chers frères : lotfi, hichem.*

*A tous mes amis surtout chaniki khaoula, botoute affef, tebjoune haoua, hamadou meriem , et sahour wissem*

*A tous mes collègues de toxicologies  
On dédie ce modeste travail.*

*AOUAG ASMA*



# Table des Figures

## *Première partie bibliographique*

### Chapitre 01 :

#### Généralités sur les polysaccharides

<b>Figure 1.1</b> : Structure de l'amylopectine (à gauche) et de l'amylose (à droite) (Gross <i>et</i> Scholz ,2001).....	04
<b>Figure 1.2</b> : Structure de la cellulose (Ummartyotin et Manuspiya, 2015).....	05
<b>Figure 1.3</b> : Structure de la hémicellulose (Ummartyotin <i>et</i> Manuspiya, 2015).....	05
<b>Figure 1.4</b> : Structure de Pectines (percheron. <i>et al.</i> , 1980.....	06
<b>Figure 1.5</b> : Structure du glycogène (PAL <i>et al.</i> , 2015).....	07
<b>Figure 1.6</b> : Structure de la chitine (Weinman, 2004).....	08
<b>Figure 1.7</b> : Structure de l'héparine (Voet <i>et al.</i> , 2005).....	08
<b>Figure 1.8</b> : Structure de l'alginate, de l'acide D-mannuronique (à gauche) et de l'acide L-guluronique (À droite) (Gross et Scholz ,2001).....	09
<b>Figure 1.9</b> : Structure du carraghénanes (Gross <i>et</i> Scholz ,2001).....	09
<b>Figure 1.10</b> : Structure du fucanes (Wijesinghe <i>et</i> Jeon, 2012).....	10
<b>Figure 1.11</b> : Structure du dextrans (Gross et Scholz ,2001).....	10
<b>Figure 1.12</b> : Structure du Xanthane .....	11

### Chapitre 02 :

#### L'activité antioxydant

<b>Figure 2.1</b> : Neutralisation d'un radical libre par un Antioxydant.....	15
<b>Figure 2.2</b> : Origine de différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier., 2003). .....	18
<b>Figure 2.3</b> : Structure chimique du $\beta$ -carotène (Rochette., 2008).....	21
<b>Figure 2.4</b> : Structure chimique du L'acide ascorbique (Rochette., 2008).....	21
<b>Figure 2.5</b> : Structure chimique des différents tocots (Zablocka., Janusz., 2008) .....	22

## Chapitre 03 :

### L'activité laxative

<b>Figure 3.1</b> : Anatomie et physiologie de l'appareil digestif (Bonaz .B, 2014).....	24
<b>Figure 3.2</b> : Morphologie du colon (CDU-HGE, 2014). .....	26
<b>Figure 3.3</b> : Mode d'action des laxatifs osmotiques salins (Pillon, 2010). .....	32
<b>Figure 3.4</b> : structure de lactulose (Capasso et Gaginella, 1997). .....	32
<b>Figure 3.5</b> : Mécanisme d'action du lactulose (Pillon, 2010).....	33
<b>Figure 3.6</b> : structure de sorbitol et de mannitol (Capasso et Gaginella, 1997). .....	33
<b>Figure 3.7</b> : Mécanisme d'action du PEG (Pillon, 2010). .....	34
<b>Figure 3.8</b> : Action des mucilages (Lüllmann et al., 2000). .....	35

## *Deuxième partie pratique*

### Chapitre 04 :

#### Matériel et méthodes

<b>Figure 4.1</b> : <i>Laurus nobilis</i> L.....	37
<b>Figure 4.2</b> : Les souris de laboratoire. ....	38
<b>Figure 4.3</b> : les feuilles du <i>Laurus nobilis</i> L. sèche .....	40
<b>Figure 4.4</b> : l'étape de broyage .....	41
<b>Figure 4.5</b> : La dissolution de la poudre dans de l'eau distillée. ....	41
<b>Figure 4.6</b> : L'incubation de la suspension dans un bain marie à 100 °c... ..	41
<b>Figure 4.7</b> : Le refroidissement de l'échantillon .....	42
<b>Figure 4.8</b> : La centrifugation du mélange .....	42
<b>Figure 4.9</b> : La concentration du surnageant. ....	42
<b>Figure 4.10</b> : La précipitation des polysaccharides. ....	43
<b>Figure 4.11</b> : Les polysaccharides purs. ....	43
<b>Figure 4.12</b> : La transformation du radical DPPH (Hidayat et al., 2017). ....	44
<b>Figure 4.13</b> : Le test du DPPH .....	45
<b>Figure 4.14</b> : Le test du pouvoir réducteur .....	46

<b>Figure 4.15</b> : Le test des radicaux hydroxylés.....	46
<b>Figure 4.16</b> : Les souris marquées par couleur... ..	47
<b>Figure 4.17</b> : le premier gavage .....	48
<b>Figure 4.18</b> : le deuxième gavage .....	48
<b>Figure 4.19</b> : Le sacrifice des animaux.....	48
<b>Figure 4.20</b> : La mesure de la distance. ....	49
<b>Figure 4.21</b> : Le rendement obtenu de l'extraction des polysaccharides. ....	50
<b>Figure 4.22</b> : Les pourcentages d'inhibition du DPPH• des polysaccharides et d'acide ascorbique.....	52
<b>Figure 4.23</b> : Le pourcentage d'inhibition du pouvoir réducteur (PR) de l'acide ascorbique.	53
<b>Figure 4.24</b> : Le pourcentage d'inhibition du pouvoir réducteur (PR) de polysaccharides de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	54
<b>Figure 4.25</b> : Le pourcentage d'inhibition de piégeage du radical hydroxyle(OH) de l'acide ascorbique .....	56
<b>Figure 4.26</b> : Le pourcentage d'inhibition de piégeage du radical hydroxyle(OH) de polysaccharides de <i>Laurus nobilis</i> L .....	56
<b>Figure 4.27</b> : L'effet de <i>Laurus nobilis</i> des polysaccharides on gastro-intestinal transit.***P < 0.001 : Temoin vs. Lactulose; **P < 0.01 Temoin vs. Polysaccharides ; <sup>NS</sup> P > 0.05 : comparaison le groupe Lactulose avec le groupe Polysaccharides ...	58



# Liste des tableaux

## Chapitre 03 : l'activité laxative

<b>Tableau 3.1</b> : les selles de Bristol classe les excréments humains en 7 catégories en fonction de leur forme et de leur consistance. (Serra et al., 2016) .....	27
---	----

## Chapitre 04 : Matériels et Méthodes

<b>Tableau 4.1</b> : Les matériels de l'extraction et de l'activité antioxydante et laxative .....	48
<b>Tableau 4.2</b> : Les réactifs de l'extraction et de l'activité antioxydante et laxative.....	48
<b>Tableau 4.3</b> : Les valeurs des $IC_{50} \pm SD$ du DPPH scavenger des polysaccharides et d'acide ascorbique laxative .....	52
<b>Tableau 4.4</b> : Les valeurs des $IC_{50} \pm SD$ du PR des polysaccharides et d'acide ascorbique.....	54
<b>Tableau 4.5</b> : Les réactifs de l'extraction et de l'activité antioxydante et laxative.....	57

# Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**ANOVA** : analysis of variance

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**$\alpha$**  : Alfa

**$\beta$**  : Béta

**C** : Carbone

**CCK** : Cholécystokinine

**°C** : Degré celsius

**Cm** : Centimètre

**CAT** : Catalase

**DPPH**: 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl

**E** : Electron

**Fe**: Fer

**Fe<sup>2+</sup>** : Ion ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Ion ferrique

**Fe SO<sub>4</sub>** : Sulfate ferreux heptahydraté

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de fer

**FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur du fer

**Gpx** : La glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion

**GSSG** : Glutathion oxydé

**GR** : Glutathion réductase

**GS'** : Glutamine synthétase

**g** : gramme

**Y** : Gamma

## Liste des abréviations

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**H<sup>+</sup>**: Proton

**HO<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle

**HOCl**: Acide hypochlorique

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**h** : heure

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibition de 50%

**J** : joule

**K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium

**Kg** : kilogramme

**LDL** : Lipoprotéines de densité légère

**L** : litre

**Mg** : Magnésium

**ml** : millilitre

**mg** : Milligramme

**M** : Mole

**mM** : Milimole

**M** : Masse

**m** : mètre

**NR** : Non radical

**NADPH** : Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate

**NO<sup>•</sup>** : Monoxyde d'azote

**NO<sup>2•</sup>** : Nitrique dioxyde

**NaOAc** : Acétate de sodium

**NaCl** : Chlorure de Sodium

**nm** : Nanomètre

**NS** : non significative

## Liste des abréviations

**O<sub>2</sub>** : Oxygène

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde.

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet

**OH<sup>-</sup>** : Ion hydroxyde

**ONOO<sup>-</sup>** : Le peroxydinitrite

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**OH** : Hydroxyle

**PR** : pouvoir réducteur

**pH** : potentiel d'hydrogène

**PEG** : Polyéthylène glycol

**%** : Pourcentage

**R<sup>•</sup>** : Radical alkyle

**ROS** : Reactive oxygen species

**ROO<sup>•</sup>** : Radical peroxyde.

**Rpm** : Rotations par minute

**SOD** : Superoxyde dismutase

**SD** : standard déviation

**δ** : Sigma

**Tr/min** : tour par minute

**TCA** : Acide trichloroacétique

**µg/ml** : Microgramme par millilitre

# Tables des Matières

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## *Première partie bibliographique*

### *Chapitre 01 : Généralités sur les polysaccharides*

1. polysaccharides .....	3
1.2. Classification des polysaccharides végétaux .....	3
1.2.1. Leur composition chimique .....	3
1.2.2. Leur fonction .....	3
1.2.3. Leur origine .....	3
1.3. Polysaccharides d'origine végétale .....	4
1.3.1. Amidon .....	4
1.3.2. Cellulose.....	4
1.3.3. Hémicellulose .....	5
1.3.4. Pectines.....	6
1.3.5. Gommés et mucilages....	6
1.4. Polysaccharides d'origine animale .....	7
1.4.1. Glycogène.....	7
1.4.2. Chitine .....	7
1.4.3. Héparine .....	8
1.5. Polysaccharides d'origine d'algues .....	8
1.5.1. Alginate .....	8
1.5.2. Carraghénanes .....	9
1.5.3. Fucanes .....	9
1.6. Polysaccharides d'origine microbienne .....	10
1.6.1. Dextranes.....	10
1.6.2. Xanthane .....	10
1.7. Propriétés physiques des polysaccharides .....	11
1.8. Isolement du polysaccharide .....	12

2. Les activités biologiques des polysaccharides .....	12
2.1. L'Activité anticoagulantes.....	13
2.2. L'Activité antioxydant .....	13
2.3. L'Activité immunodulatrice .....	13
2.4. L'activité anti tumorale et anticancéreuse.....	13
2.5. L'activités anti-inflammatoire .....	14

### *Chapitre 02 :l'activité antioxydant*

1. stress oxydant .....	15
2. les radicaux libres .....	15
2.1. Les sources des radicaux libres .....	16
A. origine endogène .....	16
B. origine exogène .....	16
2.2. Les principales espèces réactives de l'oxygéné .....	16
2.2.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ .....	16
2.2.2. L'oxygène singulet $^1O_2^{\cdot}$ .....	17
2.2.3. Le peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$ .....	17
2.2.4. Le radical hydroxyle $HO^{\cdot}$ .....	17
2.2.5. Le monoxyde d'azote $NO^{\cdot}$ .....	17
2. 2.6. Nitrique dioxyde $NO_2^{\cdot}$ .....	18
2.2.7. Le peroxy nitrite $ONOO^-$ .....	18
3. les Antioxydants .....	18
3.1. Les Antioxydants enzymatiques.....	19
3.2. Les Antioxydants non enzymatiques.....	20
3.2.1. Les Antioxydants endogène .....	20
3.2.2. Les Antioxydants exogène .....	20

### *Chapitre 03 :l'activité laxative*

1. Rappel anatomique et physiopathologique .....	24
2. L'intestin grêle .....	24
3. Le colon .....	25
4. Le rectum .....	27

5. physiopathologie de constipation .....	27
5.1.Définition .....	27
5.2.Etiologie .....	29
5.3.différentes formes de la constipation .....	29
5.4. Symptôme .....	30
5.5. Traitement .....	30
5.5.1. Les laxatifs .....	30
a. L'effet laxatif .....	30
b. Classification et mode d'action des différents laxatifs .....	30
1. Laxatifs osmotiques .....	31
2. Laxatifs de lest .....	34
3. Laxatifs lubrifiants.....	35
4. Laxatifs stimulants .....	35
5. Laxatifs rectaux. ....	36
5.5.2. L'effet laxatif des polysaccharides .....	36

## *Deuxième partie pratique*

### *Chapitre 04 : matériels et méthodes*

#### *Résultats et discussion*

#### *Section 01 : matériel et méthodes*

1. matériels .....	37
1.1. choix de la plante ( <i>laurus nobilis</i> L).....	37
1.1.1. Le choix de la plante <i>Laurus nobilis</i> L .....	37
1.1.2. Classification .....	37
1.2. Le matériel animal .....	38
1.2.1. Le choix de l'espèce animal.....	38
1.2.2 .Classification et description .....	38
1.3. Equipements et réactifs .....	39
2. méthode .....	40
2.1. Récolte et Préparation de la plante.....	40

2.2. Préparation des extraits.....	41
2.3. Purification.....	43
2.4. Calcul du rendement .....	44
3. Protocol expérimental .....	44
3.1. In Vitro .....	44
3.1.1. L'activité antioxydant par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) .....	44
3.1.2. Le pouvoir réducteur(PR) .....	45
3.1.3. Le Dosage de radicaux hydroxylés.....	46
3.1. In vivo .....	47

## **Section 02 : Résultats et discussion**

1. Résultats d'extraction .....	50
2. L'activité antioxydante .....	51
2.1. Test de piégeage du radical libre DPPH .....	51
2.2. Le pouvoir réducteur (PR).....	53
2.3 Le test de piégeage du radical hydroxyle .....	55
3. L'activité laxative .....	57
3.1. Mesure du transit intestinal .....	57
4. Analyse statistique .....	59
Conclusion et Perspectives .....	60
Références bibliographiques .....	



## دراسة النشاط المضاد للأكسدة مخبريا والنشاط المسهل لمتعددات السكار حيويا

### المستخلص من نبات الرند

#### الملخص

تناولنا في هذه الدراسة النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المسهل لمتعددات السكار المستخلصة بالماء الساخن من أوراق نبات الرند *Laurus nobilis* L. ، و يعرف هذا النبات بالاستعمال الشعبي الواسع في مجالات متعددة منها : صناعة العطور و مستحضرات التجميل ، الصناعة الغذائية و بعض المبيدات الحشرية إلي جانب المجال الطبي ، حيث تستخدم أوراقه في علاج تشنجات البطن و الصداع و التهاب المفاصل.

ويرجع التأثير الصيدلاني لهذا النبات إلى بعض المركبات الطبيعية النشطة مثل متعددات السكار التي حضت بأهمية كبيرة في ميدان البحث العلمي لمدى فاعليتها كمضادات للأورام، الالتهابات والتخثر، الأكسدة ومنبهات مناعية وواقيات كبدية.

أجريت هذه الدراسة عبر المراحل التالية: أولا استخلاص متعددات السكار من نبات الرند بطريقة الماء الساخن، حيث قدر مردود متعددات السكار الخام بنسبة 2,2 % و متعددات السكار النقية بنسبة 2 % . ثم دراسة النشاط المضاد للتأكسد بثلاثة اختبارات، اختبار استخلاص الجذور الحرة (DPPH ، اختبار القدرة الإرجاعية (PR) ، استخلاص جذور الهيدروكسيل (OH<sup>•</sup>) ، و توصلت نتائج هذه الاختبارات إلى أن اختبار DPPH كانت نسبة تثبيطه (  $IC_{50}=0,983\pm$  ) (0,08) ، اختبار PR (  $IC_{50}=260\pm 4$  ) و اختبار (OH<sup>•</sup>) (  $IC_{50}=2.5$  ). و أخيرا لدراسة النشاط المسهل على فئران المختبر قمنا بتقسيمها إلى ثلاثة مجموعات: المجموعة الشاهدة، المجموعة lactulose و المجموعة المعاملة بمتعددات السكار بحيث أظهرت النتائج أن متعددات السكار تملك نشاطا مماثلا بمقارنة بالشاهد الايجابي lactulose النتائج المتحصل عليها المقترحة بان متعددات السكار المستخلصة بالماء الساخن من أوراق الرند لها عوامل مضادة للأكسدة وعوامل مسهلة.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المسهل، متعددات السكار، نبات الرند .

# **Etude de l'activité antioxydante in vitro et l'activité laxative in vivo des polysaccharides extraits du *Laurus Nobilis* L.**

## **Résumé**

On a abordé dans cette étude l'activité antioxydant in vitro et l'activité laxative in vivo des polysaccharides extraits du *Laurus Nobilis* L. par l'eau chaude (décoction) la plante de *Laurus Nobilis* L. est populairement connu par son usage très répandu dans plusieurs domaines notamment l'industrie cosmétique, l'agroalimentaire, les pesticides et y compris le domaine médicale, les feuilles sont utilisées dans le traitement des céphalées, les crampes abdominales, et les inflammations articulaires.

L'effet pharmaceutique de cette plante relève de ces composantes naturelles actives tel que les polysaccharides, qui ont gagnés une grande importance dans le domaine de la recherche scientifique vu leur efficacité anti-tumorale, anti-inflammatoires, anticoagulante, antioxydante, immunomodulatrice et hypotensive.

Cette étude a respecté les étapes suivantes :

Premièrement l'extraction des polysaccharides par l'eau chaude (décoction) du *Laurus Nobilis* L. dont le taux de rendement des polysaccharides bruts est estimé à 2.2% et celui des polysaccharides purs est 2%. Ensuite on a entrepris l'étude de l'activité antioxydante via trois tests : le test de piégeage du radical libre DPPH, le test du pouvoir réducteur PR, et le test de piégeage du radical hydroxyle OH<sup>•</sup>, les résultats obtenus de ces tests ont montré que le taux d'inhibition du DPPH est : (IC<sub>50</sub>=0,983± 0,08), celui du test de PR : (IC<sub>50</sub>=260±4), et le test du OH<sup>•</sup> : (IC<sub>50</sub>=2.5). Finalement pour étudier l'activité laxative sur des souris de laboratoire on a divisé sur trois lots : lot 1 témoins négatifs, lot 2 témoins positifs (Lactulose), et lot 3 extrait des polysaccharides, ce qui a révélé que les polysaccharides ont une activité semblable en comparaison aux témoins positifs (Lactulose). Les résultats de cette étude proposent que les polysaccharides extraits par l'eau chaude des feuilles de *Laurus Nobilis* L. ont des facteurs antioxydants, et laxatifs.

**Les mots clés :** l'activité antioxydante, l'activité laxative, les polysaccharides, *Laurus Nobilis* L.

## **A Study of antioxidant activity in vitro and laxative activity in vivo of polysaccharides extracted from *Laurus Nobilis L.***

### **Abstract**

In this study, we have tackled the antioxidant activity in vitro and the laxative activity in vivo of the polysaccharides extracted from *Laurus Nobilis L.* by hot water (decoction). The plant of *Laurus Nobilis L.* is commonly known by its extensive use in several fields including the cosmetics industry, food industry, pesticides and the medical field, its leaves are used in the treatment of headaches, abdominal cramps, and articular inflammations.

The pharmaceutical effect of this plant is due to its natural active components such as polysaccharides, which have scored great importance in the scientific research field given their anti-tumor, anti-inflammatory, anticoagulant, antioxidant, immunomodulatory, and hepatoprotective efficacy.

This study went through the following steps:

First, the extraction of the polysaccharides by hot water (decoction) from *Laurus Nobilis L.* whose rate of the crude output of polysaccharides is estimated at 2.2% and the pure polysaccharides is 2%. Then the study has undertaken the examination of the antioxidant activity through three tests: The DPPH free radical scavenging test, the PR reducing power test, and the hydroxyl OH<sup>•</sup> radical scavenging test, and the results obtained from these tests showed that the rate of inhibition of DPPH was: (IC<sub>50</sub> = 0.983 ± 0.08), that of the PR test: (IC<sub>50</sub> = 260 ± 4), and the OH test was: (IC<sub>50</sub> = 2.5). Finally, to study the laxative activity in Laboratory mice was divided into three lots: lot 1 negative controls, lot 2 positive controls (Lactulose), and lot 3 extracted polysaccharides. Which revealed that the polysaccharides had a similar activity compared to positive controls (Lactulose).

The results of this study suggest that polysaccharides extracted by hot water from *Laurus Nobilis L.* leaves have antioxidant, and laxative factors.

**Key words:** antioxidant activity, laxative activity, polysaccharides, *Laurus Nobilis L.*

Une plante médicinale est toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces, peuvent avoir des actions très différentes suivant leur mode de préparation (**Gomes *et al.*, 2012**).

Les plantes ont toujours formé la base des systèmes sophistiqués de la médecine traditionnelle, elles existent depuis des milliers d'années et continuent d'apporter à l'humanité de nouveaux remèdes, et selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire. Malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (**Newman *et al.*, 2000 ; Calixto, 2005**).

La majorité de la population, surtout en Afrique, utilise les remèdes décrits par les tradipraticiens, ce qui apparaît comme une alternative à la médecine chimique et résout un grand problème socioéconomique (**Angone *et al.*, 2010**).

Parmi les plantes médicinales largement utilisées, le *Laurus nobilis* L. ou le laurier noble a retenu notre attention en raison de son abondance dans le pourtour méditerranéen en plus de son usage fréquent dans notre pays vu ses propriétés thérapeutique (**Catier *et al.*, 2007 ; Beloued, 2005**).

Le *Laurus nobilis* L. pousse dans les lieux humides ombragés (**Iserin, 2001**), ses feuilles comportent plusieurs composants chimiques tels que les alcaloïdes iso quinoléiques, les composés phénoliques et les polysaccharides (mucilage, pectine) (**Beloued, 2005**).

Lors de notre travail de mémoire, nous nous intéresserons exclusivement aux polysaccharides contenus dans les feuilles du *Laurus nobilis* L., ces derniers sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes, immunodulatrice, anticancéreuse, antivirale, anti-inflammatoire, antioxydant et laxative.

Les polysaccharides (PS) sont des produits de condensation (**Kennelly *et al.*, 2013**). ils sont obtenus par différents procédés d'extraction en fonction du type de PS recherché (**Soma *et al.*, 1982 ; Gwada *et al.*, 1980**).

## Introduction Générale

---

Après extraction, deux des principales activités des PS sont recherchées, à savoir, l'activité antioxydant (retarder ou empêcher l'oxydation des substrats oxydables) (**Droge, 2002**) et l'activité laxative (traitement de la constipation) (**Capasso et Gaginella, 1997**).

Notre travail s'articule donc en deux grandes parties :

- La partie théorique présente une revue de littérature sur des généralités sur les polysaccharides et les études réalisées antérieurement.
- La partie pratique porte sur l'extraction des PS du laurier noble et l'étude des deux principales activités biologiques des polysaccharides :
  - L'activité antioxydant, mesurée in vitro par piégeage des radicaux hydroxylés OH, piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur PR.
  - l'activité laxative étudiée par expérimentation animale après administration de l'extrait obtenu à des souris.

## 1. Polysaccharides

Les polysaccharides (ou polyosides, ou glycanes) sont arbitrairement définis comme des polymères de haut poids moléculaire résultant de la condensation d'un grand nombre de molécules d'oses (monosaccharides). Chaque ose est lié à son est voisin par l'intermédiaire d'une liaison glycosidique (**Girouard et Lapierre, 2008**).

Les polysaccharides sont présents chez tous les êtres vivants, dans les végétaux tels que : l'amidon, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines, dans les animaux comme le glycogène et l'acide hyaluronique, la chitine existe aussi chez les insectes et les crustacés ; et dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) comme l'exanthine,  $\beta$  glucanes, les carraghénanes (**Ruff, 2008**).

### 1.2. Classification des polysaccharides

Les polysaccharides existent dans la nature en nombreuses variétés, ils peuvent être classés selon leur composition chimique, leur fonction et/ou leur origine :

#### 1.2.1. Leur composition chimique

Pour la composition chimique, les polysaccharides sont classés en deux types :

- ✓ **homopolysaccharides ou des homoglycanes** : qui sont constitués d'un seul type de monosaccharides. Par exemple : la cellulose et le glycogène sont constitués de glucose.
- ✓ **Les hétéropolysaccharides ou hétéroglycanes** : sont constitués de plus d'un type de monosaccharides, tel que l'héparine.

#### 1.2.2. Leur fonction

- ✓ **Polysaccharides de réserve** : l'amidon.
- ✓ **Les polysaccharides de structure** : la cellulose, l'hémicellulose, la pectine, les gommes et le mucilage.

#### 1.2.3. Leur origine

- ✓ **Origine végétale** : c'est le cas de l'amidon, de la cellulose, des pectines ou des gommes et mucilage.
- ✓ **Origine d'algue** : les alginates, les carraghénanes, l'agar ou les fucanes.
- ✓ **Origine animale** : glycogène, héparine, chitine.
- ✓ **Origine microbienne** : les dextranes et les xanthanes (**Liu et al., 2015 ; Garon-lardiere, 2004**).

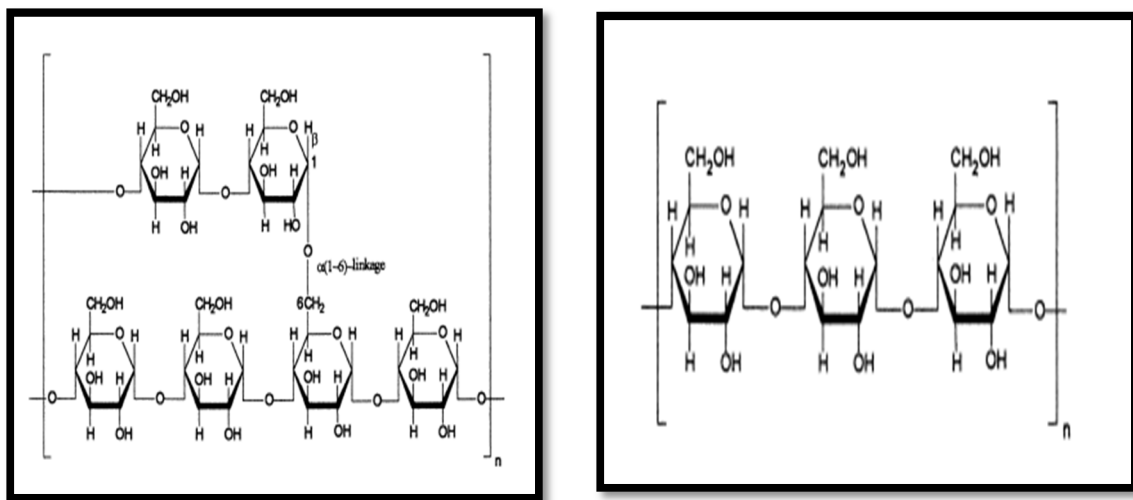
### 1.3. Polysaccharides d'origine végétale

#### 1.3.1. Amidon

L'amidon est la principale forme de réserve glucidique des végétaux. Il est présent dans tous les végétaux et dans toutes les parties de la plante, mais on le trouve Préférentiellement dans les organes de réserve (graines, racines, tubérisées ...).

L'amidon résulte de l'association de deux polyholosides homogènes :

- ✓ L'amylose (20%).
- ✓ L'amylopectine (80%) (**Bellosta, 2013**).



**Figure 1.1 :** Structure de l'amylopectine (à gauche) et de l'amylose (à droite)  
(**Gross et Scholz, 2001**).

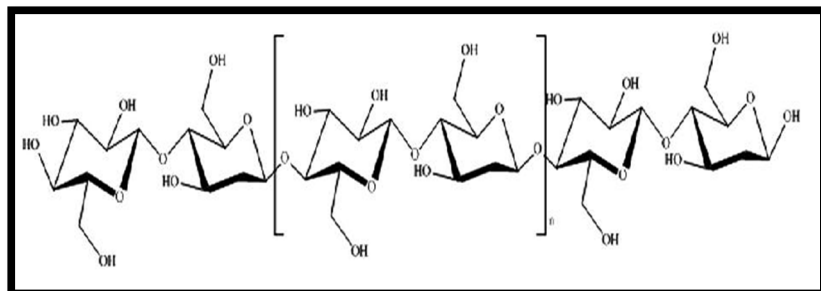
#### 1.3.2. Cellulose

La cellulose est un polymère du D- glucose. Ses chaines linéaires donnent des structures hélicoïdales. Les liaisons hydrogènes entre les chaines confèrent au polymère, en plus de l'insolubilité, une grande rigidité et un aspect fibreux (parois cellulaires des plantes).

Les enzymes digestives humaines (contrairement à celles des bovins et des termites) ne peuvent pas hydrolyser les liaisons  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) et donc la cellulose n'est pas un aliment. De nombreux dérivés de la cellulose sont commerciaux : acétate de cellulose ; Viscose (textiles) et Nitrocellulose (explosif) (**Bellosta, 2013 ; Lachapelle, 2008**).

C'est un polymère non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) comme dans la cellobiose, deux molécules de

D-glucopyranose unies par une liaison  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) ( $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glucopyranose) (Weinman *et* Mehu, 2004).



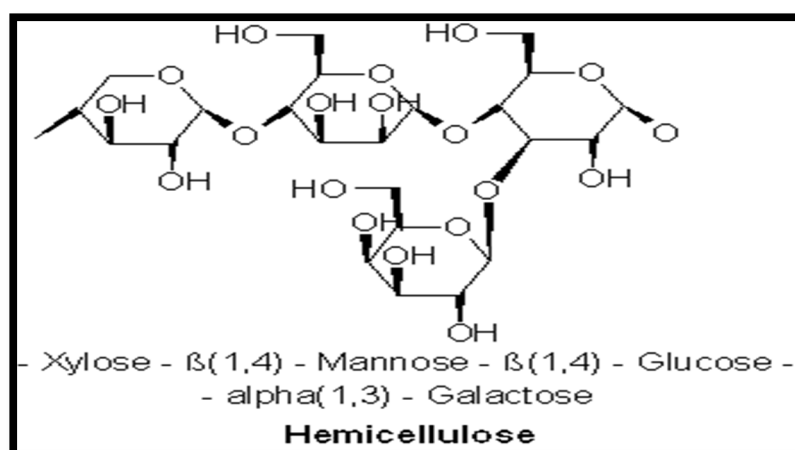
**Figure 1.2 :** Structure de la cellulose (Ummartyotin *et* Manuspiya, 2015).

### 1.3.3. Hémicellulose

Le terme hémicellulose a été initialement proposé par Schulze pour désigner les polysaccharides extractibles par rapport à la cellulose, sous ce nom on groupe toutes sortes de substances ressemblant à la cellulose. Elles occupent une place intermédiaire entre cette dernière et les mucilages.

Les hémicelluloses sont ordinairement insolubles dans l'eau, elles apparaissent dans la plante comme des épaissements (Wertz, 2011 ; Merghm, 2009).

Les hémicelluloses constituent une famille très diversifiée de molécules, qui ont en commun avec la cellulose la liaison glycosidique  $\beta$  (1,4). Comme dans la cellulose, la structure générale est celle d'une hélice étirée à deux résidus ( $\beta$ -(1,4)-D-pyranose), par tour (Wertz, 2011).



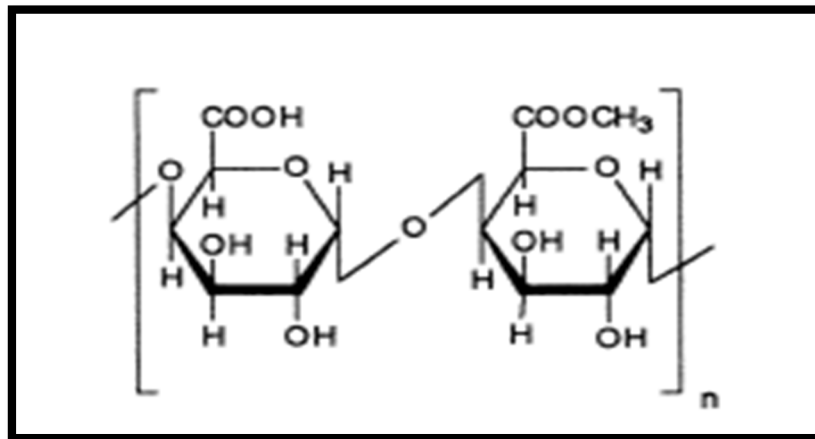
**Figure.1.3 :** Structure de l'hémicellulose (Ummartyotin *et* Manuspiya, 2015).



### 1.3.4. Pectines

Ce sont des polysaccharides acides présents sous forme insoluble (protopectine) dans les membranes cellulaires des végétaux et en solution dans le suc de certains fruits (Rosacées).

Les pectines se présentent sous forme de sels (calcium, magnésium) de l'acide pectique ; celui-ci est un polymère linéaire des unités (30 à 50) d'acide D-galacturonique liées par des liaisons  $\alpha$  1 $\rightarrow$  4, auxquelles sont associées à certains oses (L-rhamnose, D-galactose, L-arabinose et D-xylose). Les groupements carboxyles peuvent être libres ou estérifiés par le méthanol (**Percheron *et al.*, 1980**).



**Figure1.4 :** Structure des Pectines (**Percheron. *et al.*, 1980**).

### 1.3.5. Gommages et mucilages

Les gommages et les mucilages ont certaines similitudes. Les deux sont des hydro colloïdes végétaux. Ce sont des polymères d'un monosaccharide ou monosaccharide mixte et beaucoup d'entre eux sont combinés avec des acides uroniques (**Jani *et al.*, 2009 ; percheron *et al.*, 1980**).

#### ➤ Mucilage

Ce sont des polymères ramifiés qui peuvent être acides (acide galacturonique), ils peuvent aussi être neutres (galactose + mannoses), ces mucilages sont des constituants cellulaires normaux des végétaux (principalement les graines) (**JANI *et al.*, 2009**).

Ils existent deux types de mucilage :

- ✓ Mucilages acides.
- ✓ Mucilages neutres.

#### ➤ Gomme

Ce sont des polymères très ramifiés et très hétérogènes renfermant soit de l'acide glucuronique soit de l'acide galacturonique, ce sont des substances d'origine pathologique recueillies à la suite d'exsudation spontanée ou provoquée.

- ✓ **Gomme glucuronique** : gomme arabique et gomme mesquite qui sont obtenues à partir des légumineuses.
- ✓ **Gomme galacturonique** : gomme adragante (peut être retrouvée dans les légumineuses) et la gomme de sterculia qui peut être retrouvée dans les sterculiacées (Jani *et al.*, 2009).

#### 1.4. Polysaccharides d'origine animale

##### 1.4.1. Glycogène

Le glycogène est un homopolysaccharide ramifié, c'est la forme de stockage du glucose. Sa structure est la même que l'amylopectine (Moussard, 2006), il est formé de sous unités de glucose unies par des ponts  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) osidiques portant des branchements toutes les quatre sous unités par pont  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6). Ses chaînes sont plus courtes et plus ramifiées que celle de l'amylopectine. Son extrémité réductrice est fixée à une protéine, la glycogénine ; il constitue le polysaccharide (Kessous, 2006).

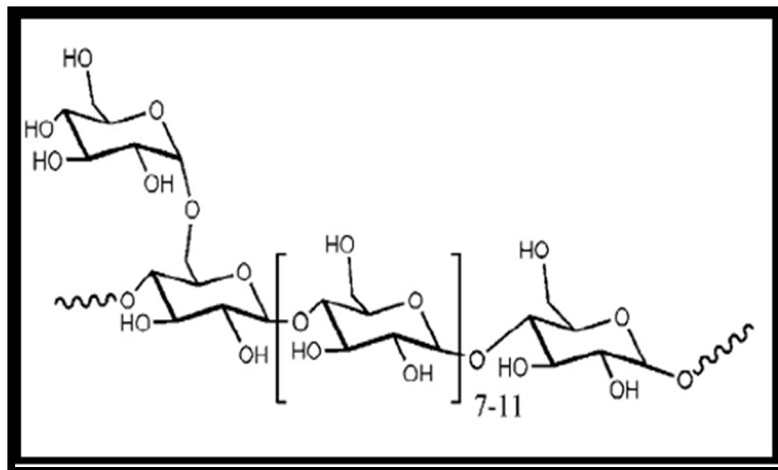


Figure 1.5 : Structure du glycogène (Pal *et al.*, 2015).

##### 1.4.2. Chitine

La chitine est un homopolysaccharide linéaire. Les unités de N-acétylglucosamine sont unies par des liaisons  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4). La chitine a donc la même structure que la cellulose, à l'exception du C-2 substitué non par un groupement hydroxyle, mais par un groupement aminé acétylé (Moussard, 2006).

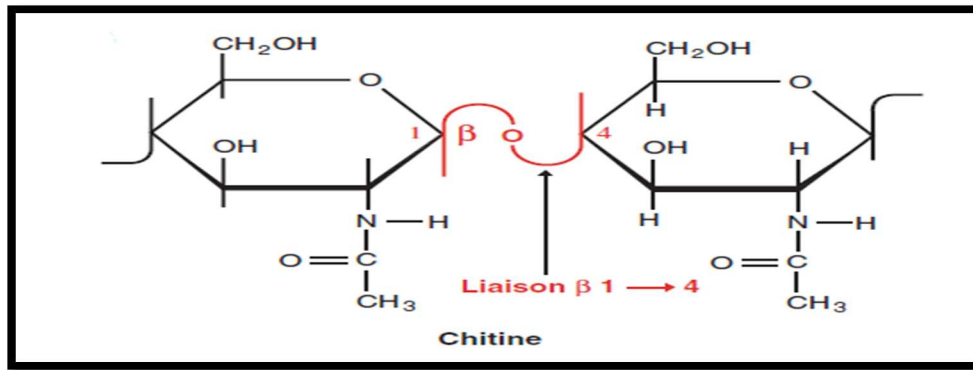


Figure 1.6 : Structure de la chitine (Weinman, 2004).

### 1.4.3. Héparine

L'héparine est un polysaccharide linéaire hautement sulfaté contenant principalement une unité disaccharidique répétée ( $\alpha$ -D-Glucosamine en alternance avec de l'acide  $\alpha$ -L-induronique) C'est le polysaccharide le plus largement utilisé cliniquement comme un anticoagulant et un anti thrombotique (Souza *et al.*, 2015).

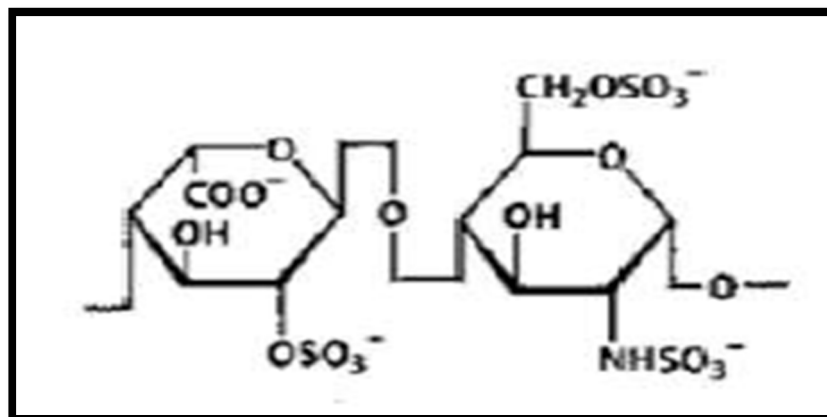
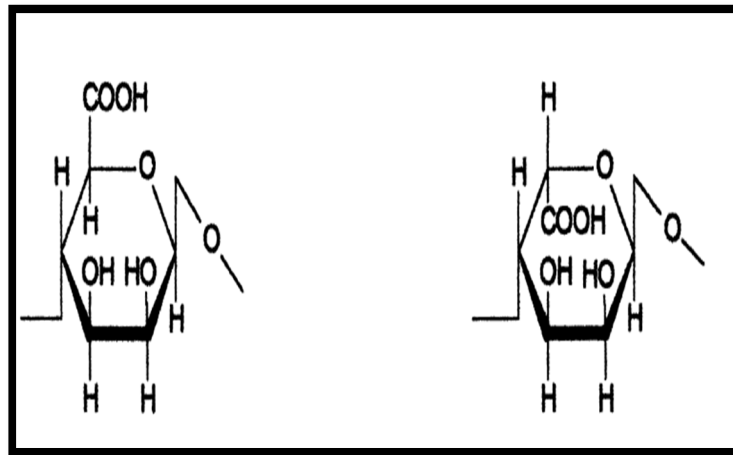


Figure 1.7 : Structure de l'héparine (Voet *et al.*, 2005).

## 1.5. Polysaccharides d'origine d'algue

### 1.5.1. Alginate

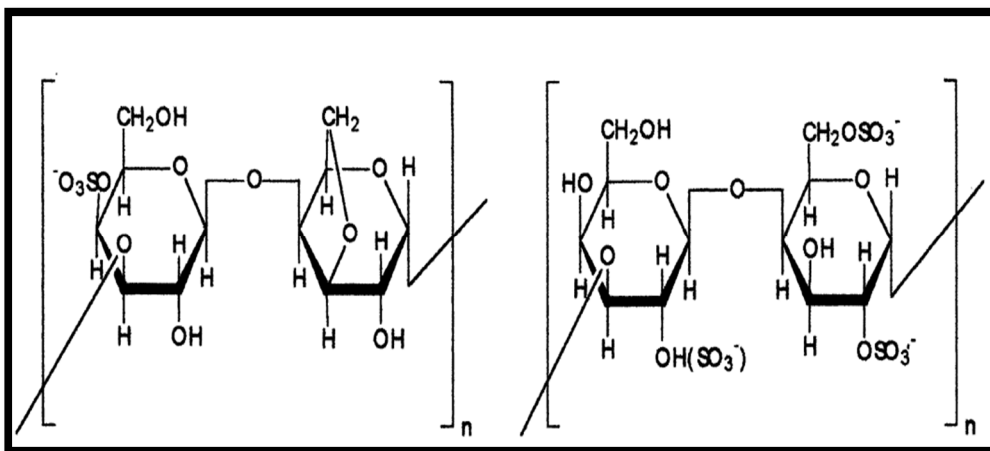
L'alginate est un extrait des parois cellulaires des algues brunes. Ces polysaccharides peuvent différencier dans la composition et répéter l'unité des séquences d'acides polyuroniques linéaires liés à 1,4. Les alginates peuvent contenir des segments avec de l'acide poly-3-D-mannuronique, de l'acide poly- $\alpha$ -L-guluronique et de l'acide D-mannuronique et L-guluronique alternan (Gross *et Scholz*, 2001).



**Figure 1.8 :** Structure de l'alginate, de l'acide D-mannuronique (à gauche) et de l'acide L-gulonique (À droite).

### 1.5.2. Carraghénanes

C'est un polysaccharide précieux connu sous le nom de carraghénane et trouvés dans les algues rouges et contient des mélanges complexes qui consistent en chaînes sulfatées linéaires avec des unités D-galactose et 3,6-anhydro-D-galactose



Forme kappa

Forme Lambda (la plus commune)

**Figure 1.9 :** Structure du carraghénanes (**Gross et Scholz, 2001**).

### 1.5.3. Fucanes

Les fucanes ou fucoidiens sont des polysaccharides sulfatés présents dans la matrice intercellulaire des Phaeophyceae (principalement les Laminariales et les Fucales) dont ils constituent environ 40 % de la masse sèche. On en trouve aussi chez les invertébrés marins, et

ce sont des polymères du fructose liée en  $\beta$  (2.1) inuline ou  $\beta$ -(2.6) levane avec un glucose terminal (Bruneton, 2009).

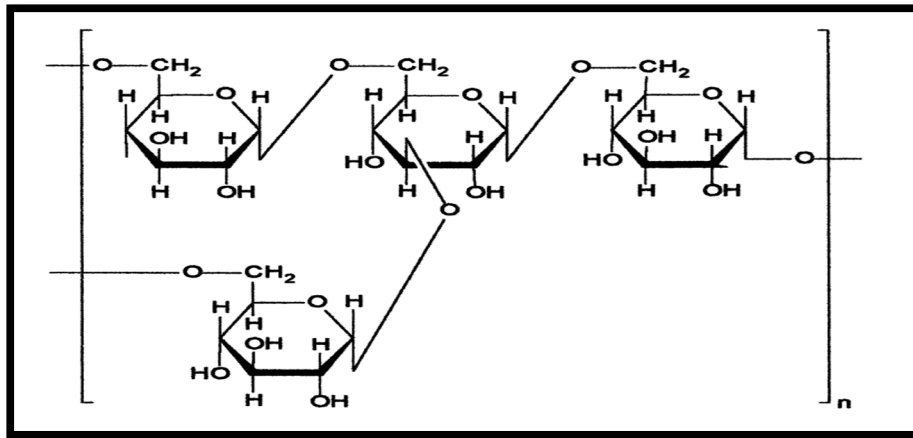


Figure 1.10 : Structure du fucanes (Wijesinghe *et* Jeon, 2012).

## 1.6. Polysaccharides d'origine microbienne

### 1.6.1. Dextranes

Les dextranes sont des polymères de glucose de longues chaînes. Ils sont composés de chaînes principales qui ne contiennent que des unités D-glucopyranose répétées avec des liens  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6). Ils peuvent avoir des branches de chaînes latérales qui impliquent d'autres liens différents  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 2) ;  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 3) ou  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4).

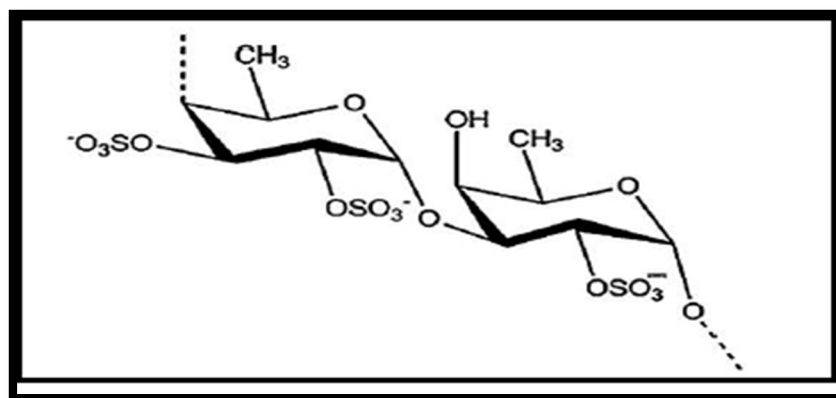


Figure 1.11 : Structure des dextranes.

### 1.6.2. Xanthane

La gomme de xanthane est un exo-polysaccharide extracellulaire anionique produit par plusieurs espèces bactériennes du genre *Xanthomonas*, telles que *X campestris*

(Pseudomonaceae). Ce polymère de poids moléculaire élevé est composé d'unités de pentasaccharides répétitives constituées d'une chaîne principale de glucose  $\beta$ -1,4-D linéaires avec des chaînes latérales de tri-saccharide composées d'unités d'acide D-mannose et D-glucuronique avec des proportions variables de résidus O-acétyle et pyruvyle lié aux positions 4 et 6.

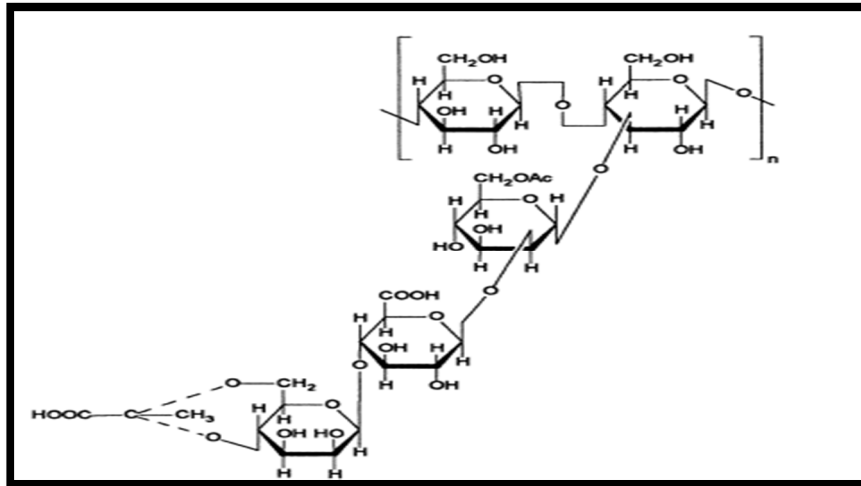


Figure 1.12 : Structure du Xanthane (Gross *et* Scholz, 2001).

### 1.7. Propriétés physiques des polysaccharides

La nature des polysaccharides influence fortement sur leurs propriétés physiques dans le domaine alimentaire. Ce sont les propriétés en solution qui revêtent la plus importance en milieux aqueux les molécules linéaires forment généralement des solutions plus visqueuses que les molécules branchées car elles ont un volume hydrodynamique plus important.

Les molécules linéaires ont aussi une plus grande tendance à précipiter en milieu concentré car leur conformation favorise les interactions intermoléculaires. Il peut en résulter un état plus ou moins cristallin ; comme pour l'amidon lors de la rétrogradation certains homoglycanes comme la cellulose sont insolubles car les ponts hydrogènes intra et intermoléculaires sont très stables et forment un réseau cristallin hautement organisé empêchant la pénétration de l'eau.

Les composés ramifiés sont souvent plus solubles que les composés linéaires et forment plus facilement des gels car les interactions intermoléculaires sont moins fortes. Par contre, les solutions sont souvent plus collantes à cause de l'enchevêtrement des chaînes latérales.

La charge des polymères exerce aussi une influence sur leur comportement en fonction du PH ou de la présence de sels. Par exemple, la pectine et l'alginate précipitent à un PH bas lorsque les groupements carboxyles sont neutralisés.

La viscosité d'une solution est en fonction de la taille et de la structure des molécules. La structure des molécules influence sur leur flexibilité ou leur rigidité, par exemple, la rotation autour des liaisons glycosidiques, et ainsi la forme que la molécule adoptera en solution (**Badoud *et al.*, 2010**).

### **1.8. Isolement des polysaccharides**

La solubilisation des polysaccharides fait intervenir de l'eau éventuellement additionnée d'acides minéraux (extraction des pectines) ou de divers sels (carbonates dans le cas de l'alginate), on peut aussi utiliser des solvants aprotiques dipolaires (**Bruneton, 2009**).

L'extraction des polysaccharides solubles se fait habituellement à l'aide d'un alcool (éthanol à 80 ou méthanol) bouillant, l'eau froide en macération pendant plusieurs jours extrait de plus les gommages, les mucilages et les composés pectiques. L'eau bouillante ou les acides minéraux dilués permettent d'extraire les composés précédents plus l'amidon tandis que la cellulose est extraite par des solutions alcalines diluées ou les acides minéraux concentrés (**Marouf, 2009**).

L'élimination des sels et des molécules de faible masse moléculaire peut être réalisée par la dialyse en utilisant des résines échangeuses d'ions ; par filtration moléculaire sur gel ou par extraction (ex : élimination des oligosaccharides et des pigments par l'éthanol ou l'acétone). Le fractionnement des polysaccharides est délicat : il impose le recours aux techniques de précipitation (par des solvants non miscibles par addition de sels par variation du pH).

Les techniques chromatographiques sont largement mises à profit : sur charbon, sur gels de poly glucosanes réticulés natifs ou greffés sur échangeurs d'ions. Les particularités structurales du polysaccharide à isoler permettent parfois l'utilisation de techniques spécifiques : formation du complexe borique, formation de dérivés d'inclusion, utilisation d'ammonium quaternaire. Dans tous les cas, la purification est suivie par des déterminations physiques et chimiques : activité optique, masse moléculaire, composition élémentaire, électrophorèse etc... (**Bruneton, 2009**).

## **2. Les activités biologiques des polysaccharides**

Il existe plusieurs activités des polysaccharides : l'activité anticoagulante, antioxydante, immunomodulatrice, anti-tumorale et anticancéreuse et anti-inflammatoire.

### **2.1. L'activité anticoagulante**

Les polysaccharides de plantes ont une activité anticoagulante à cause de la présence des résidus d'acide uronique ; ils sont utilisés pour la prévention et le traitement d'événements thrombotiques sévères (**Kortchinsky *et al.*, 2013 ; Staples *et Jacquemoud*, 2005**).

### **2.2. L'activité antioxydante**

Les activités antioxydantes peuvent être étroitement liées aux caractéristiques structurales des polysaccharides. Néanmoins, ce n'est pas tous les polysaccharides qui possèdent des activités antioxydantes.

Les capacités des antioxydants des polysaccharides dépendent généralement de l'unité d'ose ; des liaisons glycosidiques ; du degré de ramification et de conformation du polysaccharide (**Li *et al.*, 2013**).

L'extraction hydrosoluble à chaud représente la méthode la plus efficace dans la préservation de l'activité antioxydante des polysaccharides (**Liu *et al.*, 2015 ; Xu *et al.*, 2007 ; Xie *et al.*, 2007**).

### **2.3. L'activité immunomodulatrice**

Les polysaccharides sont considérés comme des antigènes cellulaires T-indépendantes classiques qui ne provoquent pas de réponses immunitaires à médiation cellulaire mais ils provoquent une immunité humorale.

Les effets thérapeutiques des polysaccharides végétaux surviennent via la modulation du système du complément et la stimulation des macrophages.

Cette dernière est également rapportée pour moduler l'expression de divers récepteurs de la surface cellulaire, y compris ceux qui reconnaissent les polysaccharides végétaux (**Schepetkin *et Quinn*, 2006**).

### **2.4. L'activité anti-tumorale et anticancéreuse**

Les polysaccharides peuvent inhiber la croissance tumorale (l'activité anticancéreuse directe) par des mécanismes communs, telle que l'induction de l'apoptose des cellules tumorales ; l'activité immunopotentielle associée à une chimiothérapie et l'inhibition de la métastase tumorale (**Zong *et al.*, 2012**).



## 2.5. L'activité anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire des polysaccharides est expliqué par l'inhibition du cyclo-oxygénase ou lipo-oxygénase, et ainsi par l'inhibition de l'adhérence des leucocytes qui est l'une des premières étapes dans l'initiation de la réponse inflammatoire et pour l'accumulation des cellules immunitaires actives au niveau des sites inflammatoires (**Wu *et al.*, 2007**).

## 1. Stress oxydant

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. La réduction univalente de l'oxygène se traduit par la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet (**Pincemail *et al.*, 2000**).

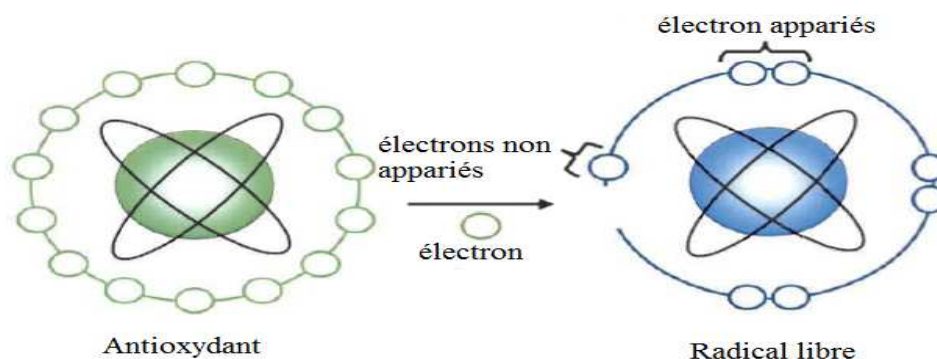
## 2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe, la présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte.

Les radicaux libres agissent comme des accepteurs d'électrons et arrachent donc des électrons à d'autres molécules. Cette perte caractéristique d'un électron correspond au phénomène d'oxydation et les radicaux libres sont donc considérés comme des agents oxydants puisqu'ils incitent les molécules à donner des électrons (**Gilgun-Sherki *et al.*, 2001**).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

- ✓ Addition d'un électron libre à un non radical ( $NR + e \rightarrow R'$ ).
- ✓ Perte d'un électron par un non radical ( $NR - e \rightarrow R'$ ).
- ✓ Scission homolytique d'une liaison covalente ( $A : B \rightarrow A' + B'$ ) (**Clarkson *et Thompson*, 2000**).



**Figure 2.1** : Neutralisation d'un radical libre par un Antioxydant.

## 2.1. les sources des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène par le biais de différents mécanismes physiologiques dans l'organisme, mais aussi d'origine exogène, provoqués par plusieurs sources chimiques et physiques.

### A. Origine endogène

Aux doses faibles, les ROS sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que :

- ✓ La chaîne respiratoire.
- ✓ La réaction immunitaire.
- ✓ La transduction de signaux cellulaires.
- ✓ Les NADPH oxydases.
- ✓ Les oxydes nitriques synthases.
- ✓ Autres sources endogènes.

### B. Origine exogène

Des facteurs environnementaux peuvent contribuer à la formation d'entité radicalaire. Une production importante des ROS est observée lors d'une intoxication par des métaux lourds (cadmium, mercure, arsenic) ou dans les phénomènes d'irradiation provoquant des dommages au niveau de l'ADN. Par ailleurs la fumée de tabac, l'alcool ou même certains médicaments (Xénobiotiques) peuvent être des sources de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P<sub>450</sub> (Favier, 2003).

## 2.2. Les principales espèces réactives de l'oxygène

### 2.2.1. L'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup>

L'anion superoxyde est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d'oxygène. Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires. L'O<sub>2</sub> peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes via la conversion de l'hypo xanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommés sont transformés en radicaux superoxydes (Wolin, 1996 ; Favier, 2003).



### 2.2.2. L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Delattre et Bonnefon, 2005).

### 2.2.3. Le peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2$

Le peroxyde d'hydrogène peut être obtenu soit par oxydation soit par des mutations. Celui-ci réagit avec le fer, composé pouvant être toxique pour les cellules. Ainsi le peroxyde d'hydrogène participe à un mécanisme de protection.

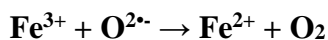


### 2.2.4. Le radical hydroxyle $\text{HO}^\bullet$

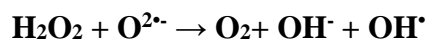
Le plus important des produits est le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ). C'est une espèce oxygénée très réactive qui provient de la coexistence de l'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec le fer (forme ferreux) et produit du fer oxydé (forme ferrique) et le radical hydroxyle, C'est la réaction de Fenton.



Ensuite le fer ferrique est réduit en fer ferreux par l'anion superoxyde principalement.

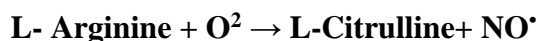


L'ensemble de ces réactions forme la réaction d'Haber Weiss.



### 2.2.5. Le monoxyde d'azote $\text{NO}^\bullet$

L'oxyde azotique  $\text{NO}^\bullet$  est principalement produit par un système enzymatique, la NO synthase, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH.



### 2.2.6. Nitrique dioxyde NO<sup>2</sup>

Formé à partir de la réaction du radical pyroxyde avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène, d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés.

### 2.2.7. Le peroxydinitrite ONOO<sup>-</sup>

Le monoxyde d'azote par concomitance avec un ion superoxyde va entraîner la formation de peroxydinitrite (ONOO) qui est hautement cytotoxique. Cette réaction est surtout retrouvée au niveau des vaisseaux sanguins.

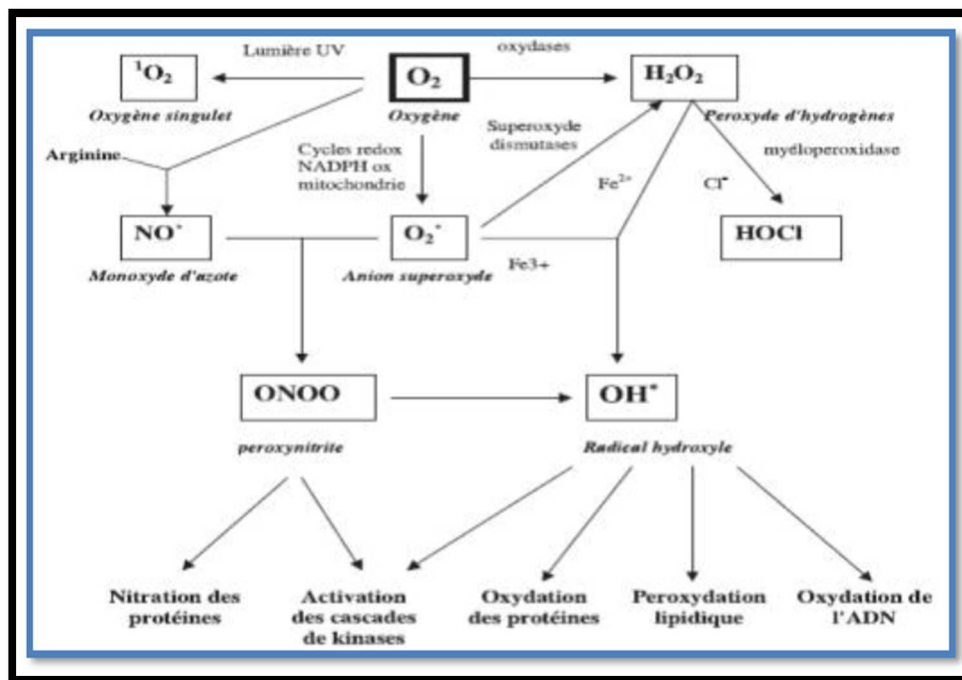


Figure 2.2 : Origine de différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

## 3. Les antioxydants

Le terme « antioxydant » a été formulé comme « une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels ». Vansant en 2004 a défini les antioxydants comme des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non

cytotoxiques de ROS. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes (**Vansant, 2004**).

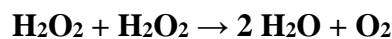
### 3.1. Les antioxydants enzymatiques

Pour contrôler la production permanente des ROS, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des ROS. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique). En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (**Salvayre *et al.*, 2003**).

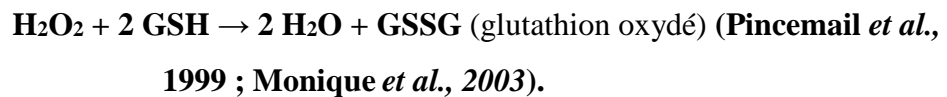
- ✚ **Le superoxyde dismutase (SOD)** : transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la glutathion peroxydase ou la catalase par une réaction de dismutation (**Valery *et al.*, 2007**; **Van Raamsdonk *et Siegfried*, 2012**).



- ✚ **La catalase (CAT)** : présente dans les peroxysomes hépatiques, mais aussi dans les hématies et les mitochondries de cellules cardiaques est une enzyme dépendante du Fe, qui entre en compétition avec la Gpx pour l' $\text{H}_2\text{O}_2$ . La catalase accélère la réaction de dismutation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau (**Monique *et al.*, 2003** ; **Putnam *et al.*, 2000** ; **Finaud *et al.*, 2006**)



- ✚ **La glutathion peroxydase (Gpx)** : est une enzyme antioxydante sélénium dépendante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol accélère la réaction d'oxydation du glutathion par l'eau oxygénée :



L'action des Gpx dépend aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (**Elosua *et al.*, 2003**).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxine réductases ou les thioredoxine peroxydases (**Favier, 2003**).

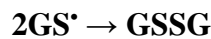
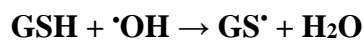
### 3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent (effet *scavenger*) avec les oxydants soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation. Pendant ces réactions, les antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ou persistent pendant un certain temps sous forme radicalaire. Ces formes radicalaires peuvent devenir des peroxydants.

Comme évoqué précédemment, ces antioxydants se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligoéléments ou antioxydants de synthèse) (**Leopoldini et al., 2011**).

#### 3.2.1. Les antioxydants endogènes

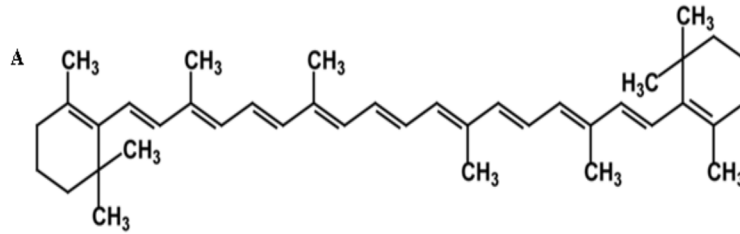
- **Glutathion** : Le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants. Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire.



- **Acide urique** : L'acide urique est un piègeur de  $1\text{O}_2$ , des radicaux peroxydes et hydroxydes ( $\text{RO}_2 \cdot$  et  $\text{HO}^{\cdot}$ ), de l'ozone et de  $\text{HClO}$ . La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que  $\text{HO}^{\cdot}$  (**Baudin, 2006**).
- **Les protéines de stockage des métaux de transition** : Des protéines liant les métaux (transferrine, céruloplasmine, etc.), l'albumine ou l'haptoglobine diminuent le taux des ions métalliques libres en les complexant avec en conséquence, une diminution de leur pouvoir oxydant. A titre d'exemple, la réaction de Fenton entre le fer (cuivre) et l'eau oxygénée ne se fait pas en absence du métal.

#### 3.2.2. Les antioxydants exogènes

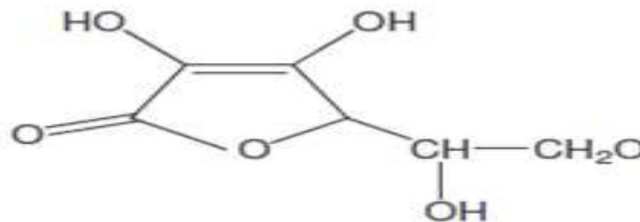
- ✓ **Le  $\beta$ -carotène (provitamine A)** : possède la capacité de capter l'oxygène singulet et se trouve dans les légumes verts, la salade, les carottes, et d'autres fruits jaunes ect. ... Sa constitution polyénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une olifine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes les liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour (**Rochette, 2008**).



**Figure 2.3 :** Structure chimique du β-carotène (Rochette, 2008).

- ✓ **L'acide ascorbique (vitamine C) :** est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. On retrouve la vitamine C principalement dans les aliments suivants : les légumes, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi.

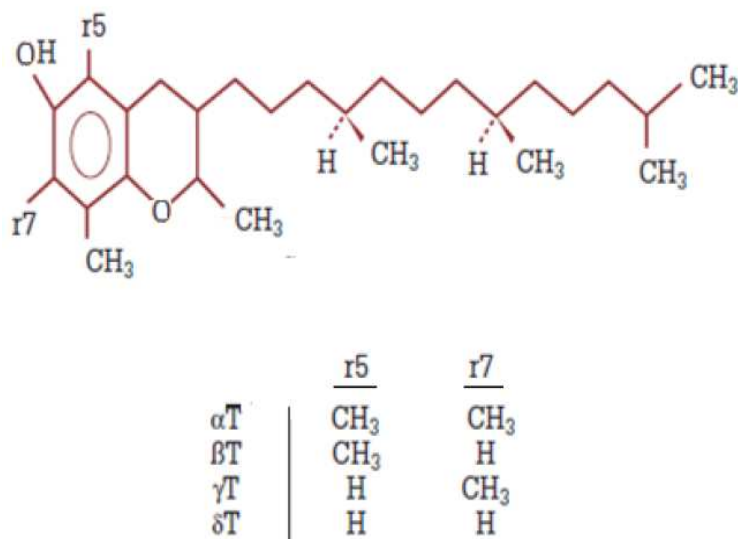
La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs des espèces réactives de l'oxygène (Rochette, 2008).



**Figure 2.4 :** Structure chimique de l'acide ascorbique (Rochette, 2008).

- ✓ **Le tocophérol (vitamine E) :** L'antioxydant non enzymatique, tocophérol a une importance cruciale dans la protection de molécules lipophiles. En raison de son radical stable et de ses propriétés moléculaires, il protège efficacement les membranes cellulaires contre l'oxydation. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α, β, γ, δ avec une activité antioxydant variable (Zablocka et Janusz, 2008).





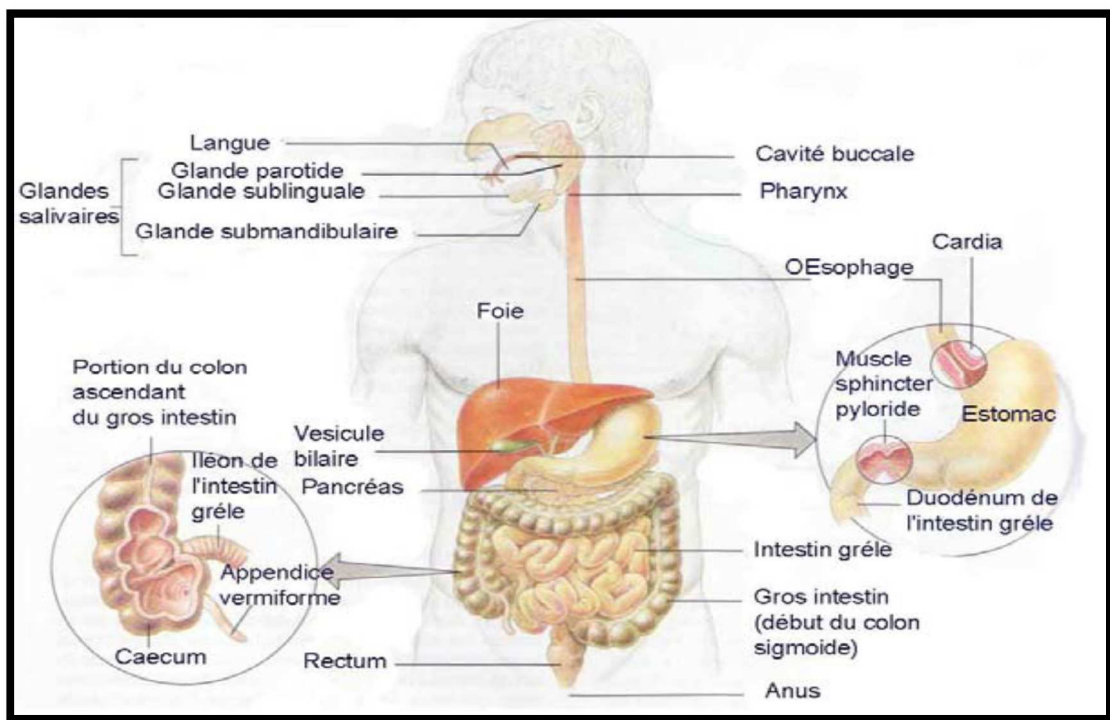
**Figure 2.5 :** Structure chimique des différents tocols (Zablocka *et* Janusz, 2008).

- ✓ Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles de couleur jaune, orangée à rouge. Malgré l'identification de plus de 600 caroténoïdes spécifiques, seul un nombre limité d'entre eux sont présents en quantité sensible dans le sang et les tissus humains (Beecher *et* Khachik, 1992). Malgré la similarité de leur structure, ils exercent différentes fonctions biologiques, dont certains préviennent ou contrôlent efficacement la génération de radicaux libres.
- ✓ Les polyphénols regroupent des molécules naturelles possédant des structures phénoliques variables notamment retrouvées dans les fruits, les légumes, les céréales, les fleurs, le thé et le vin. Ces molécules peuvent être divisées en différents groupes selon leur structure moléculaire. Parmi ces groupes de polyphénols, on distingue les flavonoïdes qui regroupent plus de 4 000 composés (D'Archivio *et al.*, 2007).  
La quercétine et le curcumin sont des exemples de flavonoïdes très connus. Les polyphénols sont des molécules très intéressantes puisqu'elles ont la capacité de prévenir les dommages induits par les ROS (Stevenson *et* Hurst, 2007 ; Virgili *et* Marino, 2008). En effet, en plus de neutraliser les radicaux libres en captant leur électron non apparié, ces molécules pourraient augmenter l'activité d'enzymes antioxydantes.
- ✓ Il existe de nombreux autres antioxydants non enzymatiques comme les oligoéléments sous les élément-traces (sélénium, zinc, cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (Bonfont *et* Rousselot, 2007).

- ✓ Et aussi on trouve beaucoup de polysaccharides naturels jouent un rôle important dans la prévention des dommages oxydatives induits par le stress dans les piègeurs de radicaux libres chez l'organisme vivants (**Favier, 2003**).

## 1. Rappel anatomo-physiologique du tube digestif

L'appareil digestif est constitué d'un ensemble d'organes chargés du Passages, de la digestion et de l'absorption des aliments, depuis la bouche jusqu'à l'anus, il comprend l'œsophage, l'estomac, le duodénum, L'intestin grêle, le colon et le rectum (**Harlay et al., 1998**).



**Figure 3.1 :** Anatomie et physiologie de l'appareil digestif (**Bonaz, 2014**).

## 2. L'intestin grêle

L'intestin grêle est un tube reliant l'estomac au colon, il a une Longueur de 4 mètres. Il comprend histologiquement :

- ✓ le duodénum : du pylore à l'ampoule de Vater.
- ✓ le jéjuno-iléon : de l'ampoule de Vater à la valvule.
- ✓ Iléo-caecale.

Il se caractérise par une surface pourvue de dispositifs d'amplification qui Augmente la surface d'absorption. Ce dispositif comprend :

- Anses intestinales.
- Valvules conniventes.

- Villosités intestinales.
- Microvillosités des entérocytes.

La paroi de l'intestin grêle :

- La muqueuse (couche des villosités, couche des glandes, lymphoïde c'est la couche la plus interne).
- La musculaire muqueuse (deux couches : interne circulaire et externe longitudinale).
- La sous-muqueuse (une structure différent suivant la localisation : au niveau du duodénum, du jéjuno- iléon).
- La musculuse (deux couches de muscles).
- La couche séreuse (couche externe) (**Maayoufl et Djebien, 2016**).

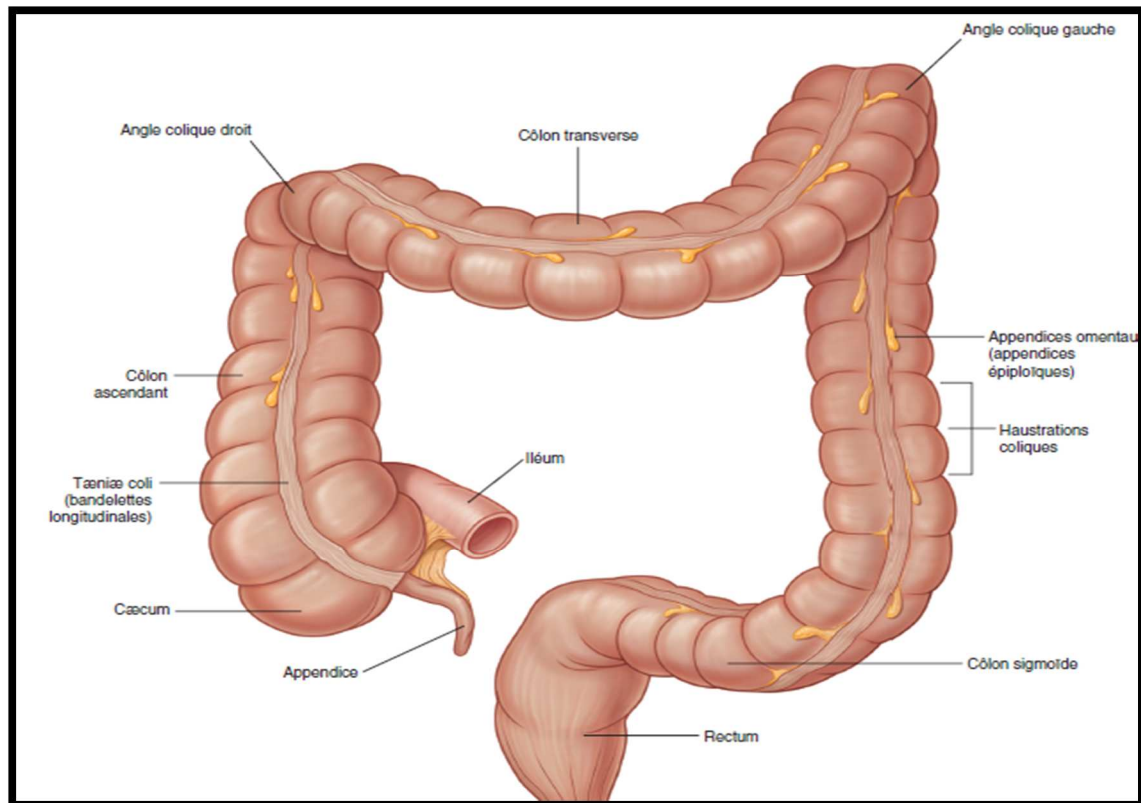
#### ✓ Rôle de l'intestin grêle

L'intestin grêle transporte les matières énergétiques, l'eau, l'électrolyte, les acides biliaires et les vitamines. Et la relaxation des couches de la musculuse (sous l'action de neurones intrinsèques de la paroi) (**Bütikofer, 2004**).

### 3. Le colon

Le colon est la partie terminale du tube digestif, disposé en cadre dans la cavité abdominale, entre l'intestin grêle et le rectum .il mesure environ 1.5 m, divisé en 4 segments :

- ✚ Le colon droit (ascendant) commence par le caecum.
- ✚ Le colon transverse.
- ✚ Le colon gauche (descendant).
- ✚ Le colon gauche (descendant).
- ✚ Le sigmoïde.



**Figure 3.2 : Morphologie du colon (CDU-HGE, 2014).**

La paroi colique est constituée de quatre tuniques différentes :

- La muqueuse (couche la plus interne).
- La sous-muqueuse.
- La musculuse (deux couches de muscles).
- La couche séreuse (couche externe).

C'est grâce à l'importante surface créée par ces replis, et les divers types de mouvements et de contractions, que le colon peut accomplir son travail.

#### ✓ Rôle du colon

Il a un rôle de brassage facilitant la réabsorption du maximum de liquide provenant du bol alimentaire concentrer les matières fécales et les propulser ensuite par des mouvements péristaltiques et des contractions vers le sigmoïde, lieu de stockage du contenu colique (**Harlay et al., 1998**).

## 4. Le rectum

Est constitué des 15 derniers centimètres de l'intestin, fais suite au colon sigmoïde (charnière recto-sigmoïdienne) et se termine par le canal anal compose de sphincter interne lisse, qui assure le tonus de repos et le sphincter externe strié, à commande volontaire. Le rôle du rectum est d'assurer la continence et l'expulsion des selles.

## 5. Physiopathologie de constipation

### 5.1. Définition


La constipation primitive (maladie) ou secondaire (symptôme) est considérée comme un trouble fonctionnel très fréquent, caractérisé par une diminution de la fréquence des selles.






La constipation est due à deux phénomènes :

- Le ralentissement du transit colique (obstacle, trouble du péristaltisme).
- Insensibilité rectale aux phénomènes de distension.

Il est incorrect qu'une personne qui ne fait pas ses selles chaque jour soit constipée, de même qu'une personne qui a moins de 3 selles par semaine soit en bonne santé, pour cela un consensus s'est établi quant à sa définition (**Harlay et al., 1998**).

**Tableau 3.1** : Les selles de Bristol classe les excréments humains en 7 catégories en fonction de leur forme et de leur consistance (**Serra et al., 2001**).

<b>Constipation</b>		
<b>Type 1</b>		Morceaux séparés et durs, comme des noix (difficiles à évacuer)

<b>Type 2</b>		En forme de saucisse, mais plein de bosses
<b>Normal</b>		
<b>Type 3</b>		Comme une saucisse, mais avec des fissures à la surface
<b>Type 4</b>		Comme une saucisse ou un serpent, lisse et uniforme
<b>Diarrhée</b>		
<b>Type 5</b>		Déjections molles avec des bords bien définis (évacuation facile)
<b>Type 6</b>		Morceaux de consistance légère avec des bords irréguliers, une selle en bouillie

<b>Type 7</b>		Selle liquide, pas de morceau solide.
---------------	---	---------------------------------------

## 5.2. Etiologies

La constipation est souvent idiopathique, mais il ne faut pas ignorer d'autres causes : iatrogène, maladie digestive (fissure anale, cancer colorectal, etc.) ou extra-digestive sous-jacent, endocrinienne (hypothyroïdie), neurologique (maladie de parkinson), métabolique (hypokaliémie ou hypercalcémie), certaines périodes du cycle menstruel, la grossesse ou la ménopause.

## 5.3. Différentes formes de la constipation

Il faut d'abord distinguer entre :

- La constipation secondaire : ou le mécanisme est évident, qu'il soit une obstruction mécanique ou une perturbation de la commande nerveuse ou du muscle lisse du colon.
- La constipation idiopathique ; d'un mécanisme plus complexe qu'on peut schématiser deux types différents qui peuvent cependant coexister :

### + Constipation de transit

Trouble de la progression du bol fécal au niveau du colon résultant d'un ralentissement du transit qui favorise une déshydratation des selles, ainsi le prolongement du temps de contact du bol fécal avec l'épithélium colique provoque une réabsorption excessive d'eau et des électrolytes par les colonocytes, elle peut se compliquer en une inertie colique (paralysie du colon).

### + Constipation terminal

Trouble de l'évacuation au niveau du sigmoïde et / ou rectum (dyschésie rectale) attribué principalement à l'anisme : contraction paradoxale du sphincter externe de l'anus et du muscle pubo-rectal (qui ferme l'angle anorectal) entraînant des efforts de défécation répétés qui peuvent progressivement induire un affaissement du périnée , cela génère des lésions des nerfs assurant la commande du sphincter anal , et peut ainsi aboutir à une incontinence fécale (**Harlay et al., 1998**).



## ✚ Constipation occasionnelle et chronique

La constipation occasionnelle est généralement due à une rupture des habitudes de vie (voyages, modification du régime alimentaire, décubitus prolongé, arrêt du tabac, stress ...) ou encore au fait de se retenir d'aller à la selle.

Des changements du mode de vie (alimentation, sédentarité) peuvent être à l'origine d'un déséquilibre de la fonction intestinale susceptible d'entraîner une constipation chronique (supérieur ou égale à 1 mois).

### 5.4. Symptômes

Les symptômes sont souvent subjectifs, traduisant des troubles du transit intestinal : Selles dure, sèches et peu abondantes avec efforts, sensation d'évacuation incomplète avec besoins répétés et infructueux, inconfort abdominal, crampes, flatulences et ballonnements peuvent être également signalés.

### 5.5. Traitement

#### ❖ Mesures hygiéno-diététiques

Il faut d'abord expliquer au malade l'origine de sa constipation, lui conseiller de simples règles d'hygiène de vie qui permettent souvent de faciliter le transit intestinal :

- ✓ Manger des légumes verts et des aliments riches en fibres végétales.
- ✓ Eviter les aliments trop gras et trop sucrés.
- ✓ Boisson abondante, exercice physique (**Harlay et al., 1998**).

#### ❖ Traitement médicamenteux

##### 5.5.1. Les laxatifs

###### a. L'effet laxatif

Les laxatifs sont tous des médicaments destinés à traiter la constipation, mais ils n'agissent pas tous de la même façon sur le transit intestinal. Leurs avantages et inconvénients potentiels dépendent de leurs modes d'actions (**Lüllmann et al., 2000**).

###### b. Classification et mode d'action des différents laxatifs

Les laxatifs sont classés selon leur mécanisme d'action générale en :

- Laxatifs osmotiques.
- Laxatifs de lest.

- Laxatifs lubrifiants.
- Laxatifs stimulants.
- Laxatifs rectaux.

### 1. Laxatifs osmotiques.

Laxatifs osmotiques dont le but est d'augmenter l'osmolarité fécale afin de faire un appel d'eau « pression osmotique » (**Giovanelli, 2013**).

Il y'a deux types, Laxatifs osmotiques salins et sucrés.

#### Mode d'action

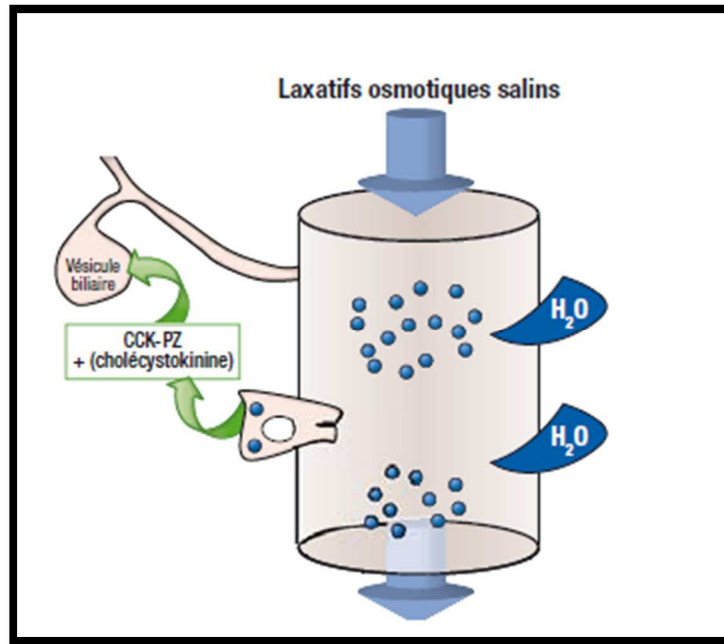
##### ➤ **Laxatifs osmotiques salins** : Nous avons

- Le sulfate de magnésium.
- Le lait de magnésium sous forme de suspension  $Mg(OH)_2$ .
- L'hydroxyde de magnésium en comprimé.
- Les sels de phosphate : phosphate de sodium.

Ils agissent par leur pouvoir osmotique qui retient l'eau dans la lumière colique. Ils forment des solutions hypertoniques et agissent en provoquant un appel d'eau dans la lumière intestinale.

De plus, le sulfate de magnésium stimule la libération de CCK par la muqueuse duodénale. Cette hormone a un effet stimulant direct du péristaltisme intestinal et majore donc l'effet laxatif induit par le pouvoir osmotique de tels composés.

Ils agissent avec un délai de 6 à 8h à faibles doses, alors qu'à fortes doses ils agissent en moins de 3h. Ils sont purgatifs à doses élevées (**Giovanelli, 2013**).

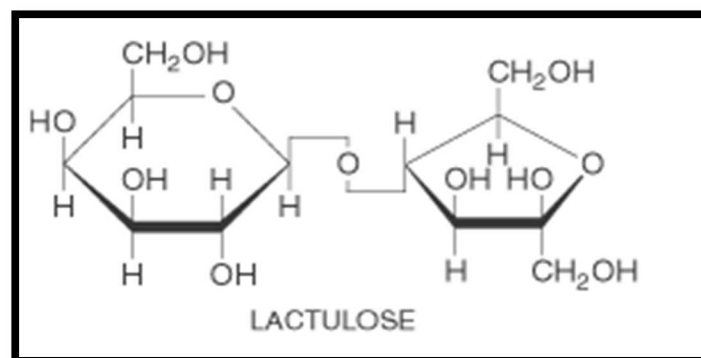


**Figure 3.3 :** Mode d'action des laxatifs osmotiques salins (Pillon, 2010).

➤ **Laxatifs osmotiques sucrés**

Ils ne sont pas absorbés et résistent à la digestion par les enzymes de l'intestin grêle.

- **La lactulose :** Le lactulose, disaccharide de synthèse, traverse sans modification et sans résorption les parties hautes du tube digestif. Au niveau du côlon, sous l'effet de la flore saccharolytique locale qui le transforme en fructose et galactose, puis en lactate, acétate et formiate, qui sont éliminés dans les selles.



**Figure 3.4 :** Structure de lactulose (Capasso et Gagarella, 1997).

L'effet initial osmotique du lactulose est donc augmenté par ce métabolisme bactérien. Ces métabolites additionnent leur pouvoir osmotique et ne sont que partiellement absorbés. La réduction parallèle du pH contribue également à stimuler la motricité et les sécrétions.

Le lactulose peut provoquer des ballonnements, des selles semi-liquides. Ces phénomènes peuvent survenir en début de traitement ; ils cessent après adaptation de la posologie.

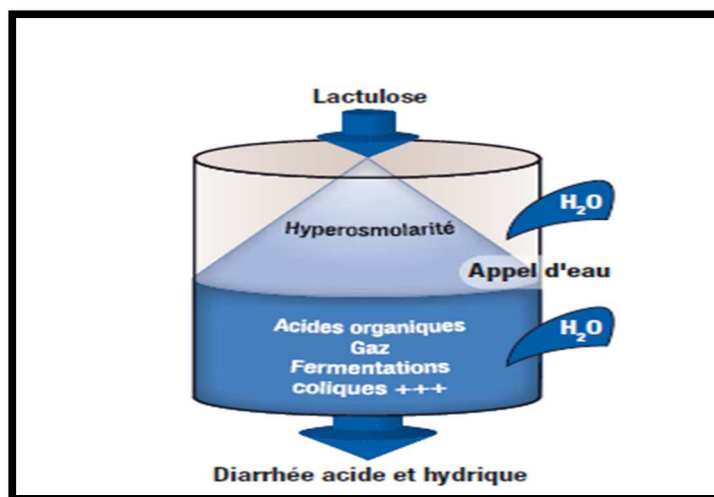


Figure 3.5 : Mécanisme d'action du lactulose (Pillon, 2010).

- Le sorbitol et le mannitol

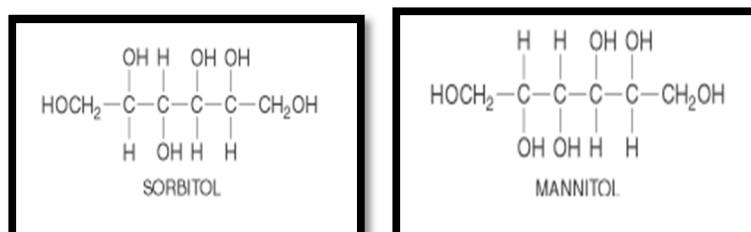


Figure 3.6 : Structure de sorbitol et de mannitol (Capasso et Gaginella, 1997).

Ces sucres non digestibles agissent par leurs propriétés osmotiques, leur effet apparaît 24 à 48h après le début de l'administration.

➤ **Les laxatifs osmotiques hydratants**

Polyéthylène glycol (macrogol) : Ne sont pas transformés dans la lumière digestive. Leur action s'exerce par une augmentation locale de la pression osmotique. Grâce à sa capacité à fixer les molécules d'eau par liaisons hydrogènes, le macrogol retient l'eau ingérée dans le côlon pour hydrater les selles et contribuer à leur ramollissement et à l'augmentation de leur volume. Parallèlement, les laxatifs osmotiques hydratants n'induisent aucun appel d'eau dans la lumière colique (Lüllmann et al., 2000).

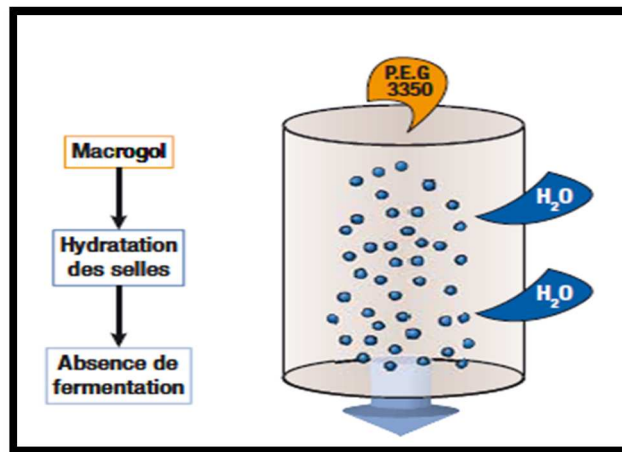


Figure 3.7 : Mécanisme d'action du PEG (Pillon, 2010).

## 2. Les laxatifs de lest (fibres alimentaires et mucilages)

### ➤ Les fibres alimentaires

Ce sont des constituants des parois végétales résistants à la digestion par les différents systèmes enzymatiques des sécrétions digestives. Ce sont des substances résiduelles provenant de la paroi cellulaire ou le cytoplasme des végétaux, constituées de mélanges complexes de glucides, qui ont été identifiés comme étant des polysaccharides non amidonnés. On distingue la cellulose, le son (résidu de la production de la farine), les graines de psyllium...

Les sources alimentaires usuelles de fibres sont les céréales complètes, le son, légumes et fruits (Lüllmann *et al.*, 2000).

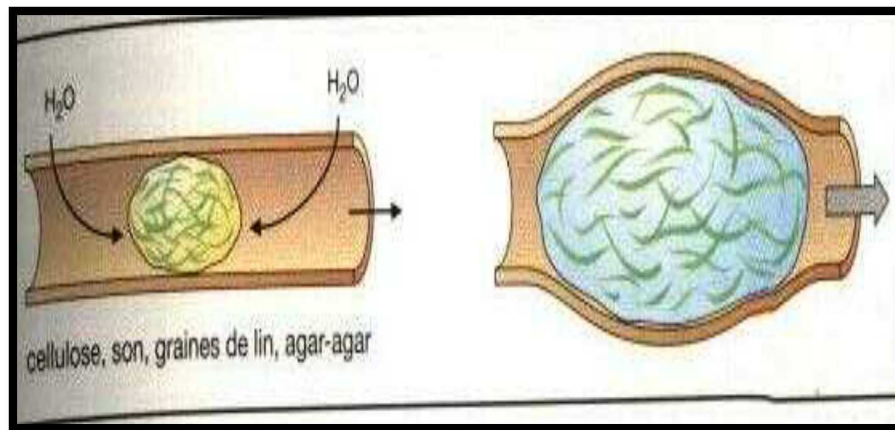
### ➤ Les mucilages

Ce sont des fibres hydrosolubles. Les principaux sont extraits d'algues (agar-agar), de gommes (Sterculia, Karaya, guar) ou de graines (psyllium, ispaghule).

### ✚ Mode d'action

Les fibres sont caractérisées par un pouvoir hygroscopique élevé (effet de lest) qui entraîne une formation du gel dans le gros intestin, causant ainsi une rétention d'eau et une augmentation du péristaltisme. Certains composants des fibres peuvent être digérés par la flore colique en métabolites ayant un effet laxatif par pouvoir osmotique.

Le mucilage (psyllium) normalise les fonctions intestinales par un mécanisme physique. Il augmente le poids des selles et leur teneur en eau, leur redonne une consistance qui en facilite l'évacuation. Il facilite la rééducation de la fonction intestinale.



**Figure 3.8 :** Action des mucilages (Lüllmann *et al.*, 2000).

### 3. Les laxatifs lubrifiants

On distingue parmi ceux-ci les huiles minérales qui ne sont pas absorbées au niveau du tube digestif (huile de vaseline et de paraffine) et les huiles digestibles absorbées par l'intestin avec les lipides comme l'huile d'olive.

#### ✚ Mode d'action

Les huiles de paraffine sont à la fois émoullientes et lubrifiantes : en retardant la réabsorption de l'eau intestinale, elles ramollissent la masse fécale, et par lubrification facilitent sa progression et son exonération. Ces huiles minérales, mélange d'hydrocarbures, ont une efficacité proportionnelle à leur viscosité. Le début de leur action se manifeste en 6 à 8 heures, mais leur utilisation prolongée est souvent nécessaires pour traiter efficacement une constipation chronique.

L'huile d'olive est émoulliente et laxative à la dose de 30 à 50 g/j. Elle est absorbée au niveau du tube digestif et a l'inconvénient d'un apport énergétique élevé.

### 4. Les laxatifs stimulants ou irritants

Les laxatifs stimulants augmentent la motricité et les sécrétions intestinales. Ils doivent être utilisés dans le traitement de courte durée des constipations occasionnelles pour éviter toute accoutumance. On distingue dans ce groupe : les dérivés de diphénylméthane, des anthraquinones, et de l'acide ricinoléique (Cherpentier *et al.*, 1988).

#### ✚ Mode d'action

Les laxatifs stimulants ont des effets directs sur les entérocytes, les neurones entériques, et le muscle lisse gastro-intestinal. Ces agents induisent probablement une inflammation limitée

dans l'intestin grêle et le gros intestin, entraînent l'accumulation d'eau et d'électrolytes suite à une augmentation de la perméabilité de la membrane par rupture de la continuité cellulaire.

Ces effets entraînent des perturbations dans le transport de l'eau et des électrolytes, aboutissant à une baisse de l'absorption et à une augmentation de la sécrétion. Généralement, leur action sur la motricité intestinale est très limitée ou tout au moins n'est que secondaire à l'effet sécrétoire (**Cherpentier et al., 1988**).

## 5. Les laxatifs rectaux

La distension du côlon par n'importe quel moyen produira une défécation réflexe chez la plupart des gens, et presque toute forme de lavement, y compris une solution saline normale, peut entraîner cet effet.

### Mode d'action

Les laxatifs rectaux agissent en provoquant le réflexe de défécation. Les lavements sont couramment employés, soit seuls ou comme complément aux préparations intestinales, afin de vider le côlon distal ou le rectum des matières solides retenue (**Lüllmann et al., 2000**).

### 5.5.2. L'effet laxatif des polysaccharides

Les polysaccharides non digestibles dans le grêle a grand pouvoir hygroscopique (=augmentation du volume en présence d'eau). Cela leur confère un effet mécanique hydratation du bol fécal qui augmente de volume et stimule le péristaltisme intestinal Laxatifs mucilagineux (qui est des laxatifs de lest) (**Giovanelli, 2013**).

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est les feuilles du *Laurus nobilis* L.

#### 1.1.1. Le choix de la plante *Laurus nobilis* L.

*Laurus nobilis* L. est connu en Algérie sous le nom " رند ,Rand", arbuste à feuillage persistant de 3 à 10 m de haut (Figure 4.1).

A l'aisselle des feuilles poussent des petites fleurs femelles blanchâtres odorantes, ou males, jaunâtres et plus grandes ; le fruit est une drupe ovale de la taille d'un pois, noire à l'état mure, il n'est pas comestible mais il est utilisé à des fins médicales. Le laurier commun pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins. Les feuilles sont récoltées toute l'année.



Figure 4 .1 : *Laurus nobilis* L.

#### 1.1.2. Classification

Classification botanique de la plante *Laurus nobilis* L.

Règne : plantae

Sous-règne : Tracheophyta = Tracheobionta (Cormophyta)

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Laurales

Famille : Lauraceae

Genre : *Laurus*

Espèces : *Laurus nobilis* L. (Ballabio *et* Goetz, 2010).



## 1.2. Le matériel animal

### 1.2.1. Le choix de l'espèce animal

Etape très importante et primordiale avant de commencer toute expérimentation in vivo.

Le choix de l'espèce animale dépend de plusieurs facteurs :

- ✓ Similarité de l'absorption, distribution, métabolisme et élimination de la substance à tester avec l'Homme.
- ✓ Sensibilité de l'espèce animale à la substance proche de celle de l'Homme.
- ✓ Niveau d'évolution de l'animal.
- ✓ Possibilité d'effectuer toutes les mesures nécessaires de façon fiable.
- ✓ Facilité de manipulation et d'administration par les différentes voies.
- ✓ Bon état sanitaire, et absence de pathologies pouvant être transmises au manipulateur.

Notre choix a donc porté sur la souris de laboratoire, vu ses nombreux avantages, elle a une petite taille, elle est économique à obtenir, à héberger et à entretenir, et facilement manipulable. Elle est généralement plus économique que le Rat. La souris présente aussi l'avantage d'avoir une courte période de gestation et une faible longévité, ce qui permet d'effectuer en une durée pas très longue des essais incluant l'exposition à une substance donnée pendant une période importante de la vie de l'animal. (Dumas, 1954)



**Figure 4 .2 : Les souris de laboratoire.**

### 1.2.2. Classification et description

Classe : Mammalia

Cohorte : Euarchontoglires

Ordre : Rodentia

Sous-ordre : Myomorpha

Famille : Muridae

Sous-famille : Murinae

Genre : Mus

Sous-genre : Mus (Mus)

Espèce : Mus musculus (Myers et al., 2017).

La Souris de laboratoire est un animal à fin pelage, blanc ou coloré selon les souches. Adulte, elle mesure 12 à 15 centimètres. Rongeuse, la souris possède des incisives tranchantes, et aussi des vibrisses (moustaches) qui constituent des organes sensoriels développés. Son corps est allongé et peut se couler dans le moindre espace. Elle se déplace ou saute sur quatre pattes griffues qui lui permettent de s'agripper avec force. Sa queue est recouverte de fines écailles qui s'épaississent avec l'âge ; elle est forte utile pour l'expérimentateur, et sert à l'équilibration et à la thermorégulation (Dumas, 1954).

### 1.3. Equipements et réactifs

**Tableaux 4.1** : Les matériels de l'extraction et de l'activité antioxydante et laxative.

L'extraction	L'activité antioxydante	L'activité laxative
Réfrigérateur	Etuve	Balance
Centrifugeuse	Spectrophotomètre	Plaque de dissection
Bain marie	Ph metre	Trousse chirurgical complète
Broyeur	Agitateur	Coton chirurgical
Becher (500 ml, 1000 ml)	Vortex	Pinceau
Les éprouvettes	Micro pipette	Sonde de gavage pour souris
Les erlens, Cristallisoir	Bicher	Seringue de 10ml
Tube conique	Portoir	Règle centimétrique
Spatule, Rotavapor	Pipette pasteur	Punaises de fixation
Membrane de dialyse	Tubes à essai	

**Tableau 4.2** : Les réactifs de l'extraction et de l'activité antioxydante et laxative.

L'extraction	L'activité antioxydant	L'activité laxative
Acide TCA	Ethanol	Extrait végétal
Éthanol 96 %	Fe SO <sub>4</sub>	Charbon actif (comprimé de 300 mg)
Solution NaOAc	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Chloroforme
	Méthanol	Lactulose sirop 1.5g/ml
	Polysaccharide	Na Cl
	Solution d'acide salicylique	

## 2. Méthodes

### 2.1. Récolte et Préparation de la plante

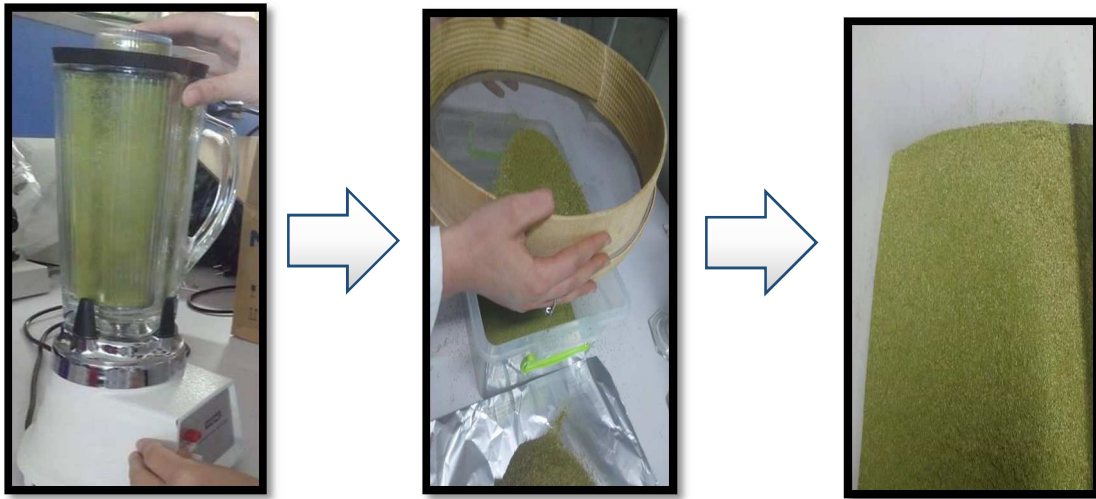
Les feuilles du *Laurus nobilis* L. on les accueillir à la fin du mois de juillet 2016 depuis la région d'el Milia. Ensuite l'échantillon est lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre pendant 21 jours jusqu'à les feuilles devenue sèches, stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son utilisation.



**Figure 4.3** : Les feuilles du *Laurus nobilis* L. sèches.

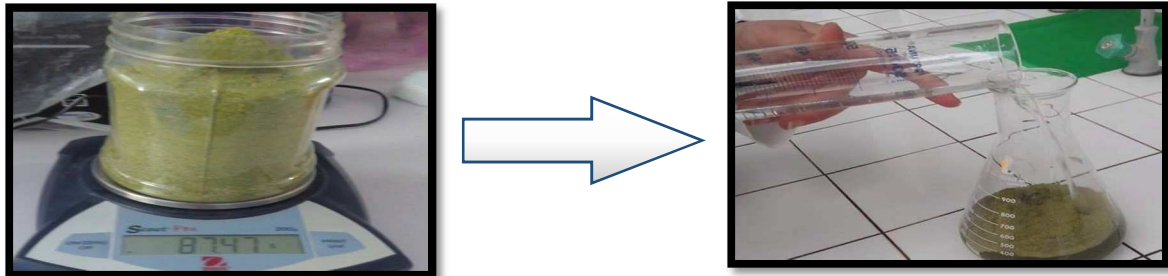
## 2.2. Préparation des extraits

- Les feuilles sont séchées et écrasées dans un broyeur électrique pour tamiser le produit résultant.



**Figure 4.4 :** L'étape du broyage.

- Peser 500 g de la poudre résultante dans de l'eau distillée à valeur de 1g/10ml (Xie *et al.*, 2014).



**Figure 4.5 :** La dissolution de la poudre dans de l'eau distillée.

- Mettre la suspension dans un bain marie à 100 °c pendant 3 heures.



**Figure 4.6 :** L'incubation de la suspension dans un bain marie à 100 °c.

- ✚ Refroidir, garder au réfrigérateur à 4 °c pendant toute une nuit (**Lina *et al.*, 2016**).



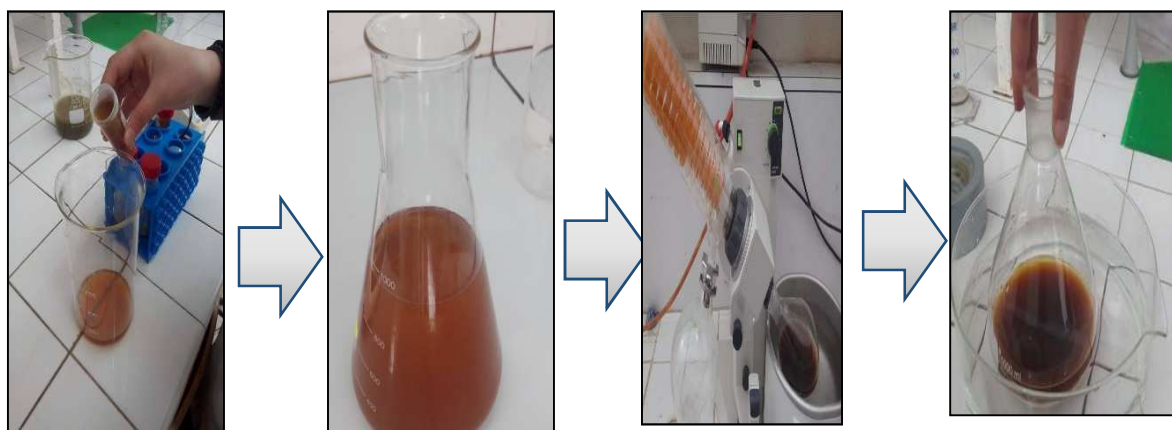
**Figure 4.7 :** Le refroidissement de l'échantillon.

- ✚ Centrifuger le mélange à la vitesse de 8000 Tr/min pendant 30 min (**basu *et al.*, 1984**).



**Figure 4.8 :** La centrifugation du mélange.

- ✚ Puis, concentrer le surnageant en ébullition à moitié du volume (**Xie *et al.*, 2014**).



**Figure 4.9.** La concentration du surnageant.

- ✚ Centrifuger le concentré de liquide dans les mêmes conditions suscitées de temps et de vitesse.

- ✚ Ajouter au surnageant 4 volumes d'éthanol, puis garder toute une nuit au réfrigérateur (Lina *et al.*, 2016).



**Figure 4.10 :** La précipitation des polysaccharides.

- ✚ Centrifuger 8000 Tr/min pendant 30 min, en récoltant les résidus de polysaccharides.

### 2.3. Purification

Enlever les protéines liées aux polysaccharides extraits précédemment en les traitant avec de l'acide TCA 15 % suivit par la solution NaOAc 2 % selon la méthode de (Wanger *et al.*, 1988 ; Parkasch *et Wagner*, 1987) pour obtenir à la fin un mélange de polysaccharides purs.



**Figure 4.11 :** Les polysaccharides purs.

- ✓ Mettre les polysaccharides purs en dialyse pendant 48 h.

## 2.4. Calcul du rendement

Les rendements de l'extraction des polysaccharides bruts sont calculés selon (Li *et al.*, 2015) par la formule suivante :

$$\text{Rendement de l'extraction (\%)} = \frac{\text{Le contenu polysaccharidique de l'extraction (g)}}{\text{Le poids de la poudre sec de plante (g)}} \times 100$$

## 3. Protocol expérimental

Une fois les polysaccharides extraits, nous avons testé leurs activités antioxydantes in vitro et l'activité laxative in vivo.

### 3.1. In Vitro

#### 3.1.1. L'activité antioxydante par diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH)

##### ✚ Principe

La méthode est basée sur la réduction du radical. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron au radical synthétique DPPH° d'une coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte (Thaipong *et al.*, 2006).

$\text{DPPH}^\bullet + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^\bullet$  Où AH est un composé capable de céder un  $\text{H}^+$  au radical DPPH.

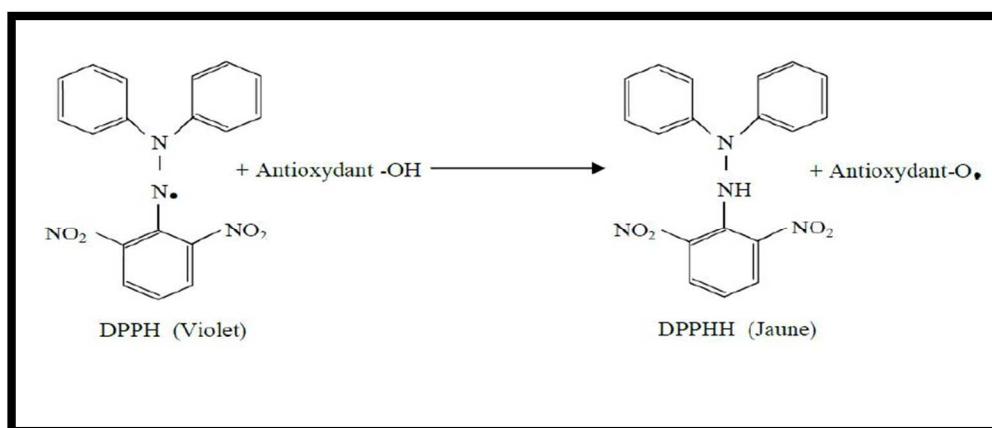


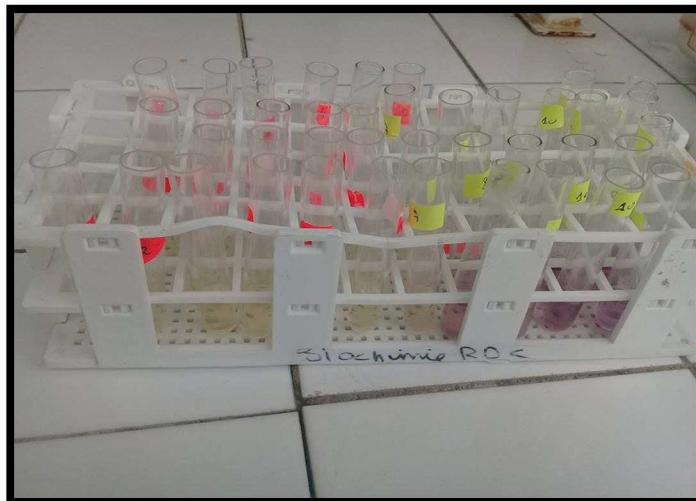
Figure 4.12 : La transformation du radical DPPH (Hidayat *et al.*, 2017).

##### ✚ Méthode

3,0 ml de solution de DPPH diluée dans du méthanol ont été ajoutés à 1,0 ml de notre échantillon à différentes concentrations. Le mélange a été maintenu pendant 20 minutes à

l'obscurité avant que l'absorbance soit mesurée avec le spectrophotomètre à 517 nm. Le pourcentage d'activité de réduction a été calculé en utilisant l'équation suivante :

Activité de réduction de DPPH (%) =  $[1 - (\text{Abs. De l'échantillon} - \text{Abs. Du blanc}) / \text{Abs. De blanc}] * 100$  (Thaipong *et al.*, 2006).



**Figure 4.13 :** Le test du DPPH.

### 3.1.2. Le pouvoir réducteur(PR)

#### ✚ Principe

La méthode est basée sur la réaction de réduction du ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en ( $\text{Fe}^{2+}$ ), la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm ( Yildirim *et al.*, 2001).

#### ✚ Méthode

La méthode utilisée est celle de Yildirim *et al.*, 2001 où : 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 2 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 2 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000rpm pendant 10 min. 2 ml du surnageant sont ajoutés à 2,5 ml d'eau distillée et 2ml d'une solution de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ) à 0.1% La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre

$$\text{PR (\%)} = [1 - (\text{Abs. De l'échantillon} - \text{Abs. Du blanc}) / \text{Abs. De blanc}] * 100.$$



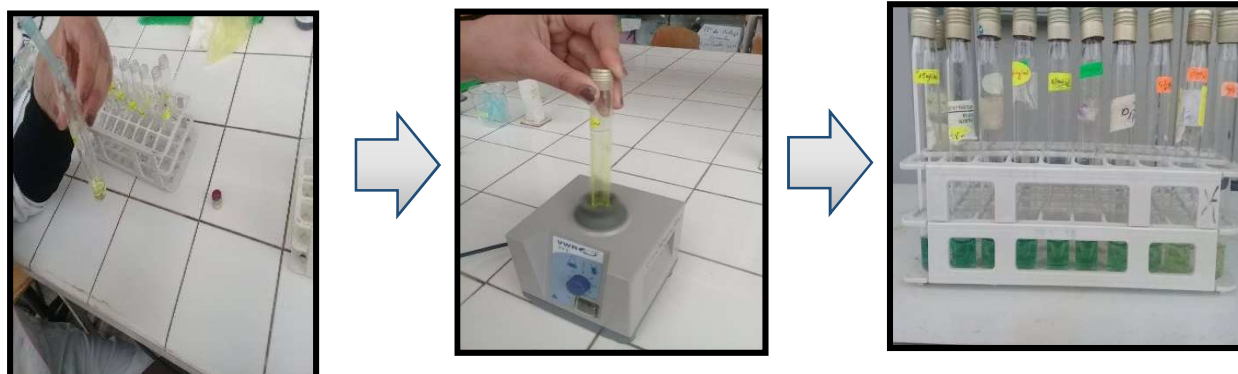


Figure 4.14. Le test du pouvoir réducteur.

### 3.1.3. Le Test de piégeage du radical hydroxyle

Le dosage des radicaux hydroxyles a été mesuré par la méthode de **Jen *et al.*, 1998** avec une légère modification. Les échantillons ont été dissous dans l'eau distillée (0.01–30 mg·mL<sup>-1</sup>).

#### ✚ Méthode

La solution d'échantillon (1,0 ml) a été mélangée avec du Fe SO<sub>4</sub> (9 mM, 1,0 ml) et une solution d'acide salicylique 9 mM (1,0 ml, éthanol à 50%). Ensuite, 1,0 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (8,0 mM) a été ajouté pour lancer la réaction, Le mélange a été incubé dans un bain marie à 37° C pendant 1 h.

Le blanc a été préparé comme décrit ci-dessus, sauf, 50% d'éthanol (1,0 ml) qui a été remplacé par la solution d'acide salicylique.

La même méthode a été utilisée pour établir le contrôle, mais, la solution de polysaccharide a remplacée l'eau distillée (1,0 ml).

Après réchauffement dans un bain marie, l'absorbance du mélange a été mesurée à 510 nm.

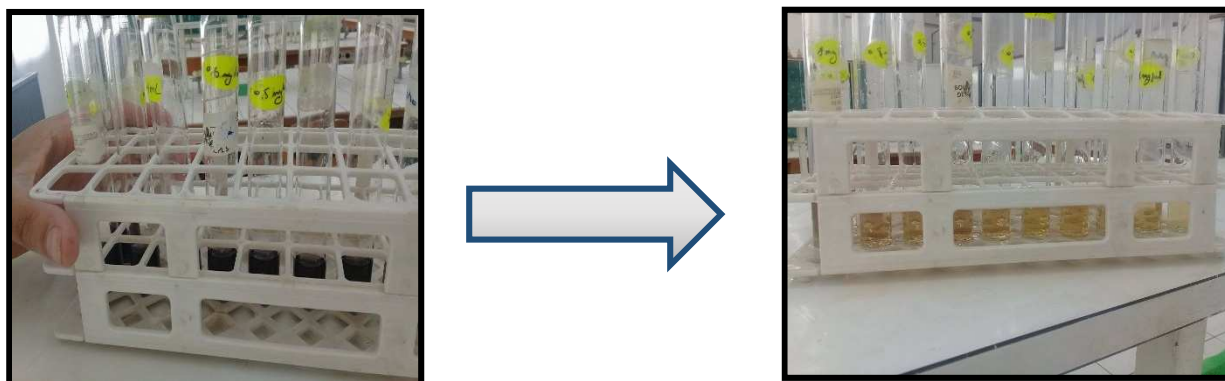


Figure 4.15 : Le test des radicaux hydroxylés.

### 3.2. Les Méthodes in Vivo

Le but de cette expérimentation est d'étudier l'activité laxative de nos polysaccharides sur des souris.

#### ✚ Principe

Mesure de la progression intestinale d'un marqueur coloré –ingéré oralement chez la souris après un traitement par gavage de substances à tester.

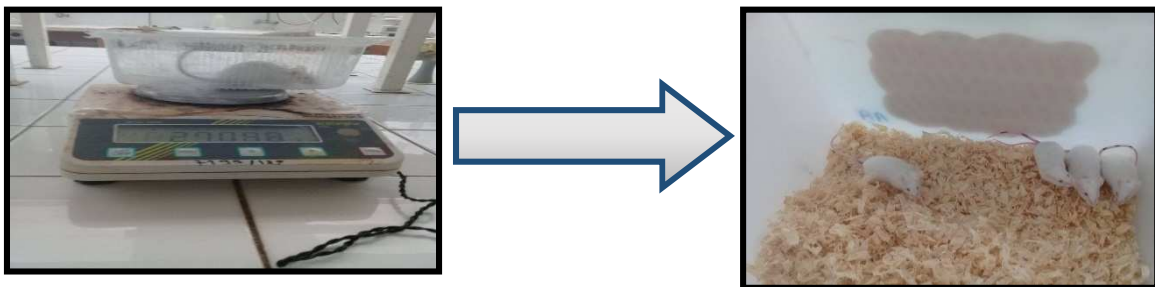
La distance parcourue est proportionnelle à l'effet laxatif de la substance test.

#### ✚ Méthode

##### ➤ Etape 01

On a préparé trois lots de souris ; qui sont à jeun pendant 18 h ; probablement marquées par des couleurs différentes :

- ✓ Lot1 : témoin négative (couleur noire) ;
- ✓ Lot2 : témoin positif (couleur rose) ;
- ✓ Lot3 : extrait du polysaccharide (couleur rouge) (**Luo et al., 2017**).



**Figure 4.16** : Les souris marquées par couleur.

##### ➤ Etape 02

(Temps : 00 minute) : on a administré oralement aux souris de chaque lot après une dilution adéquate dans l'eau distillée, 1ml de chacune des préparations suivantes :

- ✓ Lot 1 : l'eau distillée ;
- ✓ Lot 2 : solution de lactulose, laxatif osmotique de référence à 15g/kg ;
- ✓ Lot 3 : extrait du polysaccharide 250 mg/kg (**Luo et al., 2017**).



**Figure 4.17 :** Le premier gavage.

➤ **Etape 03**

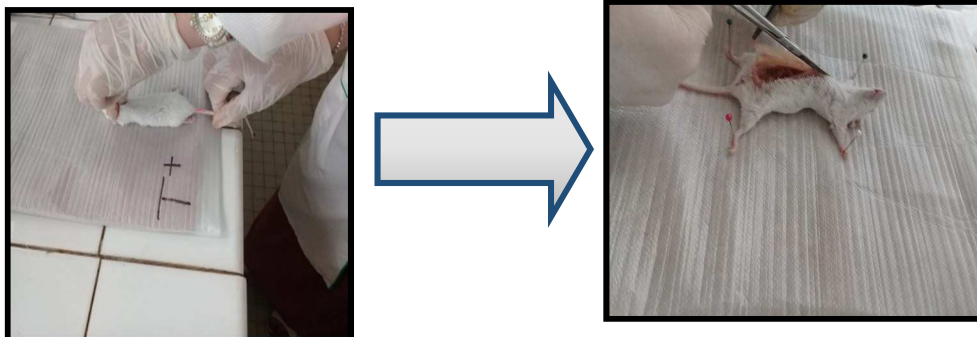
(Temps : 90 minute) : on a administré à toutes les souris 1 ml d'une solution de charbon active (2 mg), marqueur coloré en noir.



**Figure 4.18 :** Le deuxième gavage.

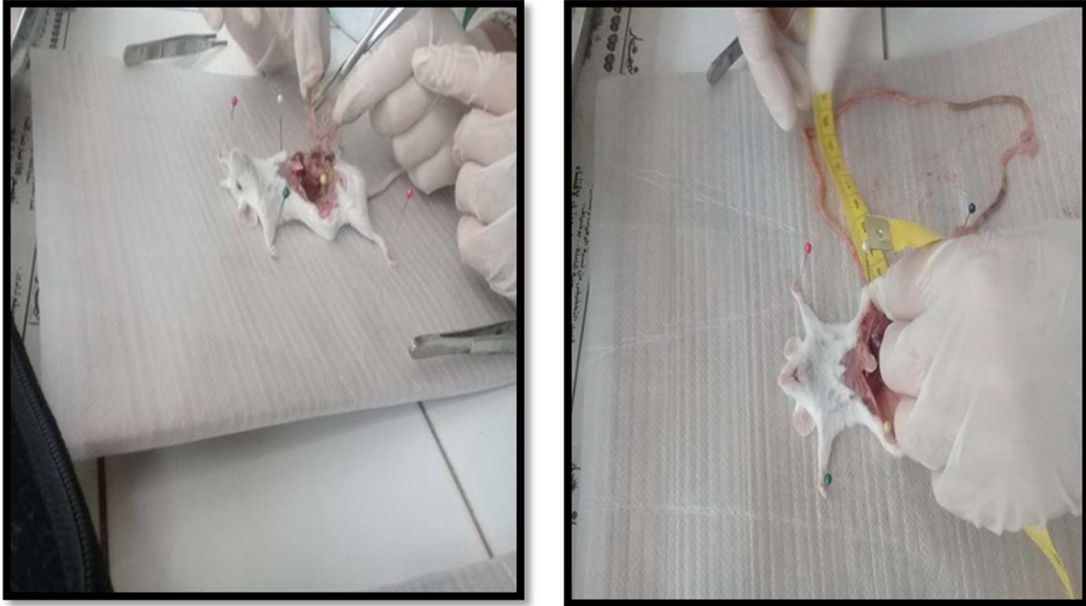
➤ **Etape 04**

(Temps : 150 minute) : on a sacrifié les animaux.



**Figure .4.19 :** Le sacrifice des animaux.

- ✓ Tous les animaux sont disséqués, l'intestine grêle est prélevée après avoir opéré des sections au niveau du pylore et ceacum, l'intestin est déroulé (**Leng-Peschlow, 1986**).
- ✓ On a mesuré la distance parcourue par le marqueur coloré noir, au moyen d'une règle centimétrique.
- ✓ Les distances sont notées pour chaque souris.



**Figure 4.20** : La mesure de la distance.

### 1. Résultats d'extraction

Le processus d'extraction et de la macération est une technique classique d'extraction des composés bioactifs à partir d'espèce. Pour la présente étude, nous avons effectué l'extraction hydrosolubles de polysaccharides.

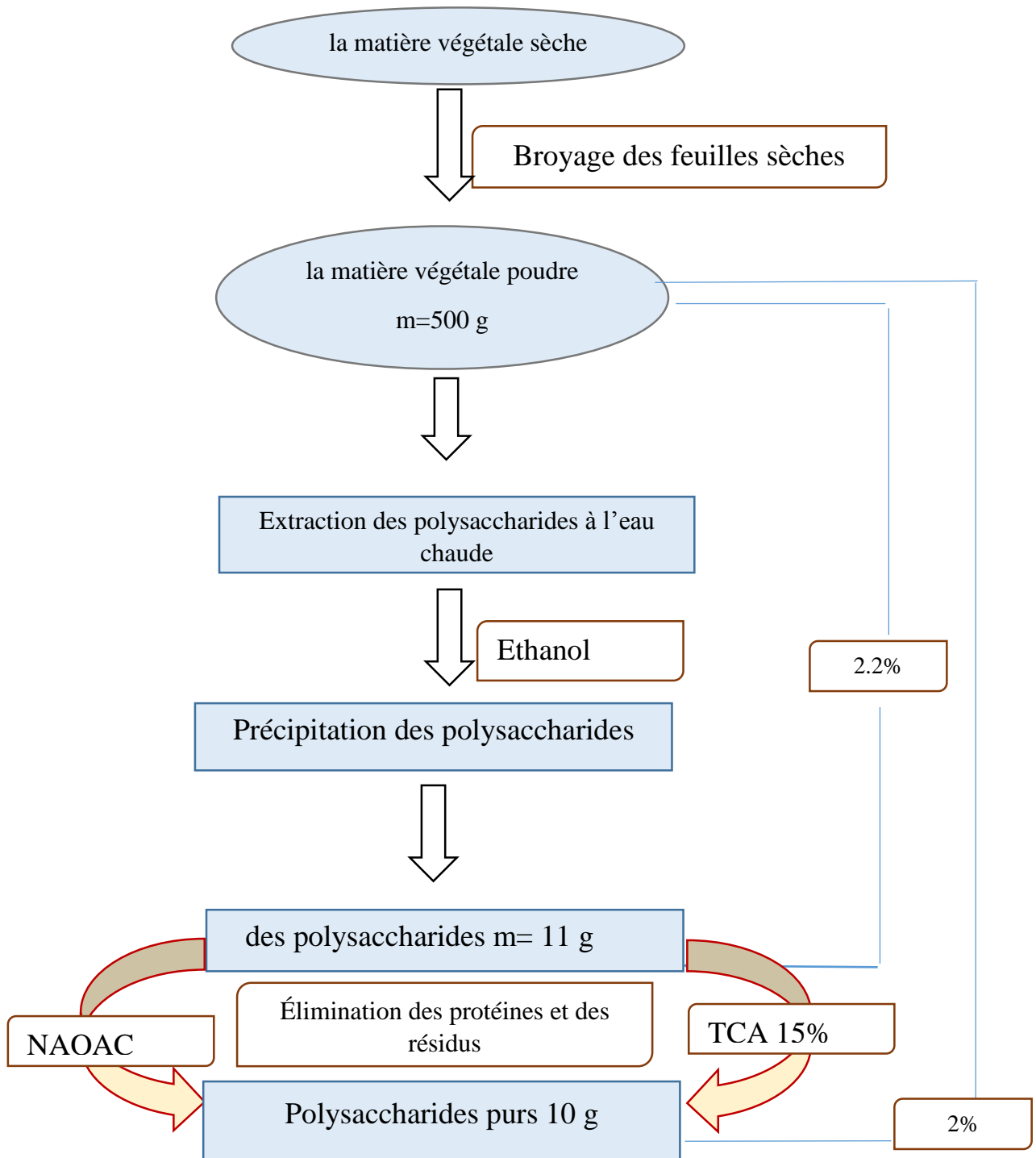


Figure 4.21 :Le rendement obtenu de l'extraction des polysaccharides.

les polysaccharides ont été obtenu avec un rendement global de 2% par une procédure en série d'extraction d'eau chaude, de précipitation à l'éthanol, de dialyse et de lyophilisation **Xu et al., 2012** ont remarqué un rendement de 3.35% par rapport à la matière sèche à partir des feuilles de *Camellia sinensi* **Dong et al., 2007** notent un rendement de 1.63% par rapport à la matière sèche de polysaccharides hydrosolubles.

## 2. L'activité antioxydante

Le stress oxydant a été largement défini comme une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques (**Favier, 2003**). Il joue un rôle dans le développement des maladies dégénératives comme l'athérosclérose, le diabète ou les pathologies neurodégénératives (**Delattre et al., 2005**). La situation de stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre espèces pro-oxydantes et antioxydantes.

Les capacités des antioxydants des polysaccharides dépendent généralement de l'unité d'ose ; des liaisons glycosidiques ; du degré de ramification et de conformation du polysaccharide (**Li et al., 2013**).

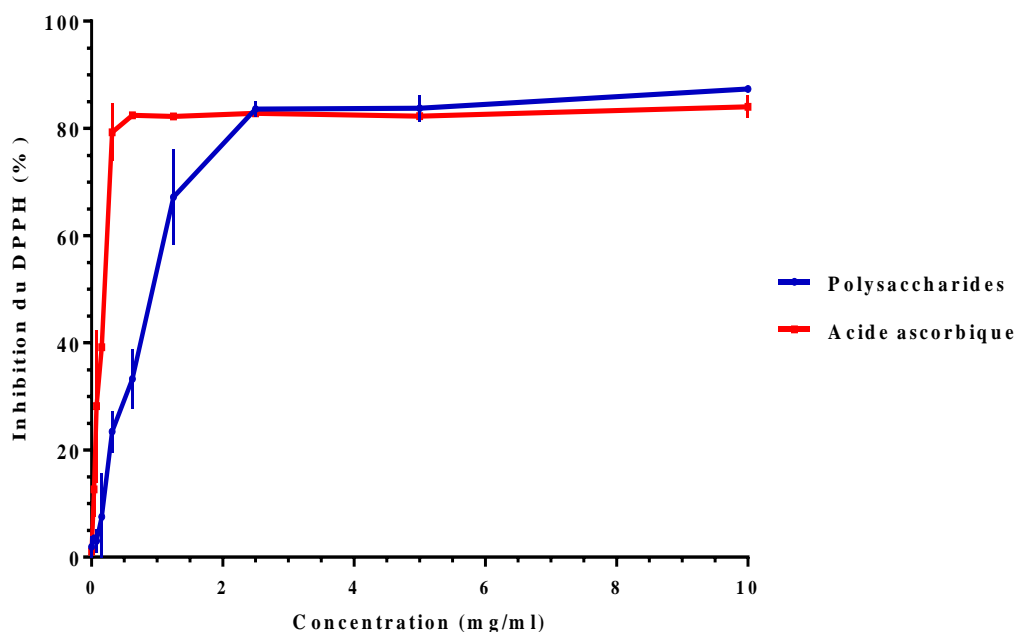
Nous avons utilisé trois méthodes différentes pour étudier l'activité antioxydante, car les résultats d'une seule méthode ne peuvent donner qu'une suggestion réduite de l'activité antioxydante. L'acide ascorbique est utilisé comme étant un contrôle positif.

### 2.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

DPPH est connu comme un radical libre stable qui a la capacité de devenir une molécule diamagnétique stable en acceptant un électron ou de l'hydrogène. Ainsi, il a été largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des antioxydants naturels (**Ahn et al., 2007**).

La méthode est basée sur la réduction d'une solution méthanoïque de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H est formée. Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration des polysaccharides.

D'après les résultats représentés dans la (Figure 4.22).



**Figure 4.22 :** Les pourcentages d'inhibition du DPPH• des polysaccharides et d'acide ascorbique.

L'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH par les polysaccharides ou le standard est dose-dépendante.

La capacité antioxydante des polysaccharides a été déterminée à partir de l'IC<sub>50</sub>, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hobi et Eddouks, 2016**).

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait préparé. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 4.3 :** Les valeurs des IC<sub>50</sub> ± SD du DPPH scavenger des polysaccharides et d'acide ascorbique.

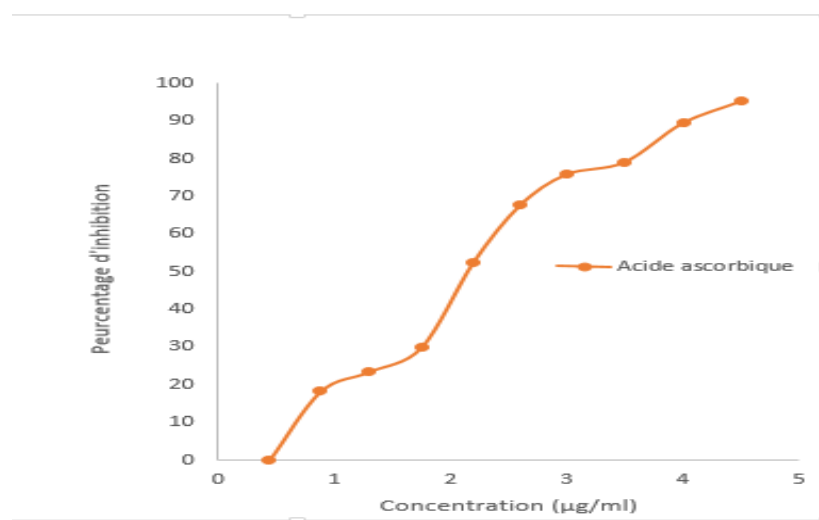
L'échantillon	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Acide ascorbique	0,196 ± 0,02
<i>Laurus nobilis</i> L	0,983 ± 0,08

Nos résultats montrent que l'activité antiradicalaire des polysaccharides des feuilles de *Laurus nobilis* L, est très élevée avec un IC<sub>50</sub> de l'ordre de 0,983mg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'acide ascorbique) qui démontre un IC<sub>50</sub>=0,196mg /ml nous constatons que notre extrait est moins actif par rapport au standard. Comparativement à d'autres études, nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Zhou et ses collaborateurs en 2016** sur les polysaccharides de *Lilium lancifolium* Thunb qui démontre un IC<sub>50</sub>= 1.43 mg/ml.

## 2.2. Le pouvoir réducteur (PR)

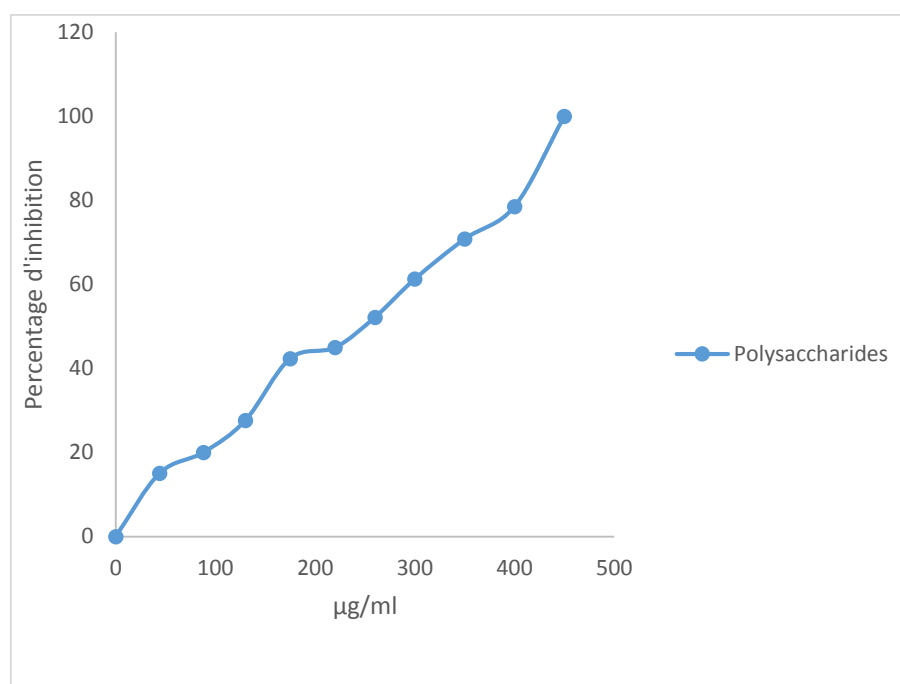
La réduction du pouvoir, reflétant la capacité de donation d'électron, est l'un des indicateurs les plus importants de l'activité antioxydante des composés bioactifs (**Arabshahi et al., 2007**). En faisant don d'électron, les substances antioxydantes sont capables de bloquer la réaction en chaîne radicale en convertissant des espèces réactives d'oxygène en produits plus stables.

Les résultats de l'activité réductrice des polysaccharides et de l'acide ascorbique sont représentés dans (la Figure 4.23 et 4.24).



**Figure 4.23** : Le pourcentage d'inhibition du pouvoir réducteur (PR) de l'acide ascorbique.





**Figure 4.24 :**Le pourcentage d'inhibition du pouvoir réducteur (PR) de polysaccharides de *Laurus nobilis* L.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du PR augmente avec l'augmentation de la concentration. Le taux d'inhibition du PR enregistré en présence de l'extrait de la plante est inférieur à celle de l'acide ascorbique. Pour mieux caractériser le pouvoir réducteur nous avons introduit le paramètre  $IC_{50}$ .

Les valeurs des  $IC_{50}$  trouvées pour les deux produits testés sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 4.4 :** Les valeurs des  $IC_{50} \pm SD$  du PR des polysaccharides et d'acide ascorbique.

L'échantillon	$IC_{50}$ (µg/ml)
Acide ascorbique	$2,2 \pm 0,02$
<i>Laurus nobilis</i> L.	$260 \pm 4$

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus du pouvoir réducteur des polysaccharides des feuilles de *Laurus nobilis* L montrent que l'extrait testé possède un pouvoir

réducteur élevé avec un  $IC_{50} = 260 \mu\text{g/ml}$ . En comparaison avec l'antioxydant standard (l'acide ascorbique) qui démontre un  $IC_{50} = 2.2 \mu\text{g/ml}$ , nous constatons que notre extrait est moins actif par rapport au standard.

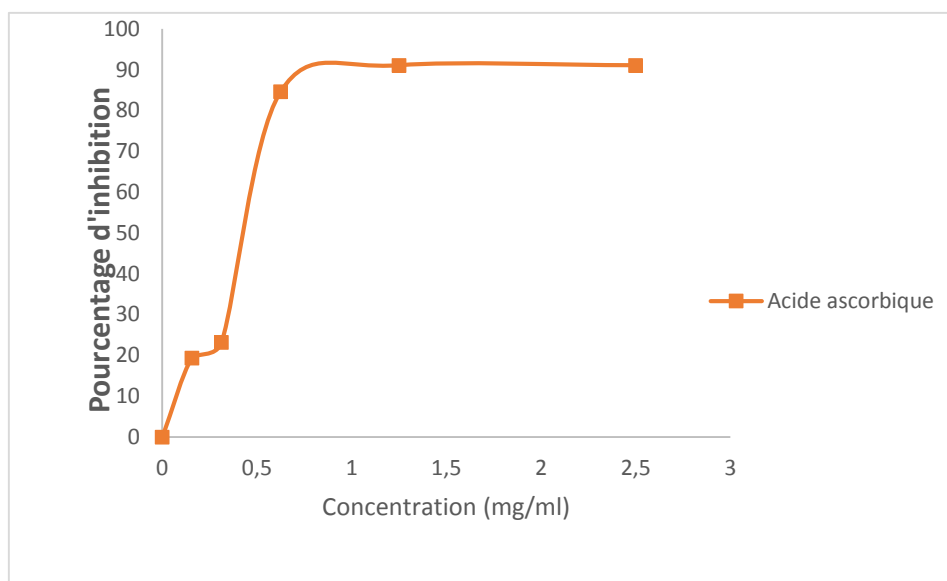
Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **(Liang et al., 2011)** sur les polysaccharides de *Talinum triangulare* et **(Lu et al., 2013)** sur les polysaccharides de *Huangshan maofeng*.

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polysaccharides **(Liang et al., 2011)**, ce qui explique le potentiel réducteur de l'extrait de notre plante riche en polysaccharides. Dans notre expérience la présence des réducteurs dans l'extrait de notre plante provoque la réduction de  $Fe^{3+}$  complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent,  $Fe^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm.

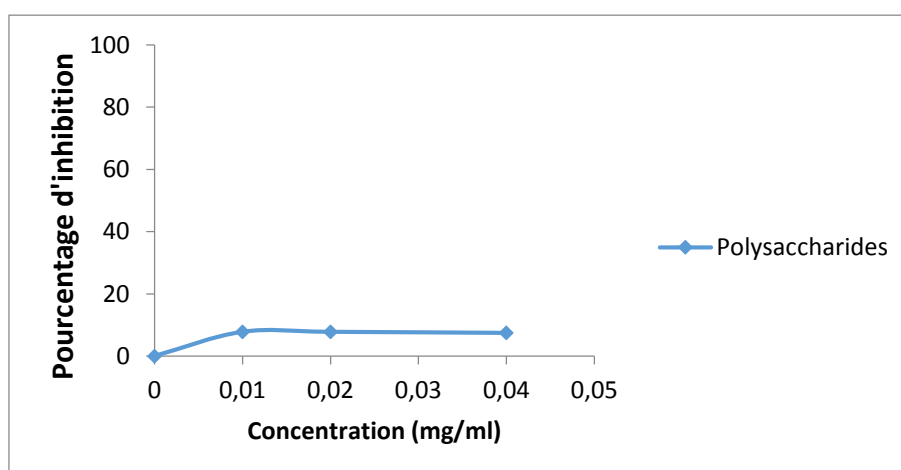
### 2.3. Le test de piégeage du radical hydroxyle

L'accumulation de preuves a fortement suggéré que ce stress est un facteur vital essentiel du vieillissement, du dysfonctionnement du cerveau, des maladies du foie, des troubles cardiovasculaires et de la carcinogenèse **(Sun et al., 2010)**. Parmi toutes les espèces ROS, les radicaux hydroxyles entraînent une grande partie des dommages oxydatifs aux biomolécules **(Ke et al., 2009)**. Le radical hydroxyle peut facilement conduire à des dommages aux tissus ou à la mort cellulaire. Ainsi, l'élimination des radicaux hydroxyles est très importante pour la protection des systèmes vivants **(Leong et al., 2002)**.

Les résultats de piégeage du radical hydroxyle des polysaccharides et de l'acide ascorbique sont représentés dans (la figure.4.25. et 4.26).



**Figure.4.25 :** Le pourcentage d'inhibition du piégeage du radical hydroxyle(OH) de l'acide ascorbique.



**figure.4.26 :** Le pourcentage d'inhibition de piégeage du radical hydroxyle(OH) de polysaccharides de *Laurus nobilis* L l'acide ascorbique.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du  $\text{OH}^\bullet$  augmente avec l'augmentation de la concentration. D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'extrait testé de la plante (*Laurus nobilis* L.) est pourvu d'une activité antioxydante modérée. Néanmoins, cette activité reste bien inférieure au antioxydant de standard utilisé .Le potentiel faible de piégeage du  $\text{OH}^\bullet$  est dû à la sensibilité des polysaccharides avec les réactifs utilisés dans ce test.

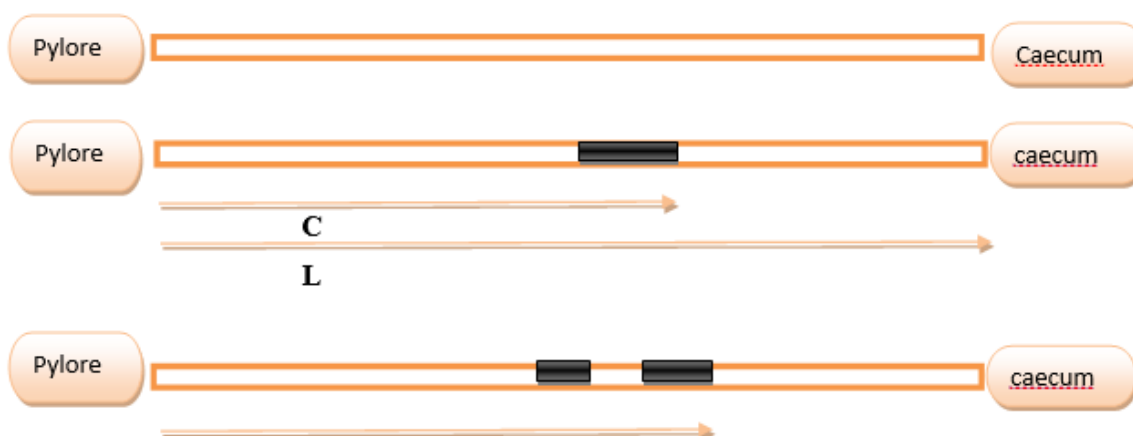
Les valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour les deux produits testés sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 4.5 :** Les valeurs des IC<sub>50</sub> ± SD du OH des polysaccharides et de l'acide ascorbique.

L'échantillon	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Acide ascorbique	0.5
<i>Laurus nobilis</i> L	> 2.5

### 3. L'activité laxative

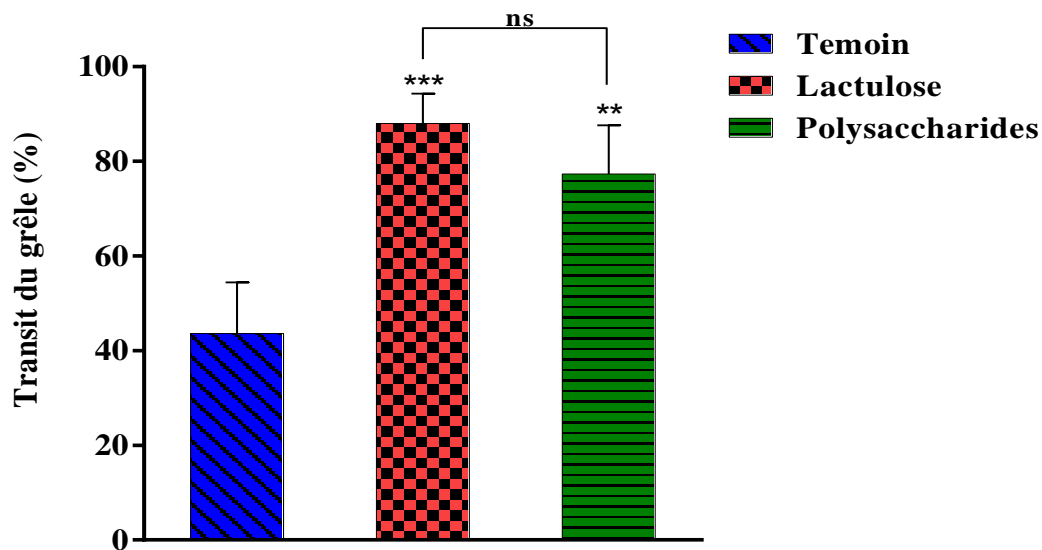
#### 3.1. Mesure du transit intestinal



**C** : distance parcourues par charbon.

**L** : longueur de l'intestin du pylore jusqu'au caecum.

Après mesure des distances parcourues par le marqueur coloré (charbon actif) et longueur de l'intestin du pylore jusqu'au caecum de chaque souris. Les résultats individuels sont représentés, après calcul des moyennes respectivement de chaque lot dans la figure 4.27.



**Figure 4.27 :** L'effet de *Laurus nobilis* des polysaccharides on gastro-intestinal transit.\*\*\*P < 0.001 : Temoin vs. Lactulose; \*\*P < 0.01 Temoin vs. Polysaccharides ; <sup>NS</sup> P > 0.05 : comparaison le groupe Lactulose avec le groupe Polysaccharides.

La figure 4.25. indique que le pourcentage du transit du grêle est augmenté de façon hautement significative chez le groupe du lactulose ( $87.9 \pm 10.8\%$  ;  $P < 0.001$ ) et le groupe des polysaccharides ( $77.3 \pm 10.3\%$  ;  $P < 0.01$ ) par rapport aux témoins ( $40 \pm 10.8\%$ ).

Selon nos résultats, on note qu'il n'y a aucune différence ( $P > 0.05$ ) du taux du transit du grêle entre le groupe du lactulose par rapport au groupe des polysaccharides. L'effet laxatif observé de polysaccharides pourrait être lié à la promotion de la libération de fluide corporel, ce qui augmente la teneur en eau fécale et la sécrétion intestinale.

La constipation a un effet négatif sur la qualité de vie chez les patients atteints. Les suppléments de fibres, les selles adoucisseurs, les stimulants et les laxatifs osmotiques sont utilisés pour soulager les symptômes. Cependant, les suppléments de fibre causent la douleur et l'inconfort abdominal, les selles adoucisseurs ne sont utilisés qu'à court terme et la moitié des patients sont insatisfaits des laxatifs actuels (Rao *et al.*, 2016). En conséquent, les plantes médicinales ont reçu une attention croissante en tant qu'options thérapeutiques alternatives pour traiter la constipation. Les recherches indiquent que les polysaccharides provenant des herbes médicinales ont exercé des effets laxatifs, par exemple des polysaccharides d'*Inula japonica* et *Operculina macrocarpa* (Galvao *et al.*, 2014; Shan *et al.*, 2010). En outre, psyllium est un polysaccharide de *Plantago ovate* a déjà été approuvé par la FDA comme supplément de

fibre thérapeutique pour le traitement de la constipation. Face à ce constat, la présente étude recherche des polysaccharides hydrosolubles de *Laurus nobilis* L. et leurs effets laxatives.

#### **4. Analyse statistique**

Le logiciel Graphpad prism 6 est utilisé pour les différentes analyses statistiques. Afin d'affirmer la signification des différences existantes entre les données, le test paramétrique ANOVA suivi par le test de Tukey sont impliqués pour l'analyse des données. Les moyennes sont considérées comme significativement différentes lorsque  $P < 0,05$  (**Luo et al., 2017**).

# Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polysaccharides qu'ils sont parmi les composés les plus étudiés de nos jours.

Le but de ce mémoire est l'extraction des polysaccharides pour étudier les activités antioxydante et laxative.

Pour réaliser ce travail, on a utilisé la plante *Laurus nobilis L.*, plante riche en polysaccharides dont le rendement de l'extraction était de 2 %.

L'extrait obtenu a servi à la réalisation de deux parties distinctes de notre travail.

- La première partie, réalisée in vitro, à la recherche d'une éventuelle activité antioxydante grâce à trois tests cités précédemment.
- La deuxième partie portant sur une expérimentation animale, a permis de prouver l'effet laxatif du PS extrait du laurier noble grâce à la mesure d'un marqueur noir.

Finalement nous avons conclu que les polysaccharides extraits possèdent des activités antioxydantes et laxatives ce qui nous a permis d'atteindre les objectifs de notre travail.

Cette étude nous a permis aussi d'acquérir des connaissances dans le domaine des polysaccharides, et de conforter nos connaissances sur les activités biologiques. Mais le domaine reste toujours ouvert pour compléter la recherche concernant l'usage du laurier noble.

### Perspectives

Une étude supplémentaire est nécessaire pour optimiser les conditions d'extraction (température, temps d'extraction des polysaccharides).

Pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante et laxative des polysaccharides, il est souhaitable de fractionner et d'étudier la capacité d'inhibition des radicaux libres ou une capacité laxative de l'intestin grêle. De même ; pour connaître la relation structure/fonction, l'analyse structurale par spectrométrie de masse et par la résonance magnétique reste à suivre.

Il est aussi souhaitable, pour mieux connaître les activités biologiques manifestées de refaire les tests avec des dilutions à fin d'identifier la cinétique et/ou la dose optimale pour un effet biologique précis.

Nous allons terminer notre travail avec succès et nous espérons que notre travail a été bien détaillé et servira comme un support pour les prochains étudiants.



# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## -A-

**Ahn G., Kim K., Cha S., Song C., Lee J., Heo M., Yeo I., Lee N., Jee Y., Kim J., Heu M., Jeon Y., 2007.**- Antioxidant activities of phlorotannins purified from *Ecklonia cava* on free radical scavenging using ESR and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated DNA damage. *Eur. Food Res. Technol*, Vol. 226 71–79.

**Arabshahi-Delouee S., Urooj A., 2007.**- Antioxidant proprieties of various solvent extracts of mulberry (*morusindica L.*) leaves, *food chemistry*. Vol, 102: 1223-1240.

**Angone A.S., 2010.**-Extraction des polysaccharides hémicellulosiques de la paroi des feuilles de *Laportea aestuans* (*Fleurya aestuans*) et activité immunostimulante, *Institut de Pharmacopée et Médecine traditionnelle*. *Science du Sud*, vol. 3: 1998-0612.

## -B-

**Bellosta V., 2013.**- chimie organique : tous les cours en fiche, licence. Paes.Capes, imprimé en France Baume-les-Dames. 134-135p.

**Bruneton J., 2009 .**- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e ed. Lavoisier. 57,60,63,64 p.

**Badoud R., Lölliger J.,2010 .**- Science et technologies des aliment principales de dinie des constituant et de technologie desprocédes, Alain Etournand PPUR, Presses, ISBN 2880747546, 9782880747541. 237-241p.

**Ballabio R., Goetz P., 2010.**- Huile de graine/fruit de laurier *Laurusnobilis L.,Laurusazorica* ( seub.), Vol. 8:141p.

**Baudin B., 2006.**- Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT Cardio*, vol. 2(1) :43-52.

**Baus N.G., Chosal D.C., Thakur S., 1984.**- Structural Studies on a Polysaccharide fraction from Fruits of *CordiadichotomaForst* , *Carbohydrate Research*, vol. 131 : 194-155.

**Beloued A., 2005.**- Plantes médicinales d'Algérie - 5ème édition, Ben aknoun (Alger). 124-125p.

**Beecher G., Khachik F., 1992.-** Qualitative Relationship of Dietary and Plasma Carotenoids in Human Beings, Beyond Deficiency: New Views on the Function and Health Effects of Vitamins, Academy of Sciences, New York.

**Bonnefont-Rousselot D., 2007.-** Stress oxydant et vieillissement, Spectra. Biologie, vol. 4(157) : 23-26.

**Bonaz B., 2014.-** Physiologie de l'Appareil Digestif, Clinique Universitaire D'Hépatogastroentérologie, CHU de Grenoble.

**Bütikofer M., Hopf Z., Rutz G., Stach S., Grigoleit A., 2004.-** Humanbiologie 1, 1. Aufl., Compendio Bildungsmedien.

**Pillon F., 2010.-** Savoir conseiller les laxatifs à l'officine, Dossier coordonné Actualités pharmaceutiques. n° 492, 11p.

## -C-

**Calixto J.B., 2005.-** Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. Journal of Ethnopharmacology, 100, 131 – 134.

**Catier O., Roux D., 2007.-** Cahiers du préparateur en pharmacie botanique, pharmacognosie, phytothérapie - 3eme édition, France .13-15p.

**Capasso F., Gaginella T.S., 1997,** Laxatives A Practical Guide ,Springer-VerlagItalia, Milano. 5,52p.

**Cherpentier B., hamon-lorléach F., harlay A., huard A., ridoux L., 1988.-**guide du préparateur en pharmacie ,masson paris milan barcelone P955,954

**Collic-Jouault S., Zanchetta P., Helley D., Ratiskol J., Sinquin C., Fischer A., Guezennec J., 2004.-** Les polysaccharides microbiens d'origine Marine et leur potentiel en thérapeutique humaine. Pathologie Biologie. 4p.

**Clarkson P., Thompson H., 2000.-** Antioxidants: what role do they play in physical Activity and health, American Journal of Clinical Nutrition, vol. 72(2): 637-646.

**Cdu-Hge., 2014.-** la Collégiale des universitaires en hépatogastro-entérologie. 2p.

## -D-

**Dumitriu S., 2004.-** Polysaccharides: Structural diversity and functional versatility, (2<sup>e</sup> éd.), Marcel Dekker, New York. 3p.

**Delattre B., Bonnefont R., 2005.-** Radicaux libres et stress oxydant : aspects Biologiques et pathologiques. Lavoisier edition TEC & DOC edition smedicales internationales Paris. 1-405p.

**D'Archivio M., Filesi C., Di B., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R., 2007.-** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Ann.Ist.Super.Sanita, vol.43: 348-361.

**Dong Q., Yao J., Fang J. N., Ding K., 2007.-** Structural characterization and immunological activity of two cold-water extractable polysaccharides from *Cistanchedeserticola* Y. C. Ma. Carbohydrate Research, vol. 342: 1343-1349.

**Dumas J.,1954.-** Les animaux de laboratoire :Anatomie, Particularités physiologiques, Hématologie, Maladies naturelles, Expérimentation, collection de l'institut Pasteur, Edition médicale Flammarion.

**Droge K.S., 2002.-** Free radicals in physiological control of cell fuction, *Physiol.Rev.* 82: 47 – 95.

## -E-

**Elosua R., Molina L., Fito M., Arquer A., Sanchez-Quesada J., Covas M., Ordonez L., lanos J., Marrugat J., 2003.-** Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis*, Vol. 167(2): 327-334.

**Esposito E., Roti.io D., Di Matteo V., Di Giu.io C., Cacchio M., Ageri S., 2002.-** A Review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical Mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiology of Aging*,vol. 23: 719-735.

## -F-

**Favier A., 2003.-** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique*. 108-115p.

**Finaud J., Lac G., Filaire E., 2006.-** Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training, *Sports med*, vol. 36(4): 327-358.

**François Pillon., 2010 .-**Savoir conseiller les laxatifs à l'officine,formation dossier. 11p.

## -G-

**Garon-Lardiere S., 2004.-** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsisarmata* (Bonnemaisoniales), thèsedoctoratUniversite de bretagne occidentale.

**Gross R., Scholz C., 2001.-** Biopolymers from Polysaccharides and Agroproteins : American Chemical Society Distributed by Oxford University Press . 11,12,19,20,23,24p. ( livre en anglais ACS) Lachapelle A., 2008.- chimie organique 2, imprimé en France Dunod, paris. 86-87p.

**Gilgun-Sherki Y., Melamed E., Offen D., 2001.-** Oxidative stress Induced Neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. Neuropharmacology, vol. 40: 959-975.

**Girouard S., Lapierre D., 2008.-** chimie organique 1,l'edition Dunod , paris. 421p.

**Galvao M., Ferreira M., Nunes B., Santana A., Randau K., Soares L., 2014.-** Validation of a spectrophotometric methodology for the quantification of polysaccharides from roots of *Operculinamacrocarpa* (jalapa). Revista Brasileira de Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, vol. 24 :683–690.

**Gowda J.P., Gowda D.C., AnjaneYalu Y.V., 1980.-** Structure of new Arabinoxylan from the bark of *Cinnamomum* sp., Carbohydrate Research, vol. 87 : 241-248.

**Giovanelli B., 2013.-** Médicaments laxatifs et modificateurs de la motricité gastrique .UE 3 : Appareil digestif .9p.

**Gomes C., Lourenc E.L.B., Liuti E. B., Duque A.O., Nihi F., LourencA.C.,Mendes T C., Junior A G., Dalsenter P R. 2012.-** Evaluation of subchronic toxicity of thehydroethanolic extract of *Tropaeolummajus* in Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology,142 : 481-487.



**Hebi M., Eddouks M., 2016.-** Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*, Phytothérapie, vol. 14: 17 – 22. Heim, E. K., Tagliaferro.

**Harlay A., Huard A., Ridoux A., 1998.-** Guide du préparateur en pharmacie, Imprime par Masson paris Milan Barcelone. 952-955p.

**Hidayat M.A., Fitri A., Kuswandi B., 2017.-** Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay, pharmaceuticaSinica B.

## -I-

**Iserin P., 2001.-** Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème Ed. Larousse. Londres.143 et 225-226p.

## -J-

**Jani G., Shahd S., Prajapativ D., Jain V., 2009.-** Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. Asian J., f Pharmaceutical Sciences, vol. 4: 308-322

**Jassim S.A., Naji M.A. (2003)** Novell antiviral agents:amedicinal plant perspective. Appl. Microbiol.,vol. 95 (3): 412-27.

**Jen J.F., Leu M.F., Yang T.C., 1998.-** Determination of hydroxyl radicals in an advanced oxidation process with salicylic acid trapping and liquid chromatography. J.Chromatogr. A, 796 : 283–288.

## -K-

**Kennelly M., Rodwell B., Well B., 2013.-** Biochimie de Harper. 5e édition deboeck,138p.

**Kessous C., 2006.-** Chapitre 2: Glucides. Biochimie strécturale. Ed, Office des publications 1, place centrale de Ben aknoun .Alger-Algérie.56- 80p.

**Ke C., Qiao D., Gan D., Sun Y., Ye H., Zeng X., 2009.-** Antioxidant acitivity in vitro and in vivo of the capsule polysaccharides from Streptococcus equi subsp. zooepidemicus. Carbohydr. Polym, Vol. 75: 677–682.

**Kohler C.,2011.-**l'appareil digestif, Université Médicale Virtuelle Francophone, vol.9 :11p.

**Kortichinsky T., Vigue B., Samama C., 2013.-** Antagonisation des héparines et des nouveaux anticoagulants Reversal for heparins and new anticoagulant treatments. 37-49p.

## -L-

**Leong L.P., Shui G., 2002.-** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chem, Vol. 76 : 69–75.

**leng-peschlow E,1986**,acceleration of large intestine transit time in rats by sennosides and related compounds, vol.38(5) : 369-73.

**Leopoldini M., Russo N., Toscano M., 2011.**- The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants, Food Chemistry, vol.125:288–306.

**Liu J., Willfo S., Xu C., 2015.**- A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol. 5: 31 – 61.

**Li E., Nie S.P., Xie M.Y., Li C., 2013.**- Isolation and partial characterization of a neutral polysaccharide from *Moslachinensis Maxim.* and its antioxidant and immunomodulatory activities, Journal of Functional Foods, Article in press.

**Liang D., Zhou Q., Gong W., Nie Z., He H., Li J., 2011.** Studies on the antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Talinum triangulare*, Journal of Ethnopharmacology, vol. 136 : 316-321.

**Lina F., Ballesteros Jos´e A., Teixeira Solange I., 2016.**-Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity, Carbohydrate Polymers, vol.0144-8617(16)31108-0.

**Lu X., Zhao Y., Sun Y., Yang S., Yang X., 2013.**- characterisation of polysaccharides from tea of *huangshanmaofeng* with antioxidant and hepatoprotective effects, food chemistry, vol. 141: 3415-3423.

**Luo D., Qu C., Lin G., Zhang Z., Xie J., Chen H., Liang J., Li C., Wang H., Su Z., 2017.**-Character and laxative activity of polysaccharides isolated from *Dendrobium officinale*, Journal of Functional Foods, vol. 34 ,106–117

**Lüllmann H., Mohr K., Ziegler A., Bieger D., 2000.**- Color Atlas of Pharmacology, 2nd édition, Thieme Stuttgart · New York, vol. 170 : 171p.

## -M-

**Marouf A., Gérard T.R., 2009.** Abrégé de biochimie Appliqué .Edition EDP science: 20-21.

**Maayoufi S., Djebien., 2016.**- l'intestin grêle, université Badji Mokhtar-Annaba. 2-4p.

**Merghem R., 2009.**- Eléments de biochimie végétale, édition Algérie .20,21,25,26 p.

**Moussard C ., 2007.**- Biochimie structural et métabolique, 3 éd, Bruxelles. 77p.

**Monique G.A., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D., 2003.-** Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? ,l'actualité chimique, (269-270 ) : 91-96.

**Maayoufl S., Djebien., 2016.-** l'intestin grêle,universitéBadji Mokhtar-Annaba.2-4p.

**Myers P.R., Espinosa C. S., Parr T., Jones G.S., Hammond, T. A. Dewey. 2017.-**The Animal Diversity Web (online).

**Maayoufl S., Djebien., 2016.-** l'intestingrêle,universitéBadji Mokhtar-Annaba.2-4p.

## -N-

**Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., 2000.-** The influence of natural products upon drug discovery, Natural Product Report, vol. 17: 215 – 234.

## -P-

**Pal A., Das D., Kumar, Sarkar A., Ghorai S., DAS R., PAL S., 2015.-** Synthesis of glycogen and poly (acrylic acid)-based graft Copolymers via ATRP and its application for selective removal of Pb<sup>2+</sup> ions from aqueous solution. European Polymer Journal, vol. 66: 33-46.

**Putnam C., Arvai A., Bourne Y., Tainer J., 2000.-** Active and inhibited human catalase Structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. MolBiol, vol. 296: 295-309.

**Percheron F., Perles R., Fogliett M., 1980 .-** Aberege de biochimie: Tome 1.Bioénergétique : Protides, Enzymologie, Acides nucléiques. 272p.

**Pincemail J., Meurisse M., Limeti R., Defraigne J.O., 1999.-** Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. Vaisseaux, Coeur, Poumons, vol. 4(4) : 1-4.

**Putnam C., Arvai A., Bourne Y., Tainer J., 2000.-** Active and inhibited human catalase Structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. J MolBiol, vol. 296: 295-309.

**Pincemail J., Meurisse M., Limeti R., Defraigne J.O., 1999 .-** Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. Vaisseaux, Coeur, Poumons, vol . 4(4) : 1-4.

**Pincemail J., Siquet J.P., Chapelle J.P., 2000.-** Évaluation des concentrations plasmatiques en anti-oxydants : anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise, vol. 58(2):177-85p.

**Proksch A., wagner H., 1987.-** Structural analysis of a-4-oMethyl glucuronoarabinoxylan with immuno-stimulating activity from *Echinacea purpurea*. *Phytochemistry*, **26**(7) : 1989-1993p.

**-R-**

**Rao S.S., Rattanakovit K., Patcharatrakul T., 2016.-** Diagnosis and management of chronic constipation in adults , *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, Vol. 13: 295 305.

**Rochette L., 2008.-** Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, vol. 3 : 1-4.

**Ruff Y., 2008.-** Biopolymers dynamiques: oligo-et polysaccharides. Thèse de doctorat, université Louis Pasteur, Strasbourg. 308p.

**-S-**

**Salvayre R., Auge N., Nègre-Salvayre A., Toussaint M., Jacob L., Lagrost , Chapman J., 2003.-** Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose, In *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques*, Masson : Paris, Vol.14: 269-290p.

**Serra J., Mascort-Roca J., Marzo-Castillejo M., Delgado-Aros M., Ferrándiz Santos J., Rey Diaz Rubio E ., Mearin Manrique F., 2001.-** Review Clinical Practice guidelines for the management of constipation in adults, Vol. 1013 : 1-10.

**Shan J. J., Zhang Y., Diao Y. L., Qu W. S., Zhao, X. N., 2010.-** Effect of an antidiabetic polysaccharide from *Inula japonica* on constipation in normal and two models of experimental constipated mice. *Phytotherapy Research*, 24, 1734–1738.

**Staples G., Jacquemoud , 2005 .-** Typification and nomenclature of the Convolvulaceae in N. L. Burman's *Flora Indica*, with an introduction to the Burman collection at Geneva J., *Candollea*, vol. 60: 445-467.

**Schepetkin I. E.T., Quinn M., 2006.-** Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential: *International Immunopharmacology Review*, vol. 6: 317-333.

**Stevenson D., Hurst R., 2007.-** Polyphenolic phytochemicals--just antioxidants or Much more? *Cell Mol. Life Sci*, vol. 64: 2900-2916.

**Solomons-GetFryhle C., 2000.-** chimie organique est la traduction de la 7<sup>e</sup> édition de chimie organique l'edition PADIE, canada. 988p.



**Souza R.O., Madeira S. J.C., Chagas F.D.S., Parreiras L.A ., Santos G.R.C., Assreuy A.M.S ., Mour A.O., Pereira M.G., 2015.-** Purified polysaccharides of *Geoffroea aspinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks : *Carbohydrate Polymers* vol 124 : 208-21.

**Sun Y., Li X., Yang J., Liu J., Kennedy J.F., 2010.-** Water-soluble polysaccharide from the fruiting bodies of *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.: Fr.) O.K. Miller: Isolation, Structural features and its scavenging effect on hydroxyl radical. *Carbohydr. Polym.*, Vol.80: 720– 724.

**Soma E., Kobayashi K., Karakawa T., Kato S., Fujisawa K.U., 1982.** Polysaccharide R.B.S. Substance and Antitumor agent Containing Same.

-T-

**Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros Z., Hawkin S., Byrne D., 2006 .-** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, vol. 669–675.

-U-

**Ummartyotin S., Manuspiya H., 2015.-** A critical review on cellulose: From fundamental to an approach on sensor technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 41: 402-412.

-V-

**Van-Raamsdonk J., Siegfrie D., 2012.-** Hekimi Superoxide dismutase is dispensable for normal animal life span, *PNAS Genetics*, Vol. 109(15): 5785-5790.

**Valery A., Romuald C., Dragoslav M., Collin P., Lomri A., 2007-** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydesdismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, vol. 74(7) : 636-643.

**Vansant G., 2004.-** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone.

**Virgili F., Marino M., 2008.-** Regulation of cellular signals from nutritional Molecules: à specific role for phytochemicals, beyond antioxidant Activity. Free Radic.Biol.Med, vol. 45: 1205-1216.

**Voet D., Judith G., Voet , 2005.-** Biochimie, 2 edi de bock université paris. 368-369p.

-W-

**Wanger H., Jordn E., 1988.-** AN immunologically active arabinoGalactan from Viscum Album berries, Phytochemistry, Vol .27 (8) : 2511-2517.

**Weinman S., Mehul P., 2004.-** Toute la Biochimie. Ed. Dunod. 466p.

**Wertz L., 2011.-** les hémicelluloses : Document Valbiom - Gembloux Agro-Bio Tech, Université de liège.

**Wijesinghea W.A.J.P., Jeon Y. J., 2012 .-** Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review, Carbohydrate Polymers, vol. 88: 13-20.

**Wu Y., Cui S., Tang J., Wang Q., Gu X., 2007.-** Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds, Carbohydrate Polymers, vol. 70: 437-443.

**Wolin M., 1996.-** Reactive oxygen species and vascular signal transduction Mechanisms. Microcirculation, vol. 3: 1-17p.

-X-

**Xie J.H., Shen M.Y., Nie S.P., Zhao Q., Li C., Xie M.Y., 2014.-** Separation of water-soluble polysaccharides from Cyclocaryapaliurus by ultrafiltration process. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 479-483

**Xie G., Schepetkin I., Quin M., 2007.-** Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from TanacetumvulgareL .J .International Immunopharmacology, vol. 7: 1639-1650.

**Xu R., Ye H., Sun Y., Tu Y., Zeng X.,2012.-** Preparation, preliminary characterization, antioxidant hepatoprotective and antitumor activites of polysaccharides from the flower of tea plant (*camellia sinensis*), Food and chemical Toxicology, vol. 50: 2473-2480.

**Xu H., Zhang Y., Chen D., 2007.-** Isolation and characterization of an anti-complementary polysaccharide D3-S1 from the roots of *Bupleurum smithii*. *J. International Immunopharmacology*, vol.7: 175–182.

-Y-

**Yildirim A., Mavi A., Kara A., 2001.-** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 411-420p.

-Z-

**Zablocka A., Janusz M., 2008.-** The two faces of reactive oxygen species, *Postepy Hig Med Dosw*, vol. 62: 118-124.

**Zou P., Yang X., Hunang W., Zhao H., Wang J., Xu R., Hu X., Shen S., Qin D., 2013.-** Characterization and Bioactivity of polysaccharides obtained from Pine Cones of *Pinus koraiensis* by Graded Ethanol Precipitation, *Molecules*, vol. 18 : 9933-9948.

**Zong A., Cao H., Wang F., 2012.-** Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. *Carbohydrate Polymers*, vol. 90: 1395-1410.

## La préparation des solutions :

### 1- Les solutions du pouvoir réducteur

- Solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe$  à 1 % :

Mélanger 1ml de ferricyanure de potassium avec 100ml de l'eau distillée.

Donc : 2,5g → 250ml de  $H_2O$

- Solution de TCA à 10% :

Mélanger 10g de TCA dans 100ml de l'eau distillée.

Donc : 25g → 250ml de  $H_2O$

- Solution de  $FeCl_3$  à 0,1% :

Mélanger 0,1ml de  $FeCl_3$  dans 100ml de l'eau distillée.

Donc : 0,4g → 400ml  $H_2O$

- Solution tampon phosphate à 0,2M et pH= 6,6 :

A. Solution 1 :  $Na_2HPO_4$  → 28,4g +  $H_2O$  pour compléter 1L.

Donc : 28,4g → 1000ml

X= 7,1g → 250ml

B. Solution 2 :  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  → 31,21g +  $H_2O$  pour compléter 1L.

Donc : 31,21g → 1000ml

X= 7,8g → 250ml

En fin, Phosphate buffer à 0,2M et pH= 6,6 est un mélange de solution 1 et solution 2 dont

Le volume 37,5ml et 62,5ml respectivement.

### 2- Les solutions du test radical hydroxyle

- **Fe  $SO_4$  (9mM)**

$$m = M \cdot C \cdot V$$

$$m = 271.01 \text{ g/mol} \cdot (9 \cdot 10^{-3}) \text{ mol/l} \cdot 0.1L$$

$$m = 0.250g$$

- **Acide salicylique (9 mM)**

$$m = M \cdot C \cdot V$$

$$m = 138.12 \text{ g/mol} \cdot (9 \cdot 10^{-3}) \text{ mol/l} \cdot 0.1L$$

$$m = 0.124$$

### 3- Les solutions de l'activité laxative

#### ➤ Lactulose

15 g → 1000 g

- Le poids des souris sont 40g

Donc : 15g → 1000 g

X → 40

$$X = 40g \cdot 15g / 1000g$$

$$X = 0.6 \text{ g}$$

- La concentration de lactulose c'est 66.5%

Donc :

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$0.665 \cdot Y = 0.6 \cdot 1$$

$$Y = 0.6 \cdot 1 / 0.665$$

$$Y = 0.9 \text{ ml}$$

Donc 0.9 → 1 ml (Na Cl)

#### ➤ Charbon actif

2 mg dilué dans 1 ml Na Cl

### 4- Les solutions du Purification

#### ➤ TCA 15%

15g → 100ml

X → 400ml

Donc :

$$X = 15 \cdot 400 / 100$$

$$X = 60g$$

#### ➤ NAOAC

C'est un 1/4 V de TCA

Le volume de TCA = 400ml

Donc V (NAOAC) = 400/4

V (NAOAC) = 100ml

Donc 2g de NAOAC Dissous dans 100 ml l'eau distillée



Éprouvettes



Erlens



Bicher



Tubes chronique



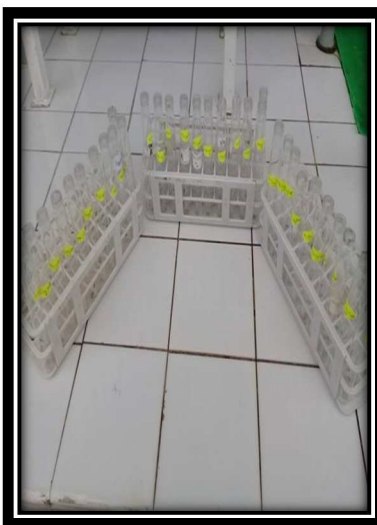
Centrifugeuse



Ph metre



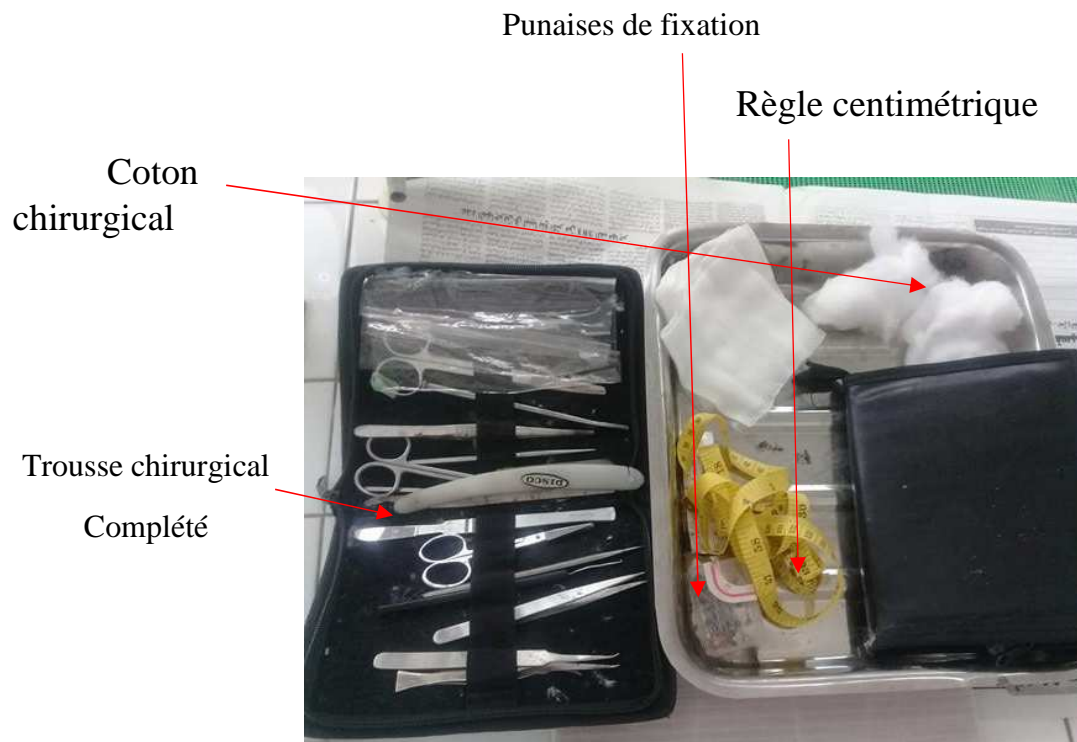
Agitateur



Tubes à essai



Spectrophotomètre



Pipette pasteur



Vortex



Etuve.



Balance



Seringue de 10ml



Rotavapor

<b>Aouag Asma</b> <b>Boutout Afef</b> <b>Chenniki Khaoula</b>	<b>Date de soutenance</b> <b>01/07/2017</b>
<b>Titre : Etude de l'activité antioxydante in vitro et l'activité laxative in vivo des polysaccharides extraits du Laurus Nobilis L.</b>	
<b>Nature du diplôme : Master</b> <b>Domaine : Science de la nature et de la vie</b> <b>Option : Toxicologie et santé</b>	
<b>Résumé</b> <p>On a abordé dans cette étude l'activité antioxydant in vitro et l'activité laxative in vivo des polysaccharides extraits du <i>Laurus Noblis</i> L. par l'eau chaude (décoction) la plante de <i>Laurus Noblis</i> L. est populairement connu par son usage très rependu dans plusieurs domaines notamment l'industrie cosmétique ,l'agroalimentaire , les pesticides et y compris le domaine médicale, les feuilles sont utilisées dans le traitement des céphalées, les crampes abdominales , et les inflammations articuloitres .</p> <p>L'effet pharmaceutique de cette plante relève de ces composantes naturelles actives tel que les polysaccharides, qui ont gagnés une grande importance dans le domaine de la recherche scientifique vu leur efficacité anti-tumorale, anti-inflammatoires, anticoagulante, antioxydante ,immunomodulatrice et hypotensive.</p> <p>Cette étude a respecté les étapes suivantes :</p> <p>Premièrement l'extraction des polysaccharides par l'eau chaude (décoction) du <i>Laurus Nobilis</i> L. dont le taux de rendement des polysaccharides bruts est estimé à 2.2% et celui des polysaccharides purs est 2%. Ensuite en a entrepris l'étude de l'activité antioxydant via trois tests : le test de piégeage du radical libre DPPH, le test du pouvoir réducteur PR, et le test de piégeage du radical hydroxyle OH<sup>•</sup> , les résultats obtenu de ces tests ont montré que le taux d'inhibition du DPPH est :(IC<sub>50</sub>=0,983± 0,08), celui du test de PR :(IC<sub>50</sub>=260±4), et le test du OH<sup>•</sup> :( IC<sub>50</sub>=2.5). Finalement pour étudier l'activité laxative sur des souris de laboratoire on a divisé sur trois lots :lot 1 témoins négatifs, lot2 témoins positifs(Lactulose), et lot3 extrait des polysaccharides, ce qui a révélé que les polysaccharides ont une activité semblable en comparaison aux témoins positifs(Lactulose). Les résultats de cette étude proposent que les polysaccharides extraits par l'eau chaude des feuilles de <i>Laurus Nobilis</i> L. Ont des facteurs antioxydants, et laxatifs.</p>	
<b>Mots clés :</b> l'activité antioxydante, l'activité laxative, les polysaccharides, <i>Laurus Nobilis</i> L.	
<b>Laboratoire de recherche :</b> Laboratoire de biochimie, faculté des sciences de la nature et de la vie. université Mentouri, Constantine.	
<b>Président du jury :</b> Menad Ahmed (Pr- UFM Constantine). <b>Rapporteur :</b> Dehili Nedjwa (MAA - UFM Constantine). <b>Examineurs :</b> Belmahi Mohamed El Habib (Pr- UFM Constantine). Baali Nacera (MMA- UFM Constantine).	