

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Spécialité pharmacotoxicologie



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Étude phytochimique, activité anti oxydante
et anti hémolytique des extraits de**

Laurus nobilis

Présenté par :

BOULOUBA Hassiba & CHETIOUI Ouafa

Soutenu le : **26 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M^r BRIBLI.N

M^{me} ARKOUB.L

M^{me} BAKDI.H

MCA

MAA

MAA

Président

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A Mon père

*Qui m'a transmis de l'amour la joie le courage et pour l'éducation qu'il
m'a prodigué je prie mon dieu de le
bénir de veiller sur eux j'espère qu'il seront toujours fiers de moi.*

A Maman

*Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma
considération et mes profonds sentiment de manque envers elle je prie
pour être au paradis*

A mes chères soeurs

Nouria ,malia,afifa,ilham et iman,wida

A mes chers frères

amer ,mahdi et sami

*Pour votre soutien moral et encouragements vous m'avez appris la
patience et la concentration sur mon travail. Je vous souhaite un
avenir plein d'amour, de bonheur et de succès. Je vous aime beaucoup*

A mes amies

*Je vous dédie ce travail à cylia , siham , samia , nouria, sasa , sonia,
et mes cosins ala adine , chamessadine pour les moments que vous
avez vécu ensemble et les souvenirs*

A toute mes collages

ouafa

Dédicaces

Grâce à la bonne volonté, l'acharnement, Dieu tout puissant m'a donné la force et le courage pour la réalisation de ce travail que je dédie :

Pour toi ma chère maman, je suis à jamais reconnaissante pour tes multiples encouragements et marques de soutien tu as été présente à mes côtés tout au long de mes études. Je prie Dieu tout puissant de te prêter une longue vie et bonne santé.

Pour toi mon père, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon estime, ma fierté, ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation, avenir et formation. Je prie Dieu tout puissant de te prêter une longue vie et bonne santé.

A mon grand frère ADEL pour leur aide, leur soutien et ces conseils. et sa femme wahiba.

A mes frères NASSIM et ABDERAZAK, et mes sœurs KATIBA et surtout LAMISSE, pour leur soutien moral tout au long de ma formation.

À mon très cher fiancé RIAD qui s'est montré très compréhensif, et m'a beaucoup encouragé et soutenu durant toutes les épisodes que j'ai connus pendant la réalisation de ce travail.

A mes amies : CILIA, IBTISSAM, KANZA, MANIA.

A tous ceux que j'aime

HSSIBA

Remerciements

🌷 Louange à **ALLAH** de nous avoir guidé dans le bon chemin en l'implorant dans nos prières afin de nous donner non seulement le courage , la force et la patience de réalisé ce travail.

🌷 Nous tenons à présenter nos remerciements les plus sincères à notre promotrice **Madame ARKOUB. L.** Merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse et pour la confiance que vous nous avaié témoigné pendant la réalisation de ce travail, pour votre aide, votre conseils et votre disponibilité tout au long de notre travail.

🌷 Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury : **Monsieur BRIBI .N** qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de président de jury. **Madame BAKDI.H** Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

🌷 Nos remerciements vont aussi tout particulièrement à **M TABTÉ** ,N technicienne du laboratoire de physique au chimique qui nous avoir permis de travailler dans le laboratoire sur la quelle elle est responsable.

🌷 Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles et tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin par leurs recommandations et leurs renforts afin de finaliser ce travail.

Liste des abréviations

ROS : espèces réactives oxygénées

O⁻² : anion superoxyde

ROO: radical peroxide

NADPH: nicotinamide adenine di nucleotide phosphate hydrogynase.

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène.

UV: ultraviolet.

SOD: super oxyde dismutases.

GSH: glutation

ROOOH: Glutathion oxydé

GSH: glutathion réduit

O₂^I : oxygène singulet

GR: globule rouge

DPPH: 1,1-diphényle-2-picryl-hydrazyl

ABTS: Acide 2 ; 2' -azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfiniqu

Trolox: Acide 6-hydroxy-2,5,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylique

AAPH : 2,2 '-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride.

IC₅₀ : Concentration équivalente à 50% d'inhibition du radical.

Liste de figure

Figure 1 : Principales sources des radicaux libres.....	4
Figure 2 :structure de quelques composes naturels a propriétés antioxydant.....	6
Figure 3 :structure de la membrane du globule rouge.....	7
Figure4 :photographies des feuilles fraiche et sèche du laurier.....	14
Figure 5 :Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H....	19
Figure 6 :Protocole d'évaluation du teste de cytotoxicité.....	20
Figure 7 : Protocole d'évaluation de l'effet anti-hémolytique.....	22
Figure 8 :Teneur en phénols totaux.....	25
Figure 9 :Teneur en flavonoïdes.....	26
Figure 10 :Teneur en tanins condensé.....	28
Figure11 :Effet anti radicalaire contre le radical DPPH des extraits des feuilles de <i>L. nobilis</i>	29
Figure 12 :activité anti radicalaire d'ABTS pour les extraits des feuilles du laurier nobilis.....	30
Figure 13 : Histogramme des taux d'hémolyse (%) des globules rouge avec les différents extraits.....	31
Figure14 : photographie de globule rouge traitées avec l'extrait éthalonique d' <i>L.nobilis</i> et du témoin négatif vu sous microscope optique (GX1000).....	32
Figure 15 : Histogrammes des effets protecteurs globules rouges humains contre l'hémolyse induit par APPH.....	33

Liste des Tableaux

Tableau I: Principaux radicaux libres	3
Tableau I : les antioxydants	5
Tableau III: Taxonomie de laurier.....	9
Tableau IV: Nom vernaculaire.....	10
Tableau V : taux d'extraction des composéé phénolique	24

Sommaire

Liste des Abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

I. stress oxydant et anti oxydant	2
I.1. stress oxydatif	2
I.2. Radicaux libres.....	2
I.2.1.Principauxradicaux libres.....	2
I.2.2.Origine des radicaux libres.....	3
I.3.Les anti oxydants.....	4
I.4.Généralité sur le sang.....	6
I.4.1.La membrane des globules rouges.....	7
I.4.2.L'hémolyse.....	7
I.5.Présentation de laurier (<i>Laurus nobilis .L</i>).....	8
I.5.1.Caractère morphologique.....	8
I.5.2.Taxonomie.....	9
I.5.3.Habitation géographie.....	9
I.5.4.Utilisation en médecine traditionnelle.....	10
I.5.5.Données phytochimique.....	10
I.5 .6. Propriétés pharmacologie.....	11

Chapitre II : Matériels et méthodes

II. Matériels et méthodes	14
---------------------------------	----

II.1. Matériels utilisés.....	14
II.1. 1.Matériel végétal (récolte, séchage, broyage).....	14
II.1.2.Échantillons de sang.....	15
II.1.2.1.Préparation des globules rouges.....	15
II.2. Méthodes	15
II.2.1. Préparation des extraits.....	15
II.2.2.Étude phytochimique.....	16
II.2.2.1.dosage des phénols totaux des phénols totaux.....	16
II.2.2.2.Dosage des flavonoïdes	16
II.2.2.3.Dosage des tannins	17
II.2.3.Évaluation de l'activité antioxydant.....	17
II.2.3.1. Activité anti-radicalaire contre le radical DPPH.....	17
II.2.3.2.Activité anti-radicalaire contre le radicalABTS	18
II.2.4.Évaluation de l'activité anti hémolytique.....	20
II.2.4.1.Étude du stress oxydant sur les globules rouges humain.....	20
II.2.4.1.1.Test cytotoxicité.....	20
II.2.4.1.2..Test anti-hémolytique.....	21
II .3..Étude statistique	21.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Préparation des extraits.....	23
III.2.Quantification en composés phénoliques	24
III.2.1.Quantification en phénols totaux.....	25
III.2.2.Quantification en flavonoïdes	26
III.2.3.Quantification en Tanins	27
III.3.Évaluation de l'activité anti oxydante.....	28
III.3.1.Activité anti-radicalaire contre le radical DPPH	29
III.3.2.Activité anti-radicalaire contre le radical ABTS	30
III.4.Activité anti-hémolytique.....	32
III.4.1.Test de cytotoxicité	32

III.4.2. Test anti hémolytique33

Conclusion36

Référence bibliographiesAnnexe

Résumé

Introduction

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie . Parmi ces substances on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en phytothérapie.

Les polyphénols représentent un vaste groupe de métabolites secondaires, exclusivement synthétisés dans le règne végétal ; présents dans les différentes parties des plantes. En plus de leur rôle dans la pigmentation des végétaux, dans le mécanisme de la défense de la plante avec le milieu environnant, certains de ces composés présentent des activités biologiques d'intérêts, telles que des propriétés antioxydantes (**Silva et al., 2007**), anti-inflammatoires (**Ahmed et al., 2010**), antimicrobiennes (**Bolivar et al., 2011**), anticancéreuses (**Tanah et Ndip, 2013**)...etc. Leur grande variété structurale (plus de 8000 composés connus) fait de cette classe de composés un objet d'étude particulièrement complexe (**Macheix et al., 2006**).

De part sa situation géographique, l'Algérie possède une flore très diversifiée et une richesse non négligeable en plants aromatiques et médicinales (environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques).

Laurus nobilis L ou laurier, pousse dans les lieux humides ombragés (**Iserin, 2001**), ses feuilles comportent plusieurs composants chimiques tels que les composés phénolique et les polysaccharides (mucilage, pectine) (**Beloued, 2005**).

Le présent travail vise à étudier la phytochimie de la plante ; l'activité antioxydante et anti-hémolytique *in vitro* des substances naturels notamment les composés phénoliques de *Laurus nobilis* L.

Notre travail est divisé en deux parties, la première est une étude théorique consacré à l'étude de la plante « *Laurus nobilis* L. » le stress oxydatif, Les radicaux libres et la membrane érythrocytaire .

La partie pratique en deuxième lieu est constituée de deux chapitres, le premier consacré pour décrire le matériel et les méthodes utilisées lors de travail expérimental. Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus et leur discussions .

I. Stress oxydant et anti oxydant

I.1. Stress oxydatif

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives oxygénées (ROS), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défendre des antioxydants. Les ERO non détoxiquées par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'ADN. Le stress oxydant cause initiale de plusieurs maladies, cancer, diabète, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

I.2. Radicaux libre

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques. Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (ROS) (Aurousseau, 2002).

I.3. Principaux radicaux libres

Les principaux radicaux libres sont illustrés dans le tableau suivant (Favier, 2000).

Tableaux I : principaux radicaux libres

$O_2^{\cdot-}$	anion superoxyde
OH^{\cdot}	radical hydroxyle
NO^{\cdot}	monoxyde d'azote
RO^{\cdot}	radical alkoxyle
H_2O_2	peroxyde d'hydrogène

ONOOH	nitroperoxyde
-------	---------------

I.4.Origine des radicaux libres :

Les radicaux libres sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule par divers mécanismes. On parle donc de sources endogènes et exogènes :

Sources endogènes

La NADPH oxydase, les peroxyosomes, la xanthine oxydase, les cyclooxygénases et les lipoxygénases sont les sources endogènes les plus importantes de la production du radical superoxyde. Au niveau de la mitochondrie, à l'état physiologique, une fuite d'électrons au niveau du complexe I et III lors du transport électronique le long de la chaîne respiratoire est à l'origine de la production de $O_2^{\cdot-}$. Ce dernier va alors conduire au cours de véritables chaînes d'oxydoréductions à la formation de nombreuses espèces très réactives (Koechlin-Ramonatxo, 2006). La figure 2 résume les différentes sources.

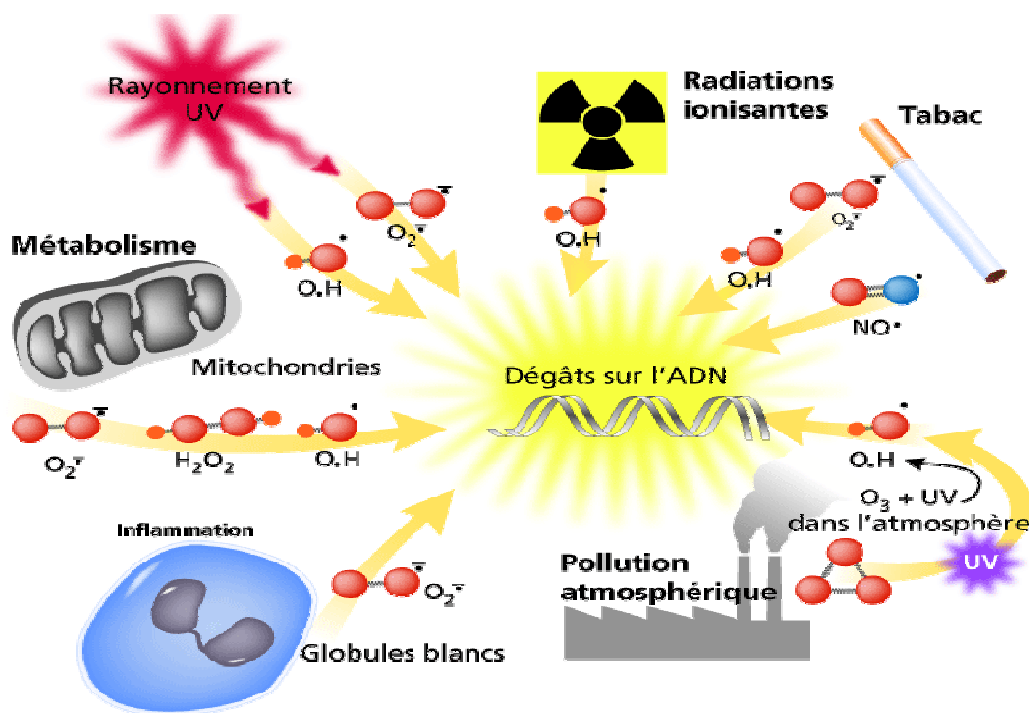


Figure 1 : Principales sources des radicaux libres (Sen et al., 2013)

Ces espèces radicalaires peuvent être également produites en excès à cause des agents externes environnementaux comme la fumée de cigarette, le tabac, l'exposition aux rayons UV et les radiations ionisantes (Nagmoti et al., 2012).

Sources exogènes :

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (**Haïoun et Hamoudi, 2015**).

I.5. Cibles biologique des radicaux libres

Lors d'un stress oxydant, les RLs non détoxiquées par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (**Sen et al., 2013**).

I.6. Les anti oxydants

à l'heure actuelle, deux catégories de système de défense antioxydant ont été mis en évidence (**Parihar et al., 2008**).

Tableaux II : Les anti oxydants

Système enzymatique	
Super oxyde dismutase	- Catalyse la dismutation de deux $O_2^{\circ-}$ et deux H^+ en H_2O_2 . Suivant la réaction : $2H^{++} + 2O_2^{\circ-} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$ - Comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) dont l'activité est dépendante de la localisation et les apports nutritionnels en cuivre et a un moindre degré en zinc.
Catalase	-Transforme le H_2O_2 en simple molécule d'eau. Comme suite : $2H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} 2H_2O + O_2$ -Il est lié au NADPH dans les peroxysomes qui la protège et améliore son activité et détruit le H_2O_2 .
Glutathion peroxydase	- Elle se trouve essentiellement dans le cytosol et les mitochondries, est fonctionné en présence de glutathion réduit. $ROOH + 2GSH \rightarrow ROH + GSSH + H_2O$
Système non enzymatique	
Vitamine C	- C'est un piègeur de $O_2^{\circ-}$, H_2O_2 , OH° , et O_2^1 , protège les biomembranes et les lipoprotéines, régénère la vitamine E.
Vitamine E	- protège les cellules contre les dommages associés aux RL (inhibe la peroxydation lipidique)

β-carotène	- C'est un précurseur de la vitamine A, neutralise l' O_2^1 et le radical peroxyde
Glutathion	- C'est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine et joue un rôle dans la protection des lipides, des protéines et l'ADN contre l'oxydation
Polyphénols	- Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les RL en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. ils peuvent réagir avec ERO et ERN. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité de chélater les métaux ioniques et inhiber les enzymes impliquées dans la production de RL

De nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des flavonoïdes susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Bhouri *et al.*, 2010). La figure 2 illustre la structure de quelques composés naturels possédant des propriétés antioxydantes.

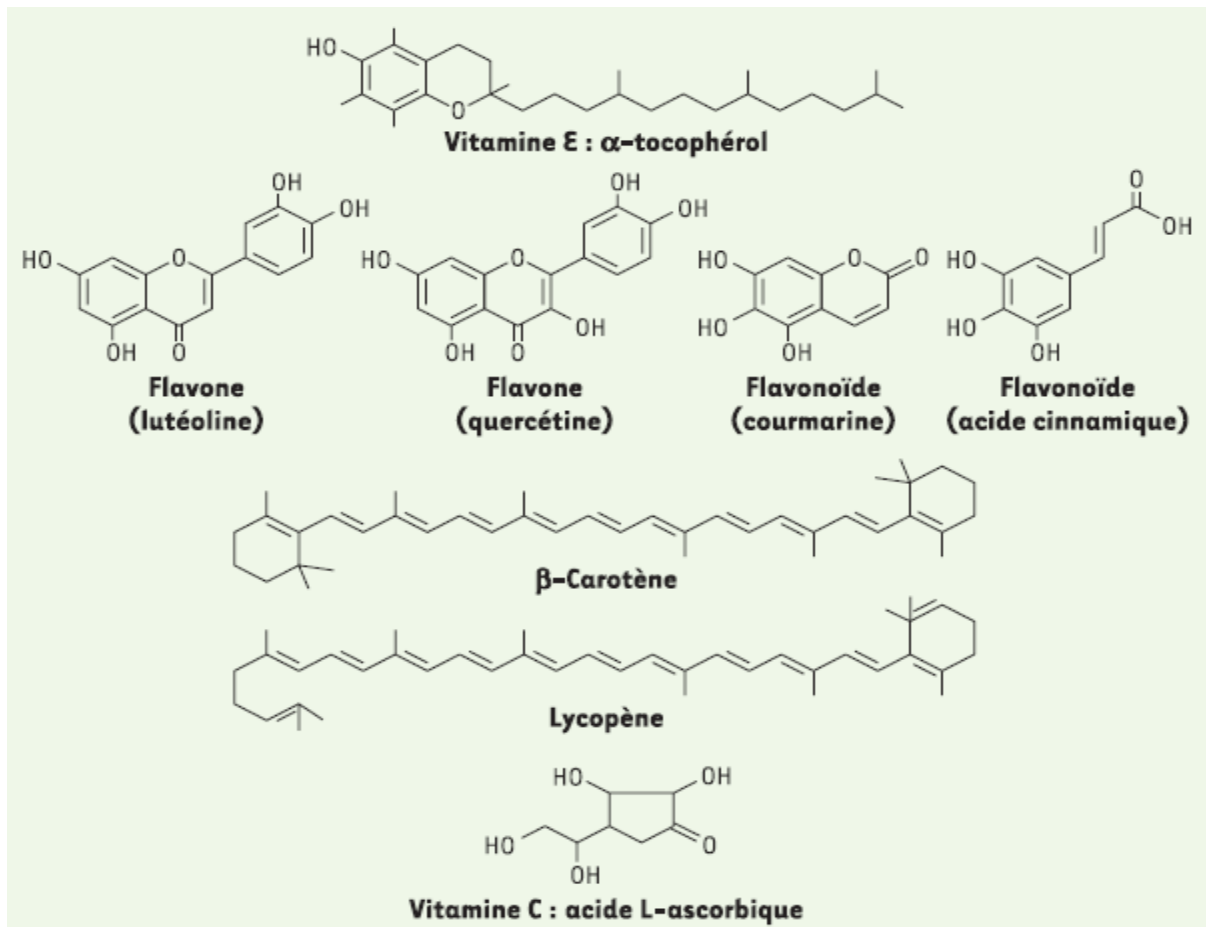


Figure2 : structure de quelques composés naturels à propriétés antioxydantes (Marc et al., 2004)

I.7. Généralité sur le sang

Définition de sang

Le sang est le liquide vital qui coule dans les artères et les veines du corps. Il a pour rôle de transporter l'oxygène des poumons à destination des différents organes et de défendre l'organisme contre les infections. Le sang est un transporteur, il circule dans les artères chargées de nourrir les organes et repart de ceux-ci par les veines, chargé de déchets. Il véhicule des milliers de cellules et de substances nécessaires au fonctionnement de l'organisme. En générale, le sang qui représente 7% du poids corporel des animaux est composé de globules rouges, globules blancs et des plaquettes mises en suspension dans le plasma (Duncan et Parasse, 1986).

I.7.1. Les globules rouges (érythrocytes, hématies)

Sont les cellules les plus abondantes dans la circulation sanguine. Les GR sont des cellules anucléées dont la constitution essentielle est l'hémoglobine, un pigment respiratoire qui assure le transport de l'oxygène et d'une partie de gaz carbonique. Leur production quotidienne est $200 \cdot 10^9$ par jour et leur durée de vie 120 jours. La moelle osseuse restera le seul site de synthèse des érythrocytes «érythropoïèses» chez l'adulte. (Marireb, 2006).

I.7.2. Membrane des globules rouges

La membrane des érythrocytes a servi pendant de nombreuses années de modèle simplifié des membranes plasmiques des mammifères. Elle est constituée essentiellement de lipides et des protéines qui s'intriquent intimement par des interactions non-covalentes telles que : interaction de van der Waals, liaisons hydrogène, forces électrostatiques et hydrophobes pour former une structure complexe. Les dommages oxydatifs associés à la membrane des érythrocytes (lipides/protéines) peuvent être impliqués dans l'hémolyse (Kozlova et al., 2012).

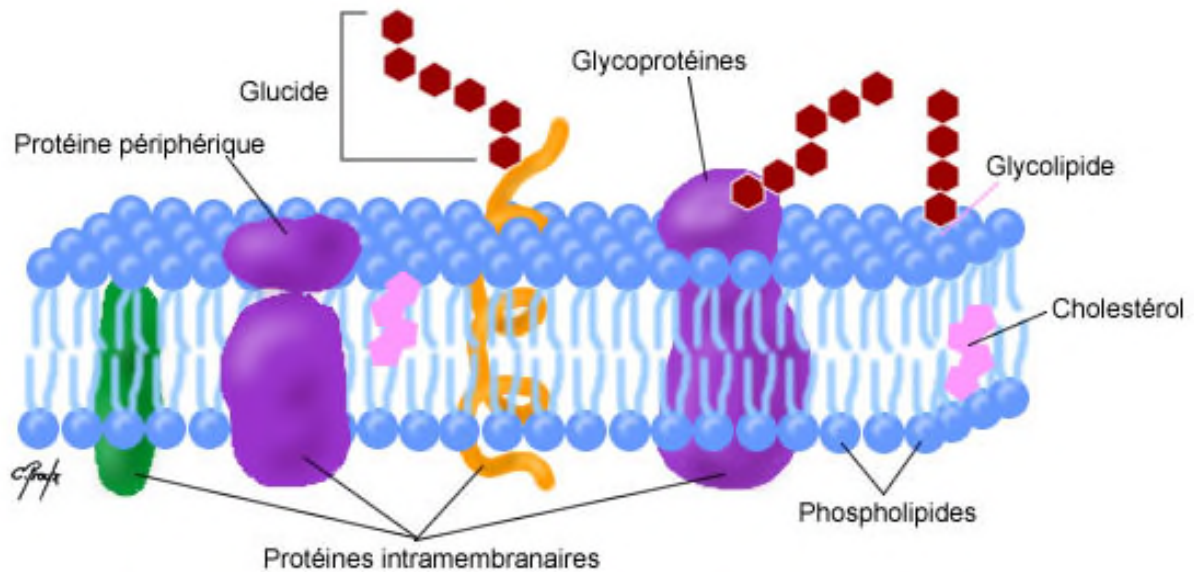


Figure 3 : structure de la membrane du globule rouge (Zandecki , 2006).

I.7.3.L'hémolyse

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges sont détruits et libèrent leur contenu. L'hémolyse physiologique doit être différenciée de l'hémolyse pathologique ou l'hyper hémolyse. L'hémolyse physiologique est la destruction du GR après une durée de vie de 120 jour par vieillissement qui s'est traduit par des modifications (biochimique, morphologique, plasticité), sans répercussion clinique ni biologique est essentiellement intra tissulaire les GR âgés, après une durée de vie normale de 120 jour, sont phagocytés par les macrophages du système des phagocytes mononucléés. Chez le sujet normal, la majorité des GR sont détruits dans les macrophages de la moelle osseuse .Le reste de l'hémolyse se répartit dans l'organisme, en particulier dans la rate et le foie.une faible partie de l'hémolyse physiologique se déroule au sein même de la circulation sanguine (hémolyse intra vasculaire) .L'hémolyse pathologique est due à un vieillissement prématuré des GR, une destruction indépendante de leur âge ce qui entraîne une anémie hémolytique grave. Hémolyse intra corpusculaire est concernent les anomalies constitutionnelles de GR de l'hémoglobine, les enzymes, et leur membrane. (Venkata Narasimha Kadali et al., 2016).

I.5. Présentation de laurier (*Laurusnobilis* .L)

Famille

Laurier (*Laurusnobilis*. L) est une plante à importance médicinales et aromatiques, qui appartient à la famille des Lauraceae (Lauracées), famille botanique importante souvent aromatiques, ses espèces peuvent être reconnues par leur odeur aromatique. Celle-ci comprennent 32 genres et environ 2000-2500 espèces, dont certaines produisent des huiles essentielles appréciées, comme la cannelle, les sassafras, le camphrier, le laurier. Les Lauraceae sont l'une des plus importantes tropicales familles ligneuses. Des études récentes ont révélé une étroite relation entre ses genres, tous sont dioïque et la plupart ont inflorescences ombelle sous-tendu par bractées (MarzoukiH et al., 2009) .

Espèce

*Laurusnobilis*L. Laurier commun, laurier-sauce, laurier noble .Nom latin du laurier, du celtique blaur = toujours vert (K.V. Peter- Handbook, 2004).

I.5.1. Caractères morphologique

Laurus nobilis a 2 à 10 m, aromatique glabre, très rameuse à rameaux dressés, feuilles alternes, coriaces persistantes, elliptiques, lancéolées, longues de 16 cm sur 8 cm de large, atténuées en court pétiole, entières, ondulées aux bords, fleurs dioïques blanchâtres, odorantes, en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées . Le fruit est une petite baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité .Cultivé dans les jardins comme ornement et pour ses feuilles condimentaires. C'est un arbre dioïque . Les jeunes rameaux, flexibles et de couleur vert, portent des feuilles alternes, coriaces, ovales lancéolées à bord ondulé (Iserin, 2001).

I.5.2. Taxonomie

Le genre *laurus* appartient à la systématique suivante (QUEZEL et SANTA,1962)

Tableaux III : Taxonomie de laurier

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales

Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L.

I.5.3.Habitation géographique

Laurusnobilis pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment . Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (Demir et al., 2004) .

Nom vernaculaire

Différents dénominations en fonction des pays(ANTON, 2005)

Tableaux V : Nom vernaculaire

pays	Dénomination vernaculaire
Français	Laurier commun ,Laurier sauce, Laurier d'apollon laurier franc , laurier noble
Allment	Bay ,lorbeebaum ,Gewurzlorbee
Anglais	Bay, sweet bay ,bay laurel, true laurel, Roman laurel , noble laurel
Arabe	Rand
Kabille	THasselte

I.5.5.Utilisation en médecine traditionnelle

*Laurusnobilis*est l'une des populaires aromatiques utilisées dans le monde entier, elles sont généralement utilisées comme épice et aromatisant en culinaire et en industrie alimentaire ainsi que comme remède important en médecine traditionnelle. L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent etpour le traitement du mal d'estomac . L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagementd'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales . En outre, l'huile

essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir et al., 2004**)

I.5.6. Données photochimiques

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis* et plusieurs ont prouvé la richesse de ses feuilles en substances actives, par hydro distillation les feuilles fournissent environ (1-3%) d'huile essentielle dont les constituants majoritaires incluent ; cinal ; et pinène ; sabine ; linalol ; eugénol ; terpinéol ; plus d'autres esters et terpénoides ainsi que les proportions varient selon l'origine géographique les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycolyses de quercétine, kaempferol et de catechine) et apolaires (4 dérivées acylés de kaempferia) ; sesquiterpènes lactone ; alcaloïdes d'isoquinoline ; en plus on montre la présence de ses feuilles en vitamine E (**Demo et al., 1998**) .

I.5.7. Propriétés pharmacologiques

a) Effets antioxydants

L'activité antioxydante des extraits méthanolique (bruts et dégraissés) des feuilles, d'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* ont été étudiés au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺² / ascorbate et mesurée spectrophotométriquement à 533 nm. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité antioxydante. L'extrait dégraissé des feuilles montre une inhibition plus élevée du LP que l'extrait brut et que tous les autres extraits et le maximum de son activité (68,4%) a été atteint avec une plus petite quantité (2,0 mg) (Simiü et al., 2003).

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

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

Ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arôme plaisant, mais probablement aussi a des possibilités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres pièces de cette plante.

b) Effet anticonvulsif

L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a été évaluée pour l'activité anticonvulsive contre des saisies expérimentales, l'huile a protégé des souris contre des convulsions toniques, induites par électrochoc maximal et particulièrement par pentylènetétrazol. Aux doses d'anticonvulsivant, l'huile essentielle a produit la sédation et relâchement du cœur. Les composants responsables de cet effet peuvent être le cinéol, eugénol et le méthyle eugénol mais d'autres études sont exigées avant que toutes conclusions puissent être tirées (Sayyah et *al.*, 2002).

c) Effet gastroprotectif

Une seule étude a été réalisée à ce sujet par G̈erb̈z et autre (2002) où cinq plantes aromatiques dont *Laurus nobilis*, sont employées traditionnellement en Turquie pour traiter le mal d'estomac. Ils ont été choisis pour déterminer leur pouvoir anti-ulcèreogène. Une décoction et un extrait méthanol ont été préparés à partir des fruits de Laurier pour déterminer leurs effets sur un modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez des rats.

Les expériences pharmacologiques et les techniques histopathologiques ont clairement montré que ces extraits donnés oralement ont significativement protégé l'estomac contre ce modèle d'ulcère. Cette étude doit être continue pour l'isolement des constituants actifs et pour révéler leur mode d'activité.

d) Effet curatif de blessures

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

e) Effet inhibiteur d'enzyme

Ferreira et ses collaborateurs (2006) ont étudié l'effet de l'huile essentielle, l'extrait éthanol et la décoction des feuilles de *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 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.

f) Effet antimicrobien

Des huiles essentielles de plusieurs plantes ont été évaluées pour leur potentiel dans le control du mycète aflatoxinogénique *Aspergillus parasiticus* CFR 223 et de la production d'aflatoxine. L'huile des feuilles de laurier a stimulée in vitro la croissance des mycéliums du mycète mais a réduit la concentration de son aflatoxine de 55.21% (Atanda et *al.*, 2007).

II-Matériel et méthode

II-1-Matériel utilisé :

Le matériel regroupe, l'appareillage, les réactifs chimiques(annexe4) , le matériel végétal et échantillons de sang .

II.1 .1. Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de laurus nobilis L, que nous avons échantillonnées et récoltées au niveau de la région de kherrata wilaya de Bejaia durant le mois mars 2018 dans un endroit naturel loin de toute pollution.

Les feuille fraiches de Laurus nobilis L ont été séchées dans l'étuve de 40°C pendant une semaine, Puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, les particules ainsi obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis d'un diamètre de 125µm pour récupérer à la fin une poudre homogène.



Figure5 : photographie original des feuilles fraiche et sèche du laurier récolté au niveau de la région de kherrata

II.1 .2.Echantillons de sang

Du sang frais a été collecté au-dessus du code d'un volontaire sain, au niveau du centre médicale de l'université et les prélèvements sanguins ont été réalisés sur des tubes héparinisés.

II.1.4.1. Préparation des globules rouges

Le sang récupéré à été centrifugé à 3000 rpm, pendant 10 min. Le surnageant est éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à obtention d'un surnageant clair, Les globules rouges ont été mesurées afin de préparer une suspension de 10 % de globules rouges humains, avec de la solution isotonique.

II. 2. Méthodes

II. 2. 1. Préparation des extraits

Pour les extraits éthanolique et aqueux préparés, l'extraction appliquée consiste en une macération de la poudre fine des feuilles de laurier dans de l'éthanol (96%) et ou l'eau à un rapport de 1g pour 8ml, sous agitation douce pendant 24 heures a température ambiante. Après décantation pendant 24 heures, le surnageant a été filtré puis versé dans un cristalliseur. Les deux extraits ont été évaporés sous la hotte jusqu'à ce que le poids de l'extrait reste constant et le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = \frac{P1}{P0} \times 100$$

P0 : poids de la poudre avant extraction

:

P1 : poids de l'extrait sec après extraction

II .2.2 .Etude phytochimique

II .2.2. 1.Dosage des phénols totaux

Principe : Les composés phénoliques réagissent avec le Folin-ciocalteu (mélange jaune) mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique est réduit, lors de l'oxydation des poly phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène .La coloration bleue est proportionnelle au taux de composés phénolique présents dans l'extrait

Mode opératoire : Le taux des phénols totaux est déterminé par la méthode au Folin-Ciocalteu décrite par (Naithani et al ., 2006) avec quelques modification, à température ambiante et dans chaque tubes a essai 100µl de solution d'extrait ou standard a une concentration de 1mg /ml, ont été mélangé avec 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu à (50%) et 2ml de carbonate de sodium(Na₂CO₃) à 2% . La préparation a été laissée incubé pendant 30

min à l'abri de la lumière, puis l'absorbance a été mesurée à 750nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations de l'acide gallique dans les mêmes conditions que l'échantillon et la teneur en phénols totaux des extraits est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (Mg Eq acide gallique/g d'extrait)(annexe N°1)

II .2.2.2.Dosage des flavonoïdes

Principe : Les composés phénoliques forment un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. L'aluminium perd deux électrons et s'unit à deux atomes d'oxygène du composé phénolique qui est dans ce cas donneur d'électrons .

Mode opératoire : Le dosage a été réalisé selon la méthode décrite par (Bahorun et al ., 1996), à température ambiante, dans chaque trois tube à essais 1ml de la solution d'extrait ou standard d'une concentration de 1mg/ml ont été mélangé avec 1ml de la solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2%. L'échantillon à été incubé par la suite a l'abri de la lumière pendant 10m, l'absorbance est mesuré à 430nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent quercetine par gramme d'extrait (Mg Eq quercetine /g d'extrait) déduits a partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations de quercetine (annexe N°2).

II.2.2.3. Dosage des tannins

Principe : Ce test est basé sur la condensation des composés phénoliques avec la vanilline dans un milieu acide.

Mode opératoire : a température ambiante ,0.5ml de la solution d'extrait ou standard d'une concentration de 1mg /ml, 3ml de vanilline a 4% et 1,5ml de HCl ont été mélangés et incubé pendant 15mn a l'abri de la lumière (Ba et al ., 1978). L'absorbance est mesuré à 500nm, Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations de l'acide gallique dans les mêmes conditions que l'échantillon et la teneur en tannins des extraits est exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg Eq catéchine/g d'extrait) (annexe N°3).

II.3.Évaluation de l'activité antioxydant

II.3.1.Évaluation de l'activité anti radicalaire contre le radical DPPH

Principe : Le DPPH (1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl) est un radicale libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense .Ce radicale perd sa coloration native quand il est lié à des substances antioxydants, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune. Le virage vers cette coloration et

l'intensité de la décoloration dépend de la nature et de la concentration des principes actifs présents dans les extraits de plantes.

Mode opératoire : L'évaluation de l'activité anti-oxydante contre le radical DPPH a été réalisée selon la méthode décrite par (Annie et al., 2006) avec quelques modifications. 1ml de l'extrait ou standard d'une concentration de 100 µg/ml sont ajoutés à 1ml de solution DPPH de concentration 0,1mM, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 mn, et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH, l'absorbance a été mesurée à 517nm. L'étude en fonction des concentrations a été réalisée dans le but de calculer les valeurs IC50. Le pourcentage de l'activité scavenger du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité scavenger du DPPH} = (A_E - AC / AB - AC) \times 100$$

AC : absorbance du control

AB : absorbance du blanc

AE : absorbance de l'échantillon

II. 3.2.Évaluation de l'activité anti radicalaire contre le radical ABTS

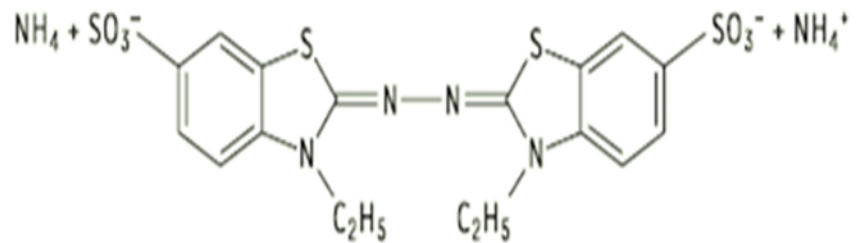
Principe : Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de l'ABTS (Figure 4), ce dernier perd un électron pour former un cation (ABTS^{•+}) de couleur bleue sombre en solution.

Mode opératoire : L'évaluation de l'activité anti-oxydante contre le radical ABTS a été réalisée selon le protocole décrite par (Re et al., 1999) avec quelques modifications. La solution de l'ABTS (7mM) de a été préparée dans le persulfate de potassium (2.45mM) et incubée à l'obscurité à température ambiante pour une période allant de 12 à 16h. 1ml de la solution ABTS^{•+} (diluée dans du méthanol jusqu'à obtention d'une absorbance de 0.7± 0.02 à 734 nm) a été ajouté à 10µl d'extrait ou standard différentes concentrations d'échantillons et l'absorbance a été mesurée à 734nm. L'effet des extraits a été comparé à celui du trolox et le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} est calculé comme suite :

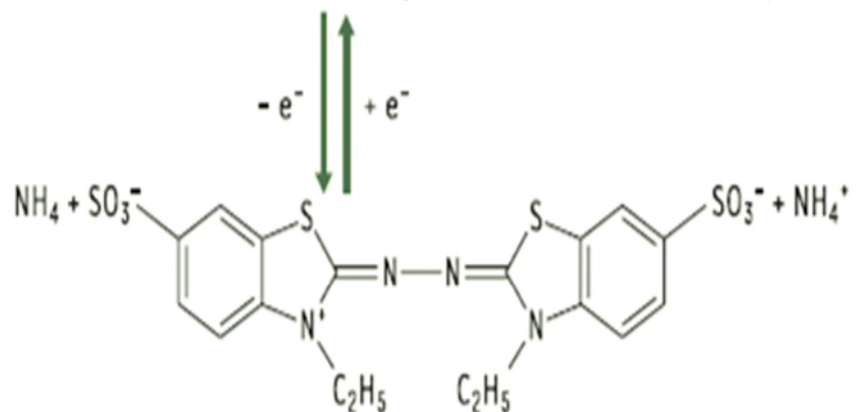
$$\% \text{ d'inhibition (radical ABTS}^{\bullet+}) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A₀: Absorbance du contrôle (contenant seulement l'ABTS)

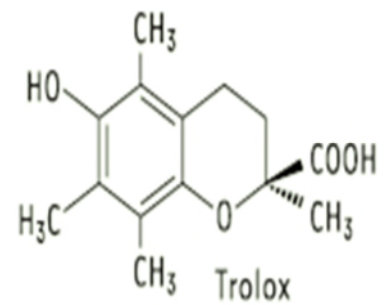
A₁: Absorbance de la solution de l'ABTS contenant l'extrait ou le standard.



ABTS : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)



ABTS^{•+}



Trolox

(ou antioxydant à tester donneur de H•)

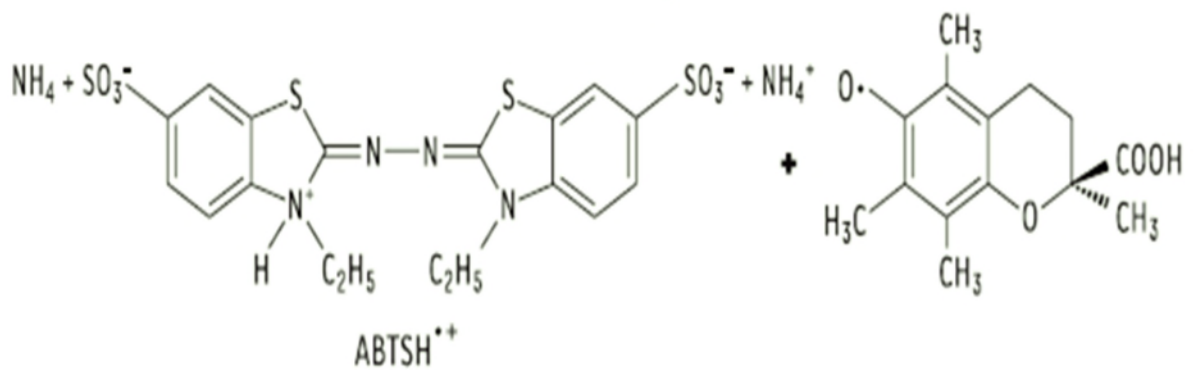


Figure 7 : Formation et piégeage du radical $ABTS^{•+}$ par un antioxydant donneur de $H^•$ (Marc *et al.*, 2004).

II.5.Évaluation de l'activité anti hémolytique

II.5.1.Étude du stress oxydant sur les globules rouges humain

Dans la présent de travaille, le recours à l'utilisation des globules rouges vise à étudier *in vitro* l'effet probable des extraits de feuilles de laurier sur la stabilisation de la membrane cytoplasmique , par le test de cytotoxicité et anti hémolytique .Ce dernier est quantifié par le dosage des cellules hémolysées .

II.5.1.1.Test de cytotoxicité

Principe : afin de cibler les concentrations a utiliser, un teste de cytotoxicité des extraits étudiés à été réaliser, vis-à-vis des globules rouges humain, par mesure du pourcentage d'hémolyse et par l'observation microscopique .Le principe basé sur le contact des hématies avec les extraits de feuilles de laurier à différentes concentrations dans une solution isotonique et le suivie de la concentration des cellules hémolysées .

Mode opératoire : La méthode suivie pour déterminer la cytotoxicité des extraits de feuilles de laurier est celle rapportée par(**Okoko et Ere ,2014**). Les extraits sont testés à des concentrations allant de 100, 250, 500et 1000* μ g /ml.

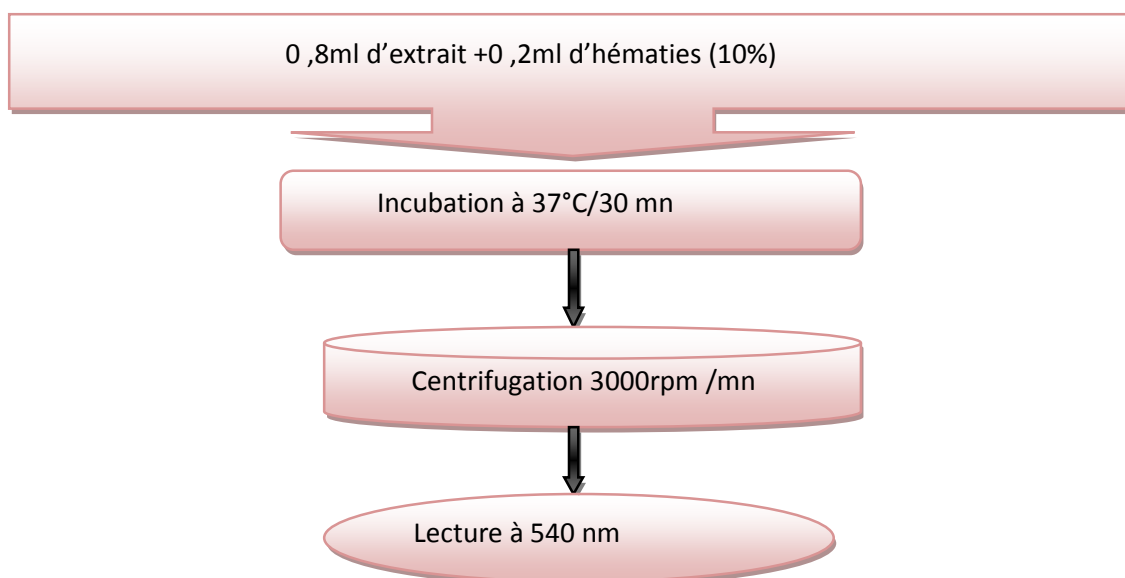


Figure 8 : Protocol d'évaluation du teste de cytotoxicité (**Okoko et Ere,2012**)

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hémolyse dans les échantillons témoins (témoin négatif et témoin positif) et les échantillons traités avec les deux extraits.

$$\% \text{ d'hémolyse} = (\text{AE}/\text{AC}) \times 100$$

AE : Absorbance de l'échantillon.

AC : Absorbance du control positive (solution hypotonique).

II-5-3- Teste anti-hémolytique

Principe : Dans le but de démontrer l'effet protecteur des deux extraits de feuilles de laurier sur la préservation de l'intégrité cellulaire, qui est essentiellement liée au globule rouge , nous avons soumis les érythrocytes à des conditions de stress oxydant par l'ajout d'un oxydant AAPH (2 ,2-azobis (2amidino propane) dihydrochloride) .La décomposition thermique de ce composé génère des radicaux libres à vitesse constante qui attaquent la membrane des globules rouges et lorsque les antioxydant endogène sont épuisés , la membrane des globules rouges éclate et l'hémoglobine intracellulaire est libéré . Le suivi de l'hémolyse est évalué quantitativement par un dosage spectrophotométrie à 545nm.

Mode opératoire : L'effet anti-hémolytique des deux extraits des feuilles de laurier est évalué in-vitro par la méthode du AAPH rapporté par **Zhang et al ., (2011)**. Le trolox est utilisé comme molécule de référence.

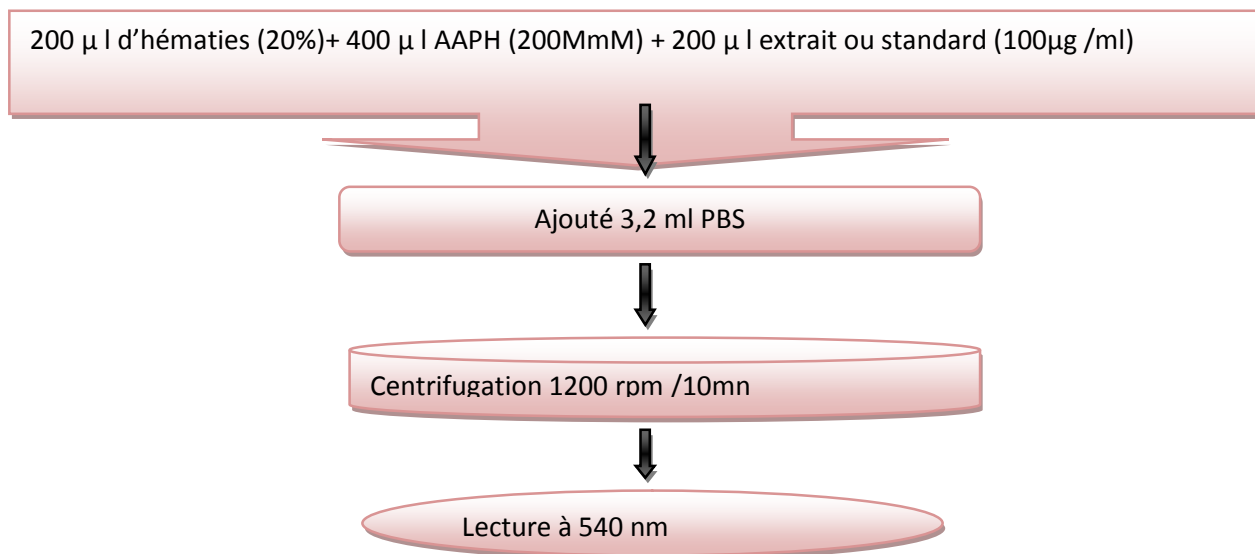


Figure 9 : Protocole d'évaluation de l'effet anti-hémolytique (Yuan et al., 2005) .

Étude statistique : Les tests de l'évaluation de l'activité antioxydant ainsi que le criblage phytochimique sont exprimées par moyenne de trois essais avec \pm l'écart type. L'analyse statistique a été effectuée, en utilisant le logiciel statistica, par l'analyse de la variance (ANOVA /MANOVA) . Les valeurs de $P < 0.05$ sont considérées significatives.

III . Résultats et Discussion

Le présent travail s'articule sur trois parties, on retrouvera ainsi les résultats concernant l'extraction et le dosage des composés phénoliques, ceux relatifs à l'activité antioxydant des extraits et enfin les résultats de l'activité anti-hémolytique.

III.1.Préparation des extraits

Dans le but d'optimiser l'extraction, le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer la poudre fine ayant un diamètre inférieur à 125 µm. L'efficacité de l'extraction dépend de plusieurs paramètres ; entre autres, le diamètre des particules de la poudre, le volume et le type de solvants utilisés et le nombre d'extractions. D'après (**Lim et Mutijaya., 2007**), et le taux d'extraction des principes actifs est inversement proportionnel avec la taille des particules obtenues après le broyage.

L'extraction a été réalisée par l'utilisation de deux solvants (ethanolique et aqueux) pour extraire le maximum de composés phénoliques. D'une part, en raison de sa polarité l'éthanol est reconnu pour être un bon solvant extracteur de principes actifs à partir des plantes médicinales, moins altérant que le méthanol qui peut exercer un effet de méthanolyse sur les tannins, pouvant perturber ainsi la teneur réelle des extraits en ces composés (**Bruneton., 1987**) et d'autre part l'utilisation traditionnelle des feuilles en infusion. La macération de la poudre a été suivie; d'une agitation pour établir un bon contact entre le solvant et les particules de la poudre, d'une décantation et puis d'une filtration. Les taux d'extraction sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau II: Taux d'extraction (%) de feuilles de *Laurus nobilis*.

Solvants	Taux d'extraction (%)
Ethanol	13.6%
Aqueux	7.03%

L'extrait éthanolique des feuilles de *L.nobilis* a présenté un taux d'extraction plus élevé (13.06%) que celui obtenu avec l'eau (07.03%). Cette méthode d'extraction menée à température ambiante, permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur

dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction. En effet, certains composés de structure sensible et instable comme la catéchine peuvent être réduits à des températures qui dépassent 35°C. Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le Contenu total en phénols, flavonoïdes et tannins et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee et al., 2003).

Le critère de taux d'extraction n'est pas suffisant pour préconiser la richesse d'un extrait en composés phénoliques car les extraits de plantes contiennent d'autres pigments. Cette évidence est montrée dans l'étude de quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins discutés ci-dessous.

III.2. Quantification des composés phénoliques

Dans le but d'évaluer les teneurs en molécules actives des extraits préparés à partir des feuilles de *L. nobilis*, un dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins a été effectué. La principale raison pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont attribués.

III.2-1. Quantification des phénols totaux

La méthode de Folin-Ciocalteu est très sensible mais malheureusement peu spécifique car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer tels que les caroténoïdes et la vitamine E (Kahkonen et al., 1999), sucres et de protéines, cependant, elle reste la méthode la plus utilisée. Les teneurs des extraits de feuilles de *L. nobilis* (figure 10) ont été exprimées en équivalent d'acide gallique à partir de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions (annexe1). A la première lecture des résultats, nous constatons que les teneurs des extraits varient de 21 mg Eq acide gallique/g d'extrait pour l'extrait éthanolique à 13 mg Eq AG/g d'extrait pour l'extrait aqueux.

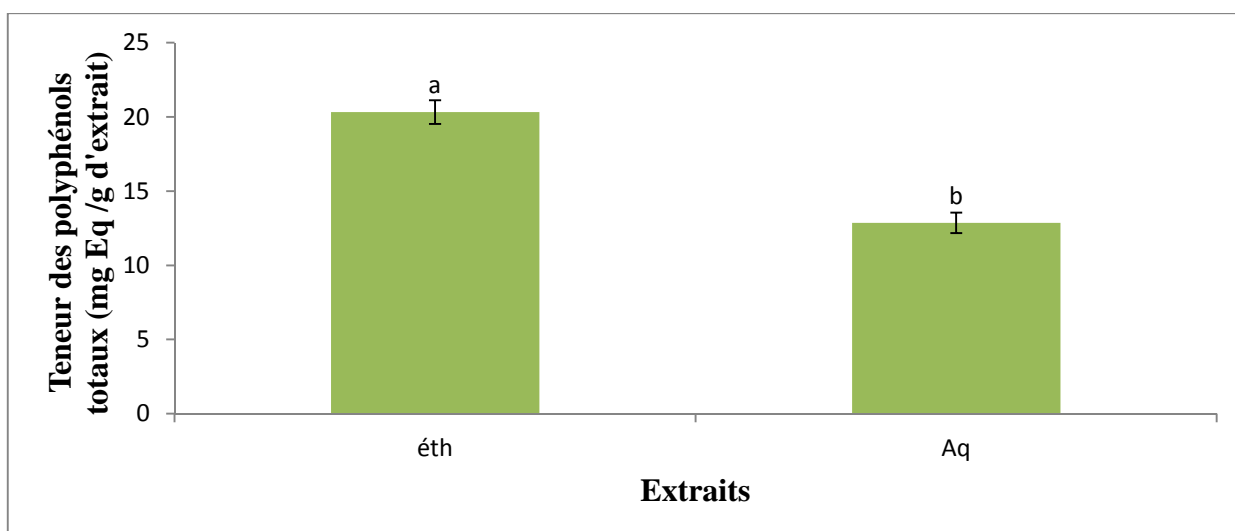


Figure 9: histogramme représentatif des teneurs des extraits de feuilles de *L. nobilis*

En phénols totaux.

- Aq : extraits aqueux du laurier, éth : Extrait éthanolique de laurier
- Les barres verticales représentent les écarts types
- Les différentes lettres présentent différentes significativités entre elles ($P < 0.05$)
- $a > b$

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueux (Macheix et al., 2006). Cette propriété est prouvée par nos résultats de dosage des phénols totaux dont l'évaluation globale des teneurs des extraits en ces composés indique qu'ils sont plus concentrés dans l'extrait organique qu'aqueux.

Les valeurs relativement faibles des deux extraits bruts peuvent être dues à l'encombrement qui empêche le contact entre le réactif et certains composés qui se trouvent liés. Une étude menée par Katanilic et ses collaborateurs (2005) dans laquelle un classement de 70 plantes médicinales a été effectué selon leur richesse en phénols totaux, apporte que les taux trouvés varient de 9 à 218 mg Eq AG/g d'extrait. En comparant nos résultats à ceux apportés par ces auteurs, on conclut que *L. nobilis* est relativement pauvre en ces composés.

Il est important de souligner que l'utilisation de différentes méthodes d'extraction et de dosage, pourrait réduire la fiabilité d'une comparaison entre les diverses études.

III.2.2. Quantification des flavonoïdes

Pour la quantification des flavonoïdes on utilise souvent la méthode de chlorure d'aluminium basée sur la capacité de ces composés à former des complexes de couleur jaune avec l' AlCl_3 . Dans notre étude, l'évaluation des teneurs des extraits de feuilles de *L. nobilis* en flavonoïdes a été déduite de la courbe d'étalonnage (annexe 2) réalisée avec la quercitrine et les valeurs sont exprimées en mg Eq quercitrine/g d'extrait. Les résultats sont représentés dans la figure suivante :

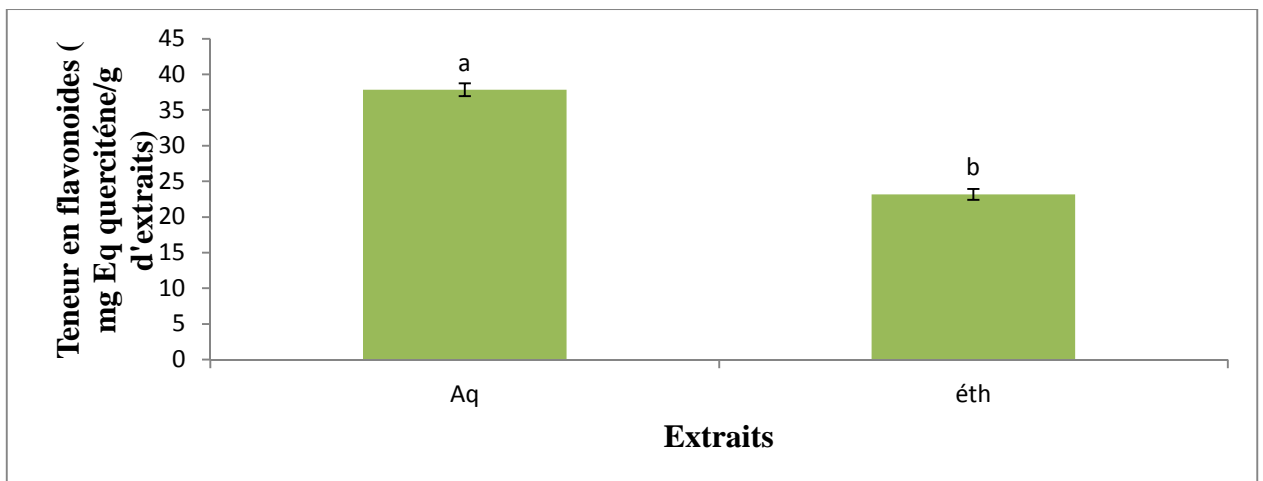


Figure 10: histogramme représentatif des teneurs des extraits de feuilles de *L. nobilis* en flavonoïdes.

- Aq : extraits aqueux du laurier, éth : Extrait éthanolique de laurier
- Les barres verticales représentent les écarts types
- Les différentes lettres présentent différentes significativités entre elles ($P < 0.05$)
- $a > b$

De ces résultats on remarque que les feuilles de *Laurus nobilis* sont plus riches en flavonoïdes polaires, un taux faible en flavonoïdes est enregistré au niveau de l'extrait éthanolique (23.16 mg Eq quercétine/g d'extrait), tandis que l'extrait aqueux a enregistré une teneur plus importante 37.85 mg Eq quercétine/g d'extrait,

Cette répartition s'explique d'une part, par la diversité moléculaire des flavonoïdes et d'autre part, par le fait que ces composés ne se trouvent pas à l'état libre dans les tissus des végétaux ; par conséquent, certains sont solubles dans les solvants polaires, tandis que d'autres sont solubles dans les solvants apolaires (Macheix et al., 2006).

III.2.3. Quantification des tannins

Il existe plusieurs méthodes pour le dosage des tannins, mais la plus spécifique reste celle qui est basée sur la condensation des composés phénoliques avec la vanilline, vu que cette propriété est étroitement liée aux tannins, sans qu'il y'ait d'autres interférents (Reed., 1995). Les teneurs des extraits de feuilles de *L. nobilis* en tannins ont été exprimées en équivalent catéchine à partir de la courbe d'étalonnage réalisée préalablement (annexe 3).

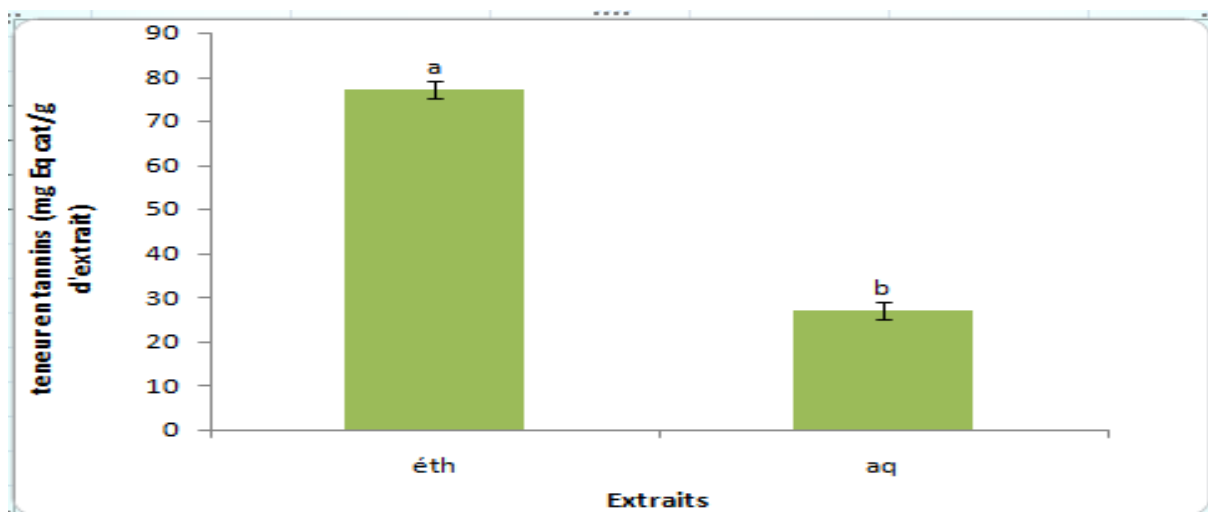


Figure 11: histogramme représentatif des teneurs des extraits de feuilles de *L. nobilis* en tannins condensés.

- Aq : extraits aqueux du laurier, éth : Extrait éthanolique de laurier
- Les barres verticales représentent les écarts types
- Les différentes lettres présentent différentes significativités entre elles ($P < 0,05$)
- $a > b$

Dans notre étude, le dosage des tannins condensés présenté dans la figure (12) réaffirme la richesse des feuilles de *L. nobilis* en ces composés, notamment l'extrait éthanolique qui renferme la teneur la plus élevée ($P < 0,05$) de 77,11 mg Eq Cat/g d'extrait, l'extrait aqueux est marqué par une quantité faible avoisinant 27,28 mg Eq Cat/g d'extrait.

Ce résultat pourrait être expliqué par l'insolubilité des tannins, en particulier les tannins condensés à haut point moléculaire, dans les solutions aqueuses (Cheynier., 2005). En comparant avec les résultats de dosage des tannins rapportés par Owen et Johns(1999), on

constate que, par rapport aux 28 plantes étudiées et dont la plus riche présente un taux de 192 mg Eq Cat/g d'extrait, *L.nobilis* est modérément riche en tannins condensée.

III.3. Evaluation de l'activité antioxydant des extraits

Étant donné l'importance des agents antioxydants sur le plan clinique et leur rôle dans la prévention de plusieurs maladies dues au stress oxydant, plusieurs d'études sont menées dans le but de trouver de nouvelles molécules douées de cette propriété, les plantes médicinales en constituent une source inépuisable vu la diversité de leur métabolites secondaire. En parallèle, sur le plan expérimental, plusieurs méthodes ont été développées pour l'évaluation de l'activité antioxydant ; parmi elles, certaines testent le pouvoir inhibiteur de ces molécules pour les enzymes productrices de radicaux libres qui sont à l'origine de stress oxydant, alors que, d'autres, tentent d'évaluer le pouvoir scavenger des radicaux libre. In *vitro*, ces méthodes se basent exclusivement sur la capacité de piégeage de radicaux libres, d'un composé comme étant un indicateur de son potentiel antioxydant (Marc et al., 2004)

Les activités anti-radicalaires des extraits ; éthanolique et aqueux de *Laurus nobilis* (feuilles) ont été étudiés à l'aide de méthodes spectrophotométriques in *vitro* en utilisant deux méthodes : piégeage du radical DPPH, piégeage du radical ABTS, dans l'objectif de refléter et de mettre en valeur l'application de cette plante en médecine traditionnelle. Les extraits ont été testés à différentes concentrations afin d'exprimer les résultats en terme des IC₅₀.

III.3.1. Activité anti-radicalaire contre le radical DPPH

Le radical DPPH (2,2 diphényl 1-picryl hydrazyl) est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydant des molécules biologiques, c'est un radical synthétique organique stable, qui peut être réduit en présence d'antioxydants par transfert d'électrons ou de protons. Ainsi la coloration violette typique du DPPH se dissipe et l'intensité de la réaction dépendra du potentiel antioxydant des substances testées (Elmastas et al., 2006). Les résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits et du standard à 100µg/ml, sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH et sont illustrés dans la figure suivante :

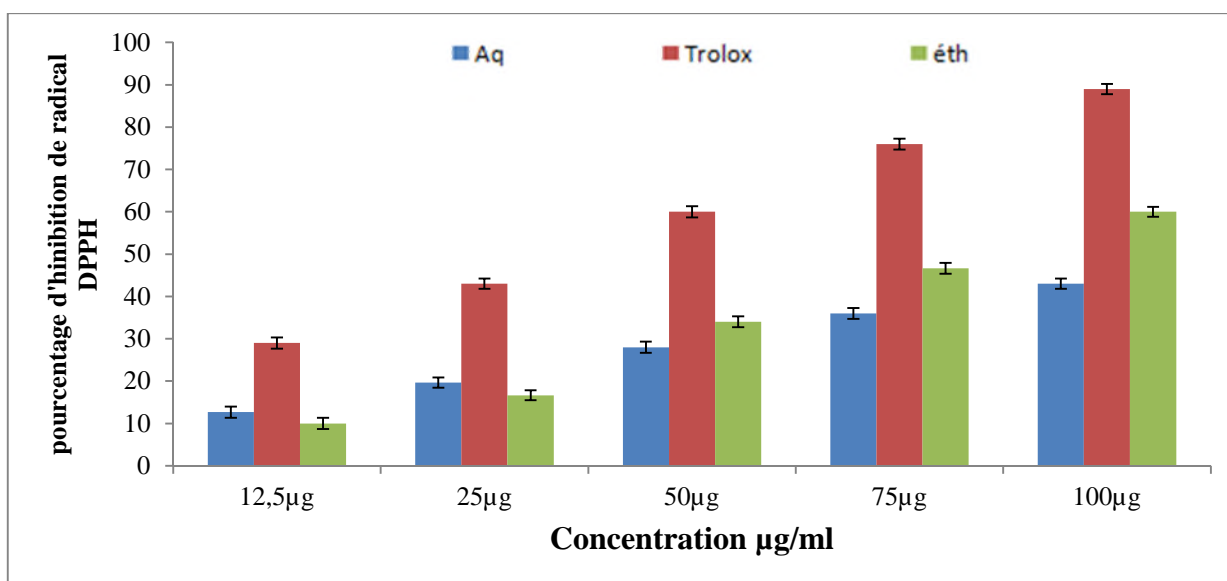


Figure12 : Effet anti radicalaire contre le radical DPPH des extraits des feuilles de *L. nobilis* et le standard à différent concentration . éth=Ethanol ; Aq=Aqueux et Trolox.-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec + l'écartype.

- Aq : Extraits aqueux du laurier, éth : Extrait ethanolique de laurie ,Trolox : standard
- Les barres verticales représentent les écarts types
- Les différent lettres présentent différences significatives entre elles (P<0.05)

L'extrait organique des feuilles de *L. nobilis* a exhibé un puissant effet scavenger contre le radical DPPH (figure 14), ce dernier est dose dépendant, l'extrait ethanolique à enregistré un pourcentage d'inhibition de 60,25% et une valeur IC₅₀ de 6.46±0. µg/ml , suivi de l'extrait aqueux avec 43% et IC₅₀de 7.89 ±0.3µg/ml, ces derniers sont superieurs à ceux obtenu par le trolox. Ce résultat s'expliquerait non seulement par la richesse de l'extrait organique en phénols totaux, mais aussi par la nature de ces composés phénoliques hydrosolubles. Ces composés sont caractérisés par la présence des groupements hydroxyles qui jouent un rôle primordial dans l'activité anti-radicalaire (Robards et al., 1999).

III.3.2. Activité anti-radicalaire contre le radical ABTS

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de l'ABTS ; l'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) en présence de H₂O₂ où d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS^{•+}, en contact avec un donneur de H[•], conduit à l'ABTS⁺ et à la décoloration de la solution (Marc et al., 2004). Les résultats de l'activité anti-radicalaire

des extraits et de standard à 200 μ g/ml, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical ABTS sont illustrés dans la figure suivante :

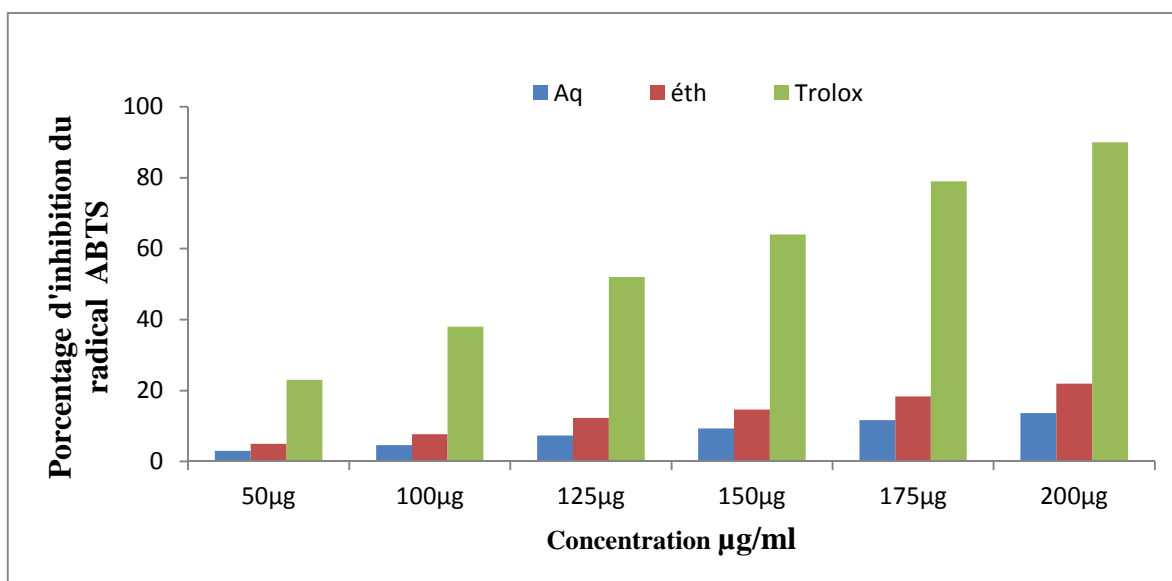


Figure 13: Effet anti radicalaire contre le radical ABTS des extraits des feuilles de *L. nobilis* et le standard à différent concentration. éth=Ethanol ; Aq=Aqueux et Trolox.-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec + l'écartype

En examinant ces résultats, on constate que les extraits de feuilles ont exhibé un faible effets scavenger contre ce radical ; l' extrait éthanol présente la meilleure activité avec un pourcentage d'inhibition de 22% et une valeur CI_{50} de $16.99 \pm 1.3 \mu$ g/ml, tandis que l'extrait aqueux enregistre un pourcentage d'inhibition de 13.66% et une valeur CI_{50} $26.20 \pm 1.1 \mu$ g/ml, ces derniers sont largement supérieurs au résultats obtenus par le Trolox utilisé comme molécule de référence, Ces différences peuvent être expliquée par le fait que le trolox est une molécule pure contrairement aux extraits qui sont un mélange de composés .

III.4. Activité anti-hémolytique

III.4.1. La viabilité cellulaire

Plusieurs études ont montré que certains métabolites secondaires notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes et les saponosides possèderaient des propriétés anti-hémolytique (Fiot *et al.*, 2006). À fin d'étudier l'effet des extraits de *Laurus nobilis* sur les globules rouges, un test de cytotoxicité in vitro est réalisé. L'évolution de l'effet hémolytique est évaluée par rapport à un témoin négatif et un autre positif contenant respectivement de

(globules rouge+ H₂O) (NaCl0.9%+Globules rouge), les résultats obtenus sont illustrés dans cette figure.

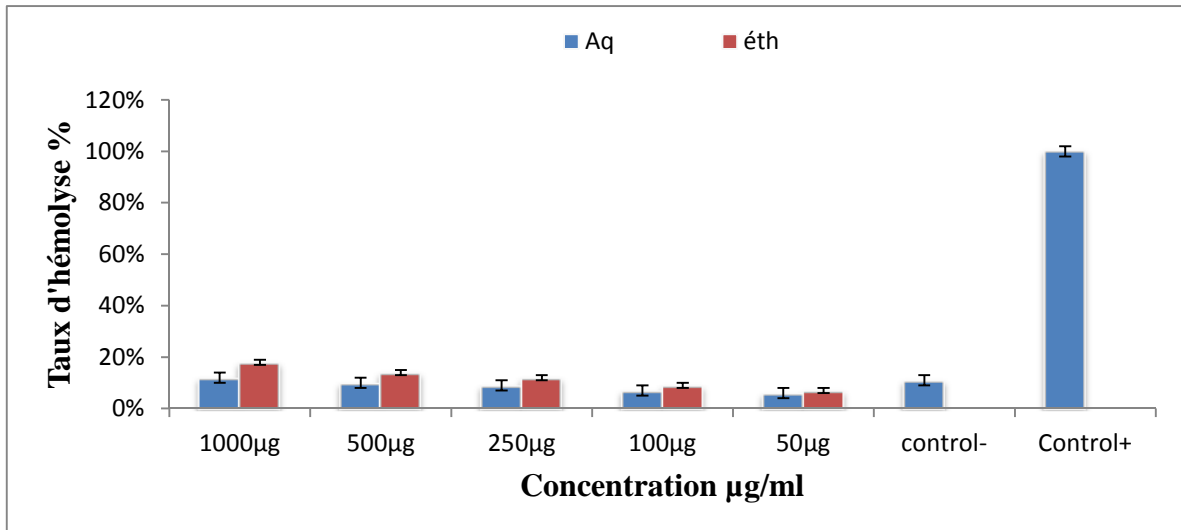


Figure14: Histogramme des taux d'hémolyse (%) des globules rouges traités avec les extraits à différentes concentration.

- AQ : Extraits aqueux de laurier, éth : Extrait éthanolique de Laurie
- Control+ : globule rouge + eau distillé ; Control- : globule rouge + Nacl

Ces résultats révèlent que le traitement des globules rouges par les extraits de *L. nobilis* cause une augmentation significative du taux d'hémolyse, en fonction des concentrations. En effet, l'extrait éthanolique exhibe un taux d'hémolyse non considérable (12,075 %) à 250 µg/ml. Tandis que le pourcentage d'hémolyse de l'extrait aqueux est de 10.25 %.

L'observation microscopique des frottis sanguins, ne révèle aucune différence morphologique entre les cellules traitées avec les extraits de *L.nobilis* et le témoin négatif. À l'exception, à la concentration 1mg/ml ou on remarque quelques cellules hémolysées (flèche noires) mais elle restent négligeable par rapport aux cellules non hémolysées (Flèche blanches)(figure 15).

III.4.2-Test anti hémolytique

À fin d'étudier l'effet des extraits de *Laurus nobilis* sur les globules rouges, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ces dernières sont soumises à des conditions de stress oxydant provoquer par l'ajout du AAPH (2,2-azobis(2 amidinopropane) dihydrochloride), les ROS ainsi formés conduisent à des altérations membranaires et par conséquent une hémolyse (bureau et al., 2005). Les résultats sont représentés dans (figure 15).

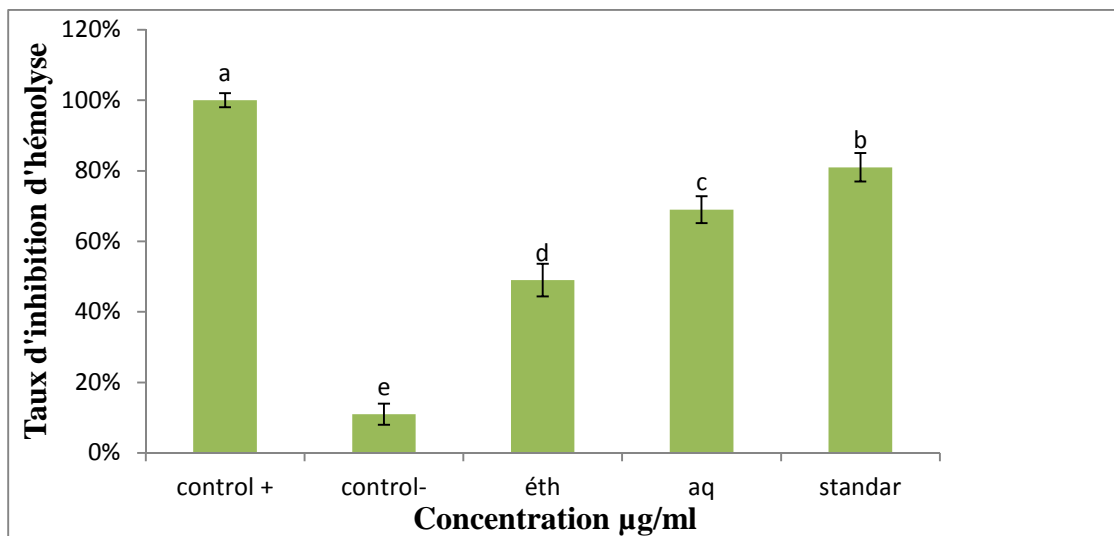


Figure 15: Histogrammes des effets protecteurs globules rouges humains contre l'hémolyse induit par APPH.

- AQ : Extraits aqueux du laurier, éth : Extrait éthanolique de Laurie
- Control+ : globule rouge + eau distillé, control- : globule rouge +APPH
- Les valeurs désignées avec les différente lettres indiquent que il existe une différence significative ($P < 0.05$).
- $a > b > c > d > e$

L'effet protecteur des extraits des feuilles de *laurus nobilis*, contre l'hémolyse des globules rouges, provoqué par l'AAPH, vari significativement entre les extraits et atteint un pourcentage maximum de 69.18 % pour l'extrait aqueux à une concentration de 1000 µg/mL.

Tandis que l'extrait organique donne un effet inhibiteur de 48,04% à la même concentration ces effets restent inférieurs à celui de la molécule standard (82.02%), ce qui peut être attribué aux flavonoïdes concentrés dans l'extrait aqueux.

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en l'hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (**Arbos et al., 2008**).

Dans l'érythrocyte, La décomposition du AAPH produit un RL qui attaque les lipides polyinsaturés dans la membrane ce qui provoque la peroxidation lipidique (**Dwight et Hendry, 1995**). Il existe plusieurs antioxydants tels que la vitamine E, la vitamine C et les flavonoïdes qui inhibent l'hémolyse (**Tabart et al., 2009**)

Conclusion et perspectives

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé de d'augmenter durant ces dernières années dans le but de recherches des alternatives aux substances chimiques qui présentent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement. Le présent travail c'est intéressé à l'évaluation quantitative et qualitative des substances antioxydant contenue dans les feuilles d'une plante largement utilisée en médecine traditionnelle : *Laurus nobilis* et d'estimer l'activité antioxydant *in vitro* par différentes méthodes à savoir l'effet scavenging du radical DPPH et du radical cationique ABTS⁺ ainsi que l'étude de l'activité anti hémolytique *in vitro*.

Le procédé d'extraction utilisé nous a permis de retenir 2 extraits (éthanolique et aqueux), le dosage des différents composés phénoliques montre que l'extrait éthanolique est riches en phénols totaux, flavonoïdes et tannins.

L'activité antioxydant des extraits de *Laurus nobilis* varie considérablement, elle est fonction de la concentration et de la nature des composés phénoliques. L'extrait éthanolique des feuilles se montrent plus performants avec un meilleur effet scavenging du radical DPPH et ABTS.

Les extraits éthanolique et aqueux de laurier ne présente aucune cytotoxicité sur les globules rouges humain à des concentrations de 1000ug/ml montrant ainsi un effet anti hémolytique de 69.18 et de 48.04 % respectivement.

Un tel résultat témoigne la richesse de ces extraits en divers composés et met en valeur les diverses applications thérapeutiques de *L.nobilis*. Néanmoins, les résultats obtenus dans cette étude restent préliminaires et des études complémentaires approfondies sont envisagées et se résument dans les points suivants :

- Une évaluation de l'effet antioxydant des extraits *in vitro* par dosage des marqueurs du stress oxydant.
- Une évaluation de l'effet antioxydant et anti hémolytique des extraits *in vivo*.
- Détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires des composés actifs des extraits.

Référence bibliographiques

A

Ahmed chaudhry, N., Tariq P. (2006). Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates- Pak.J.Pharm.Sci. Vol.19(3).pp.214-218, Pakistan.

Aguilar_Martinez. (2007).H2-Erythrocytes_MB7 : Hémathologie H2_Faculté de médecine Montelieu_Nîmes.

Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R. et Issac, S. R. O.(2006). In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloid Berberine. Indian Biology and Pharmacology Bulltin, 29(9) 1906-1910.

Anton ,R, Lobstein, A.(2005) .Plantes aromatiques.Epice, aromates, condiments et huiles essentielles- Tec & Doc, Paris (France).

Aurousseau , B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la quantité de leurs produits, INRA Prod. Anim, Vol 15, PP67-82.

B

Ba, K., Tine, E., Destain,J., Cissé, N. et Thonart, P. (2010). Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. Biotechnologie agronomie société et environnement, 9 (1) :131-139.

Bacha ,WJJ et Bacha, LM.(2000). Color Atlas of Veterinary Histology, 2nd Edition, Part 6: BloodLippincott Williams and Wilkins, U. S. A .

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

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luychx M ., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C., and Pinkas M. (1996). Oxygène species scavenging activity of phenolic extracts from haw torn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneiml Forschung*. 46(11) :1086-1089.

Bolivar, P., Cruz-Paredes, C., Hernández, L.R., Juárez, Z.N., Sánchez-Arreola, E., Av Gay, Y. and Bach, H.(2011). Antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic, and cytotoxic activities of *Galium mexicanum*. *Ethnopharmacology*, 137:141-147.

Référence bibliographiques

Bruneton, J. (1987). Elément de phytochimie et de pharmacognosie. Paris : Technique et Documentation Lavoisier .345-510.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. 484,489,548,555,634 p.

Bureau, A., Lahet, J.J., Lenfant, F., Bouyer, F., Petijean, M., ehaillet, B., Freyesez, M. (2005). optimization of a mode of red blod celles for the study of anti-oxydant rung, in terms of concentration of oxidant and phosphate buffer .*Biomed pharmacother.*59:341-344.

C

Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 223S-229S.

D

Demir, V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Degirmencioglu A. (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering.* 88 (3): 325-335.

De Rijke, E., Out P., Niessen W.M.A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U.A.T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromatoger.* A1112:31-63.1016/j.chroma.01.019.

Derwich, E., Benziane Z, Boukir A. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of laurus nobilis from morocco- *Australien journal of basic and applied sciences .* Vol.3(4). pp.3818-3824, Morocco.

Descamps, E., Gelé, P., Bordet, R. et Vamecq, J. (2006). Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *La lettre du pharmacologue*, 20 (4) :107-118.

Djeridane, AM., Yousfi, B., Nadjemi, D., Boutassouma, P. et Stoker, N. (2006). Vidal Antioxidant activity of some Algerian plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity *European food Research and Technology*, 224:801-809.

F

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

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

Fu,I.,Xu,B.T.,Xu,X-S.,Gan,R-Y.et Li,H-B.(2010) .Antioxydant capacities and total phenolic contents of 56 Wild fruits from South China.Molecules.15:8602-8617.

I

Iserin ,P.(2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2. Ed. Larousse. Londres. 143-225-226p.

J

Jaureguirry, S. (2015) .Rétention et "pitting" splénique des globules rouges au cours du paludisme aigu traité par dérivé de l'artémisine,université pierre et marie .

K

Kalaiselvi, V.et Vidhya, R.(2015).In vitro membrane stabilizing activity of different extracts of bahinia tomentosa(L) leaves .World journal of pharmaceutical research ,4(4):1700-1715

Katalinic ,V., Modun, D., Music, I, Boban, M. (2005). Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'- azinobis (3- ethylbenzoline 6- sulfonate , ABTS and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. *Comparative biochemistry and Physiology, Part C*, 140, 47-52.

Koechlin-Ramonatxo,C. (2006).Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20:167-177.

L

Lee, Y., Hwang, W. et Lin, S. (2004). Antioxydant and anticancer activities of organic extracts from platycodon grandiflorum A De condole roots. *Journal of Ethnopharmacology*, (93):409-415.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., et Sarni-Manchado, P. (2006). Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. Edition Technologie et document, p :380-398.

Mannargadoo-Catin, M., Ali-Cherif, A., Pognas, J.L. and Perrin, C. (2016). Hemolysis by surfactants. A review. *Advances in colloid and interface science*, 228:1-16.

Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. and Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine/Sciences*, 20:458-63.

N

Naithani, V., Nair, S., and Kakkar, P. (2006). Decline in antioxydant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-1.

O

Okoko, T., et Ere, D. (2012). Antioxydant activities of *Solenostemon monostachyus* leaf extract using *in vitro* methodes . *Scientific Research and Essays*, 7(6):621-626.

P

Parihar, A., Parihar, MS., Milner, S. (2008). Bhat S. Oxidative stress and antioxidativemobilization in burn injury. *Burns*, 34:6-17.

Q

Quezel, P. et Santa S.(1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. 565p.

R

Rao, P.S., Kalva, S., Yerramilli, A., and Mamidi, S. (2011). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science*, 4(2):89-96.

Re, R. (1999). Pelliegrini N. ET posteggente A. Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assy. *Free Radicals in Biology and Biology Medecin*.26:1231-1237.

S

Sayyah ,M ., Valizadeh ,J, Kamalinejad, M (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole and maximal electroshock- Induced seizures. *Phytomedicine*. Vol.9(3).pp.212-216.

Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees J.F. and Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101:1012–18

Simic M., Kundakovic T., Kovacevic N.(2003). Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*. **74**: 613-616.

Spichiger ,RE., Savolainen VV., Figeat M., Jeanmonod D.(2002). Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes. 413p.

Référence bibliographiques

V

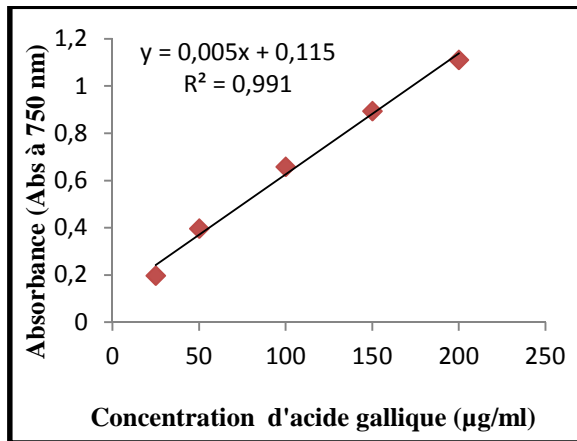
Vetvicka ,V., et Matousova, V.(1991). Arbres et Arbustes: 256 illustrations en couleurs. Ed GRÜND. 112p.

Y

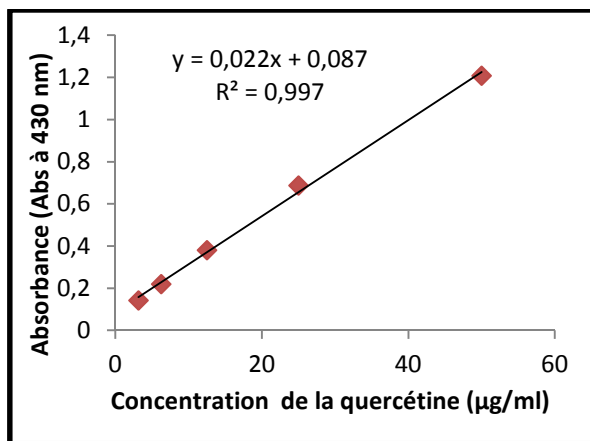
Yuan,X.,Wang,J.et Yao,H.(2005).Antioxydant activity of feruloylated oligosaccharides from wheat bran.*Food Chemistry*,90(4):759-764.

Zhang,J.,Li,Y,Chen,S-S.,Zhang,L.,Wang,J.,Yang,Y.,Zhang,S.,Pan,Y.,Wang,Yet Yang,L.(2015).Systems pharmacology Dissection of the Anti-inflammatory Mechanism for the Medicinal Herb *Folium Eriobotryae*.*Inernational Journal of Molecular Sciences*,16:2913-2941.

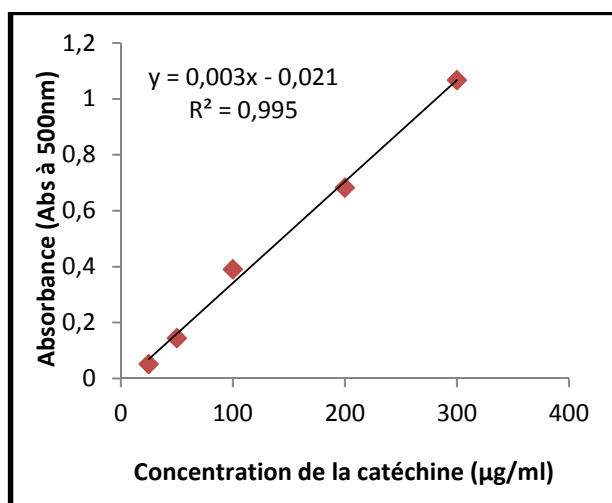
Annexes



Annexe n°1 : courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux



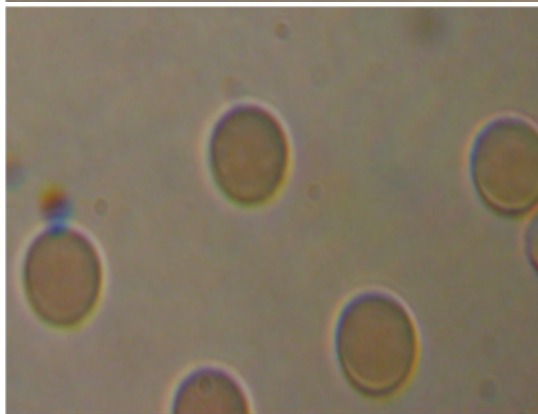
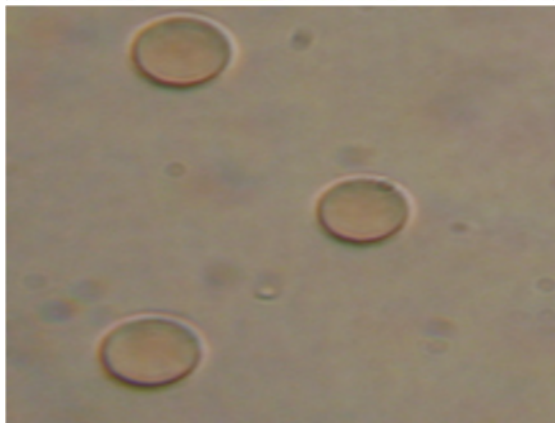
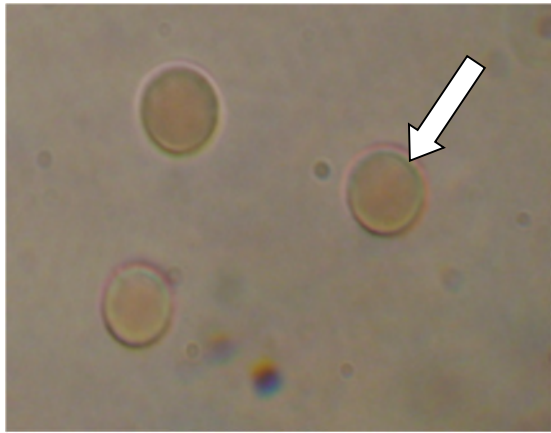
Annexe n°2 : courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes



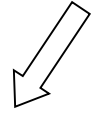
Annexe n°3 : courbe d'étalonnage avec la catéchine pour le dosage des tannins condensés

Produits chimiques	Appareils et matériels divers
-Acide gallique -Carbonate de sodium (NaCO ₃) -Catéchine/ Rutine/sang -Chlorure d'aluminium (AlCl ₃) -Chlorure de sodium (NaCl) -Folin- Ciocalteu - Chlorure d'hydrogène HCl -Ethanol (96%) -Eau distillée -chlorure d'aluminium (AlCl ₃) -quercetine -vanilline -DPPH (1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl) -ABTS (Acide 2 ; 2' -azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)	-Agitateur -Balance -Broyeur électrique -Centrifugeuse -Vortex -Etuve -Micropipettes (50µl-100µl-1000µl) -PH mètre - Spectrophotomètre -Tamiseur électrique -Tubes à hémolyse -Tubes de Falcon -Ballon à fond plat -Barreaux magnétiques -Béchers -Entonnoir - Tubes Eppendoff -Erlenmeyer -Tubes héparines

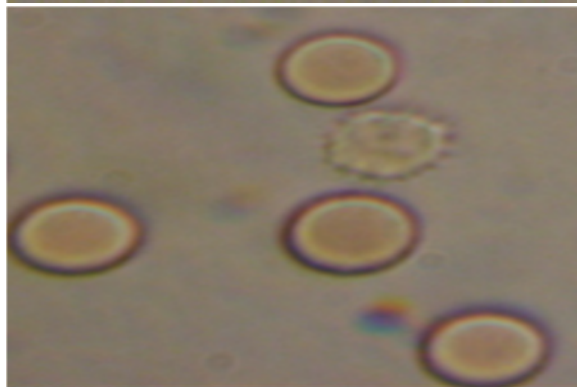
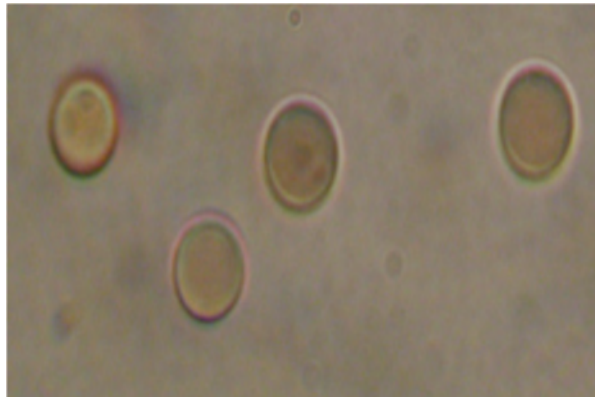
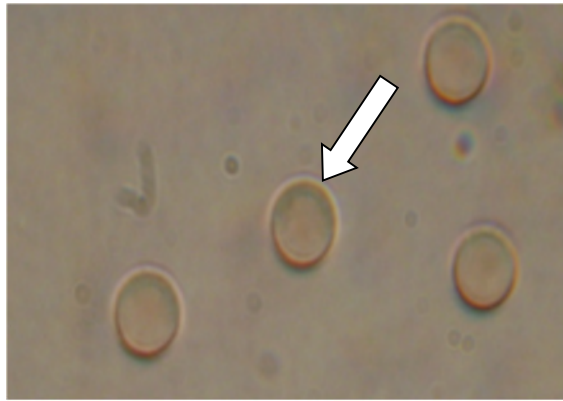
Annexe n°4 :Différents appareils et produits chimiques utilisés



Témoin négatif
50µg/ml



100 µg/ml



250µg/ml
500µg/m

1000µg/ml

Figure16 : photographie de globule rouge traitées avec l'extrait éthalonique d'*L.nobilis* et du témoin négatif vu sous microscope optique (GX1000).

Flèche noire : cellule hémolysée ; flèche blanche : cellule non hémolysée

Résumé

Laurusnobilis est une plante médicinale appartenant à la famille des lauracées. Les extraits ont été obtenus par macération en utilisant l'éthanol et/ou l'eau distillée comme solvants. La teneur en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode au chlorure d'aluminium (AlCl₃) et la teneur en tanins a été déterminée par la méthode à vanilline-HCL. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes : réduction du radical libre DPPH et réduction du radical-cationique ABTS^{°+}. Les molécules de références utilisées sont trolox, quercétine, catéchine, acide gallique. L'évaluation de l'activité anti-hémolytique a été réalisée par la mise en contact des globules rouges humains avec les extraits issus des feuilles de *Laurus nobilis*, le test de cytotoxicité qui a été réalisé à des concentrations comprises entre 100 µg/ml et 1000 µg/ml des différents extraits a montré que ces extraits n'exercent aucun effet toxique. Le test anti-hémolytique a indiqué que les extraits de *Laurus nobilis* exercent un effet protecteur sur la membrane érythrocytaire contre le stress oxydant induit par l'AAPH.

Mots clés : *Laurus nobilis*, , anti oxydant, anti hémolytique.

Summary

Laurus nobilis is a medicinal plant belonging to the Lauraceae family. The extract is obtained by maceration using ethanol and distilled water as solvents. The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu reagent. Flavonoids were evaluated using the AlCl₃ method. The content of condensed tannins was determined by the vanillin-HCL method. The antioxidant activity was evaluated using two different methods: the DPPH free radical reduction method, and the ABTS^{°+} radical-cation reduction technique. The reference molecules used are trolox, quercetin, catechin, gallic acid. The evaluation of the anti-haemolytic activity was carried out by contacting the human red blood cells with the extracts from the *Laurus nobilis* leaves, the cytotoxicity test which was carried out at concentrations between 100 µg/ml and 1000 µg/ml of the various extracts showed that these extracts exert no toxic effect. The anti-hemolytic test indicated that *Laurus nobilis* extracts exert a protective effect on the erythrocyte membrane against oxidative stress induced by AAPH.

Key words: *Laurus nobilis*, anti-haemolytic activity, anti-oxidant

Introduction

Partie bibliographique

Partie

expérimentale

Matériels
Et
méthodes

Résultats
Et
Discussions

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Laurusnobilis est une plante médicinale appartenant à la famille des lauracées. Les extraits ont été obtenus par macération en utilisant l'éthanol et l'eau distillée. Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannis déterminées par la méthode colorimétrique ont montré la richesse de l'extrait éthanolique en ces composés. L'activité antioxydante in vitro évaluée en utilisant la méthode : réduction du radical libre DPPH et ABTS^{°+} varie considérablement ; l'extrait éthanolique présente un meilleur effet anti-radicalaire avec une IC50 de 6,46 et de 16,99 µg/ml respectives. L'activité anti-hémolytique a été évaluée par la mise en contact des globules rouge humaine avec les extraits issus des feuilles de *laurus nobilis*, le test de cytotoxicité réalisé à des concentrations de a montré que ces derniers ne présentent aucun effet toxique. Le test anti-hémolytique indique que les extraits de *laurus nobilis* exercent un effet protecteur sur la membrane érythrocytaire contre le stress oxydant induit par l'AAPH.

Mots clés : Anti-hémolytique, Anti oxydant, Polyphénols, Globule rouge., *laurus nobilis*.

Abstract

Laurus nobilis is a medicinal plant belonging to the *lauraceae* family. The extracts were obtained by maceration using ethanol and distilled water. The contents of total phenols, flavonoids and tannis determined by the colorimetric method showed the richness of the ethanolic extract in these compounds. In vitro antioxidant activity evaluated using the method: reduction of free radical DPPH and ABTS^{°+} varies considerably; the ethanolic extract has a better anti-radical effect with an IC50 of 6.46 and 16.99 µg / ml respectively. The anti-hemolytic activity was evaluated by contacting the red human cells with the extracts from *laurus nobilis* leaves, the cytotoxicity test carried out at concentrations showed that they have no toxic effect. The anti-hemolytic test indicates that *laurus nobilis* extracts exert a protective effect on the erythrocyte membrane against oxidative stress induced by AAPH.

Key words: Anti-hemolytic, Antioxidant, Polyphénols, Red blood cell, *laurus nobilis*.