



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الأخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : بيولوجيا الحيوان. **Département : Biologie Animale.**

**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 :

---

## **L'évaluation de l'activité anticoagulante des polysaccharides isolés de feuille de *Laurus nobilis L***

---

**Présenté et soutenu par :**

- **Bechkri chaima**
- **Meslem bouchra**

**Le : 27/06/2018**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Lalaoui K (Pr- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Dehili N (MAA- UFM Constantine).

**Examineurs :** Boubekri N (MCB- UFM Constantine).  
Zouaghi y (MCA- UFM Constantine).

***Année universitaire  
2017- 2018***

## **REMERCIEMENTS**

*En préambule de ce mémoire, nous souhaitons adresser nos Remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apportées Leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de cette année Universitaire.*

*Nos sincères remerciements vont également à madame **Dehilil Nadjoua** Maître assistante classe a au département des sciences de la nature et De la vie, qui, en tant que directrice de mémoire, s'est toujours Montrée par sa disponibilité et son écoute tout au Long de cette étude Ainsi que, par son aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer Et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nos remerciements les plus respectueux s'adressent également à monsieur **Laloui K**, professeur au département des sciences de la nature Et de la vie. et un grand merci pour Mr **Zouaghi Yet** Mme **Boubekri N** D'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Enfin, nous adressons nos plus sincère remerciements à tous nos professeurs qui ont tout donné pour nous Encouragés et aidés aux moments difficiles au cours de nos études Je tiens à remercier le laboratoire du clinique D'Urologie Néphrologie et Transplantions Rénal -Dakssi- pour m'avoir fourni les moyennes matériel nécessaire à l'expérimentation, ayant permis la réalisation du présent travaillé.*

*Et j'exprime mes profondes remerciement à **M<sup>me</sup> Riachi S** pharmacienne chef du C.T.S et tous les travailleurs de l'laboratoire spécialement Halime. Merci à toutes et à tous.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère **Malika** et mon père **Hemida** et ma deuxième mère **sabah** et mon deuxième père **Ramdan***

*A ceux qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse dans mes études Pour leurs sacrifices et leurs soutiens tous au long mes études.*

*A mon très cher marié **Djamelm** 'a toujours ne cesse pas mon soutenir pour terminer mon travail.*

*Ainsi qu'à mes chères sœurs **Batoul, Lamis, Wisal, Nada, Aya, Biba, Anfel, Douha***

*A mes chers frères  
A mes tantes : **hanane, nassima, Sabrina, soussou***

*A ma nièce : **Loudjaine, Hanine, Rawane,**  
A mes amis : **Anfel, Nihed, Manel, Maissa, chaima**  
A tous les membres de ma famille, petite et grands*

*Et a tous mes collègues de la promotion de toxicologie*

# *Bouchra*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère **Hadjira** et mon père **Abd Elhak** pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long de mes études.*

*A mes sœurs :  
Malika, Mouna, Naima, Aicha, Samia*

*A mes chers frères  
Fayçal, Adel, Rachid, Ibrahim et Oussama*

*A mes nièces :  
Djamel, Nasro, Haythem, Islem, Younesse, Mustapha, Ndj mou,*

*A toute ma famille bechkri*

*A mes amies  
A tous mes amies de la promotion toxicologie*

*Chaima*

### **Liste des abréviations**

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

**IC50** : Concentration inhibitrice à 50%

**Rf** : Rapport frontal

**HE** : huiles essentielles

**TCK** : Temps céphaline Kaolin

**TP** : Temps de prothrombine

**TCA** : Acide Trichloracétique

**NaOAc** : Acétate de sodium

### **Liste des tableaux**

**Tableau 01** : Classification botanique de *Laurus nobilis* L

**Tableau 02** : Rapport frontal (Rf) des sucres témoins dans les deux systèmes de CCM

**Tableau 03** : Rapport frontal (Rf) des sucres après l'hydrolyse acide des polysaccharides dans les deux systèmes de CCM.

**Tableau 04** : les composants monosaccharidiques de l'extrait polysaccharidique

## Liste des figures

**Fig. 01 :** Structure du L'amylose

**Fig.02 :** Structure du glycogène

**Fig.03 :** Structure du l'acide hyaluronique

**Fig.04 :** Structure du l'héparine

**Fig.05 :**Structure du dextrane

**Fig.06:** Structure du xanthane

**Fig.07:** Structure de pullulane

**Fig.08:**Structure de fucoïdane

**Fig.09:** Aspect morphologique de *Laurus nobilis*

**Fig.10:** Aspect morphologique de *Laurus nobilis*

**Fig.11 :** Les voies de la coagulation

**Fig.12:** L'extraction à l'eau chaude

**Fig.13:** filtration du l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis*

**Fig.14:** Précipitation du filtrat des feuilles

**Fig.15:** Récupération du surnageant par centrifugation

**Fig.16:** L'extrait brut des polysaccharides

**Fig.17:** Protocol de préparation de l'extraction de polysaccharide par l'eau chaude

**Fig.18:** L'hydrolysate d'extrait polysaccharidique

**Fig.19:** Chromatogramme des hydrolysats d'échantillon de polysaccharide de *Laurus nobilis* (système 1 et système 2 /  $R_1$ ).

**Fig.20:** Chromatogramme des hydrolysats d'échantillon de polysaccharide de *Laurus nobilis* (système 1,  $R_1$ ).

**Fig.21:** Temps de prothrombine (TP) de l'extrait polysaccharidique et l'Héparine (Chaque valeur représente la moyenne de trois Essais $\pm$ SD).

**Fig.22:** Temps de prothrombine (TP) en fonction des concentrations d'extraits Polysaccharidique (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais $\pm$ SD).

**Fig.23:** Temps de céphaline Kaolin (TCK) de l'extrait polysaccharidique et l'Héparine (Chaque valeur représente la moyenne de trois Essais $\pm$ SD).

**Fig.24:** Temps de céphaline de Kaolin (TCK) en fonction des concentrations d'extraits Polysaccharidique (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais $\pm$ SD).

## Sommaire

Introduction .....	1-2
--------------------	-----

### *Partie bibliographie*

#### *Chapitre I : Les polysaccharides*

I. Généralités .....	3
II. Classification des polysaccharides selon l'origine .....	4
1. Polysaccharides végétaux .....	4
1.1. Polysaccharides de réserve .....	4
1.1.1. Amidon .....	4
1.1.2. Mannanes .....	5
1.1.3. L'amylose .....	5
1.2. Polysaccharides des structure .....	6
1.2.1. Cellulose .....	6
1.2.2. Xylane .....	6
1.2.3. Pectine .....	6
1.2.4. Hémicellulose .....	6
2. Polysaccharides animaux .....	7
2.1. Glycogène .....	7
2.2. L'acide hyaluronique .....	7
2.3. La chitine .....	8
2.4. Héparine .....	8
3. Polysaccharide des bactériens et fongique .....	9
3.1. Dextrane .....	9
3.2. Xanthane .....	9
3.3. Le pullulane .....	10
4. Polysaccharides d'algue .....	10
4.1. Le laminarane .....	10
4.2. Le fucoïdane .....	11
4.3. L'alginate .....	12
4.5. Les agars .....	12
4.5. Les carraghénanes .....	12

III. Les activités biologiques des polysaccharides.....	12
III.1. Activité antioxydant .....	13
III.2. Activité immunostimulantes.....	13
III.3. Activité antifongique et antimicrobienne .....	13
III.4. Activité anticancéreux.....	13
III.5. Activité anti-inflammatoire.....	13

### ***Chapitre II : Laurus nobilis***

I. Présentation du genre <i>Laurus nobilis</i> .....	14
II. Description de la plante <i>Laurus nobilis</i> .....	14
IV. Position systématique .....	16
V. Composition chimique.....	17
VI. Les utilisation et leur importance dans la médecine traditionnelle.....	18
VII. Propriété pharmacologie .....	19
VII.1. Activité antioxydant .....	19
VII.2. Activité antibactérienne.....	20
VII.3. Activité antifongique .....	20
VII.4. Effet inhibiteur d'enzyme .....	20

### ***Chapitre II : L'activité anticoagulante***

I. La coagulation.....	20
I.1. Les tests de coagulation.....	21
II. les troubles de coagulation.....	22
II.1. Les thromboses.....	22
III. L'effet anticoagulante des polysaccharides .....	22

### ***Partie expérimentale***

#### ***Matériel et méthode***

I. Matériel d'étude.....	24
I.1. Choix du plant <i>Laurus nobilis L.</i> .....	24
I.2. Récolte et préparation de matériel végétale.....	24
II. L'extraction du polysaccharide hydrosoluble .....	24
II.1 Concentration .....	25

II.2	
Précipitation.....	25
II.3. Calcule du rendement .....	28
III. Caractérisation des polysaccharides .....	28
III.1. L'hydrolyse acide d'extrait brut.....	28
III.1.1. Principe.....	28
III.1.2. Mode opératoire.....	28
III.2. Chromatographie sur couche mince.....	29
III.2.1 Principe.....	29
III.2.2. P réparation des phases mobiles.....	29
III.2.3. Préparation de la phase stationnaire.....	30
III.2.4. Préparation de révélateur.....	30
III.2.5. Préparation de la cuve chromatographique.....	30
III.2.6. Mode opératoire.....	30
III.2.7. Révélateur.....	31
IV. Activités anticoagulantes d'extrait brut polysaccharidique	
IV.1. Mesure du temps de prothrombine.....	32
IV. 2. Mesure du temps céphaline activée.....	32
IV.3. Le système statistique .....	32

### ***Résultat et discussion***

I. Caractéristique qualitative des polysaccharides par CCM.....	33
II. Activité anticoagulante d'extrait polysaccharidique .....	36
II.1. Test de temps de Quick (TQ).....	36
II.2. Test de céphaline kaolin (TCK).....	38
Conclusion.....	41

Références bibliographies

Annexes

Résumer

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**).

Les plantes médicinales constituent un groupe de plantes ayant une grande importance socio-économique car elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies, les composants actifs les plus importants sont les alcaloïdes, les glucosides, les huiles essentielles (**Seremeet *al.*, 2008**).

Parmi les composants actifs les polysaccharides qui sont des macromolécules importantes par leurs effets thérapeutiques remarquables dans différents types de maladies traitées par les herbes, utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde. Les polysaccharides végétaux ont des activités biologiques diverses, à savoir des activités antitumorales, antioxydantes, antivirales, anticoagulantes, anti-compléments, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses, et hypoglycémiantes (**Boualet *al.*, 2015**).

Les héparines sont des molécules mucopolysaccharidiques d'origine naturelle.)  
L'héparine présente une forte activité anticoagulante et donc a été largement utilisée pour l'anticoagulation chez les patients en hémodialyse, de nombreux essais cliniques ont soutenu le fait qu'elle présente des effets secondaires potentiellement sérieux, y compris l'hémorragie, la thrombocytopenie, et l'ostéoporose. En outre, parce que l'héparine est fabriquée à partir de muqueuses de mammifères, il y a un risque potentiel de contamination par les virus ou prions des animaux. (**Woo-Jung *et al.*, 2006 ; Tobelerm et Molho, 1985**).

Ce travail vise à étudier l'activité anticoagulante d'extrait brut de Plante aromatique, *Laurus nobilis* L., qui appartient à la famille des lauracées. Elles sont parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante. Les feuilles de *Laurus nobilis* L. sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecs et romain. Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**OuldYerou, 2016**).

Notre travail sera réparti en deux parties :

- une partie relative à l'étude bibliographique de plante, des polysaccharides et l'activité anticoagulante

- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : l'un

Présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et

L'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

# *Partie bibliographique*

*Chapitre I*  
*Les polysaccharides*

## I.Généralités

Les polysaccharides ainsi que les nucléotides et les protéines sont l'une des trois classes de bio polymères qui existe dans la nature ; et jouent de nombreux rôles critiques dans la biologie des systèmes vivants ; y compris la lubrification du support structural de stockage d'énergie (**Xiao et Grinstaff,2017**). Les polysaccharides sont des macromolécules, soit des polymères composés de quelques centaines à quelque millier de monosaccharides unis par des liaisons glycosidiques (**Faucheret Lachaine, 2012**).

La variété des polysaccharides est due à la nature des oses qui sont polymériser mais aussi à la leur assemblage dans la chaînes (type de liaison osidique, existence ou non de ramification) et au nombre total d'unités (**Garra,2014**).

La solubilité de polysaccharides est différente selon les origines. Certains polysaccharides sont insolubles dans l'eau (par exemple la cellulose et chitine) ou pas très soluble (par exemple l'amylose et le xylane), par conséquent, ces polysaccharides doivent être modifiés pour être dissous dans l'eau (**Xia, 2011**).

On subdivise les polysaccharides en homologue qui sont constitués d'un seul type de monosaccharides et hétéroglucanes où hétéropolysaccharides qui se composé de différents type de monosaccharides (**Hornet *al*, 2003**).

Les biosynthèses du polysaccharide se trouvent dans différents organismes allant aux eucaryotes, y les plantes, bactéries (**Pillab et Tushar, 2016**),et les polysaccharides provient de source renouvelable et abondantes telles que les végétaux (cellulose, amidon, alginate...), les animaux (chitine, acide hyaluronique...), les microorganismes (pullulane, dextrane...) (**Covis,2011**).

Les plus importants biopolymère polyosidiques qui permettent la mise en réserve d'énergie sont l'amidon chez les végétaux et le glycogène chez les animaux ou ils apparaissent, au sein de cellules sous forme de Granules (**Serg et Mehul, 2004**)

Les polysaccharides représentent de véritables auxiliaires indispensables au bon fonctionnement de la vie quotidienne, un intérêt grandissant concerne leurs applications comme activateurs biologique (**Michaudet *al.*, 2012**). Les polysaccharides ont été largement utilisé dans le domaine des produits chimique médicaux de médecine, papier, de pétroles et les polysaccharides alimentaires

sont principalement reflétés dans les maladies pharmaceutique biomatériaux et connexes (**Oxinet al., 2017**)

La caractérisation structurale des polysaccharides est une étape importante pour comprendre l'activité biologique. Plusieurs caractéristiques structurales telle que : le poids moléculaire, la charge, la conformation, la position des groupements sulfates ou la nature des liaisons glycosidiques sont particulièrement importantes (**Rioux, 2010**).

## **II. Classification des polysaccharides selon l'origine**

Les polysaccharides naturels provenant de différentes sources ont longtemps étudié et largement utiliser dans différent domaines (**Yang et Zhang, 2009**).

### **1. Polysaccharides végétaux**

Les herbes ont été utilisées pour traiter différents types de maladies (**Liu et al., 2015**). Les polysaccharides extraits des herbes médicinales ont récemment attiré une attention croissante de la recherche en raison de leur activité biologique.

#### **1.1. Polysaccharide de réserve**

##### **1.1.1. Amidon**

L'amidon existe chez les végétaux sous forme de granules d'amidon insoluble dans le cytoplasme. Chaque granule contient un mélange de deux formes de polysaccharides. (**Hames et al., 2006**), l'amidon contient deux types de polymères du D-glucose l'un linéaire à liaison  $\alpha$ -1-4 uniquement ou amylose (15 à 20%), l'autre à ramifications  $\alpha$ -1-6 en sus ou amylopectine (80-85%) (**Peycruet al., 2013**). L'amidon est sans doute le polysaccharide le plus connu en raison de sa représentativité (graines de céréales, tubercules...) et de son emploi (base de l'alimentation, utilisation industrielles etc....) (**Didjonet al., 2014**).

##### **1.1.2. Mannanes**

Les mannanes, fait de manose, se rencontrent dans la noix du palmier, ils servent à fabriquer l'ivoire végétal avec lequel on confections les boutons (**Jean, 2015**).

Les mannanes sont des polymères linéaires formé d'unité  $\beta$  (1, B). D-mannanes dont les chaînes s'associent entre elles de la même manière que les molécules de cellulose pour former des microfibrilles. (Kloareg et Quatrano, 1988).

Les mannanes que l'on trouve dans les végétaux ( $\beta$ -mannanes) et dans les parois des levures et des champignons ( $\alpha$ -mannanes) (Moussard, 2006).

### 1.1.3.L'amylose

L'amylose est un polysaccharide à chaînes linéaires, formé d'unités de D-glucose liée par des liaisons  $\alpha$ -1-4 glycosidique (comme dans le maltose). Possèdent une masse moléculaire qui varie de 150000 à 600000. Ces chaînes sont de longueur variable et peuvent s'associer par le jeu de liaison hydrogéné s'établissant ente les hydroxyles, formant ainsi des structures assez compactes (Moussard, 2006).

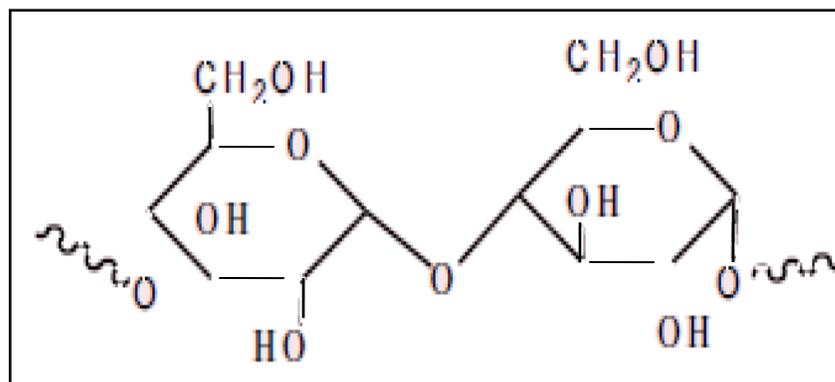


Figure1 : Structure du L'amylose (Hassani *et al.*, 2012).

## 1.2.Polysaccharide de structure

### 1.2.1.Cellulose

Les cellulosesont un polysaccharide extrêmement abondant dans la nature puisque composant majeur des parois des cellules végétales (Dijon *et al.*, 2014).

La cellulose c'est un polymère non ramifier constituer de résides de D-glucose unis exclusivement par des liaisons (B 1-4) (Serge et Mehul, 2004).

Dans les parois cellulaires végétales ; les fibres de cellulose sont encastrées (et donc se situent transversalement) dans matrice avec d'autres polysaccharides. Dans le bois, cette matrice contient aussi de la lignine, un polymère complexe de résidus phénolique (**Hameset al., 2006**)

### 1.2.2.Xylanes

Les polysaccharides de type xylan sont connus pour se produire dans plusieurs variétés structurelles les dans les plantes terrestres et algues et même dans différents tissus végétaux plante (**Anna et Thomas, 2000**).

Les xylanes se trouvent en grande quantité dans le bois, on trouve des liaisons ( $\beta$  (1-3) ou  $\alpha$  (1-4). le xylose bien qu'il soit un pentose, est souvent cyclisé sous forme pyrane . Une variété de xylanes s'organise en triple hélice (**Delaunay, 2015**).

### 1.2.3.Pectine

Les pectines de diverses origines comme celle extrait des épluchures de citron, des betteraves à sucre et de la pulpe de pêche ont été longuement étudiées. Ces composés sont constitués principalement d'une chaîne d'acide poly galacturonique (**Matddoub et al., 2011**). L'acide pectique contient de 250 à 1000 restes d'acide glucuronique, unis par des liaisons  $\beta$  (1-4). De loin en loin, on y trouve de l'acide méthylgalacturonique (**Delaunay, 2015**).

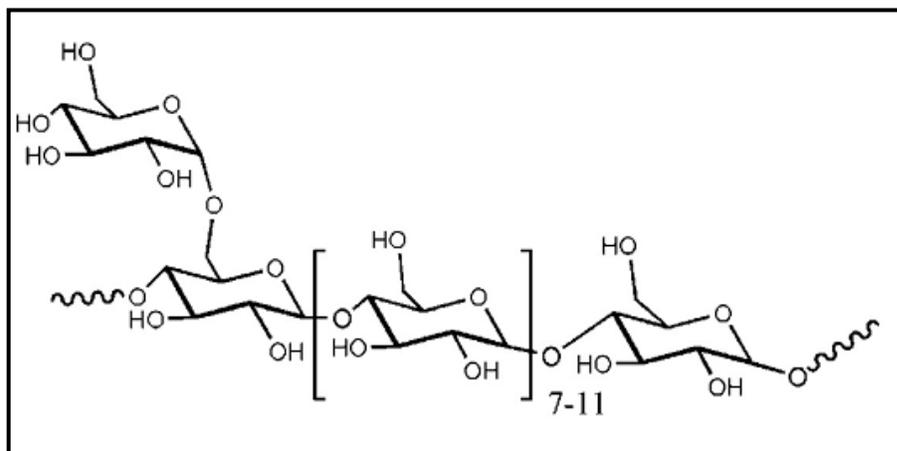
### 1.2.4.Hémicellulose

Sont des xylanes  $\alpha$  (1-4). Des arabanes (arabinose) cyclisés sous forme furane et unis par des liaisons  $\beta$  (1-5) le plus souvent, entrent dans la composition de gommages végétales. Substance visqueuse situant de l'écorce de nombreux arbres (**Delaunay, 2015**).

## 2.Polysaccharides animaux

### 2.1.Glycogènes

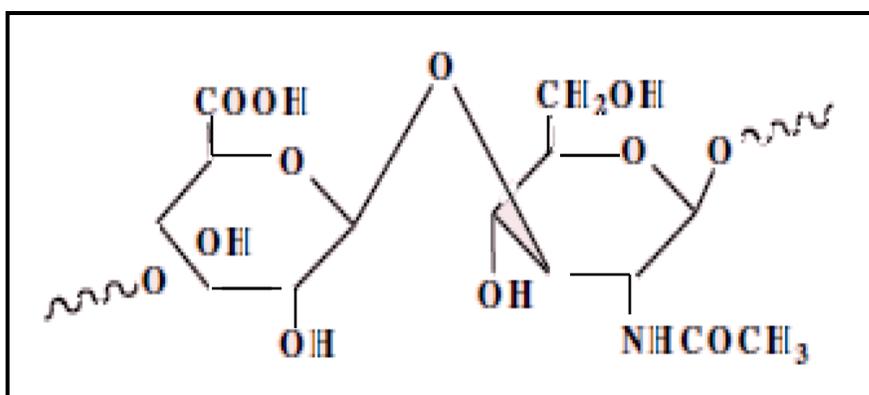
Les glycogènes et aux animaux ce qui l'amidon est aux végétaux. Il fut isolé du foie par C. Bernard en 1856 (**Delaunay, 2015**). Glycogène est entièrement composée d'unités de glucose, la plupart étant réunies en de longues chaînes par des liaisons  $\alpha$ (1-4). Cependant , tous les 10 unités ( ou approximativement) , la chaîne se ramifie par la formation d'une liaison  $\alpha$ (1-6) (**Hameset al., 2006**).



**Figure 2 :** Structure du glycogène (Pal *et al.* 2015)

### 2.2.L'acide hyaluronique

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane colossal, il comporte d'habitude plusieurs milliers de restes osidiques, donnant des molécules rectilignes, source de solution très visqueuses. Deux molécules peuvent sur une longueur limitée, s'origine en une double hélice avec quatre chaîons disaccharidiques par tour de spire (Delaunay, 2015).



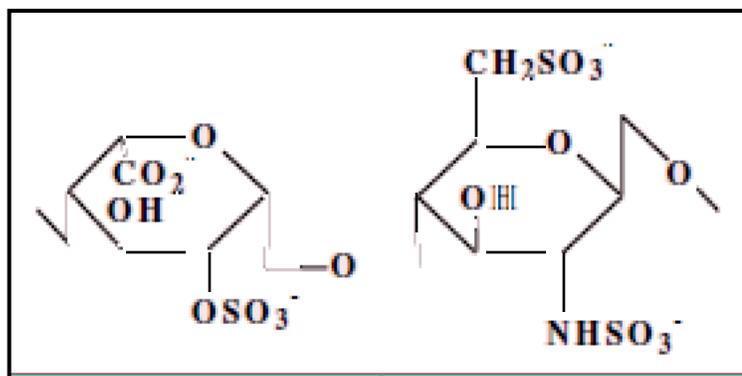
**Figure 3 :**Structure du l'acide hyaluronique (Hassani *et al.*, 2012)

### 2.3. La chitine

La chitine est un polymère de la N-acétylglucosamine dont les molécules sont unies en enchainement linéaire par des liaisons  $\beta$  (1-4), ces chaines s'associent entre elle en formant nombreuses liaison hydrogène qui donnent une très grande résistance mécanique à la cellulose. Associée à des sels minéraux et à des protéines, elle constitué l'exosquelette de arthropodes et des certains champignons parasites (**Christiane,2006**).

### 2.4. Héparine

Les héparines secrétées par les mastocytes sont anticoagulantes (**Jean,2015**), l'héparine contient (1-4) des résidus d'acide  $\alpha$ -L-idopyranosyluronique, 2-amino-2-résidus de désoxy- $\alpha$ -o-glycopyranoxyle et une faible proportion de 3-D-glucopyranole résidus d'acide uronique. Les résidus d'hexosamine et d'acide uronique sont liés alternativement pour former un polymère (**James et al., 1982**).



**Figure 4 :** Structure du l'héparine (**Hassani et al., 2012**)

## 3. Polysaccharide bactériens et fongique

### 3.1. Dextrane

Le dextrane est un polymère de glucose ou les résides de glucose sont généralement liée par des liaisons  $\alpha$  (1-6). Toutefois, quelque ramification interviennent également celle-ci sont typiquement

formées par des liaisons  $\alpha$  (1-2),  $\alpha$  (1-3) ou  $\alpha$ (1-4), selon que la source de dextrane provient de bactéries ou d'espèces de levures (Hames *et al.*, 2006). Les dextrans sont utilisés pour la chromatographie par filtration sur gel, et certains dextrans sont utilisés en thérapeutique comme succédanés du plasma sanguin (Christiane, 2006).

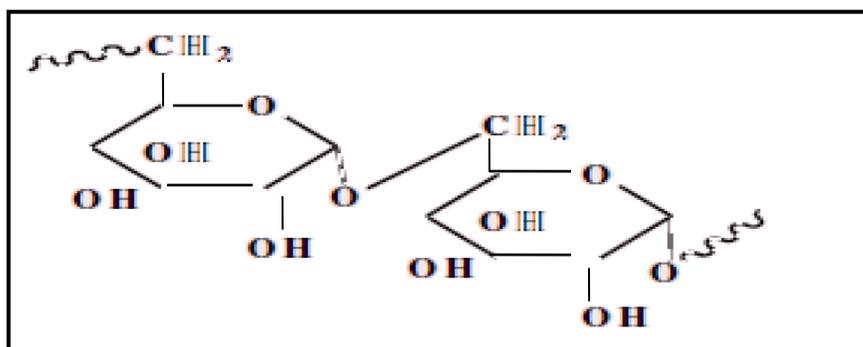


Figure 5 : Structure du dextrane (Hassani *et al.*, 2012)

### 3.2. Xanthane

Xanthane est une substance colloïdale. Il contient en particulier du glucose, du mannose et de l'acide glucuronique. On l'ajoute aux aliments comme stabilisant et épaississant (Jean, 2015).

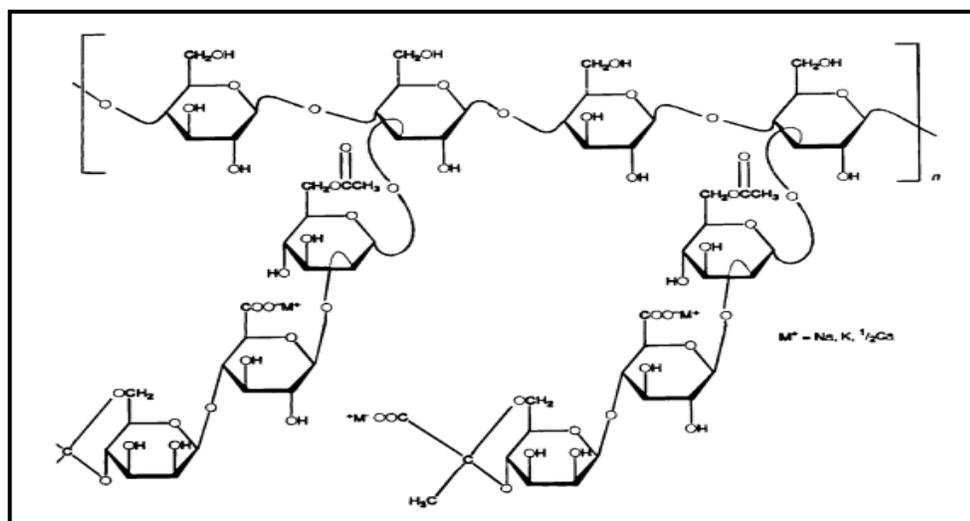


Figure 6 : Structure du Xanthane (García-Ochoa *et al.*, 2000).

### 3.3. Le pullulane

Le pullulane est un polysaccharide neutre hydrosoluble qui est produit à partir de l'amidon par le levure *Aurebasidium pullulane* (**Finculman et Vardanis, 1982**). Il est constitué d'unités maltotriose reliées par des liaisons chimiques  $\alpha$ -(1-6). L'unité maltotriose est constituée de trois unités glycopyranose en  $\alpha$  (1-4).

Le pullulane se dégrade approximativement à une température de 250°C sans montrer de température de transition vitreuse ni de température (**Rudy, 2011**).

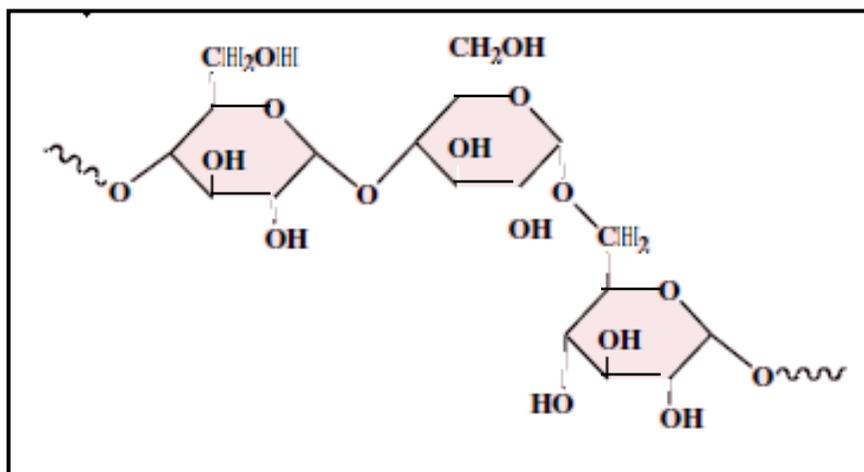


Figure 7 : Structure de pullulane (**Hassani *et al.*, 2012**)

## 4. Polysaccharides d'algues

Les polysaccharides extraits des algues marines sont très appréciés pour leurs propriétés gélifiantes et épaississantes et de plus en plus pour leur activité biologique multiples (**Rioux, 2010**).

### 4.1. Le laminarane

Le laminarane est la réserve des algues brunes et se retrouve dans le ou les plastides de chaque cellule. De faible poids moléculaire (500 Da environ).

Deux formes de laminaranes sont présentes : solubles et insoluble. La première se caractérise par une solubilité totale dans l'eau froide alors que la deuxième est soluble dans l'eau chaude. La structure et premiers laminarane varient en fonctions de l'espèce. Les premiers laminanes caractérisés étaient uniquement composés de (1-3) - $\beta$ -D-glucose. Plus tard, la présence de ramification intrachaine (1-6) - $\beta$ -D-glucosyle a aussi été démontrée (Rioux,2010).

#### 4.2. Le fucoïdane

Les fucoïdanes sont des polysaccharides structuraux présents dans la paroi cellulaire des algues. On les trouve aussi dans les concombres de mer dans les œufs d'oursins. Ces fucoïdanes sont généralement linéaire ils sont composés d'un tétrasaccharide répétitif dont les fucoses se distinguent par leur profil de sulfatation. Le fucoïdane est un homofucane composé majoritairement de L-fucose, mais ce terme est employé en littérature avec beaucoup de confusion (Rioux,2010).

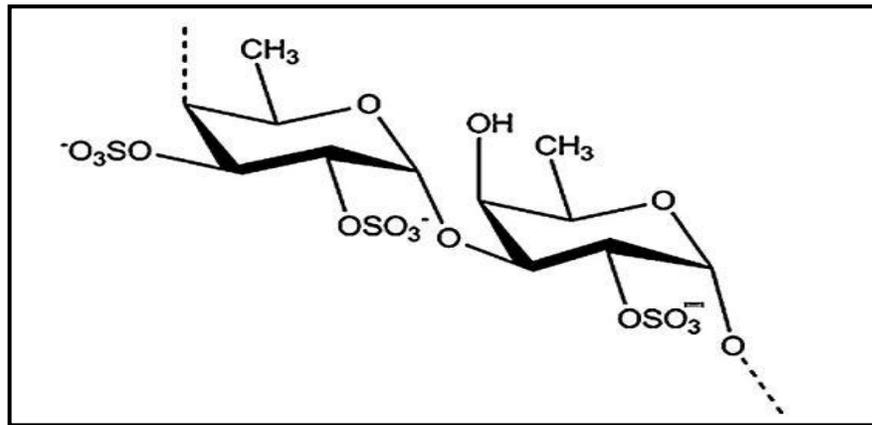


Figure 8 : Structure de fucoïdane(Wijesinghe et Jeon, 2012)

#### 4.3. L'alginate

L'alginate se retrouve dans la matrice intercellulaire de l'algue ou plus spécifiquement dans la paroi cellulaire. Il donne de la flexibilité aux thalles, provient la dessiccation et intervient dans les échanges d'ions. L'alginate est un sel dérivé de l'acide alginique. De structure linéaire, l'alginate se compose d'acide en  $\beta$  (1-4) (Rioux,2010).

#### 4.4. Les agars

Les agars sont extraits en milieu alcalin, à chaud (120°C environ), et proviennent principalement d'algues rouges de l'ordre de Glaciale, ou des Gigartinales. Leur structure est définie comme étant l'enchaînement d'un motif disaccharidique, l'agarabiose ou le néoagarobiose constitué d'une unité  $\beta$ -D-galactopyranose liée en (1-3), alternant avec une unité  $\alpha$ -L-3, 6-anhydrogalactopyranose liée en (1-4) (Sandrine, 2014).

#### 4.5. Les carraghénanes

La structure des carraghénanes est définie comme étant l'enchaînement d'un motif disaccharidique, le carrabiose ou néocarrabiose, constitué d'une unité  $\beta$ -D-3, 6-anhydrogalactopyranose liée en (1-4) (Sandrine, 2014).

### III. Les activités biologiques des polysaccharides

Les polysaccharides de diverses origines ont des activités biologiques variées telles que l'activité anticoagulante, antioxydante, immunomodulatrice, anticancéreuse et anti-inflammatoire.

#### III.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un polysaccharide hydrosoluble a été extraite à partir des organes de fructification de *Ganoderma atrum*. Les polysaccharides purifiés présentaient de fortes activités de piégeage des radicaux libres DPPH et des radicaux anions superoxyde. Alors que les polysaccharides purifiés pourraient potentiellement être utilisés comme antioxydants naturels. (Yichen *et al.*, 2007).

Une étude similaire a été réalisée par Jing Wang *et al.* (2008), où l'hétéropolysaccharide sulfaté qui est le fucoïdane a été extrait de *Laminaria japonica*, montre que le fucoïdane possédait une activité antioxydante considérable.

#### III.2. Activités immunostimulantes

Des polysaccharides isolés à partir des parois végétales des plantes médicinales africaines.

Principalement composée de polysaccharides comme la cellulose, les hémicelluloses ou de pectines.

Les pectines acides comme les homogalacturonanes (HG) ; rhamnogalactanes, isolés des plantes utilisées en médecine traditionnelle présentent des activités biologiques sur le système du complément et aussi sur les macrophages, lymphocytes-T et sur les cellules *Natural killer*. Donc ces polysaccharides présentent des activités biologiques sur le système immunitaire (Angone *et al.*, 2010).

### III.3. Activités antifongiques et antibactériennes

Une étude conduite sur des algues benthiques de méditerranée et sur les extraits d'une cinquantaine d'algues planctoniques en culture, nous a permis de mettre en évidence une activité antifongique significative chez quelques algues benthiques et quelques diatomées. *Chaetoceros lauderi* produit un polysaccharide ionique de haut poids moléculaire, responsable de l'activité antibactérienne et antifongique de cette diatomée (Danielle, 1985).

### III.4. Activités anticancéreux

On sait depuis de nombreuses années que certains composés produits par les champignons comestibles englobent des activités extra-énergétiques. Les polysaccharides bioactifs (intracellulaire et extracellulaire). Les études *in vitro* contre le cancer démontrent que ce type de polysaccharides évalue l'activité anticancéreuse contre la lignée cellulaire de cancer de l'œsophage humain. Alors que les polysaccharides de champignons ont montré une activité anti tumorale (Daba *et al.*, 2005).

### III.5. Activités anti-inflammatoire

Les cyanobactéries constituent un groupe important de microorganismes producteurs de molécules biologiquement actives qui présentent un intérêt thérapeutique. Ces tapis de cyanobactéries produisent un polysaccharide exo cellulaire. Un effet anti-inflammatoire important et dépendant des doses administrées a été observé suite à l'application locale de ce polysaccharide sur l'oreille de souris présentant un œdème provoqué par de l'huile de croton. L'application d'un hydrolysate partiel du polymère, composé uniquement d'oligosaccharides, a réduit l'œdème de façon similaire au polymère, indiquant que l'activité anti-inflammatoire est associée à la fraction polysaccharidique (Vincent *et al.*, 2008).

*Chapitre II*  
*Laurus nobilis*

## I. Présentation du genre *laurus*

Le laurier dans la Rome et la Grèce antique, c'est un symbole de gloire, aussi pour les solda, les athlètes que pour les savants ou les poètes dont on ornaît le front d'une couronne de rameaux. (Plese, 2010). *Laurus nobilis* L., communément appelé *louro-comum* (portugais), *loureiro-de-presunto* (portugais), *loureiro-de-apolos* (portugais), *sweet-bay* (anglais), *yuegui* (chinois) (Wermersonet al.2018), et d'autres Erend.

*Laurus nobilis* L. est le membre de la famille Lauraceae qui comprend 32 genres et environ 2000-2500 espèces. *Laurus* est également connu comme *sweet bay*, laurier, laurier grec, vraie baie et le laurier. Son habitat naturel est l'Himalaya tropical et subtropical à une altitude de 900 à 2500 mètres (Chahalet al ., 2017).

## II. Répartition géographique

La plante *Laurus nobilis* (famille *Lauraceae*) est largement cultivée dans de nombreuses régions du monde. *Laurier sauce* supporte le climat du bord de mer, il réclame un sol sableux, humifère, souple et bien drainé (Bernard, 2008). Etant originaire du sud, il préférera une exposition à la fois chaude et ensoleillée Originaire d'Asie Mineure, introduit un peu partout, il pousse spontanément dans le Bassin méditerranées jusqu'à une altitude d'environ 1200m. Il est planté isoler, parfois en haie, dans tout notre pays, particulièrement dans les régions à hiver doux comme l'Ouest.

## III. Description botanique de la plante *l'aurus nobilis*

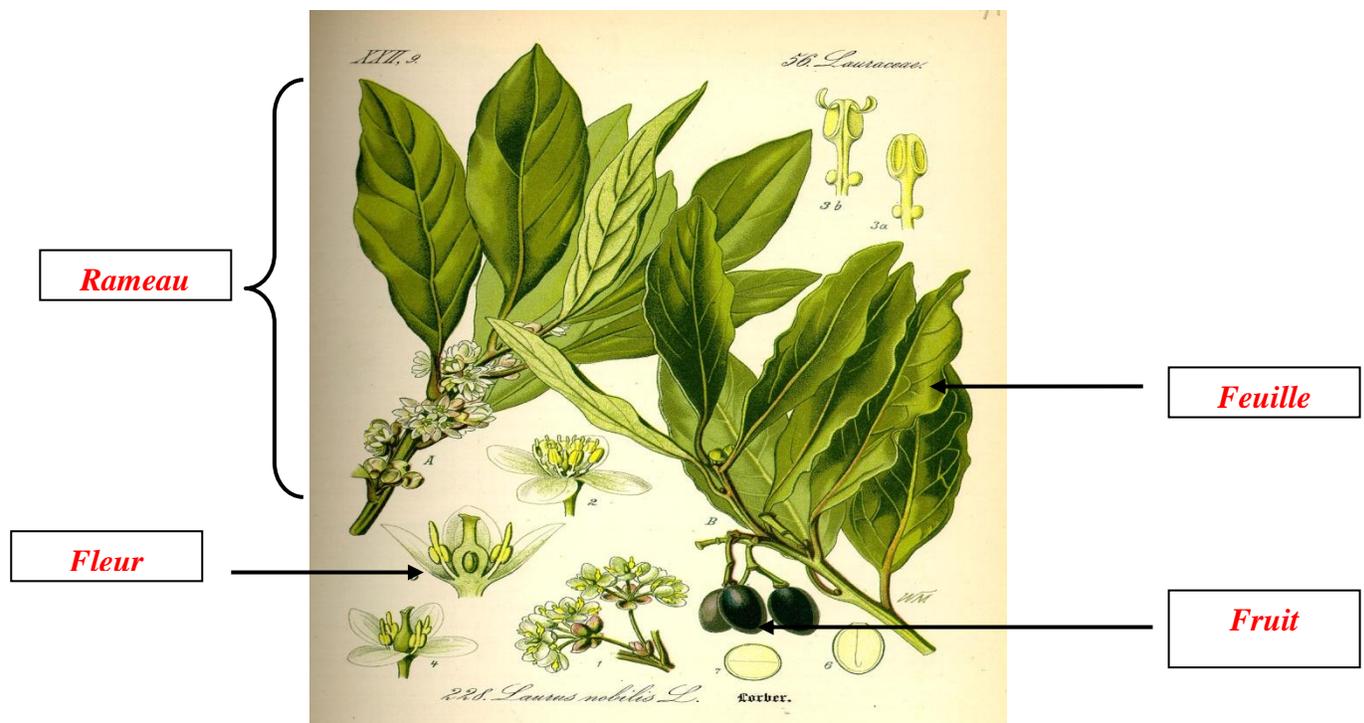
Le laurier est un arbuste ou arbrisseau à silhouette pyramidale, aux rameaux dressés et à feuillage dense. Écorce noirâtre et jeunes rameaux verts. (Polese, 2010), cette espèce forme un arbre de 12m de haut pour 9m d'étalement à l'état naturel, mais moins en culture. (Geoff et al., 2003).

*Laurus nobilis* L. ayant des feuilles alternes, étroitement oblongues-lancéolées persistantes, de 5 à 12 cm, alternes, simples et entières, lancéolées à bords ondulés, avec un court pétiole, coriaces, très aromatiques au froissement, vert foncé brillant dessus, plus pâles, mates et glabres dessous. Le fruit de Theripe est de 10-15 mm, ovoïde et noir à maturité. L'écorce lisse peut être vert olive ou rouge-bleu. La plante est à peine multi branchée, pousse généralement à une hauteur de 20-30 pieds dans de nombreuses régions chaudes du monde (Polese ,2010 ; Chahalet al ., 2017).

Les Fleurs dioïques, blanchâtres, odorantes, en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées ; périanthe pétaloïde, caduc, à 1 divisions obovales égales ; 8-12 étamines sur 2 rangs, à anthères 5 ouvrant de la base au sommet par des valvules ; 1 style court et épais, à stigmate subcapité ; ovaire libre, entouré de 2-4 staminodes tripartites (**Bernard, 2008**).

Elle fait voir, en fin de printemps et en début d'été, d'odorant petites fleurs en étoile jaune, suivie de petite baies ronde, de 1 à 1.5 cm, vertes qui virent au noir pourpré sombre à maturité, en automne (**Geoff et al ., 2003**).

Les baies, récoltées en octobre ou novembre, renferment une matière grasse appelée « beurre de laurier » qui trouve son emploi en usage externe. (**Polese ,2010**).



**Figure 9:** Aspect morphologique de *Laurus nobilis*  
(Beloued ,2005)

#### IV. Position systématique

La classification botanique de *Laurus nobilis* L. d'après (Ballbio.R et Goetz.P ,2010).

La classification botanique est relatée dans le Tableau.

Tableau : Classification botanique	
Règne	Plantae.
Sous règne	Tracheophyta =Tracheobionta.
Division	Mgnoliopsida.
Embranchement	Spermaphytes.
S/Emb	Angiospermes.
Classe	Magnoliopsida.
S /classe	D ialypétales.
Ordre	Laurales.
Famille	Lauracées.
Genre	Laurus.
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L.

**Tableau 1** : classification botanique de *Laurus nobilis* L.



**Figure 10** :Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued ,2005).

## V. Composition chimique

Les feuilles du *Laurus nobilis* renferment plusieurs substances actives dont les huiles essentielles. Cette dernière représente 1 à 3% du poids sec, elle contient 30 à 70% de 1-8 cinéol (eucalyptol), ainsi que plusieurs composés terpéniques : linalol (8 à 16%), sabinène, géraniol, eugénol 3%, pinène et terpinène (**Bruneton,1993**).

Les feuilles de *Laurus nobilis* L. contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol), sesquiterpènes lactones, alcaloïdes d'isoquinoline, (**Fiorini et al.,1998 ; Kivçak et Mert ,2002; Simic et al .,2003**), en plus ont montré la richesse de ses feuilles en vitamine E. (**Demo ,1998 ; Gomez et al .,2004**).

La composition chimique d'huile essentielle de feuille de laurier variée avec la partie de la plante à partir de laquelle il a été extrait comme la graine, la feuille et la fleur. Les composants présents dans l'huile essentielle de laurier ont été 1,8 cinéole, tricyclène, limonène,  $\gamma$ -terpinène, sabinène,  $\alpha$ -Pinène, Eugénol, Linalool, p-Cymène,  $\alpha$ -Phellandrène, Camphène,  $\beta$ -pinène, camphre, terpinène-4-ol,  $\alpha$ -terpinéol,  $\alpha$ -thujène, myrcène,  $\alpha$ -terpinène, terpinéolène, sabinol, Boréol,  $\gamma$ -Cadinène,  $\beta$ -Elemene, Germacrane A, Germacrane D-4-ol, a-humulène. (**Chahal et al.,2017**)

Plusieurs travaux de recherche, ont étudié l'influence de procédé de séchage sur le rendement, la composition chimique des huiles essentielles et la couleur des feuilles de Laurier noble, (**Ouafi et al ., 2017**).

## VI. Leur utilisation et leur importance dans la médecine traditionnelle

Les plantes médicinales connaissent actuellement un regain d'intérêt aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement. Elles sont utilisées en médecine traditionnelle et dans l'industrie pharmaceutique et sont de plus en plus demandées pour isoler des composés actifs, substituer des médicaments synthétiques ou rechercher des nouvelles drogues (**Maatallah et al ,2015**)

Le laurier sauce possède de propriété aromatique, apéritives et stimulante et sert de remède antirhumatismal, antiseptique et antalgique léger. On en utilise aussi les feuilles en cuisine, pour

parfumer par exemple les plats de viande nourrissant, les soupes et les sauces, et pour aromatiser le vinaigre. ( Hns , 2007).

Les feuilles de *L. nobilis* L. sont traditionnellement utilisées par voie orale pour traiter les symptômes de problèmes gastro-intestinaux, tels qu'épigastrique ballonnements, troubles digestifs (stimule la sécrétion de sucs gastriques dans l'estmac, assure une bonne digestion et évite les fermentations), éructations et flatulences(Kivcak et Mert ,2002 ).

## VII.Propriété pharmacologique

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales (*Laurus nobilis*), en particulier leurs pouvoirs antifongiques, antibactériens, antioxydants et insecticides.

### VII.1.Activité antioxydant

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

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

### VII.2. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles de laurier noble possèdent une notable activité antiinfectieuse. Celle.ci peut être considérée comme modérée en comparaison a d'autre HE, mais néanmoins intéressant en thérapeutique. Par ailleurs de nombreux travaux confirment son activité antimicrobienne à large

spectre in vitro de par sa forte concentration en 1,8-cinéol associer notamment à de l'eugénol ou son méthyl. Etude de(Dadalioglu et Evernddilek, 2004) a montré une efficacité d'HE sur *Salmonella typhimurium* , *Staphylococcus aureus* et *E.coli* . L'HE a un capacité d'inhiber les souches buccales de *S.aureus* avec une importante activité anti-biofilm (Elsevier, 2017).

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

### VII.3. Activité antifongique

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

### VII.4. Effet inhibiteur d'enzyme

**Ferreira et al(2006)** ont été étudié l'effet de l'huile essentielle, l'extrait d'éthanol et la décoction des feuilles du *Laurus nobilis* sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine donnant la choline et l'acétyle. La fraction d'éthanol a montré une valeur élevée d'inhibition.

d'AChE de 64% (1g/ml), donc la plante *Laurus nobilis* peut aider à traité ou soulager des patients souffrant de la maladie d'Alzheimer, puisque les drogues approuvées pour la thérapie de cette maladie agissent en contrecarrant le déficit d'acétylcholine.

### VII.5.Effet rééquilibrage de la glycémie

Les feuilles du *Laurus nobilis*, ont été rapporté d'avoir un effet antidiabétique et de renforcer en glutathion S-transférase hépatique (TPS). L'administration de 200 et 600mg/kg de doses de l'extrait éthanolique des feuilles de *laurus nobilis* produit une diminution significative de la glycémie.

Une autre étude prouve que l'HE de *laurus nobilis* a une capacité d'inhiber l' $\alpha$ -glycosidase intestinale (à plus de 90% à la concentration, de 7.5 /ml, par inhibition compétitive) peut être mise à profit pour réguler la glycémie (**Khanet al .,2009**) .

*Chapitre III*  
*L'activité*  
*anticoagulante*

## I. La coagulation

La coagulation est un processus complexe au cours duquel le sang liquide forme un caillot gélatineux. La coagulation peut suivre deux voies (**Silverthorn et al., 2007**)

**Voie endogène** : Dans cette voie de coagulation tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. Cette voie est déclenchée par l'activation du facteur XII (Hageman) lors de ce contact aux structures électro-négatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycane), une activation qui conduit par la suite à l'activation de pré-kallikréine en kalikréine qui à son tour peut activer le F XII. Le F XII activé catalyse la transformation de la forme zymogène du facteur XI à la forme protéolytique activée qui active par la suite le facteur IX. Ce dernier se lie à la surface des phospholipides anioniques des plaquettes (F3P) par l'intermédiaire des ions de calcium et forme en présence de son cofacteur, le facteur VIII le complexe tenase qui est responsable de l'activation du facteur X (**Colvin, 2004 ; Vogler et Siedlecki, 2009**).

**Voie exogène** : Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sous-endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (pro-convertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquent de prothrombine en thrombine (**Colvin, 2004**). La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène en monomères de fibrine qui s'associent les uns aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIIIa (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine (**Ajjan et Grant, 2006**).

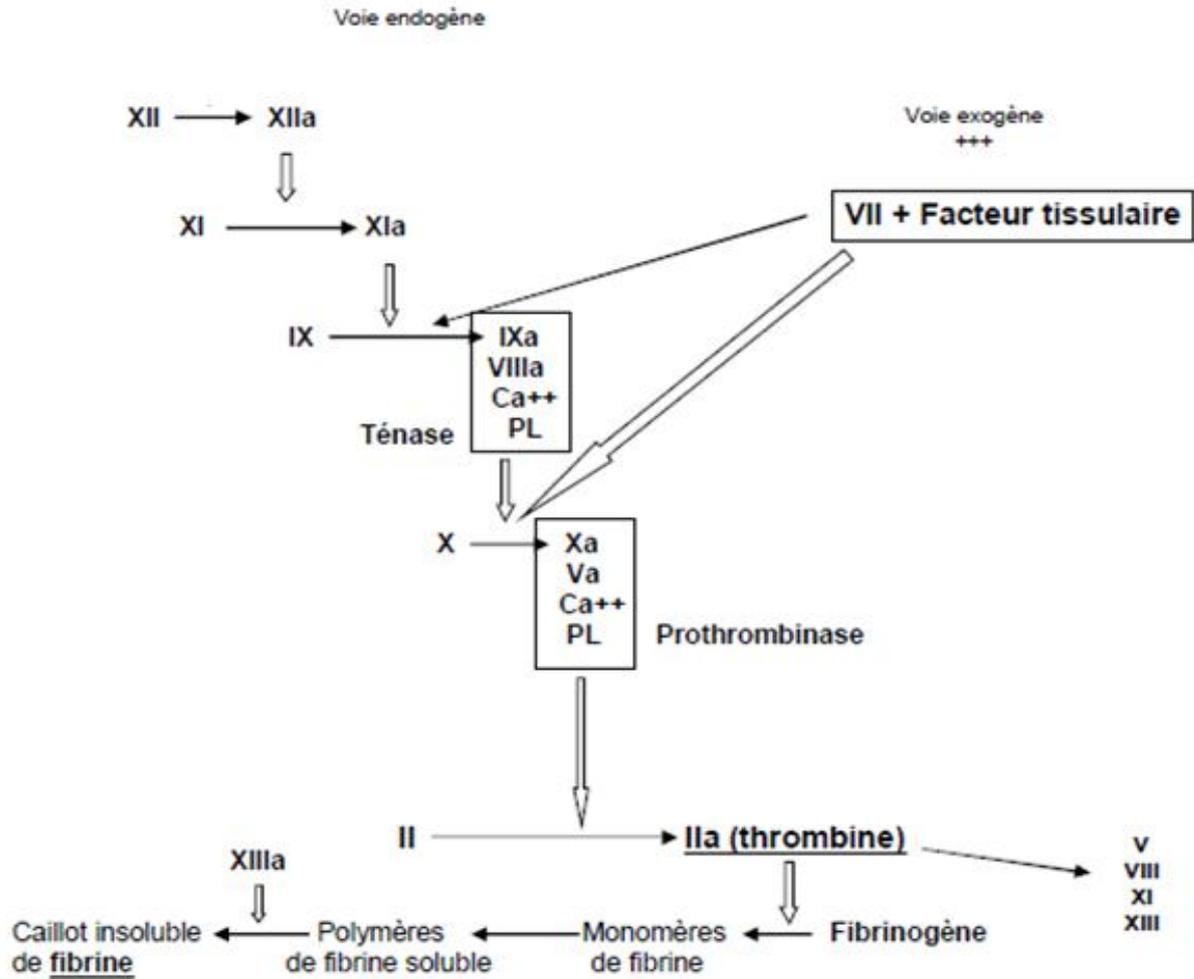


Figure 11 : Les voies de la coagulation (Vogler et Siedlecki, 2009)

### I.1 Les testes de coagulation

à l'aide de quelques tests de coagulation simples d'identifier les diathèses hémorragique plasmatique Dans le cas du test de Quick diminué signifie que le F VII (système exogène) ou la cascade en aval du F X sont altérés ou encore perturbés par des antagonistes de la vitamine K. et le temps de thromboplastine partielle activé (APTT), on ajoute au plasma citrate (en plus du calcium) des céphalines et de du kaolin (substitut d'une activation de contact), et l'on mesure le temps de coagulation correspondant. S'il est allongé, la déficience est liée à l'activation endogène ou de nouveau à la partie terminale commune à partir du FX (Silbernagl et Lang., 2003).

## II. Les troubles de la coagulation

La thrombose se produit dans le monde entier à une incidence annuelle de 1 par 1000 adultes. Le traitement de la thrombose utilise des agents thrombotiques à activités anticoagulantes et antiplaquettaires (SOUZA *et al.*, 2015).

### II.1 Les thromboses

Une thrombose est un caillot de sang (ou thrombus) qui se forme dans une artère ou une veine, de ce fait, on distingue deux types des thromboses : thromboses artérielles et thromboses veineuses, deux entités distinctes différentes entre elles dans les facteurs de risque, les mécanismes physiopathologiques et les manifestations cliniques (Bautres, 2002 ; Corti *et al.*, 2004).

## III. L'effet anticoagulant des polysaccharides

Le sang s'écoule dans l'appareil circulatoire qui est normalement un circuit fermé. Toutefois, en cas de défaut d'étanchéité, du sang sera perdu si les mesures nécessaires n'entrent pas en action rapidement. Le défi pour l'organisme est de colmater la brèche sans interrompre l'écoulement du sang dans le vaisseau lésé, ce qui entraînerait la souffrance par manque d'oxygène et de nutriments des cellules situés en aval. (Selverthorn *et al.*, 2007).

Parmi les organismes marins, les algues sont très sources attractives en raison de leur énorme biodiversité, haute nutritionnelle valeurs, ainsi que le large spectre des activités biologiques leurs extraits. Il a été rapporté que les Fucoïdiens, Laminaran et Mannuronan isolés de D. polyplœidies exercent une activité anticoagulante significative. (Sebaaly *et al.*, 2014).

Les différentes héparines contiennent toutes un mélange de chaînes polysaccharidiques de longueur variable, même lorsqu'elles ont été préalablement fractionnées. Ces chaînes polysaccharidiques sont constituées d'un enchaînement répétitif de glucosamine, d'acide glucuronique et d'acide iduronique. Les sucres portent des groupes sulfates et acétyles, qui confèrent aux héparines leur charge négative (ce sont des polyélectrolytes anioniques). Les groupes sulfates sont importants pour l'activité anticoagulante (Molho, 1982).

Les carboxyméthyl dextrane benzylamide sulfonates (cmdbs), polysaccharides synthétiques également pourvus d'une activité anticoagulante sont préparés à partir de dextrane par

substitution statistique de fonctions hydroxyles par des fonctions chimiques carboxyméthyles, benzylamides, sulfonates et sulfates. L'activité anticoagulante des cmdbs dépend de leur composition chimique, notamment du taux de groupements sulfates, et de leur masse molaire. Ces composés catalysent préférentiellement la réaction d'inhibition de la thrombine par le second cofacteur de l'héparine, mais aussi par l'antithrombine.

L'activité antithrombotique du fucane a été mise en évidence dans un modèle de thrombose veineuse de type Wessler chez le lapin. Une dose vingt fois plus importante de fucane que d'héparine est nécessaire pour obtenir le même effet antithrombotique, mais l'effet du fucane est plus prolongé Mauray (Mauray ,2018)

# *Partie expérimental*

# *Matériel et méthode*

## I. Matérielset méthode

### I.1. Choix du plant *laurus nobilis*

Le choix se fit en fonction de leur importance majeure en médecine traditionnel et dans l'usage quotidien dans la cuisine Algérien d'une part, et le manque de travaux de recherche sur ces propriétés biologiques en particulier le pouvoir anticoagulant de leur polysaccharide d'autre part.

### I.2. Récolte et préparation du matériel végétal

Les feuilles du *Laurus nobilisa* été récoltée durant la saison d'été dans la région du Milia (Djidjel), sécher à l'air libre à température ambiante pendant 3jours, après le nettoyage des feuilles on les abroyés avec un mixeur enfin on a tamisé la poudre pour avoir des particules fines.

### I. L'extraction du polysaccharide hydrosoluble

L'extraction des polysaccharides selon la méthode de **Renji et al (2012)**. Chaque 1 g du broyat sec de feuille de *Laurus nobilis* tremper dans 10 ml d'eau distillé, on lesmit dans le bain marie à 100c° pendant 3h après l'ébullition avec agitation. On laisse le dans le réfrigérateur 4C° pendant une nuit.



**Figure 12** :L'extraction à l'eau chaude

Nous avons filtre le mélange pour obtenir le filtrat



**Figure 13 :** filtration du l'extract aqueux des feuilles de *laurus nobilis*

### II.1. Concentration

Le surnageant a été évaporé au bain marie à 100 °C pour réduire le volume, ensuite laisser refroidir.

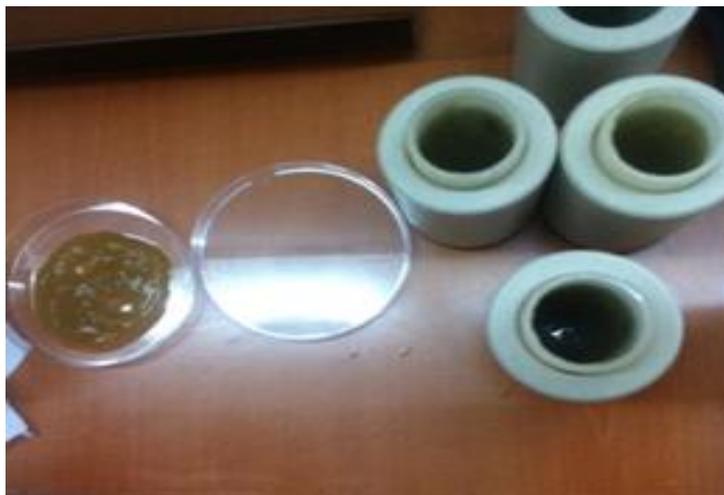
### II.2. Précipitation

Pour précipiter les polysaccharides, on a utilisé l'éthanol (96°), nous avons ajouté  $\frac{1}{4}$  V d'éthanol à l'échantillon, ensuite centrifuger l'extract à 5000 rpm / 15min et on récupéré le culot.



**Figure 14 :** Précipitation du filtrat des feuilles

Les substances solubles liées aux polysaccharides extraits ont été enlevées par TCA (15-20%) suivi de l'acétate de sodium NaOAc (2%).

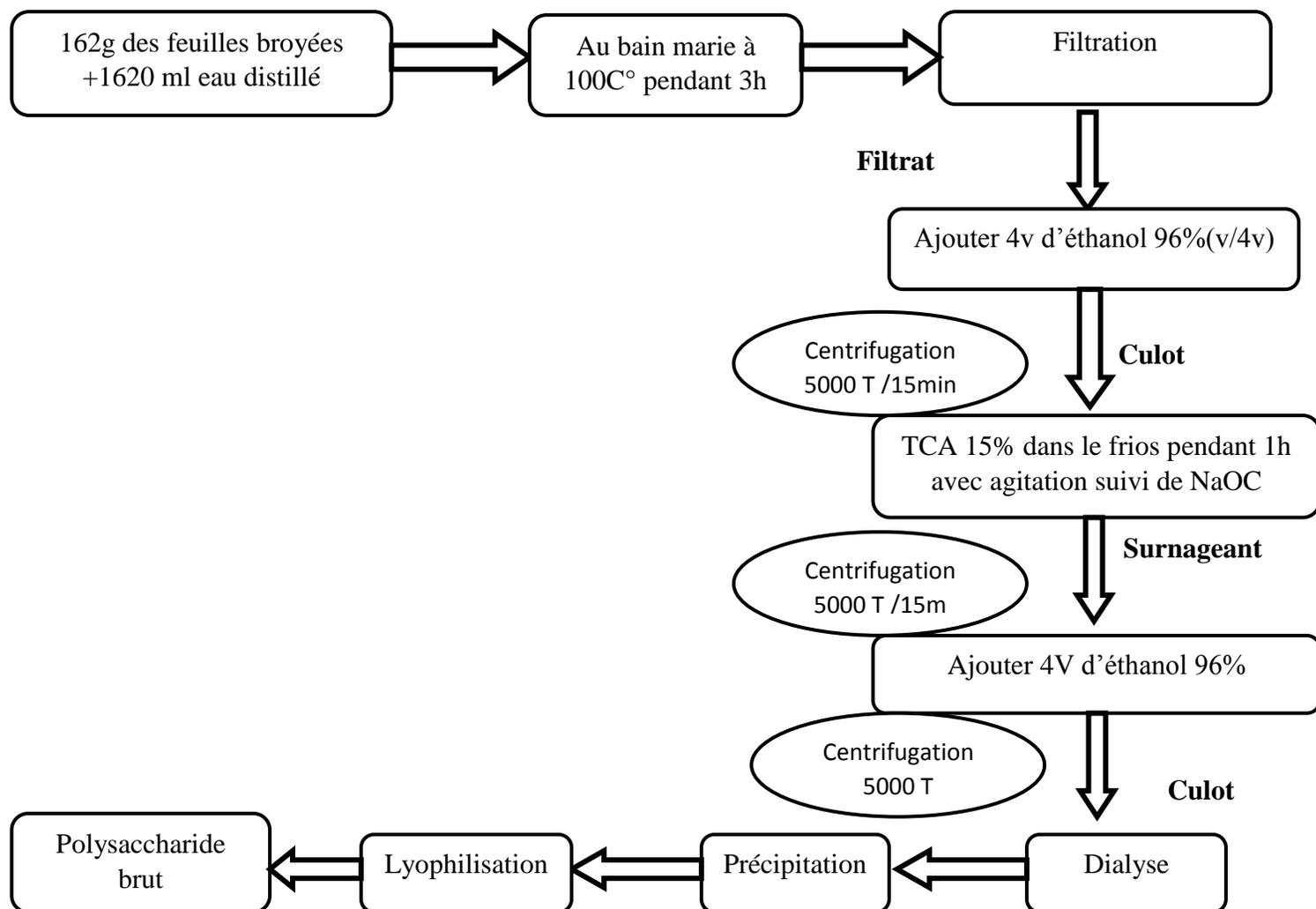


**Figure 15 :** Récupération du surnageant par centrifugation

La dernière étape est le dialyse (les pores moins de 14Kda) pendant 48h suivie par précipitation avec l'éthanol suivie par lyophilisation.



**Figure 16 :** L'extrait brut des polysaccharides



**Figure 17 :** Protocole de préparation de l'extraction de polysaccharide par l'eau chaude.

### II.3. Calcul du rendement

Les rendements de l'extraction des polysaccharides bruts sont calculés selon (Li et al ; 2015) on utilisant la formule suivante :

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

### III. Caractérisation des polysaccharides

La détermination de la composition monosaccharidique de l'extrait polysaccharidique brut se fait par une hydrolyse acide suivie par chromatographie sur couche mince (**Delattre ,2005**).

#### III.1. L'hydrolyse acide des extraits bruts

C'est une hydrolyse totale effectuée par HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour la caractérisation des résidus glycosuriques, une déstructuration importante des polymères s'avère nécessaire, sans toutefois en altérer irréversiblement la structure des oses constitutifs.

##### III.1.1. Principe

L'hydrolyse consiste à couper les liaisons osidiques, a pour but de dépolymériser les polysaccharides à analyser par un acide. Des acides minéraux forts peuvent être employés à chaud tels que l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), l'acide trifluoroacétique (TFA), l'acide formique ou encore l'acide nitrique (**Delattre, 2005**).

##### III.1.2. Mode opératoire

Chacun des extraits polysaccharidiques obtenu (100 mg) a été hydrolysé dans un tube de verre scellé avec 3ml d'une solution d'HCl (2M) pendant 4h à 100°C. Après l'ajout d'un 9ml d'une solution du KOH (0.5M) après on ajuste PH du l'hydrolysats à l'aide d'un PH-mètre jusqu'à arriver à un milieu basique.

Dans le cas du, 100 mg du polysaccharide hydrolysé dans un tube de verre avec 4ml du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



**Figure 18** : L'hydrolysats d'extrait polysaccharidique

## III.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse qualitative et quantitative utilisée dans la présente étude pour l'identification des différents oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles

### III.2.1. Principe

La chromatographie sur couche mince est une application particulière de la Chromatographie en général. Elle est basée sur le fait que les constituants d'un mélange peuvent avoir des affinités différentes pour un adsorbant donné (**Morot-Sir, 1991**). Pour identifier un produit, le chromatogramme obtenu avec la solution du produit à examiner est comparé avec celui obtenu avec la solution étalon du même produit. Il est supposé qu'il s'agit de la même substance il y a un même tracé dans les deux cas, le calcul de Rf qui correspond au rapport de la distance parcourue par la substance sur la distance parcourue par la phase mobile (front de migration), permet d'identifier les composés qui ont été séparés, la mesure s'effectuant à partir du point de dépôt (**Ballereau et al., 1993 ; Galy et Fraysse, 2012**)

### III.2.2. Préparation des phases mobiles

Trois phases mobiles sont utilisées pour la séparation :

Système 1 : Mélanger 20% d'acide acétique glacial, 20% d'eau et 60% du butanol.

Système 2 : MeCOEt (butanon)- isopropanol- l'acétone Me<sub>2</sub>CO- H<sub>2</sub>O (20 :10 :7 :6).

### III.2.3. Préparation de la phase stationnaire

La phase stationnaire présente des plaques en gel de silice qui sont activées avant l'utilisation dans l'étuve à 100 C °pendant 30mn.

### III.2.4. Préparation de révélateur

Le révélateur est composé de deux solutions A et B :

R<sub>1</sub> :

Solution A : Aniline 2N dans le butanol saturé en eau (1V)

Solution B : Acide ortho phosphorique 2N dans le butanol (2V)

On mélange les deux solutions et on obtient un solide et un liquide qu'on doit les séparer par filtration à l'aide d'un papier filtre.

R<sub>2</sub> :

Solution A : 4g de déphnylamine dans 100 ml d'acétone

Solution B : 96 ml d'acétone complété jusqu'à 100 ml par l'aniline

Après mélangé les deux solutions A et B et on a ajouté 20 ml d'acide orthophosphorique (85%).

### III.2.5. Préparation de la cuve chromatographique

La phase mobile est versée dans la cuve à une hauteur de 0,5 cm d'environ. La cuve est laissée fermée hermétiquement pendant 24h pour assurer une saturation maximale en vapeur de la phase mobile. Cette saturation a pour but de limiter l'évaporation de la phase mobile depuis la cuve chromatographique.

### III.2.6. Mode opératoire

1 feuille en aluminium du gel de silice par la matrice dans l'étuve à 100C° pendant 30 min.

A l'aide d'un crayon, on trace un trait de 1.5 cm au bord inférieur sur la plaque de gel de silice.

Puis on place les dépôt (à distances égales).

A l'aide d'une micro pipette, on dépose sur les dépôts tracés précédemment 3 fois, une goutte de chaque solution de sucre afin que chaque dépôt soit suffisamment concentré. Sécher en utilisant une plaque chauffante. Mettre la plaque dans la cuve (les dépôts doivent être au-dessus du solvant).

Fermer la cuve avec le couvercle et laisser migrer jusqu'à ce que le front du solvant est environ 1cm du haut de la plaque.

### III.2.7. Révélation

Sortir la plaque de la cuve. On sécher la plaque en utilisant l'étuve à 70C° jusqu'à la disparition complète de l'odeur d'acide acétique, après plonger la plaque dans le révélateur à l'aide d'une pince en recouvrant le gel de silice pendant 10 secondes environ, sécher la plaque après révélation dans l'étuve.

#### IV. Activités anticoagulantes des extraits bruts polysaccharidiques

L'activité anticoagulant des extraits polysaccharidiques hydrosoluble a été évaluée in vitro par des tests de coagulation qui sont le temps de prothrombine (TP), le temps de céphaline activée (TCA) à l'aide d'un coagulomètre sur un pool de plasma.

Le sang est prélevé à partir de volontaires sains (Xi *et al.*, 2012). Le sang périphérique humain est obtenu par une ponction veineuse aseptique réalisée (Koko *et al.*, 2008). Les différents prélèvements sont effectués dans des tubes citratés (citrate tris-sodique 3.8%) pour l'évaluation de l'activité anticoagulante et centrifugé pour obtenir un plasma pauvre en plaquet.

Le temps de céphaline activée (TCA) est un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs VIII, IX, XI et XII de la voie intrinsèque. Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP) en présence de céphaline (substitut phospholipidique du facteur 3 plaquettaire), de kaolin (activateur du système contact et de calcium comme agent de recalcification (facteur déclenchant) (Croizat *et al.*, 1968).

Le temps de prothrombine (TP) ou le temps de Quick qui permet d'explorer l'activité des facteurs V, VII et X, II de la voie extrinsèque

Ces tests consistent à mesurer le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP). La technique originale a été décrite par Quick en 1935. Son principe consiste à mesurer le temps de coagulation du plasma citraté en présence d'un excès de thromboplastine calcique (Croizat *et al.*, 1968).

Pour cela, nous avons préparé une solution mère de polysaccharide hydrosoluble de 100 mg/ml, puis préparés des solutions de la différente concentration à partir de la solution mère (5mg, 10mg/ml, 30mg/ml, 60mg/ml) (Yoon *et al.*, 2002).

##### IV.1. Mesure du temps de prothrombine (TP)

Pour la détermination APTT, à 100µl de plasma humain normal citraté qui est mélangé avec 50µl de polysaccharides à différentes concentrations (10, 30, 60, 100 mg/ml) et incubé à 37°C pendant 15 min, 200µl est additionné au mélange qui est réincubé durant 2 min sous agitation à 37°C. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre (Yoon *et al.*, 2012).

#### IV.2. Mesure du temps céphaline activée (TCA)

A 100µl de plasma qui est mélangé avec 50µl de polysaccharides à différent concentration (10, 30, 60, 100 mg/ml) et incubé à 37C° pendant 15 min et on ajoute 100µl de réactif de TCA. Le mélange est incubé 3 min à 37C°. Après l'ajoute de 100µl de CaCl<sub>2</sub> (0.025mol/l), le temps de céphaline (caolin) activée est enregistré. En parallèle, un control positif de l'héparine est réalisé dans les mêmes conditions (**Andersson *et al.*, 1976**).

#### V. Lesystème statistique

Le logiciel SPSS Version 20 est utilisé pour les différent analyse statistique. Afin d'affirmer la signification des différents existants entre les donnes, le test paramétrique ANOVA suivi par le test de Tukey sont impliqué pour les donnes.

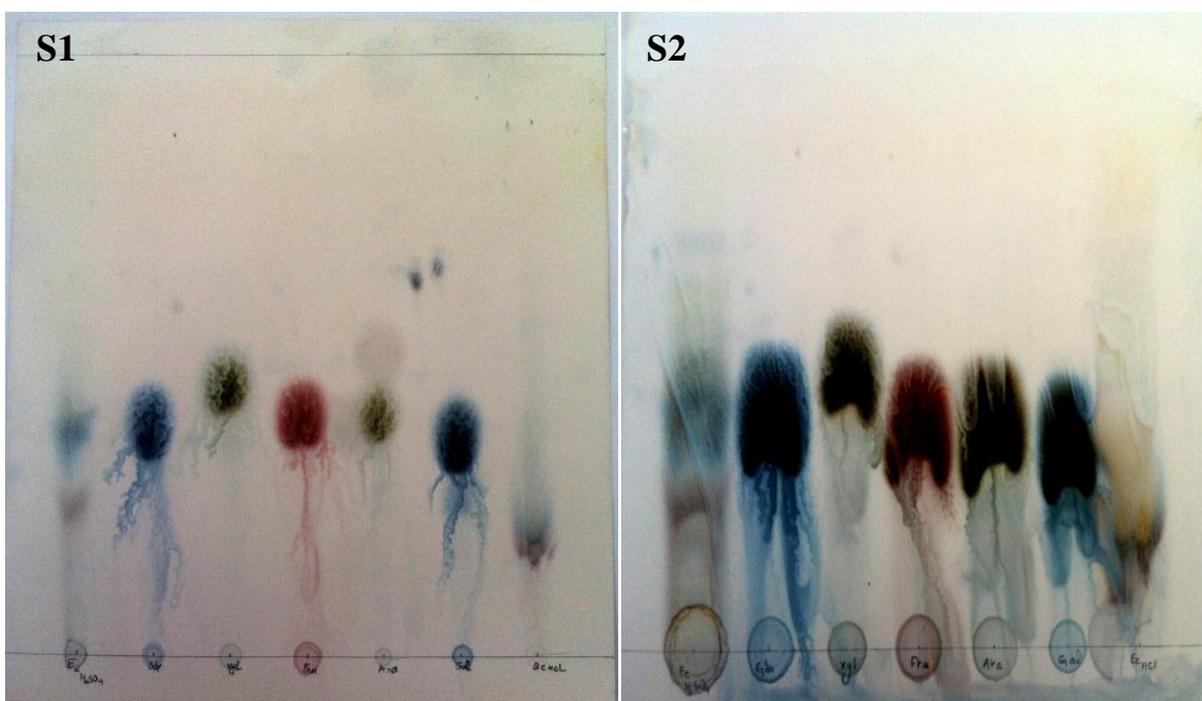
# *Résultat et discussion*

L'extraction des polysaccharides à partir du broyat de la feuille séchée du *Laurus nobilis* a permis d'obtenir d'extraits estimés à 2%.

### I. Caractérisation qualitative des polysaccharides par CCM

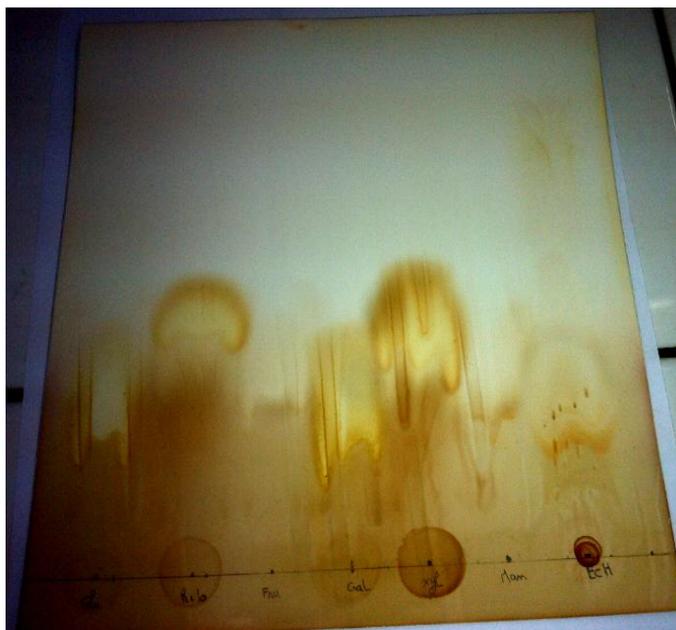
L'hydrolyse de l'extraction des polysaccharides des feuilles de *Laurus nobilis* a permis d'obtenir d'extraits de couleur marron foncé respectivement.

L'hydrolyse acide d'extraits polysaccharidiques par HCL ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> permet d'observer des taches ayant des différents Rf et différentes couleurs. On a observé l'apparition de trois taches pour l'échantillon de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Figure :19, 20).



**Figure 19** :Chromatogramme des hydrolysats d'échantillon de polysaccharide de *Laurus nobilis* (système 1 et système 2 / le même révélateur R<sub>1</sub>).

On remarque que l'hydrolyse par HCl est partielle à l'hydrolyse par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, grâce à cette raison les résultats sont nets dans l'échantillon hydrolysé par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour le révélateur.



**Figure 20 :** Chromatogramme des hydrolysats d'échantillon de polysaccharide de *Laurus nobilis* (système 1,  $R_f$ ).

L'analyse qualitative d'extraits polysaccharidiques de *laurus nobilis.L* par lachromatographie sur couche mince a été rapporté dans les deux tableaux 2 et 3.

Type d'ose	Système 1				Système 2	
	R2	Couleur de tache	R1	Couleur de tache	R2	Couleur de tache
Arabinose	0,37	Vert	/		0,26	Vert foncé
Galactose	0,32	Bleu	0,33	Jaune	0,29	Bleu
Glucose	0,35	Bleu	0,30	Jaune	0,30	Bleu
Fructose	0,36	Rose	0,33	Orangé	0,42	Rose
Xylose	0,42	Vert	0,33	Jaune	0,40	Vert
Ribose	/		0,41	Marron		

**Tableau 2 :** Rapport frontal ( $R_f$ ) des sucre témoins dans les deux systèmes de CCM

Type d'ose	Système 1	Couleur de tache	Système 2	Couleur de tache
Echantillon(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) (R2)	0,35 0,42	(Bleu, Rose) Vert	0,43 0,33	(Bleu, Rose) Vert
Echantillon (HCl) (R1)	0,3 0,42	Orangé Jaune	/ /	/ /

**Tableau 3 :** Rapport frontal (Rf) des sucres après l'hydrolyse acide des polysaccharides dans les deux systèmes de CCM.

Les sucres témoin	Arabinose	Galactose	Glucose	fructose	xylose	ribose
S <sub>1</sub> (R <sub>2</sub> )	-	-	+	+	+	/
S <sub>1</sub> (R <sub>1</sub> )	/	-	+	-	-	-
S <sub>2</sub> (R <sub>2</sub> )	-	-	+	+	+	/

**Tableau 4 :** les composants monosaccharidique de l'extrait polysaccharidique.

D'après les résultats des Rf montrent que l'extrait polysaccharidique présent deux spots similaire à ces deux témoinset quand on a observé la couleur des taches on suppose que l'extrait possèdent trois monosaccharides : glucose, xylose,fructose.

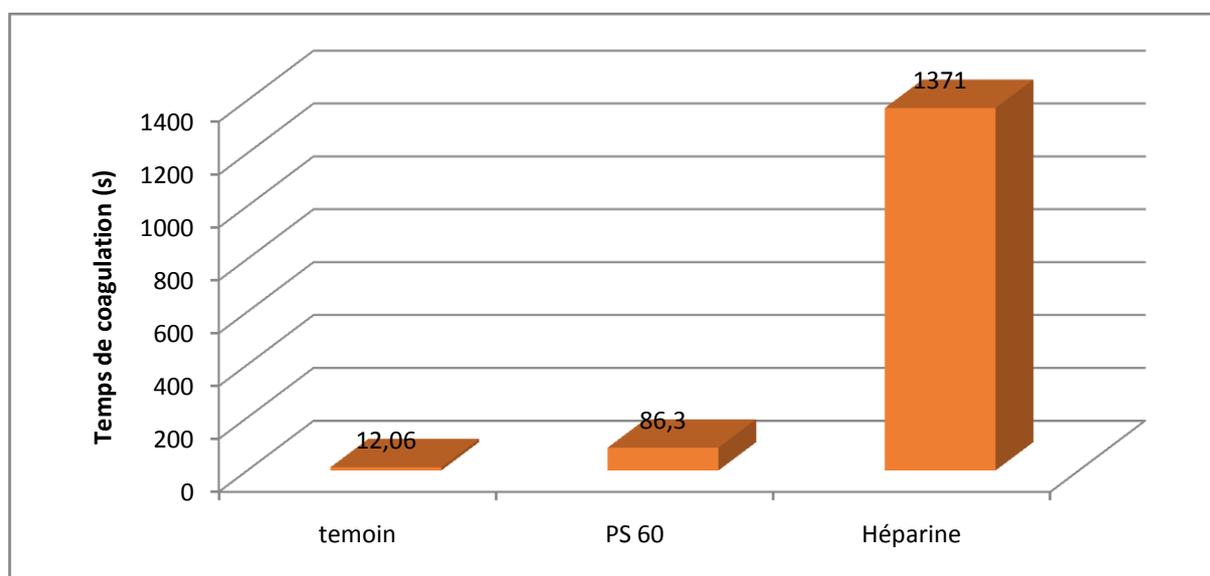
## II. Activité anticoagulante de l'extrait polysaccharidique

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus révèlent que l'extrait de la feuille de *Laurus nobilis* possède une activité anticoagulante.

Les temps de coagulation (TCK) céphaline-kaolin en présence d'extraits de *Laurus nobilis* de certains de leurs composés et de l'héparine (anticoagulant de référence) ont été déterminés

Après la réalisation des deux tests sur la coagulation, deux temps sont enregistrés (**fig. : 21, 22, 23, 24**) à savoir le temps de céphaline kaolin (TCK) et le temps de prothrombine (TP).

### II.1. Test de temps de Quick (TQ)

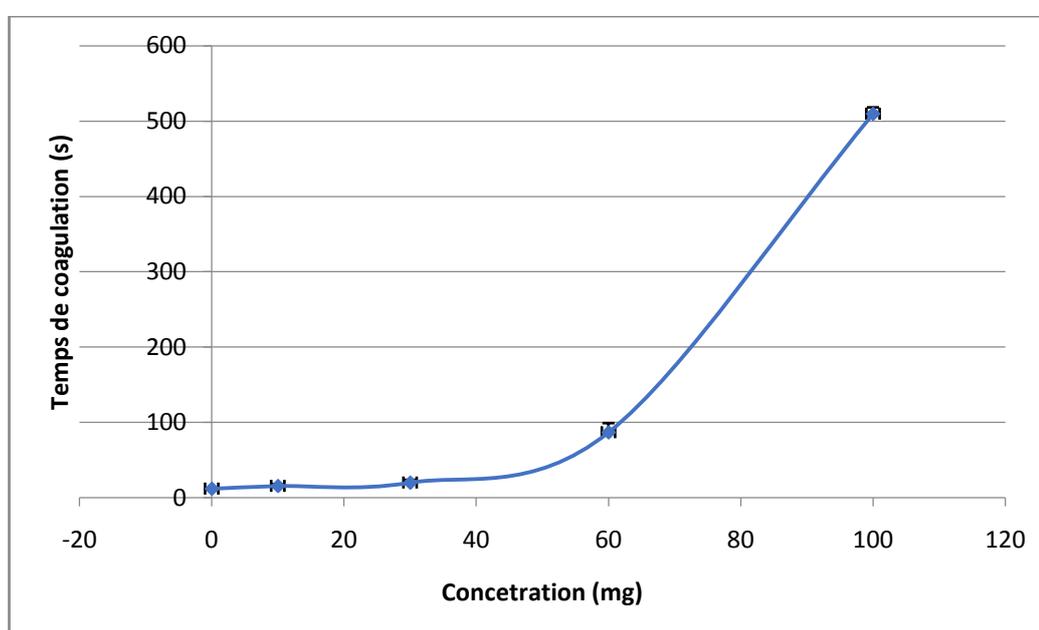


**Figure 21** : Temps de prothrombine (TP) de l'extrait polysaccharidique et l'Héparine (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).

Les résultats de la présente étude montrent que l'extrait est capable d'allonger le temps de coagulation. Il ressort que pour les concentrations 10 mg et 30 mg on a montré aucune différence significative, et la concentration 60 mg d'extrait est capable d'exercer une activité anticoagulante significative ( $p \leq 0,05$ ) par rapport au contrôle normale (absence d'un anticoagulant) dont le temps est 86,23 s et a augmenté statistiquement de manière significative pour la concentration 100 mg par un temps de 509,6 s.

Par ailleurs, l'héparine comme un standard reste présenter une forte activité anticoagulante que l'extrait polysaccharidique grâce à leur fort effet.

L'étude de **SOUZA et al(2015)** montrent que les polysaccharides de plantes supérieures présentent également des structures chimiques hétérogènes mais leurs actions dans la coagulation et de la thrombose sont peu explorées et signalent une activité anticoagulante de polysaccharides de plantes, associée à la présence de résidus d'acide uronique

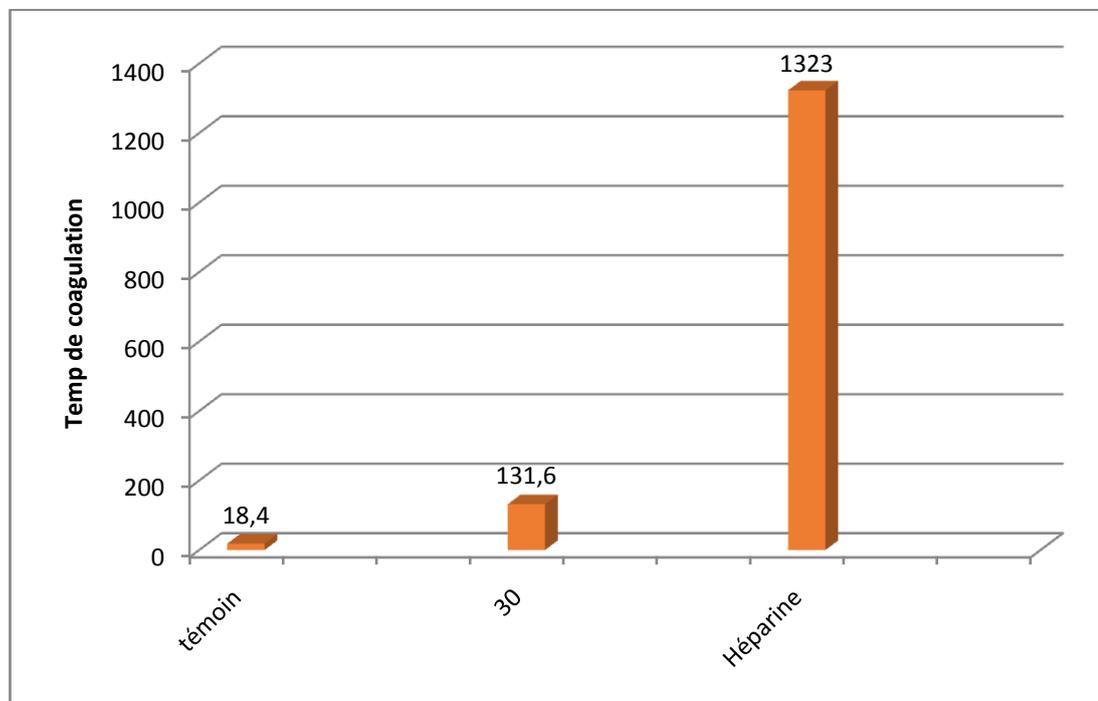


**Figure 22 :** Temps de prothrombine (TP) en fonction des concentrations d'extraits Polysaccharidique (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$ SD).

Le temps de TP noter pour les différentes concentrations du l'extrait testé sont de 12,06s (10mg), 20,13s (30mg), 86,23s (60mg), 509,6s (100mg).

D'après les résultats obtenus (fig. 22) il ressort que le temps de coagulation de l'extrait dépend la dose des polysaccharides quand la concentration augmente l'activité anticoagulante de l'extrait augment.

## II.2 Test de céphaline Kaolin (TCK)

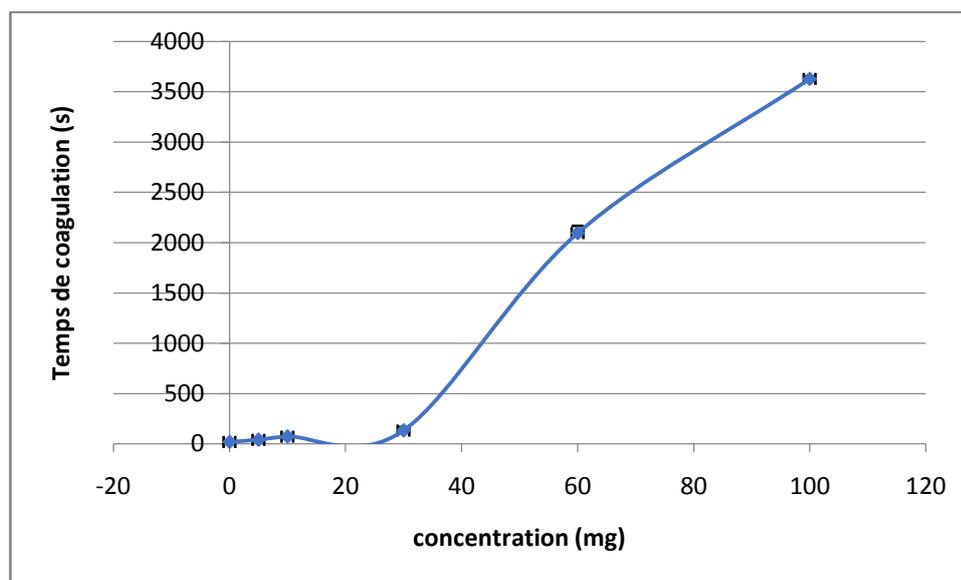


**Figure 23 :** Temps de céphaline kaoline (TCK) de l'extrait polysaccharidique et l'Héparine (Chaque valeur représente la moyenne de trois Essais  $\pm$ SD).

Les résultats de la présente étude montrent que l'extrait est capable d'allonger le temps de coagulation, il ressort que pour les concentrations 5mg et 10 mg on a montré aucune différence significative. Et la concentration 30mg d'extrait est capable d'exercer une activité anticoagulante significative ( $p < 0,05$ ) par rapport au contrôle normale (absence d'un anticoagulant) dont le temps est de 131,6 s et augmente statistiquement de manière significative pour les concentrations 60mg et 100 mg par des temps de coagulation de 2095s, 3628s.

Par ailleurs, l'héparine comme un standard reste présenter une forte activité anticoagulante que l'extrait polysaccharidique.

Les polysaccharides des algues marines brunes et rouges sont les plus étudiés pour leur activité anticoagulante grâce à la présence dans leurs structures chimiques du groupement hydroxyle (-OH), ainsi en subissant des modifications de type carboxylation ou sulfatation en synergie peuvent provoquer l'inhibition de la voie endogène de la coagulation (Yang, *et al.*, 2005).



**Figure 24 :** Temps de céphaline de kaoline (TCK) en fonction des concentrations d'extraits Polysaccharidique (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$ SD).

Le temps de TCK noter pour les différentes concentrations de l'extrait testé sont de 39,26s (5mg), 70,86s (10mg), 131,6 (30mg), 2095s (60), 3628s (100mg).

D'après les résultats obtenus (fig. 24) il ressort que le temps de coagulation de l'extrait dépend de la dose des polysaccharides quand la concentration augmente l'activité anticoagulante de l'extrait augmente.

Les polysaccharides sulfatés de l'algue verte *Ulva conglobata* ont été isolés et préparés par extraction à l'eau chaude. Les propriétés anticoagulantes de ces polysaccharides sulfatés ont été comparées à celles de l'héparine en étudiant le temps de la thromboplastine partielle activée en utilisant du plasma humain normal. Le polysaccharide sulfaté d'*Ulva conglobata* collecté à Qingdao, en Chine, est le plus puissant parmi les polysaccharides sulfatés testés. Le mécanisme de l'activité anticoagulante médiée par les polysaccharides sulfatés est dû à l'inhibition directe de la thrombine et à la potentialisation du cofacteur II de l'héparine. (Mao *et al.*, 2006)

(YOON *et al.*, 2002). La masse moléculaire relativement faible des polysaccharides végétaux, ainsi que la composition chimique distinctive par rapport à des composés extraits des animaux, des invertébrés et les tissus d'algues marines suggèrent qu'ils méritent une analyse plus

approfondie pour leur effet sur les mammifères. La relative faible activité anticoagulante des polysaccharides de végétaux supérieurs par rapport au poids sec en comparaison avec des composés similaires provenant d'animaux et d'algues marines peut être compensée par leur faible densité de charge, ce qui diminue leur interaction non spécifique avec des protéines de base et donc augmenter leur biodisponibilité

L'effet anticoagulant de polysaccharide de type spiruline sulfaté appelé PUF2 de poids moléculaire de 199 kDa était principalement dû à la potentialisation de l'inhibition de la thrombine par le cofacteur II de l'héparine et était 4 fois plus élevé que celui du dermatane sulfate de porc alors qu'il n'avait aucun effet sur l'activité anti-Xa .ces polysaccharide sulfaté ultrafiltre, probablement un spiruline de calcium, a été obtenu à partir du milieu de culture de *A. platensis* et a montré une activité anticoagulante médiée par le cofacteur II de l'héparine **(Majdoubet al .,2009)**

Malgré qu' il existe de plusieurs projets de recherche axés sur l'activité anticoagulante de divers extraits végétaux, cette activité n'a pas été étudié pour les extraits polysaccharidique de *Laurus nobilis L*, de ce fait le sujet de ce mémoire est considéré comme étant le premier de son genre qui s'inscrit dans le cadre des études intéressées à la prévention et la thérapie des maladies thrombotiques, et cela par la recherche d'une éventuelle activité anticoagulante des polysaccharide de *Laurus nobilis L* .

# *Conclusion*

**Conclusion**

Cette étude a participé à l'évaluation d'effet anticoagulante des polysaccharides extraits à partir des feuilles de la plante médicinale *Laurus nobilis L.*

La caractérisation qualitative d'extraits polysaccharidique par une chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé la présence de trois monosaccharides (glucose, fructose, xylose)

L'activité anticoagulante de l'extraits a été évaluée *in vitro* par les deux testes (TCK, TP),a permet d'asseoir que l'extraits exerceun effet anticoagulant sur les deux voies de la coagulation avec un effet plus marquée sur lavoie endogène que sur la voie exogène.

Nous avons noté que les polysaccharides extraits à partir des feuilles de la plante médicinale *Laurus nobilis L.* contiente toutes un mélange de chaînes polysaccharidiquesde longueur variable, les sucres portent des groupes qui sont importantspour l'activitéanticoagulante,a la lumière de ces résultats peuvent être utilisé comme anticoagulant dans le traitement desmaladies thrombotiques avec des moins effets secondaire par rapport à l'héparine.



*Références  
bibliographiques*

## A

**Andersson L.O., Barrowcliffe T.W., Holmer E., Johnson E.A., Sims G.E.(1976).** Anticoagulant properties of heparin fractionated by affinity chromatography on matrix-bound antithrombin and by gel filtration. *Thromb Res.* 9. P: 575-583.

**Angone .S. A.A ., Driouich.E., Nguema.O . (2010).** La thérapie par les plantes en Afrique :activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale *Phytothérapie Springer-Verlag* , Vol: 8, P: 4 -8-223.

**Ajjan. R., Grant, P. J. (2006).** Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186 : 240–259.

## B

**Ballabio.R ., Goetz.P. (2010).** Huile de graine/fruit de laurier. *Laurus nobilis L.,Laurus azorica*(Seub.)Franco,*Laurusnovocanariensis RivasMart.,E.Dias, J.C.Costa et C.Aguiar ;* *Phytothérapie* ,8. P: 141-144.

**Ballereau. F. V., Quay L.L., Lafleuriel.M., Rozec D., Lebellet .A.V., Mavoungou .L.G. (1993)** .Contrôle de qualité des médicaments essentiels dans les pays enDéveloppement. Méthodes Standardisées. Edition 3ème.

**Bauters. C. (2002).** Athérombose : un même processus pour différents territoires Artériels. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51.P: 177–180.

**Bernard. (2008).** Flore de l'Abbé Coste 1939.)

([www.naturescene.net/plants/Laurus nobilis.html](http://www.naturescene.net/plants/Laurus_nobilis.html))

**Boual. Z.,Chouana.T., Kemassi.A., Hamid Oudjana.A., Daddi Bouhoun.M., Michaud.P.,Ould El Hadj. M.D.(2015).**Étude physicochimique et biologique des polysaccharides hydrosolublesde*PlantagonotataLagasca(Plantaginaceae)*..Université KasdiMerbah-Ouargla.*Phytothérapie* 13:396-402

**Brunneton.J.(1993).**Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition.Technique et documentaire, 3eme édition. P : 484- 489-548- 555-634.

## C

**Chahal.kk ., Kaur. M.,Bhardwaj.U., Singla.N et Kaur.A. (2017).**A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis L.* essential oil;*Journal of*

Pharmacognosy and Phytochemistry; 6(4).P: 1153-1161.

**Colvin.B.T. (2004).**Physiology of haemostasis. *VoxSanguinis*, 87(1): 43-46.

**Covis.R . (2011).**thèse docteur de l'institut national polytechnique de LORRAINE, synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsion directes et inverses.

**Croizat.P., Favre-Gilly. J., Thouverez, J.P.(1968).**Hémostase et coagulation (techniques usuelles).*Ed. Tourelle, Saint-Mandé, P: 97-118.*

**Corti.R., Hutter.R., Badimon. JJ., Fuster. V. (2004).**Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J Thrombosis Thrombolysis*, 17:35–44.

## **D**

**Daba .A., M. El-Demellawy., H. El-Enshasy. (2005).**Anticancer Activity of Polysaccharides Produced by *Pleurotus ostreatus* in Submerged Culture; Genetics and Cellular Biology of Basidiomycetes-VI. A.G. Pisabarro and L. Ramírez (eds.)(2005) Universidad Pública de Navarra, Spain. ISBN 84, 9769, 107, 5

**Delaunay. J. (1988).** livre biochimie .Edition: hermann ,P:72-73-74-75-76-77.

**Delattre.C. (2005).** Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation Enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, université de Picardie jules verne, Valois Santerre, P: 172

**Demo. A., Petrakis.C., Kefalas.P ., Boskou.D.( 1998).**Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. *Food Research International*, 31(5): P: 351-354.

**Dijon., F.B., Bardelette., B .Duclose., .Vamecq.J. (2014).** Biochimie tout le cours en fiches.Edition :Dunod.Paris.P :30.

## **E**

**Ebringerova.Aet Thomas.H . (2000).** xylan derivative-biopolymers with valuable properties 1,natural occurring 'xylan structures, isolation procedures and propertie ,macromalrapid commun 21 :542-556.

## **F**

**Faucher.J et René.L. (2012)** .la chaine, Campbell biologie. Edition:du renouveau pédagogique INC(ERPI). P:76.

**Ferreira. A., Proenc.C., Serralheiro M., Araujo M. (2006).**The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal-

Journal of Ethnopharmacology. Vol: 108. P: 31-37.

**Finkelman.M. A. J., Vardanis.A. (1982).** pullulane elaboration by aureobasidium protoplasts, applied and environmental microbiology, 44.P: 121-127.

**Fiorini.C.,B. David., Fourasté.I.,Vercauteren.J., (1998).** Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. Phytochemistry, 47(5): 821-824.

## G

**Galy G. et Frayse M.(2012).** Radiopharmacie et médicaments radiopharmaceutiques. Edition : LAVOISIER. P : 345.

**García-Ochoa. F., SANTOS. V. E., CASAS J. A., GOÑÁMEZ E., (2000).** Xanthan gum: production, recovery, and properties. Biotechnology Advances, vol. 18: 549-579.

**Geoff.B.,Sue.F.,Greig.D.,Guest.S.,Harmony.M.,Sue.H.,Jakson.G.,Lavarak.P.,Ledgett.M. (2003).** botanica Edition: h. fullmann , P:512.

**Gilles.G, Patrice D. R., Henry. Brisse et Emmanuel .G., (2010).** Banque « SOPHY » de données phytosociologiques ; Tela Botanica .

**Gómez.C. D.J.M., Ibañez.E., Rupérez F.J., et Barbas C.(2004).** Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. Journal of Chromatography A, 1054 (1– 2): P: 227-233.

**Goudjil. M. B.(2016).** thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat (Imd) ; Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.

## H

**Hames. B .D., Haoper. N. M., et Houghton.J .D. (2006).** l'essentiel en biochimie. Edition : BERTI, Paris . P :258.

**Hns. W. K. ( 2007).** 100 plante aromatique et médicinale ; Edition : Terres .P :187.

**Hassani .L.N., Hendra .F ., Bouchemal.(2012).** Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs, De la chimie à l'encapsulation de principes actifs, l'actualité chimique – octobre-novembre . P :367-368

**Hoffman.J., Ollelarm., Kjell .L.( 1982).** studies on the blood anticoagulant activity of sulphated polysaccharides with different uronic acid content , carbohydrate polymer 2:115-121.

**Horn.F., Lindenneire.G., Moc.I., Grillhosl.C., Schneider.S., Munster.B.(2005).** biochimie

humaneedition:FlammarionMédine-science.Paris .P:31.

## J

**Jing .W.,Quanbin. Z, Zhongshan .Z.Z . (2008).**Antioxi-dantactivity o sulfated polysaccharide fractions extractedfrom*Laminariajaponica*International Journal ofBiologicalMacromolecules. P: 127-132

**Joseph .Se .Garra. (2014).**biologie .Edition:Ellipses.Paris.P:70

## K

**K.V.Peter. (2001).**Handbook of herbs and spices- Vol: 1. CRC Press. P: 52-59.

**Kıvçak .B., Tuba.M.(2002).**Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts ;Fitoterapia . LSEVIER .73 P: 242-243.

**Khan.A., Zaman. G., Anderson.R.(2009).**bay leaves improve glucose and lipid profile of people with type 2 diabetes .jClinbiochemNutr , 44(1) P:52-6.

**Klorareg.B et Quatrano.R.S.(1988).**structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological function of the matrix polysaccharides. oceanogr. Biol. Annurev

26,259,315(**Gron-Lardier .S.2004.**these de doctorat etude structural des

polysaccharidesparietaux de l'algue rouge *Asparagopsisarmata*).

## L

**Li .B., Zhang. X., Wang. M. And Jiao .L. (2015).** Characterization and antioxidant activities of acidic polysaccharides from *Gynostemma-pentaphyllum*(Thunb.) Markino. Carbohydrate Polymers, vol: 127.P: 209-214.

**Liu. J., Willfor. S., Xuc. (2015).**areview of bioactive plant polysaccharides:biological activities functionalization and biomedical application, bioactive carbohydrates and dietary fibre5, vol:31-61.

## M

**Maatallah.S., Khaldi.AetAlbouchi.A. . (2015).**Tolérance à la salinité et transports d'ions chez le laurier noble (*Laurus nobilis L.*) ; Annales de l'energrl ,20 ,P :51-65.

**Majdoub.H. ,BenMansour.M. ,Chaubet.F.,**

**Roudesli.M.S.,**

**Maaroufi.R.M.(2009).**Anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide from the green alga *Arthrospiraplatensis*.Biochimica et BiophysicaActa (BBA) - General Subjects.ELSEVIER. Vol: 1790, P: 10

**Molho.P .(1982).** L'héparine hier et aujourd'hui. *Midcinscimes Bs.* P: 74-79.

**Mao.W., Zang.X., Li.Y., Zhang.H. (2006).** Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. *Journal of Applied Phycology.* Vol: 18, Issue 1. P: 9–14.

**Masson. E. (2017).** huile essentielle de Laurier noble noble , laboratoire d'innovation thérapeutique (UMR 7200) , Faculté de pharmacie de strasbourg , 74 route du rhin , cs 60024.

**Matddoub.H., Rondesli.S., Deratani.A.(2011).** influence du PH d'extraction sur les propriétés gélifiantes des polysaccharides issus d'*OPUTIA FICUS-INODICA* , journal de la société chimique de tunisie .P:13-145-155.

**Mauray.S . (2018).** Activités anticoagulante et antithrombotique de polysaccharides sulfatés. *Mon historique.* P :195-196.

**Michaud.Z et Ould El Hadj .M.D.(2012).** caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de malvaparavifloral , vol.14 :No2.

**Moussard.C.(2006).** biochimie structurale et métabolique. 3<sup>ème</sup> Edition de boeck, P :213.

## O

**Oixin. C., Xintian. S., Peixue0. L., Fei. L., Guanying .H., Fengshan.W.(2017).** recent advances in polysaccharides for osteoarthritis therapy .

**Oko. W.S., Mesaik M. A., Yousaf.S., Galal .M. et Choudhary M. I. (2008).** In vitro immunomodulating properties of selected Sudanese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 118. P: 26-34.

**Ouafi .N, Moghrani .H., Benaouda.N., Yassaa.N et Maachi.R .( 2017).** Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif ; *Revue des Energies Renouvelables* Vol. 20 N°1 : 161 – 168.

**OuldYerou K., MeddahB., Tirtouil .A.(2016).** *Laurus nobilis* et la toxi-infection in vitro et in vivo. Faculté des sciences ; département de biologie ; Université de Mascara –Algérie. *International Journal of Zoology Studies.* Volume 1, P: 22-24.

**Ozcan B, Esen M, Sangun MK, Coleri A, Caliskan M. (2010).** Effective antibacterial and

antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. Journal of Environmental Biology.; 31(5):637-641.

## P

**Pal. A., Das .D ., Kumar. S. 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.

**Pesando.D. (1985 )**.étude des propriétés antifongiques et antibactériennes d'algues marines:isolement, etude chimique et activité d'un polysaccharide et d'un glycolipide extraits de deux diatomées chaetoceroslauder (ralfs) et asterionellajaponica (cleve).P :288

**Peyry.P., Grandperriw.D ., Perrier.C., Augere.B., Dyain.J.M., Escu.C., Foglgisang.J.F., Van.C.D. D.(2013)**.bilogietout en-un. Édition :Dunod.Paris P :39.

**Polese .J.M.(2010)**.Arbre et arbustes de Méditerranée ; Editions :Edisude. P :45,46

## Q

**Quezel.Pet Santa. S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques Méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. P: 565

## R

**Renji.X. Hong.Y. ,Yu.S., Youying.T. Xiaoxiong.Z.(2012)**.Preparation ,preliminary characterization,antioxidant,,hepatoprotective and antitumor activities of polysaccharides from the flower of tea plant (*camellia sinensis*).Food and chemical Toxicology .(50):2473-2480.

**Rioux .L. E.( 2010)**.thèse caractérisation structural et évaluation de l'activité biologique de polysaccharide extraits de saccharinalongicuris ,P :10.

## S

**Salhi.N.,Goumni.Z., Salhi.A.,mehani .M.,Vleria et Terzi.( 2015)**.évaluation de l'activité antifongique in vitro des huile essentielles de *Laurus nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusariumsporotrichoide*.RevueElwihat pour les recherch et tude ISSN vol :8.n :2.

**Sanago R., (2006)**. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.

**Sebaaly.C., Kassem.S., Grishina.E., Kanaan.H.,Sweidan.A., Chmit.M.S.,**

**Kanaan.H.M.(2014).**Anticoagulant and antibacterial activities of polysaccharides of red algae *Corallina* collected from Lebanese coast, Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 4 (04), P:030-037.

**Sereme A., Millogo-Rasolodimby. J., Guinko S., Nacro M. (2008).**Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines, 15 : 41 - 49

**Serge .W et Piere .M .(2004).** Toute la biochimie. Edition : DUNOD.Paris.P :68.

**Simić, M., T. Kundaković, et N. Kovačević.(2003).**Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia, 74(6): P: 613-616.

**Silbernacl.S., Lang.F.(2003).** Atlas de poche de physiopathologie.Edition:Flammarion.Médecine-science .P :62.

**Silverthorn.D.U., William.C.O., Claire.W.G.,Andrew.C.S.,Bruce.R.J.(2007).**physiologie humaine, 4<sup>th</sup> edition par Pearson Education France.

**SOUZA, R. O. S., MADEIRA, J. C., CHAGAS, F. D. S., PARREIRAS, L. A., SANTOS, G.R. C., ASSREUY, A. M. S., MOURÃO, P. A. S. et PEREIRA, M. G., (2015).** Purified polysaccharides of *Geoffroea spinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. Carbohydrate Polymers, vol. 124.P:208-215

## T

**Tobelerm G., Molho P. (1985).** L'héparine hier et aujourd'hui. médecine-science.P :74-79

## V

**Vincent .G.,Pierre .K. (2008)** .Propriétés inflammatoires du Polysaccharide capsulaire produit par la cyanobactérie thermophile *Mastigocladus laminosus*. LCSN Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, P : 135-141

**Vogler, A.E.,Siedlecki, A.C. (2009).**Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*,

## W

**Wermerson .A. B., Duarte .G. R .S., Volney .B.M., Majela .M.L., Priscila .F. S., Abigail T. O. C., Flávio. F.S .F., Noleto .D. M., Machado .C.V. (2018).**Pharmacognostic Characterization of *Laurus nobilis* L. Leaves; Journal of Chemical and Pharmaceutical

Research,10(1):30-37.

**Wijesinghe.A., Pet.W.A.J ., 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.

**Woo-Jung. K.,Sung-Min. K. , Hyun .G. Kim.,Hye-Rim .O.,Kyung-Bok. L.,Yoo-Kyung .L ., Yong-II .P.(2006).** Purification et Activité Anticoagulante d'un Fucoïdane extrait de la Sporophylle de l'Undaria Pinnatifida Coréenne.

## X

**Xiao. M.(2011).**synthèse des dérivées des polysaccharides modifiés hydrophobement., thèse hydrophobically modified derivatives of polysaccharide. Université de Grenoble. P:9

**Xiao.R., Grinstaff .M. W., Grinstaff.( 2017).**article chemical synthesis of Polysaccharides and Polysaccharide Mimetics. *Progress in Polymer Science*. Accepted Manuscript , P:3

**Xi. Z., Chen. W., Wu. Z., Wang .Y., Zeng .P., Zhao .G., Li .X. et Sun. L. (2012).** Anticomplementary activity of flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *Food Chemistry*, vol.130: 165-170

## Y

**Yakhlef. G., Laroui. S., Hambaba .L.,Aberkane .M.C., Ayachi .A.(2011).**évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis*, plante utilisée en médecine traditionnelle

**Yang, J- Y., Yumin, D.,Ronghua, H.,Yunyang, W.,Yan, W.(2005).**The structure-anticoagulant activity relationships of sulfated lacquer polysaccharide. Effect of carboxyl group and position of sulfation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 36:9–15.

**Yang L., Zhang.L. (2009).** chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources carbohydrate polymer, vol:76.349:381.

**YiChen.M.,Yong.X.S.,Ping.N.C.Li.,Xing.W .(2007).**Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum*..

**Yoon.S.J., Pereira.M.S., Pavao.M.S.G., Hwang.J.K ., Pyun.Y.R ., Mourao.P.A.S .(2002).** The medicinal plant *Poranavolubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II. *Thrombosis Research*. Pergamon. vol :106 P :51– 58.

# *Annexes*

## Annexe 1

## Préparation des solutions utilisées au cours de l'expérimentation

Solution	Préparation
HCl à 2N	MM : la masse molaire de HCl =36,46g/mol $d=1,2\text{g/ml}$ $P=37\%$ $d=m/v \longrightarrow m=1,2 \times 2,5 \times 10^3 = 3 \times 10^3$ $m \longrightarrow 100\%$ $m^* \longrightarrow 37\% \quad m^*=1110\text{g}$ $n=30,44\text{mol}$ la préparation de 50ml du HCl : verser 8,215ml d'HCl et on a complété jusqu'à 50ml
KOH à 0.5M	MM : la masse molaire de KOH =56,10g/mol $m = M \times C \times V = 0,5 \times 10 \times 56,10 = 2,805\text{g}$ La préparation de 50ml du KOH : Peser 1,4 g de KOH et dissoudre dans 50ml d'eau distillé
Les sucres témoin Glucose –ribose –fructose- galactose-mannitol-xylose à2%	Dissoudre 2g de chaque sucre dans 100ml d'eau distillée
l'aniline à 2N	$V=1\text{L} \quad d=1.002 \quad M=93,13 \quad P=99,5\%$ $C=n/v$ $n=m/M=10,91\text{mol}$ $c=n/v=10,91\text{mol/l}$ $N=c \times eq \quad C=N =10,91\text{N}$ $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2 \quad V_2=18,33\text{ml}$ La préparation d'aniline 2N 18,33ml d'aniline mère compléter par butanol à 100ml

<p>L'acide ortho phosphorique à 2N</p>	<p> <math>V_0=5L</math>    <math>D=85</math>    <math>M=98g/mol</math>  <math>n= m/M</math>                    <math>D=m/V</math>  <math>m =D \times V =8,5 \times 10^3 g(p=100\%)</math>  <math>m_0=7,225 \times 10^3 \longrightarrow (85\%)</math>  <math>n=73,72mol</math>    <math>C=n/V=14,74</math>  <math>N=C \times eq=14,74 \times 3=44,22N</math>  <math>N_1 \times V_1=N_2 \times V_2</math>    <math>V_2=4,52ml</math>            La préparation d'acide orthophosphorique 2N            4,52ml d'acide orthophosphorique compléter par butanol à 100ml         </p>
<p>réactif du TP</p>	<p>Ajouter sans délai au contenu du flacon R1 (thromboplastine) la quantité de tampon de reconstitution (flacon R2) indiqué sur l'étiquette .Mélanger doucement jusqu'à dissolution complète.</p>
<p>réactif du TCK</p>	<p>Utiliser un objet non coupant (point de spatule) pour soulever la capsule aluminium et la déchire. Ajouter sans délais au contenu du flacon la quantité d'eau .Mélanger doucement (environ 2min).</p>
<p>Chlorure de calcium 0.025M</p>	<p>Prêt à l'emploi.</p>

## Annexe 2

**Tableau 2:** - Origines et caractéristiques physico-chimiques des produits utilisés au cours de l'expérience.

Produit	Forme	Formule Chimique	Masse molaire (g/mol)	Densité (g/cm <sup>3</sup> )	Pureté (%)
L'acide sulfurique	Liquide	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	36,46	1.27	
L'acide chlorhydrique	Liquide	HCl	36,46	56.10	37
Acétone	Liquide	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58.08	0.791	99
Aniline	Liquide		93.13	1.002	99.5
Diphénylamine			32,04	0,791	
Méthanol	Liquide	CH <sub>4</sub> O	32,04	0,791	99,7
Ethanol	Liquide	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46.07	0.78	99
Hydroxyde de potassium		KOH	56.10		
Butanon		C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	72.11	0.80	99
Acide ortho phosphorique	Liquide				
Éthyle acétate	Liquide	CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	169,23	85	98
2-Butanone	Poudre	(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> NH	119,38	1,7 à 1,49	
Diphénylamine	Liquide	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> C <sub>5</sub>	180,16		99 à 99,6
L-Arabinose	Solide	CHCl <sub>3</sub>			/
Chloroforme	Liquide	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	11,38	99	1,47
		C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N			

### Annexe 3

#### Les appareils utilisés au cour de l'expérimentation



Plaque chauffant



bain marie



L'étuve



coagulometre  
(URIT , Coagulation Analyzer)

# *Résumé*

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير النشاط المضاد للتخثر لمستخلص متعدد السكاكر من أوراق نبتة الرند *laurus nobilis*. لقد قمنا باستخلاص متعدد السكاكر من أوراق نبات الرند *laurus nobilis* بطريقة الماء الساخن و الترسيب بالاثانول حيث قدر المرود الكلي لعديد السكريات المستخلص بنسبة 2% دراسة التحليل النوعي لمتعدد السكاكر المستخلص بعد اماهتها بحمضين (  $HCl$  ,  $H_2SO_4$  ) لمدة أربع ساعات على 100 درجة مئوية و باستعمال كروماتوغرافيا على الصفائح الرقيقة بينت احتوائها على ثلاث سكريات بسيطة: جليكوز ، اكريلوز ، فركتوز.

تم تقدير النشاط المضاد للتخثر لمتعدد السكاكر مخبريا ( *in vitro* ) باستعمال اختبار TCK و اختبار TP حيث استعملنا مستخلص متعدد السكاكر بتركيزات مختلفة ( 5مغ ، 10مغ ، 30مغ ، 60مغ ، 100مغ ) في بلازما عادية. بينت أزمنة التخثر المتحصل عليها أن متعدد السكريات يمارس نشاط مضاد للتخثر مقارنة مع الشاهد بفرق معنوي على كلا مسريا التخثر الدموي. و إن هذا النشاط يكون أكثر فعالية على المسرى الداخلي مقارنة مع المسرى الدموي الخارجي. و يزداد النشاط بزيادة التراكيز من خلال النتائج السابقة يمكن ان نقترح متعدد السكريات كبديل طبيعي مضاد للتجلط.

**الكلمات المفتاح:** الرند *laurus nobilis*، متعدد السكريات، النشاطية المضادة للتخثر.

## Résumé

Le but de cette étude était estimer l'activité anticoagulante d'un extrait polysaccharidique issu des feuilles de la plante *laurus nobilis*.

Nous avons extrait plusieurs sucres des feuilles de la *laurus nobilis* dans une méthode d'eau chaude et de précipitation à l'éthanol, le rendement total des sucres extraits a été estimé à 2%

L'étude de l'analyse qualitative des multi-sucres extraits après acidité (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pendant quatre heures à 100 ° C et l'utilisation de la chromatographie sur les plaques minces ont montré contenir trois sucres simples : glycose, xylose, fructose.

L'activité anticoagulante in vitro a été estimée en utilisant le test TCK et le test TP Nous avons utilisé un extrait polysaccharidique avec différentes concentrations (5 mg, 10 mg, 30 mg, 60 mg, 100 mg) dans du plasma normal. Les temps de coagulation observés ont montré que les polysaccharides avaient une activité anticoagulante par rapport au groupe témoin avec une différence significative à la fois pour la thrombocytopenie . Et cette activité est plus efficace sur la voie interne par rapport à la voie externe. L'activité augmente en augmentant les concentrations à travers les résultats précédents peuvent suggérer des polysaccharides comme une alternative naturelle à l'anticoagulant.

**Mots-clés** : *laurus nobilis*, polysaccharides, activité anticoagulante.

## Summary

The aim of this study was to estimate the anticoagulant activity of a polysaccharide extract from the leaves of the *laurus nobilis* plant.

We extracted multiple sugars from the leaves of the *laurus nobilis* plant in a hot water method and precipitation with ethanol. The total yield of the extracted sugars was estimated at 2%.

The study of the qualitative analysis of the multi-sugars extracted after acidity (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) for four hours at 100 ° C and the use of chromatography on the thin plates showed containing three simple sugars: glyucose, xylose, fructose.

In vitro anticoagulant activity was estimated using the TCK test and the TP test. We used a multi-sugar extract with different concentrations (5 mg, 10 mg, 30 mg, 60 mg, 100 mg) in normal plasma. The observed coagulation times showed that polysaccharides had anticoagulant activity compared to the control group with significant difference on both thrombocytopenia. And this activity is more effective on the internal procedure compared to the external hemorrhoid. The activity increases by increasing the concentrations through the previous results can suggest polysaccharides as a natural alternative to anticoagulant.

**Keywords :** *laurus nobilis*, polysaccharides, anticoagulante activity.

Présenté par :

- Bechkri chaima
- Meslem Bouchra

Session : Jun 2018

## L'évaluation de l'activité anticoagulante des polysaccharides isolés de *Laurus nobilis L*

Diplôme de master en toxicologie et santé

### Résumé

Le but de cette étude était estimer l'activité anticoagulante d'un extrait polysaccharidique issu des feuilles de la plante *laurus nobilis*.

Nous avons extrait plusieurs sucres des feuilles de la *laurus nobilis* dans une méthode d'eau chaude et de précipitation à l'éthanol, le rendement total des sucres extraits a été estimé à 2%

L'étude de l'analyse qualitative des multi-sucres extraits après acidité (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pendant quatre heures à 100 ° C et l'utilisation de la chromatographie sur les plaques minces ont montré contenir trois sucres simples : glycose, xylose, fructose.

L'activité anticoagulante in vitro a été estimée en utilisant le test TCK et le test TP Nous avons utilisé un extrait multi-sucre avec différentes concentrations (5 mg, 10 mg, 30 mg, 60 mg, 100 mg) dans du plasma normal. Les temps de coagulation observés ont montré que les polysaccharides avaient une activité anticoagulante par rapport au groupe témoin avec une différence significative à la fois pour la thrombocytopenie. Et cette activité est plus efficace sur la voie interne par rapport à la voie externe. L'activité augmente en augmentant les concentrations à travers les résultats précédents peuvent suggérer des polysaccharides comme une alternative naturelle à l'anticoagulant a été estimée.

**Mots-clés:** *laurus nobilis*, polysaccharides, activité anticoagulante.

**Président du jury** : Lalaoui K(Pr- UFM Constantine).

**Rapporteur** :Dehili N (MAA- UFM Constantine).

**Examineurs** : Boubekri N (MCB- UFM Constantine).  
Zouaghi y (MCA- UFM Constantine).