REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

Faculté de **T**echnologie

Département du **G**énie **d**es **P**rocédés et **E**nvironnement

Mémoire de fin d'études de Master

Spécialité : Génie des procédés pharmaceutiques

Thème

Optimisation du pouvoir enzymatique et l'évaluation des activités biologiques des extraits organiques et aqueux issue de *Laurus nobilis L.*

Présentés par :

BENGHERBIA Kaouther

BENGHERBIA Naziha

Membres de jury :

Présidente : **Dr. FERGANI. Z**

Examinatrice: **Dr. TASSIST. A**

Encadrante: **Dr. BENKIAR. A**

Co-Encadrante : **Dr. TERKMANE. N**

Promotion 2024-2025

REMERCIMENT

Nous remercions en premier lieu Dieu ﷻ le Tout Puissant de nous avoir dotés de courage, de force et de capacité nécessaire pour réaliser ce mémoire

C'est avec un grand plaisir que nous écrivons ces premières Lignes en signe de remerciement et de reconnaissance À tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin

Nous souhaitons exprimer nos plus sincères remerciements à nos encadreurs ***Dr. BENKIAR Amina*** *et* ***Dr. TERKMEN Naila****, d'avoir accepté de nous encadrer, pour leur aide, leurs conseils, leurs recommandations et leurs encouragements constants tout au long de la réalisation de notre travail.. Nous sommes très reconnaissantes envers eux*

Nous remercions également :

Dr.FERGANI Zineb *de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury*

Dr. TASSIST Amina *d'avoir accepté d'examiner ce travail et être membre du jury*

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs intervenants, et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant notre travail

Nous remercions également toute l'équipe de ***SAIDAL*** *qui nous a accueillis chaleureusement*

Un grand merci à Mrs ***Chaeben .A*** *,* ***Zouambia .F*** *et* ***Mlle Abir*** *et à toute l'équipe du laboratoire de microbiologie et physico-chimie pour leur encouragement, leur disponibilité et leurs conseils judicieux*

En fin, nous remercions l'ensemble du personnel du département et du laboratoire, pour leur aide, leurs encouragements et l'esprit de travail qui nous a été accordé ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire

Dédicace

***À** la grâce de Dieu, qui m'a accordé le don d'écrire, la réflexion profonde et la détermination nécessaire pour réaliser mes rêves*
C'est avec une très grande émotion et un immense plaisir que je dédie ce modeste travail:

*À **moi-même**, pour avoir persévéré et cru en ce projet, malgré les défis*

***À** mes chers **parents** pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer*

***À** ma très chère sœur **Fatma Zohra** et ma belle sœur **Chihaz**, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

***À** mes frères **Abdelmalek** et **Abdennour**, pour leur soutien inébranlables et leurs conseils avisés*

À** mes princes **Mohamed**, **Alaa** et **Anes** et ma princesse **Maissa
À** mes cousines surtout **Romeissa** et **Kenza**, Pour se tenir à côté de moi jusqu'à la fin de se travail, ainsi qu'à Tous mes proches de la famille **BENGHERBIA

*À ma meilleure amie **Anfel**, qui m'a toujours soutenue et encouragée en espérant bonne continuation dans sa carrière*

***À** ma chère binôme **Kaouther,** ma copine avant d **ê**'tre binôme**,** ma complice de ce chemin, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet*

*Sans oublier **Belkais** qui a partagé avec nous les meilleurs et les pires moments*

***À** tous mes collègues de la **promotion GPP** 2020/2025*

Naziha

Dédicace

Le voyage touche à sa fin, mais les échos de cette aventure résonnent encore en moi. Avec gratitude envers Dieu, qui m'a offert le don d'écrire, la capacité de réfléchir avec profondeur, et la force pour finir ce mémoire. C'est avec une âme reconnaissante et pleine d'émotion que je dédie ce modeste travail à tous ceux qui j'aime et que j'apprécie énormément de leur aide et de leur soutien durant ma vie.

*À **moi-même**, pour avoir persévéré et cru en ce projet, malgré les défis*

*À **ma mère**, qui a toujours été ma source d'inspiration et de soutien. Merci pour ton amour inconditionnel et ta foi en moi, qui m'ont permis d'atteindre ce but. Ce projet est autant le tien que le mien*

*À **mon père**, ton soutien silencieux, ta force discrète. Ce travail est le fruit de tes sacrifices, et je te le dédie avec tout mon respect et ma gratitude*

*À mes sœurs, **Selma** et **Assil**, et mon frère **Tarek**, mes étoiles de vie, pour leur présence, leurs rires et leur soutien inconditionnel. Ce projet est dédié à vous, symboles de joie et de complicité*

*À mes chères cousines, **Houda**, **Zineb** et **Sara** qui ont toujours su m'encourager et me soutenir*

*À mes tantes adorées, **Nadia** et **Nawel** pour leur amour, leur sagesse et leur soutien indéfectible*

*À mes voisines, **Marwa**, **Safaa** et **Anfel**, mes âmes sœurs, pour leur gentillesse, leur soutien et les moments inoubliables.*

*À ma chère binôme et ma copine, **Naziha**, pour son soutien, son amour et sa complicité, ce projet et aussi le vôtre.*

*À mes proches amis, **Aya** et **Naouel**, pour les moments partagés, les encouragements et l'amitié qui ont illuminé ces années.*

*À tous **mes collègues** de la promotion GPP 2020/2025, et spécialement **Belkais**, qui a été une compagne dans ce travail depuis le début.*

Ce projet est le fruit de notre parcours commun, et je le dédie à tous ceux qui ont contribué à faire de ce rêve une réalité."

Kaouther

Résumés

ملخص

سمح تحسين ظروف الاستخلاص بتحديد المعايير الأكثر فعالية لزيادة محتوى المركبات النشطة بيولوجياً فيLaurus nobilis L تم الحصول على أفضل الظروف عند 60 درجة مئوية لمدة 72 ساعة.

مما أدى إلى الحصول على أعلى عائد من البوليفينول الكلي بواقع 141,70 مجم للمستخلص الإيثانولي (٪90 إيثانول/ماء). فيما يتعلق MVSجم /EAGللمستخلص المعادل و172,31 مجم جم من المستخلص الجاف /EQبمحتوى الفلافونويدات، لوحظ اختلاف كبير بين المستخلصين: 174,88 مجم جم من المستخلص الجاف للمستخلص المعادل. تؤكد هذه النتائج /EQللمستخلص الإيثانولي، مقابل 78,99 مجم أن المستخلصات الإيثانولية غنية بشكل خاص بالمركبات الفينولية والفلافونويدات. كما سمحت عملية التحسين بتعظيم نشاط الليباز. وصل المستخلص المُعَدّل إلى أقصى نشاط له بعد 72 ساعة من الحضانة في درجة حرارة الغرفة، بمعدل 1933.33 ميكرومول/دقيقةمل، في حين أظهر المستخلص الهيدروإيثانولي (٪80 إيثانول/ماء) نشاطًا مماثلًا بمعدل 1800 ميكرومول/دقيقةمل في نفس الظروف. كشفت دراسة النشاط المضاد للأكسدة أن تبلغ 1.43 مجم/مل IC_{50}المستخلص الإيثانولي يتميز بقدرة مضادة للجذور أعلى من المستخلص المُعَدّل، مع قيم و3.48 مجم/مل على التوالي. سمح اختبار الانحلال الدموي بتقييم النشاط المضاد للالتهابات للمستخلصات.

أظهر المستخلص المُعَدّل تأثيرًا وقائيًا أكبر، مع انحلال دم بنسبة 25٪ فقط، مقابل 35.17٪ للمستخلص الإيثانولي، بنفس التركيز. هذا النشاط مشابه لنشاط ديكلوفيناك، المستخدم هنا كمرجع.

أخيرًا، أظهرت المستخلصات المُحسّنة نشاطًا مضادًا للميكروبات موجهًا بشكل أساسي ضد البكتيريا موجبة الجرام، مع فعالية أكثر وضوحًا للمستخلصات المخففة. أما الفطريات التي تم اختبارها، فقد أظهرت حساسية أكبر للمستخلصات المركزة، مما يؤكد الفائدة الدوائية المحتملة لهذه المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: البوليفينول الكلي، المستخلص المعادل، المستخلص الإيثانولي، الفلافونويدات، النشاط الليباسي، النشاط Laurus nobilis L .المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للميكروبات.

Résumé

L'optimisation des conditions d'extraction a permis de déterminer les paramètres les plus efficaces pour maximiser la teneur en composés bioactifs des extraits de *Laurus nobilis L.* Les meilleures conditions ont été obtenues à 60°C pendant 72 heures, donnant des rendements maximaux en polyphénols totaux de 141,70 mg EAG/g MVS pour l'extrait tamponné et 172,31 mg EAG/g MVS pour l'extrait éthanolique (90% éthanol/eau). Concernant la teneur en flavonoïdes, une différence significative a été observée entre les deux extraits: 174,88 mg EQ/g d'extrait sec pour l'extrait éthanolique, contre 78,99 mg EQ/g d'extrait sec pour l'extrait tamponné. Ces résultats confirment que les extraits éthanoliques sont particulièrement plus riches en composés phénoliques et flavonoïdes. L'optimisation a également permis de maximiser l'activité lipasique. L'extrait tamponné a atteint une activité maximale après 72 heures d'incubation à température ambiante, avec 1933,33 µmol/min·L, tandis que l'extrait hydroéthanolique (80 % éthanol/eau) a montré une activité comparable de 1800 µmol/min·L dans les mêmes conditions. L'étude de l'activité anti-oxydante a révélé que l'extrait éthanolique possède un pouvoir antiradicalaire plus élevé que l'extrait tamponné, avec des valeurs d'IC_{50} respectives de 1,43 mg/mL et 3,48 mg/mL. Le test d'hémolyse a permis d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits. L'extrait tamponné a montré un effet protecteur plus important, avec seulement 25 % d'hémolyse, contre 35,17 % pour l'extrait éthanolique, à la même concentration. Cette activité est comparable à celle du diclofénac, utilisé ici comme référence. Enfin, les extraits optimisés ont présenté une activité antimicrobienne ciblée, principalement dirigée contre les bactéries Gram positives, avec une efficacité plus marquée pour les extraits dilués. Quant aux champignons testés, ils ont montré une plus grande sensibilité aux extraits concentrés, ce qui confirme l'intérêt pharmacologique potentiel de ces extraits.

Mots clés : poly-phénols totaux, Laurus nobilis L, extrait tamponné, extrait éthanolique, flavonoïdes, activité lipasique, activité anti-oxydante, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne.

Abstract

The optimization of extraction conditions allowed the determination of the most effective parameters to maximize the content of bioactive compounds in *Laurus nobilis* L. extracts. The best conditions were obtained at 60°C for 72 hours, yielding maximum total polyphenol contents of 141.70 mg GAE/g DW for the buffered extract and 172.31 mg GAE/g DW for the ethanolic extract (90% ethanol/water). Regarding flavonoid content, a significant difference was observed between the two extracts: 174.88 mg QE/g dry extract for the ethanolic extract versus 78.99 mg QE/g dry extract for the buffered extract. These results confirm that ethanolic extracts are particularly richer in phenolic and flavonoid compounds. Optimization also allowed maximization of lipase activity. The buffered extract reached maximum activity after 72 hours of incubation at room temperature, with 1933.33 µmol/min•L, while the hydroethanolic extract (80% ethanol/water) showed a comparable activity of 1800 µmol/min•L under the same conditions. The antioxidant activity study revealed that the ethanolic extract has a higher radical scavenging power than the buffered extract, with respective IC_{50} values of 1.43 mg/mL and 3.48 mg/mL. The hemolysis test was used to evaluate the anti-inflammatory activity of the extracts. The buffered extract showed a stronger protective effect, with only 25% hemolysis compared to 35.17% for the ethanolic extract at the same concentration. This activity is comparable to that of diclofenac, used here as a reference. Finally, the optimized extracts exhibited targeted antimicrobial activity, mainly directed against Gram-positive bacteria, with greater effectiveness in diluted extracts. As for the tested fungi, they showed greater sensitivity to concentrated extracts, confirming the potential pharmacological interest of these extracts.

Keywords: total polyphenols, *Laurus nobilis* L., buffered extract, ethanolic extract, flavonoids, lipase activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure I.1	Quatre feuilles de la famille lauraceae	4
Figure I.2	Distribution des Lauracées à travers le monde	5
Figure I.3	Aspect morphologique de Laurier	6
Figure I.4	Feuille de laurier noble	7
Figure I.5	Coupe de feuille de Laurus nobilis L. montrant les grandes cellules sécrétrices	7
Figure I.6	Fleurs de Laurus nobilis L	8
Figure I.7	Baies entières et coupées de laurier	8
Figure I.8	Squelette de base des flavonoïdes	14
Figure I.9	Structure d'une molécule de coumarine	15
Figure I.10	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydant	26
Figure II.1	Protocole expérimental suivi pour l'évaluation qualitative, quantitative et biologique de Laurus nobilis L.	29
Figure II.2	L'arbre de *Laurus nobilis*	33
Figure II.3	Les feuilles de laurier fraiches et sèches	34
Figure II.4	Les feuilles de laurier avant et après le séchage	34
Figure II.5	Les feuilles découpées de laurier	35
Figure II.6	Protocole d'obtention d'extraits par macération	36
Figure II.7	papier de pH	37
Figure II.8	Pycnomètre	38
Figure II.9	Réfractomètre	39
Figure II.10	Protocole de l'activité lipasique	40
Figure II.11	Protocole de purification partielle de la lipase par précipitation à l'acétone	41
Figure II.12	Dosage des poly-phénols totaux	43
Figure II.13	Dosage des flavonoïdes	44
Figure II.14	Réduction du DPPH par un antioxydant	45

Figure II.15	Solution éthanolique de DPPH	46
Figure II.16	Les solutions préparées	47
Figure II.17	Le sang utilisé	48
Figure II.18	Schéma de la préparation de la suspension érythrocytaire	49
Figure II.19	Préparation des suspensions bactériennes	50
Figure II.20	Protocole d'ensemencement du milieu de culture	51
Figure II.21	Protocole d'application des disques	51
Figure II.22	Préparation d'une phase organique et aqueuse pour la formulation d'une crème cicatrisante	53
Figure III.1	Taux d'humidité des feuilles de laurier	54
Figure III.2	Effet de la température sur la coloration des extraits tamponnés	56
Figure III.3	Évolution de la coloration des extraits tamponnés de laurier (50 ºC) en fonction du temps d'incubation.	56
Figure III.4	Influence de la fraction d'éthanol sur la couleur des extraits organiques	57
Figure III.5	La densité relative des extraits tamponnés	58
Figure III.6	La densité relative des extraits éthanoliques	58
Figure III.7	Indice de réfraction des extraits tamponnés	59
Figure III.8	Indice de réfraction des extraits éthanoliques.	60
Figure III.9	Influence de la température et du temps d'incubation sur l'activité lipasique des extraits tamponnés de *Laurus nobilis* L	61
Figure III.10	Influence du temps d'incubation et de la fraction éthanol/eau sur l'activité lipasique des extraits éthanoliques de *Laurus nobilis* L.	62
Figure III.11	Activité enzymatique d'extrait tamponné avant et après purification	63
Figure III.12	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	64
Figure III.13	Teneur en poly-phénols totaux (mg EAG /g MVS) des extraits tamponnés de Laurus nobilis L.	64
Figure III.14	Teneur en poly-phénols totaux (mg EAG /g MVS) des extraits éthanoliques de Laurus nobilis L	65

Figure III.15	Courbe d’étalonnage de quercétine	68
Figure III.16	Courbe dé'talonnage d'acide férulique.	70
Figure III.17	Pourcentage d’inhibition du radical libre en fonction des différentes concentrations de l’extrait aqueux de *Laurus nobilis.*	70
Figure III.18	Pourcentage d’inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l’extrait éthanolique de *Laurus nobilis.*	70

Lise des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I.1	Dénomination internationale de Laurus nobilis L	6
Tableau I.2	Classification botanique de Laurus nobilis L	9
Tableau I.3	Composition chimique des feuilles de laurier noble	11
Tableau I.4	Principales classes des flavonoïdes	14
Tableau I.5	Certaines classes des polyphénols et leurs activités	16
Tableau I.6	Les différentes classes d'enzymes	19
Tableau I.7	Quelques applications industrielles des enzymes lipolytiques	23
Tableau II.1	Les produits chimiques utilisés dans notre étude	30
Tableau II.2	Les appareils utilisés dans notre étude	31
Tableau II.3	Les souches utilisées dans notre étude microbiologique	32
Tableau III.1	Les caractéristiques organoleptiques des extraits éthanoliques et tamponnés de *Laurus nobilis L*	55
Tableau III.2	Activité spécifique d'un extrait purifié	63
Tableau III.3	Poids d'extrait sec et rendement correspondant aux extraits éthanolique et tamponné optimisés	67
Tableau III.4	Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits éthanolique et tamponné	68
Tableau III.5	L'IC_{50} du test DPPH des extraits étudiés	71
Tableau III.6	Résultats de pourcentage d'hémolyse des extraits	72
Tableau III.7	Diamètres (en mm) des zones d'inhibition observées pour les différentes souches bactériennes	73
Tableau III.8	Diamètres (en mm) des zones d'inhibition observées pour les différentes souches fongiques	76

Liste des abréviations

%: pourcentage

Abs: Absorbance

$\boldsymbol{AlCl_3}$: Trichlorure d'aluminium

BSA : Sérum bovine albumin

C : Celsius

$\boldsymbol{CaCl_2}$: Chlorure de calcium

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EAG: Equivalents d'acide gallique

EQ : Equivalents de quercetine

FCR : Folin-Ciocalteu

j : Jours

IC50:Concentrationinhibitrice50%

mg : Milligramme

mg EAG/g : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme.

mL: Millilitre

min : Minutes

MS: Matière sèche

MVS : Matière Végétale sèche

$\boldsymbol{Na_2CO_3}$: Carbonate de sodium

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : hydroxyde de Sodium

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PAM : Plantes aromatiques et médicinales

PBS : Phosphate buffered saline

pH: Potentiel d’hydrogène

PPT : Composés phénoliques totaux.

T : Température

t: temps

UV: Ultra-violet

Table de matière

REMERCIMENT

Dédicace

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Lise des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE **1**

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Les plantes médicinales **3**

I.1.1. Généralités **3**

I.1.2. Définition **3**

I.1.3.Généralités sur la famille Lauraceae **3**

I.2. *Laurus nobilis. L* **4**

I.2.1.Historique **4**

I.2.2.Origine et distribution **5**

I.2.3.Laurier en Algérie **5**

I.2.4. Etymologie du nom *Laurus nobilis L* **5**

I.2.5.Description botanique **6**

I.2.6.Croissance et récolte **8**

I.2.7.Taxanomie **9**

I.2.8.Composition chimique **10**

I.2.9.Utilisations des feuilles de *Laurus nobilis. L* **11**

I.3.Métabolites secondaires **12**

I.3.1.Généralités **12**
I.3.2.Les métabolites primaires **12**
I.3.3.Les métabolites secondaires **12**
I.3.4.Classification des métabolites secondaires **13**
I.3.4.1.Les composés phénoliques **13**
I.3.4.2.Les terpènes **17**
I.3.4.3.Les alcaloïdes **18**
I.4.Enzymologie **18**
I.4.1.Généralités sur les enzymes **18**
I.4.1.1. Définition **18**
I.4.1.2.Propriétés générales **19**
I.4.2. LA LIPASE **21**
I.4.2.1.Généralités sur les lipases **21**
I.4.2.2.Origines et classifications des lipases **21**
I.4.2.3.Applications industrielles **22**
I.5.Activités biologiques **24**
I.5.1.Activité anti-inflammatoire **24**
I.5.1.1.L'inflammation **24**
I.5.1.2.Les anti-inflammatoires **24**
I.5.1.3.L'activité anti-inflammatoire de *Laurus nobilis L* **25**
I.5.2.Activité antioxydante **25**
I.5.2.1.Le stress oxydatif **26**
I.5.2.2.Les antioxydants **26**
I.5.2.3.Activité antioxydante de *Laurus nobilis L* **27**
I.5.3.Activité antibactérienne **28**

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre II : Matériels & méthodes

II.1. Lieu et période d'étude **29**
II.2. But de travail **29**
II.3. Matériels utilisés **30**
II.3.1. Matériel végétal **30**

II.3.2. Produits chimiques **31**
II.3.3. Appareillage **31**
II.3.4. Verrerie **31**
II.3.4. Matériel microbiologique **32**
II.4. Méthodes **33**
II.4.1. Protocole d'étude phytochimique **33**
II.4.1.1. Récolte **33**
II.4.1.2. Lavage **33**
II.4.1.3. Séchage **33**
II.4.1.4. Détermination de la teneur en eau **34**
II.4.1.5. Découpage **35**
II.4.2. Préparation des extraits **35**
II.4.3. Rendement d'extraction **36**
II.4.4. Caractérisation physico-chimiques et organoleptiques **37**
II.4.4.1. Les propriétés organoleptiques **37**
II.4.4.2. Les propriétés physico-chimiques **37**
II.4.5. Caractérisation quantitative **39**
II.4.5.1. Dosage enzymatique **39**
II.4.5.2. Dosage des polyphénoles totaux **43**
II.4.5.3. Dosage des flavonoïdes **43**
II.4.6. Evaluation des activités biologiques **45**
II.4.6.1. Activité antioxydante **45**
II.4.6.2. L'activité anti-inflammatoire in vitro **47**
II.4.6.3. L'activité antimicrobienne **50**
II.5. Formulation d'une émulsion à base des extraits obtenus **52**
II.5.1. Les constituants de l'émulsion **52**
II.5.2. Le procédé de formulation **52**

Chapitre III : Résultats & discussion

III.1.Caractérisation de la matière végétale **54**

III.1.1. Taux d'humidité **54**
III.2.Caractéristiques organoleptiques **55**
III.3.Caractérisation physico-chimique **57**
III.3.1. Détermination du pH **57**
III.3.2. Densité relative **58**
III.3.3.Indice de réfraction **59**
III.4.Analyse quantitative **60**
III.4.1.Dosage enzymatique **60**
III.4.1.1.Détermination de l'activité lipasique **60**
III.4.1.2. Purification de l'enzyme **62**
III.4.1.3.Activité spécifique **63**
III.4.2.Détermination de la teneur en polyphénols totaux (PPT) **64**
III.4.2.1.Détermination du rendement **66**
III.4.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FVT) **68**
III.5.Analyse biologique **69**
III.5.1. Activité anti-oxydante in-vitro **69**
III.5.2. Acivité anti-inflammatoire in vitro **72**
III.5.3. Activité anti-bactérienne **73**
III.6. Les propriétés biologiques de l'émulsion formulée **77**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES **78**

Références bibliographiques

INTRODUCTION GENERALE

INRODUCTION GENERALE

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

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

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé **(Hirasa et Takemasa 1998).**

L'Algérie est dotée de vastes ressources de plantes médicinales et aromatiques à des utilisations thérapeutiques très intéressantes **(Hamzaa N. et al. 2010)**. Parmi les plantes médicinales abondantes en Algérie et réputées pour leurs propriétés thérapeutiques (anti-inflammatoire, antioxydante et antibactériene), nous retrouvons *Laurus nobilis L*. connu sous le nom de laurier noble, appartenant à la famille des Lauracées. Le laurier est généralement utilisé en cuisine pour l'assaisonnement, mais également en médecine traditionnelle contre les rhumatismes, la toux, les maladies cardiaques, les infections virales, la diarrhée, etc., et comme stimulant général des sécrétions gastriques, carminatif…**(Alejo-Armijo, Altarejos, et Salido 2017).**

L'extrait de *Laurus nobilis L*. apparait comme un ingrédient important étant une source d'une classe de composés appelés poly-phénols **(Ivanović J., et al. 2009).** L'existence des composés phénoliques dans laurier lui confère la propriété d'être une bonne

source d'antioxydants naturel, anti-inflammatoires et un antimicrobien efficace **(Muñiz-Márquez et al. 2013a).**

L'objectif de ce travail porte sur l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir des extraits (aqueux et organiques) des feuilles de laurier noble et l'évaluation de leurs activités biologiques (antioxydante, anti-inflammatoire in vitro, antimicrobienne et enzymatique).

Pour ce faire, notre mémoire est structuré en deux grandes parties :

- La partie bibliographique où elle est rapportée des connaissances générales sur la plante de laurier, sa classification botanique, ses composants et quelques effets biologiques.
- La deuxième partie (partie expérimentale) comporte deux chapitres : dans le premier, nous présentons les matériels et les méthodes suivies et réalisés au laboratoire et le second chapitre sera réservé aux résultats obtenus est leurs interprétations.
- Le tout s'achève par une conclusion et quelques perspectives.

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I.1. Les plantes médicinales

I.1.1. Généralités

Depuis les temps anciens, l'homme exploite la nature à ses propres fins en particulier les plantes à la recherche de nouveaux médicaments. Cela a entraîné l'utilisation d'un grand nombre de plantes médicinales avec des propriétés curatives pour traiter diverses maladies (**Verpoorte 1998)**. Près de 80% de la population mondiale utilise des médicaments traditionnels pour les soins de santé primaires, dont la plupart utilisent des extraits de plantes(**Ahirwar 2015)**.

La médecine traditionnelle implique l'utilisation de différents extraits de plantes ou des constituants bioactifs. C'est en effet les métabolites secondaires qui sont responsables de l'activité médicinale des plantes. Ce type d'étude fournit l'application de la santé à un coût abordable (**Savithramma, Rao, et Ankanna 2011**)**.**

I.1.2. Définition

Les plantes médicinales sont depuis toujours une source habituelle de remèdes sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs (**Farnsworth et al., 1986.)**. Ces plantes appartiennent à des groupes végétaux divers, leur usage porte sur plusieurs parties (feuille, fleur, fruit, racine, écorce) et sur une grande variété de plantes (arbres, lianes, buissons, herbes, etc.). Les organes prélevés sont traités pour produire entre autres des infusions ou les décoctions qui permettent de lutter contre les maladies telles que le paludisme, les parasitoses intestinales, la diarrhée, les candidoses, les maux de cœur, le rhumatisme, la drépanocytose, le cancer leucémie, etc (**Houessou,2010**).

I.1.3. Généralités sur la famille Lauraceae

La famille des *Lauraceae* (Lauracées) regroupe des plantes angiospermes de divergence ancienne, famille qui comprend plus de 2000 espèces réparties en une cinquantaine de genres**(« LAURACEAE. », s. d.)**.Ce sont des arbres ou des arbustes à feuilles quasi persistantes.

Parmi les genres appartenant à cette famille on peut citer :

- Le genre Cinnamomum dans lequel on trouve le camphrier et les différentes cannelles ;

- Le genre Sassafras ;
- Le genre Persea, arbres (avocatiers) donnant des fruits appelés avocats ;
- Le laurier de Californie (Umbellularia californica) est un arbre aromatique originaire principalement de la côte ouest des États-Unis ;
- Les cèdres de Guyane au bois précieux ;
- Le bois de rose dont l'huile essentielle tirée du bois est utilisée en parfumerie ;

En France, cette famille est représentée par le laurier-sauce (*Laurus nobilis*)



Figure I.1: Quatre feuilles de la famille *lauraceae* **(« Prazer! Família Lauraceae.: Características das Lauraceae » 2018)**

I.2. *Laurus nobilis. L*

I.2.1. Historique

Laurier est un arbre à feuilles persistantes connu dans la mythologie grecque et romaine comme un emblème de la victoire et du succès (**Ouchikh et al. 2011**). Son nom commun viendrait du celtelauer (sempervirens) selon certains ou du latin laus, louange, pour souligner les propriétés médicinales de la plante, déjà louées dans l'Antiquité(**Ballabio et Goetz 2010**).

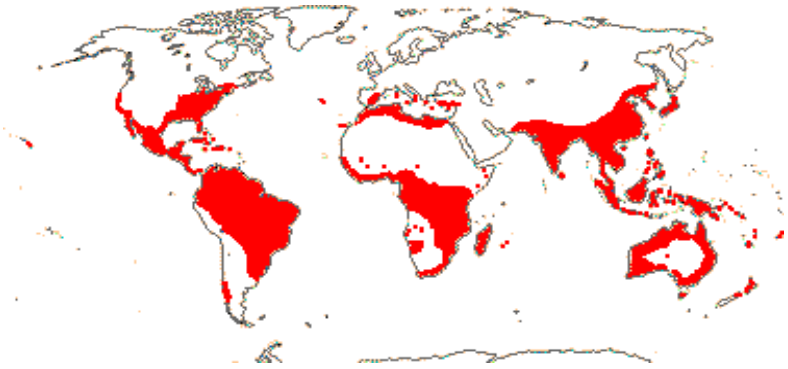
En Grèce ancienne, l'oracle de Delphes utilisait le laurier dans ses rituels de divination. A Rome, on croyait que le dessèchement de l'arbuste annonçait un désastre. A la même époque, les feuilles de laurier étaient à la fois un médicament et une épice. Pendant les saturnales, des fêtes célébrées au mois de décembre, le feuillage était tressé en guirlandes. Le laurier était consacré à Apollon et a Esculape, respectivement dieux de la Santé et de la Médecine. En infusion, ses feuilles étaient consommées pour leurs effets révulsifs et toniques sur l'estomac et la vessie ; sous forme de cataplasme, elles passaient pour soulager les piqures de guêpe ou d'abeille. Au I "siècle de notre ère, le médecin grec

Dioscoride notait que l'écorce de laurier «brise les pierres [dans les reins] et soulage les affections du foie»(**Larousse, s. d.)**.

I.2.2. Origine et distribution

Originaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment, les feuilles sont récoltées toute l'année**(Larousse, s. d.).**

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. La Turquie est l'un des principaux producteurs et fournisseurs de feuilles de laurier(**Demir et al. 2004**).



FigureI.2:Distribution des Lauracées à travers le monde **(« Angiosperm Phylogeny Website », s. d.)**

I.2.3.Laurier en Algérie

En Algérie, des arbustes de laurier sont présents dans les forêts d'aulnes réparties dans les zones humides d'Annaba, El Kala et Guerbès Senhadja. Malgré que la phytothérapie est une pratique très ancienne, seul le côté botanique de cette biomasse qui a été largement documenté jusqu'à présent. Ses propriétés biologiques ne le sont que peu(**Mediouni Ben Jemâa et al. 2012)**.

I.2.4. Etymologie du nom *Laurus nobilis L*

Etymologiquement, le nom latin Laurus signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et nobilis du latin « fameux » (**Académie de Pharmacie 1997**).

La plante possède plusieurs noms vernaculaires, Rand, est « le nom le plus connue en Algérie ».

Pour les autres dénominations voir le tableau ci-dessous.

TableauI.1:Dénomination internationale de *Laurus nobilis L*(**« Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles », s. d.**)

Pays	**Dénomination vernaculaire**
Français	laurier sauce, laurier d'Apollon, laurier commun, laurier franc, laurier noble .
Allemand	Lorbeersamen, lorbeer, lorbeerbaum, gewürzlorbeer.
Anglais	laurel oil, sweet bay, bay tree, bay, bay laurel, true laurel, roman laurel, noble laurel.
Arabe	Rand (رند), Warakate sidna mousa, (ورقة سيدنا موسى) ,El ghar (الغار)

I.2.5. Description botanique

La plante est constituée par les organes suivants **Figure I.3**



Figure I.3:Aspect morphologique de Laurier(**Beloued 1998)**

- **Ecorce et tiges**

  Les tiges des branches sont de couleur verte et orientées vers le haut. Au début de sa croissance, le tronc possède une écorce vert olive à noire qui deviendra grise au fil des années. La constitution d'une écorce véritable nécessite plusieurs années (**Botineau ,2015**).

- **Feuilles**

Le *Laurus nobilis L.* possède un feuillage persistant qui arbore une teinte sombre sur le dessus et plus claire sur la face inférieure. Les feuilles présentent une forme allongée, presque en lancette, avec des bouts acérés et un pétiole court. Le limbe possède un bord ondulé légèrement épaissi et recourbé vers l'intérieur. Les feuilles mesurent environ 3 à 5 cm de large sur 10 cm de long. Velues au départ, elles prennent ensuite un aspect brillant et glabre.



FigureI.4: Feuille de laurier noble

Au niveau cellulaire, le caractère lignifié des parois et l'enfoncement des stomates augmentent la résistance de la plante aux températures basses comme élevées. Les feuilles présentent également une odeur aromatique caractéristique lors de leur froissement, due à la présence de grandes cellules sécrétrices situées dans le parenchyme palissadique(**Teuscher et al. 2005)**.

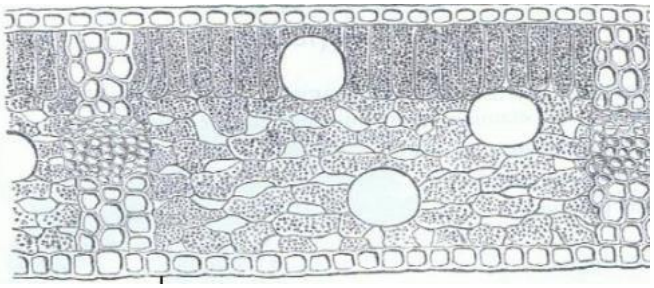


Figure I.5:Coupe de feuille de Laurus nobilis L. montrant les grandes cellules sécrétrices(**Botineau 2010**).

- **Inflorescence**

Le laurier noble est une plante dioïque c'est-à-dire que les fleurs mâles et femelles sont sur des pieds distincts. L'inflorescence est composée de petites ombelles de quatre ou cinq fleurs axillaires. Elle est de couleur blanc-crème à blanc verdâtre**.**



FigureI.6:Fleurs de Laurus nobilis L.(**« eFlore », s. d**.).

- **Fruits**

Après la fécondation, les fleurs produisent des fruits. Ces fruits sont de petites drupes qui ne dépassent pas un diamètre d'un centimètre et demi. Ce fruit a une forme en ellipse, une couleur noir-violet et renferme uniquement un grain. Le fruit de ce Laurier atteint sa maturité au cours de l'automne. Pour finir, le Laurier-Sauce se reproduit par endozoochorie. Les animaux consomment ses fruits puis dispersent les graines par leurs excréments**(« LAURIER SAUCE : Description, Utilisation, Localisation, Confusion » 2021**).



FigureI.7:Baies entières et coupées de laurier(**Botineau ,2015**).

I.2.6. Croissance et récolte

Afin de permettre une croissance correcte, un apport d'engrais toutes les 2 à 3 semaines ainsi qu'un arrosage régulier sont requis. La culture sous serre doit reproduire les

conditions d'humidité nécessaires au développement du laurier, à savoir un arrosage régulier sans excès.

Tous les hivers, la plante subit une taille régulière. En cas de gel persistant en-dessous de -5°C, la plante devra être protégée à l'abri. Un rempotage tous les 3 à 4 ans est recommandé. La récolte des feuilles peut avoir lieu toute l'année. Les feuilles sont séchées à plat après avoir été détachées de leur tige pour éviter qu'elles ne s'enroulent. La pulvérisation des feuilles leur fait perdre leur caractère aromatique (**Teuscher et al. 2005)**.

❖ **Quelque Conseils de la récolte des plantes médicinales**

Les auteurs de cette référence **(*Encyclopédie Des Plantes Médicinales (2001 Larousse)*, s. d.**) ont proposés quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- ✓ Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr.
- ✓ Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles.
- ✓ Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures.
- ✓ Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer.
- ✓ Dans la nature, un sac à dos (évitez le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique.
- ✓ Récolter uniquement des plantes saines.
- ✓ Récolter les plantes par temps sec, plutôt par une matinée bien ensoleillée

I.2.7. Taxanomie

La classification botanique de *Laurus nobilis L*. d'après (**Quézel et Santa 1962**) est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau I.2:Classification botanique de *Laurus nobilis L.*

Règne	**Plante**
Sous règne	plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées

Genre	Laurus
Espèce	Laurus nobilisL

I.2.8. Composition chimique

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

Laurus nobilis est beaucoup plus riche en :

- **Huiles essentielles :** elles représentent 1 à 3 % du poids sec dont: 30 à 70 % de cinéol, 3% d'eugénol, ainsi que plusieurs d'autres composés terpéniques (linalol, géraniol, pinène, terpinène).
- **Polyphénols :** Plusieurs flavonoïdes et dérivés ont été déterminés dans les extraits du laurier comme des flavonoïdes O-glycosides ou C-glycoside, l'acide caféique, la catéchine, les cinnamtannin et certains dérivés du kaempférol.
- **Alcaloïdes aporphiniques :** comme la cryptodorine ou l'actinodaphnine.
- **Lactones sesquiterpèniques**: comme costunolide et zaluzanine D**(Derwich 2009, Flamini et al. 2007).**

Selon une recherche faite par **(Beloued et al . 2003)** les feuilles de *Laurus nobilis L*. contiennent du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques, et une essence aromatique incolore ou jaune pâle, à saveur chaude, constituée par un mélange de 45% de cinéol, de methylchavicol, de pinène, d'eugénol, de géraniol, de Lina col, d'éthers des acides acétiques iso butyrique et valérianiques.

- **Composition chimique des feuilles**

La composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis L.* a été plus étudiée que celles des autres parties de la plante. Voir le tableau ci-dessous :

Tableau I.3:Composition chimique des feuilles de laurier noble.

Classes	Composés	Références
Acides phénoliques	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p-coumarique, fénulique, sinapique, gentisuque et vanillique.	**(Barla et al. 2007)**
Flavonoïdes	Principalement la rutine, l'isoquercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et3arabinoside. Le kaempférrol-3-rhamnoside, 2p-coumaroyles.	**(Fiorini et al. 1998)**
Hétérosides de lignanes	Méthoxyisolarecirénol -9-0-xylosides, -0sécoisolariciresinol-9-0-xylosides.	**(Uchiyama et al. 2002)**
Alcaloïdes	Actinodaphonine, isodomesticene, launobine,N-méthylactinodaphonine, nandigérine , néolitsine Etréticuline	**(Pech et Bruneton 1982)**
Lactones sesquiterpéniques	La déhydrocostuslactone, artémoreine, érémanthine, désacétyllaurénobiolide, laurénobiolide, reynosine, santamarine.	**(Matsuda et al. 2000)**

I.2.9. Utilisations des feuilles de *Laurus nobilis. L*

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce, etc) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un met de recherche scientifique intéressant **(Simic M, Kundakovic T, Kovacevic N. 2003)**, le laurier est principalement utilisé , par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique , lenteur de la digestion , éructations et flatulence **(Iserin P 2001).**

L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu' qu'anti-hémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac **(Kivçak et Mert 2002).** Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme **(Caputo et al. 2017)**.

L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales **(Sayyah, Valizadeh, et Kamalinejad 2002)**. En outre, l'huile essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants **(Demir et al. 2004,Beloued 2003)**.

I.3. Métabolites secondaires

I.3.1. Généralités

Le métabolisme est l'ensemble des processus biochimique permettant aux cellules de produire des métabolites et l'énergie qui sont nécessaires à leur vie. Par la dégradation de matières organique complexes **(Marouf et Reynaud 2007) .**

Plusieurs centaines de réaction interviennent dans une cellule. Les processus de dégradation des grosses molécules en molécules plus petites, comme ceux relevant de la digestion et la respiration, correspondent au catabolisme **(Indge 2007).**

I.3.2. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie **(Epifano et al. 2007).**

I.3.3. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ont une répartition limitée dans les différentes espèces de végétaux. Ils ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes. Comme ils participent à des réponses allopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance)**(Macheix, Fleuriet, et Jay-Allemand 2005)**.

Il existe trois grands groupes des métabolites secondaires :

- Les alcaloïdes.
- Les composés phénoliques.
- Les terpènes.

Chaque groupe renferme une très grande diversité des composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine.

I.3.4. Classification des métabolites secondaires

I.3.4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles **(Shahidi et Naczk 2003).**

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes **(Shahidi et Naczk 2003,Stalikas 2007)**. Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives**(Sun et al. 2011).**

Le terme "composés phénoliques végétaux "englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes **(Stalikas 2007).**

I.3.4.1.1. Classification des polyphénols

Une classification de ces substances a été proposée par HARBORNE en 1980. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Deux principales classes sont largement répandues :

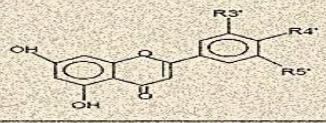
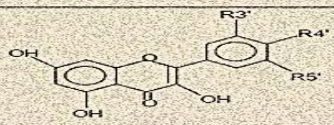
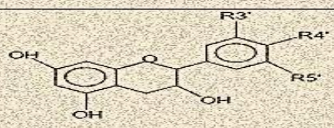
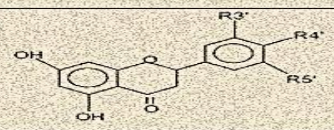
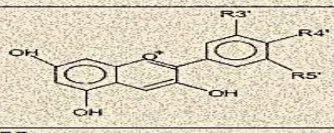
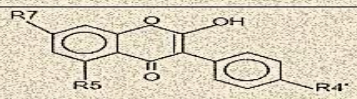
- Les flavonoïdes.
- Les tanins.

Plus rares, les coumarines et lignanes.

a) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont désignés sous le nom de vitamine P (P étant la première lettre de mot perméabilité), en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins(**Nijveldt et al. 2001)**. Ces premiers renferment une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols **(Seyoum, Asres, et El-Fiky 2006)**, ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles(**Medi 2004)**

Tableau I.4:Principales classes des flavonoïdes **(Narayana K ,et al 2001)**

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

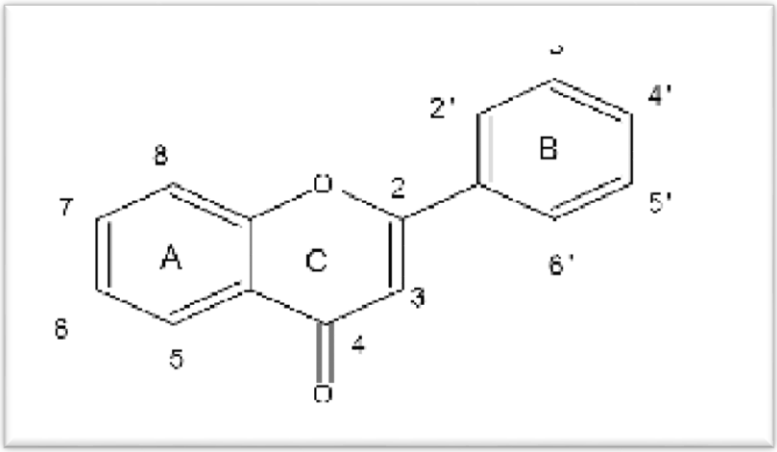


Figure I.8:Squelette de base des flavonoïdes**(Bruneton 1999)**

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (**Beaulieu et al. 2015)**.

b) Les tanins

Les tannins (ou tanins) sont des substances polyphénoliques hydrosolubles de structure variée, de saveur astringente, naturellement produits par les plantes qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau, et à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des gélatines, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité**(Bruneton 1999)**. Ils sont très répondus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaine famille comme les Conifères, les Fagacée, les Rosacée**(Ghesterm, A., Seguin, E., Paris, M., et Orecchioni, A.M 2001).** Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains**(Khanbabaee et van Ree 2001).**

c) Les coumarines

Historiquement le nom de coumarine vient de « cumaru » qui est le nom dans une langue amazonienne, de l'arbre de Tonka (Dipteryx odorata willd., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3 % de coumarine.

Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820, ils sont des 2H-1benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Zcinnamiques**(Bruneton 1999) . (Brittany W 2023)**

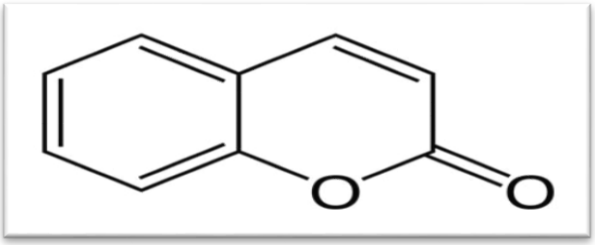


Figure I.9:Structure d'une molécule de coumarine**(Brittany W 2023)**

d) Les lignines

La lignine (terme du latin lignum, ce qui signifie bois de chauffage ou bois) est un polymère typique des plantes vasculaires à structure tridimensionnelle, amorphe et complexe. Dans les plantes, il sert de «ciment» qui donne force et résistance aux tiges, troncs et autres structures des plantes.

Il se trouve principalement dans la paroi cellulaire et la protège contre les forces mécaniques et les agents pathogènes, se trouvant également en faible proportion à l'intérieur de la cellule. Chimiquement, il possède une grande variété de centres actifs qui leur permettent d'interagir avec d'autres composés. Parmi ces groupes fonctionnels communs, nous avons des groupes phénoliques, aliphatiques, méthoxy hydroxyles, entre autres**(Tamara S 2025).**

I.3.4.1.2. Rôle biologique des composés phénoliques

Selon (**Macheix, Fleuriet, et Jay-Allemand 2005)** le rôle des composes phénolique est reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans leur utilisations par l'homme ils peuvent en effet intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains parasites).

Dans les interactions des plantes ave leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV).

- Organes végétaux (fruit, légumes) et des produits qui en dérivent par transformation.
- Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leur propriétés antioxydants

Certains composés sont dotés de certaines activités résumées dans le tableau **Tableau I.5**

Tableau I.5 :Certaines classes des polyphénols et leurs activités.

Certaines classes des polyphénols	Activités	Références
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants.	**(Bors et al. 1998) (Halliwell et al. 1995) (Stavric B et al 1992)**
Tannins	Antioxydant Antibactérienne et antiinflammatoire Anti tumoral Anti diarrhéique Digestibilités des protéines.	**(Okuda et al. 1983)**
Coumarines	Protectrices vasculaires, antiinflammatoires, anti parasitaires analgésiques et anti œdémateuses.	**(Ito et al. 2006)**

I.3.4.2. Les terpènes

Sont des hydrocarbures produits par de nombreuses plantes, volatiles ou non et représentent une grande famille de molécules du métabolisme primaire et secondaire(**Guitton 2010)**.

Aujourd'hui, les terpènoides ont plusieurs usages dans différents secteurs, ils sont largement utilisés dans le secteur de la nutrition humaine (saveur ; conservateur) et l'industrie du parfum .Depuis ces dernières années et avec la découverte des caractéristiques anticancéreuses de certains mono terpènes leur importance dans secteur pharmaceutique a été renforcée**(Bassolé et Juliani 2012).**

I.3.4.2.1. Rôle des terpènes

Les terpénoïdes sont vitaux pour les écosystèmes. Ils contribuent à la communication entre les plantes, agissent comme des mécanismes de défense contre les herbivores, et servent d'attractifs pour les insectes bénéfiques. Par exemple, quand une

fleur fleurit, elle peut libérer des terpénoïdes au parfum sucré pour attirer les abeilles pour la pollinisation. Cette publicité naturelle aide à assurer la continuité des espèces de plantes, puisque les pollinisateurs aident au transfert de pollen.

De plus, les terpénoïdes sont impliqués dans l'écologie de nombreux animaux. Certains insectes utilisent des terpénoïdes pour communiquer entre eux, tandis que certains animaux se sont adaptés pour utiliser ces composés comme défense contre les prédateurs. C'est un complexe réseau d'interactions qui permet aux écosystèmes de prospérer(**Science 2025)**.

I.3.4.3. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée relativement stable d'origine végétale**(Muniz 2006)**, et de distribution restreinte à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe. Ils existent à l'état de sels et ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé (**Reynier 2007)**.

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins(**Roux et Catier 2007)**.

I.3.4.3.1. Rôles des alcaloïdes

Ils possèdent une activité pharmacologique significative. Bien que beaucoup d'entre eux sont employés pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans la cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol,vinblastine, vincristine), mais certains d'entre eux sont toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine)**(Zenk et Juenger 2007).**

I.4. Enzymologie

I.4.1. Généralités sur les enzymes

I.4.1.1. Définition

Les enzymes sont des protéines qui agissent comme des catalyseurs moléculaires en fixant spécifiquement leurs ligands, grâce à une complémentarité géométrique, puis en les transformant en produits intermédiaires ou finaux. Elles permettent d'accélérer les réactions biochimiques de plusieurs ordres de grandeurs aboutissant à un équilibre chimique thermodynamique**(Beaumont 2007).**

Sans la catalyse enzymatique aucune forme de vie n'aurait pu exister. Par ailleurs, sans l'introduction des procédés enzymatiques dans la catalyse industrielle, l'innovation de plusieurs produits nécessaires à notre vie quotidienne, n'aurait jamais vu le jour**(Cornish et al 2005).**Les enzymes constituent la classe de protéines, à la fois la plus vaste et la plus spécialisée, qui en reconnaissant spécifiquement certaines molécules, accélèrent les réactions de transformation de ces molécules suffisamment pour que leur vitesse devienne compatible avec le fonctionnement de l'organisme**(Augère B 2001,Audigié et Zonszain 1995).**

I.4.1.2. Propriétés générales

La grande majorité des innombrables réactions chimiques observées dans la matière vivante est régulée par l'activité enzymatique. Bien que soumises aux mêmes lois de la nature que les autres substances, les enzymes diffèrent des catalyseurs chimiques sur plusieurs points importants**(Voet 2005)** :

- **Vitesses de réactions**: Les réactions catalysées par les enzymes sont 10^6 à 10^{12} fois plus rapides que les réactions non catalysées et peuvent aussi concurrencer les catalyseurs chimiques du point de vue vitesse jusqu'à mille fois.
- **Conditions de réactions** : La plupart des réactions enzymatiques peuvent, en général, avoir lieu sous des conditions « douces », à des températures inférieures à 100°C, une pression atmosphérique et à un pH proche de la neutralité dans un milieu aqueux ou même organique.
- **Activité enzymatique** : exprimée en général par le nombre de moles de substrat convertis par unité de volume et de temps. Elle varie selon la concentration de substrat et des conditions physico-chimiques de la réaction. L'activité de la lipase est mesurée par une méthode titrimétrique en utilisant l'huile d'olive en tant que substrat à pH 7**(« Production de lipases », s. d.).**
- **Spécificité de la catalyse enzymatique** : l'un des caractères les plus importants de la catalyse enzymatique est sa spécificité en comparaison avec la catalyse chimique. Cette spécificité présente un double aspect :

- Spécificité réactionnelle : une enzyme ne peut catalyser qu'un type de réaction donné. Cette spécificité sert de base à la nomenclature et à la classification de ces catalyseurs biochimiques. On distingue six classes d'enzymes**(Bernhard 1969). Tableau I.6**

Tableau I.6:Les différentes classes d'enzymes **(Stolkowski J 1983)**

N°	Classe de l'enzyme	Exemples
1	**Oxydoréductases** (qui catalysent le transfert d'électrons : oxydoréduction)	Catalase
2	**Transférases** (qui catalysent le transfert d'n groupe fonctionnel d'une molécule à une autre)	Hexokinase, Methyltransferase
3	**Hydrolases** (qui catalysent la coupure de liaisons par hydrolyse)	Lipase, Protéase, Amylase
4	**Lyases** (qui catalysent des réactions d'addition sur ne double liaison)	Pyruvate décarboxylase, Amidine-lyases
5	**Isomérases** (qui catalysent des réactions d'isomérisation)	Maleate isomérase, Phosphotransferases
6	**Ligases** (qui catalysent la formation des liaisons par clivage de l'ATP)	Pyruvatecarboxylase Cyclo-ligases

- Spécificité de reconnaissance : des molécules avec lesquelles l'enzyme est en interaction. Les interactions entre un enzyme et son substrat dépendent de la reconnaissance moléculaire fondée sur la complémentarité structurale ; cette reconnaissance est à la base de la spécificité sur lequel se lie le substrat et où la catalyse a lieu est appelé le **site actif** de l'enzyme**(Garrett 2000)** .

❖ **Co-enzyme, co-facteur**

L'une des caractéristiques particulières de l'enzyme est son besoin fréquent de **cofacteur.** Le cofacteur n'est pas une protéine : il peut être un ion métallique (Ca2+, Co2+, Mg2+...), ou une molécule organique complexe appelée aussi **coenzymes (Ex. NADH)**. Le cofacteur métallique peut aussi se fixer sur une protéine appelée

apoenzyme(Stryer L 1985). Le complexe enzyme-cofacteur catalytiquement actif est appelé un holoenzyme**(Voet 2005).**

I.4.2. LA LIPASE

I.4.2.1. Généralités sur les lipases

L'enzymologie dite « interfaciale » est aujourd'hui un champ de recherche en plein essor car de nombreux enzymes, comme les lipases, sont impliquées dans des réactions se déroulant aux interfaces (phase apolaire-phase aqueuse), que ce soit dans le monde vivant ou dans des applications industrielles**(Schønheyder et Volqvartz 1945).**

Les lipases sont des hydrolases d'esters carboxyliques, capables d'hydrolyser les lipides riches en triglycérides à longue chaînes d'acides gras en glycérol et en acides gras correspondants.

En plus de leur capacité d'hydrolyser les graisses, les lipases peuvent catalyser bon nombre de réactions allant de l'hydrolyse à l'estérification sans oublier les réactions d'alcoolyse et l'acidolyse. Cette particularité des lipases de catalyser diverses réactions en fonction du microenvironnement de l'enzyme, ainsi que leurs spécificités et leurs conditions douces de réaction, les rendent intéressantes du point de vue industriel. Un autre avantage intéressant est que ces biocatalyseurs ne nécessitent pas la présence d'un coenzyme contrairement à beaucoup d'autres(**Fickers, Destain, et Thonart 2008**,**Furutani et al. 1996).**

I.4.2.2. Origines et classifications des lipases

Les lipases sont largement répandues dans la nature où elles ont un rôle physiologique important dans le métabolisme des graisses. On les retrouve dans le règne végétal, chez les invertébrés et les vertébrés mais également chez de nombreux micro-organismes.

I.4.2.2.1. Lipases végétales

Elles sont présentes au sein de la plante bien qu'en les retrouve principalement dans les graines. Les lipases végétales peuvent être classées en trois grands groupes :

- Le premier groupe est constitué par les **triacylglycérol hydrolases** qui sont principalement présentes dans les graines. Leur étude revêt une importance économique capitale puisqu'elles sont responsables en grande partie de l'altération des graines pendant le stockage.

- Les constituants du second groupe, dénommés **acylhydrolases**, sont présents dans divers tissus de la plante. Les principales **acylhydrolases** sont les **phospholipases** A et B ; les **glycolipases**, les **sulfolipases** et les **monoglycéridelipases**. Elles sont incapables d'hydrolyser les triglycérides mais elles peuvent catalyser certaines réactions de transestérification **(Beisson et al. 2001,Hills et Mukherjee 1990).**
- Le troisième groupe est constitué par les **phospholipases C** et **D**.

D'un point de vue industriel, l'intérêt des lipases végétales n'a cessé de s'accroître depuis quelques années, notamment dans le domaine de la biotransformation de lipides. En effet, les lipases végétales sont facilement isolées à partir de graines et elles présentent des spécificités de substrat atypique comparées aux lipases microbiennes**(Hassanien et Mukherjee 1986,Pahoja V et Sethar M 2002).**

I.4.2.2.2. Lipases de mammifères

Les lipases de mammifères peuvent être classées en trois groupes :

- Le premier est constitué par les lipases associées à la digestion, telles que les lipases linguale, pharyngale, gastrique et pancréatique.
- Le second groupe correspond aux lipases présentes dans le cerveau, les muscles, les artères, les reins, la rate, la langue, le foie et les tissue adipeux.
- Le troisième groupe correspond aux lipases produites par les glandes galactogènes produisant le lait maternel**(Baba et al. 1991).**

I.4.2.2.3. Lipases microbiennes

Les lipases sont largement répandues chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. L'intérêt des lipases microbiennes n'a cessé de s'accroître au cours des 25 dernières années, principalement en raison du grand nombre d'applications qu'elles offrent dans des domaines très variés. Les lipases microbiennes présentent une grande stabilité visà-vis de température, des détergents et des enzymes protéolytique**(Fickers, Destain, et Thonart 2008).** Elles sont produites par fermentation en présence de substrats inducteurs tels que les acides gras. Selon leur excrétion exo- ou endo-cellulaire, les lipases sont séparés plus ou moins facilement par différentes méthodes.

I.4.2.3. Applications industrielles

L'industrie enzymatique que nous connaissons aujourd'hui résulte de l'évolution rapide de la biotechnologie moderne des quatre dernières décennies. Les enzymes peuvent se substituer aux catalyseurs chimiques et répondre aux exigences du développement industriel durable**(Godet S 2008)**.

Après les protéases et les carbohydrases, les enzymes lipolytiques sont le troisième grand groupe d'enzymes industrielles**(Hasan, Shah, et Hameed 2006).** Aujourd'hui, les lipases sont utilisées dans de nombreux secteurs industriels. Leurs principales applications sont regroupées dans le **tableI.7.**

Tableau I.7:Quelques applications industrielles des enzymes lipolytiques **(Godet S 2008)**

Domaine industriel	Réaction	Exemples de produit ou d'application
Nettoyage, détergents	Hydrolyse des graisses	Lessives, détachants
Industrie du papier	Hydrolyse	Dissolution enzymatique des pitchs, blanchiment écologique de la pâte à papier
Textile	Hydrolyse	Blanchiment des tissus de type jean, modification des fibres synthétiques (polyester)
Cosmétique	Transestérification	Soins cutanés, crèmes amaigrissantes, parfums
Oléochimie (huiles et graisses)	Transestérification, hydrolyse	Synthèse des esters, hydrolyse des graisses et de la lécithine
Chimie fine	Synthèse énantiosélective	Synthèse de substance organique
Dégradation des hydrocarbures, Traitement des déchets	Hydrolyse	Nettoyage des eaux contaminées
Production des biodiesel	Transestérification	Esters de méthyle
		Préparation des peaux,

Tannage	Hydrolyse	élimination des poils et de la graisse
Alimentation	Estérification	Synthèse de lipides structurés de meilleure qualité nutritionnelle, synthèse d'esters aromatiques
Applications médicales	Transestérification, Hydrolyse	Lipides spécifiques, aides digestives, action bactéricide, diagnostic

I.5. Activités biologiques

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

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

I.5.1. Activité anti-inflammatoire

I.5.1.1.L'inflammation

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

I.5.1.2. Les anti-inflammatoires

I.5.1.2.1. Définition

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

On distingue des anti-inflammatoires synthétiques stéroïdiens (AIS) ou corticoïdes et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**(McGettigan et Henry 2013)** et des anti-inflammatoires d'origine végétale (naturel).

I.5.1.2.2. Les anti-inflammatoires naturels

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

I.5.1.3. L'activité anti-inflammatoire de *Laurus nobilis L*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Laurus nobilis L*. a fait l'objectif de plusieurs études. **Khoudja** et son équipe ont observé que la 1,8-cinéole, un composant principal de l'extrait de *Laurus nobilis* avait la capacité de supprimer systématiquement l'activation des inflammatoires NLRP3. D'autre part l'extrait de feuilles de L nobilis est capable d'atténuer l'expression in vivo des cytokines pro-inflammatoires chez les souris présentant des lésions pulmonaires aigues**(KHODJA et al 2020)**.

D'après une autre étude réalisée chez les souris males NMRI et les rats Wistar, il a été démontré que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* possède une action anti-inflammatoire comparable au Piroxicam qui est un anti-inflammatoire stéroïdien **(Sayyah et al. 2003).**

I.5.2. Activité antioxydante

I.5.2.1. Le stress oxydatif

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

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

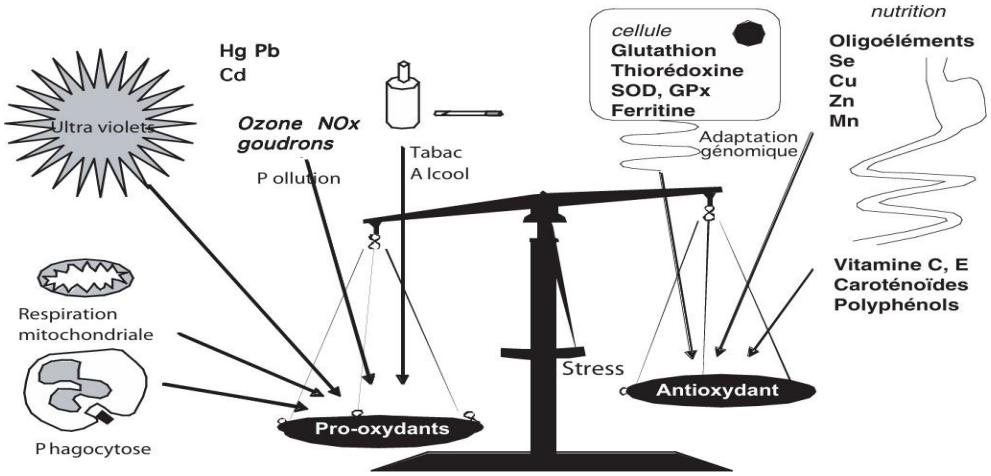


Figure I.10:Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants **(Favier 2006).**

I.5.2.2. Les antioxydants

I.5.2.2.1. Définition

Les antioxydants sont des composés qui peuvent ralentir ou empêcher l'oxydation d'autres molécules en inhibant l'initiation ou la propagation de réactions en chaîne oxydantes**(Zheng et Wang 2001).**

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

I.5.2.2.2. Classification des antioxydants

Depuis la préhistoire, les herbes étaient à la base de presque toutes les thérapies médicamenteuses jusqu'à ce que les drogues synthétiques soient développées au XIXe siècle. Il existe deux catégories fondamentales d'antioxydants de base, à savoir, synthétique et naturelle :

I.5.2.2.2.1. Antioxydants synthétiques

Sont des composés avec des structures phénoliques de divers degrés de substitution alkyle, tels que l'hydroxyanisolebutylé (BHA) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT) ont été utilisés comme antioxydants depuis le début de ce siècle**(Velioglu Y et al. 1998)**, sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée**(Wang L et al. 2003).**

I.5.2.2.2.2. Les antioxydants naturels

Ils comprennent majoritairement la vitamine E, la vitamine C (acide ascorbique) et les polyphénols issus des végétaux (les caroténoïdes, les composés phénoliques& etc.). La plupart de ces composants se trouvent en premier lieu dans l'alimentation (les fruits, les légumes…)**(Bendif H 2025).**

I.5.2.3. Activité antioxydante de *Laurus nobilis L*

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

Parmi ces PAM on a le Laurier noble qui une plante très utilisée en médecine traditionnelle, elle possède de nombreuses activités biologiques, telle que l'activité antioxydantes. Pour démonter quels sont les composés chimiques qui confèrent cette

activité, des recherches faites sur les extraits aqueux et éthanolique du Laurier ont montré qu'ils présentent une forte activité antioxydant en émulsion d'acide linoléique**(Elmasta`, M et al. 2006).**

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

I.5.3. Activité antibactérienne

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

Les feuilles de laurier sont composées de molécules actives telles que les oxydes terpéniques, monoterpénols, phénols, monoterpénes, sesquiterpènes et des esters terpéniques. Le principal composant est le 1,8-cinéole. Les cineoles possèdent des activités biologiques importantes surtout pour le traitement des maladies des voies respiratoires. Elles sont composées aussi de phénols qui sont de puissants et polyvalents anti-infectieux, à la fois antibactériens, antiviraux et antifongiques qui ont une très grande efficacité et un large spectre d'activité**(Di Leo Lira et al. 2009).**

Les polyphénols de laurier présentent également une activité antibactérienne contre les agents pathogènes d'origine alimentaire. Leur mécanisme antibactérien repose sur l'inhibition de la formation de biofilm bactérien ou l'inactivation d'enzymes. Des études ont démontré que les polyphénols ont des effets positifs, notamment en réduisant le nombre de bactéries nocives et en augmentant le nombre de bactéries bénéfiques dans le microbiote intestinal humain. Les polyphénols peuvent également être utilisés comme agents antibactériens naturels dans les systèmes d'emballage alimentaire, sous forme de sachets émetteurs, de tampons absorbants et d'enrobages comestibles**(Bae, Seo, et Oh 2022).**

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre II
Matériels & méthodes

II.1. Lieu et période d'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique du pôle universitaire de Ouzera Yahia Farés - Médéa- de la faculté des sciences et technologies, ainsi qu'aux laboratoires de microbiologie et physico-chimie du complexe antibiotical SAIDAL de Médéa pendant une période allant du mois de Février jusqu'au mois de Juin 2025.

II.2. But de travail

L'intérêt de ce travail est la valorisation des feuilles de *Laurus nobilis L,* à travers l'évaluation de trois activités biologiques qui sont : l'activité anti-inflammatoire, anti-oxydante et antibactérienne, ainsi que l'optimisation du pouvoir enzymatique.

Les expériences décrites dans cette étude sont les suivantes :

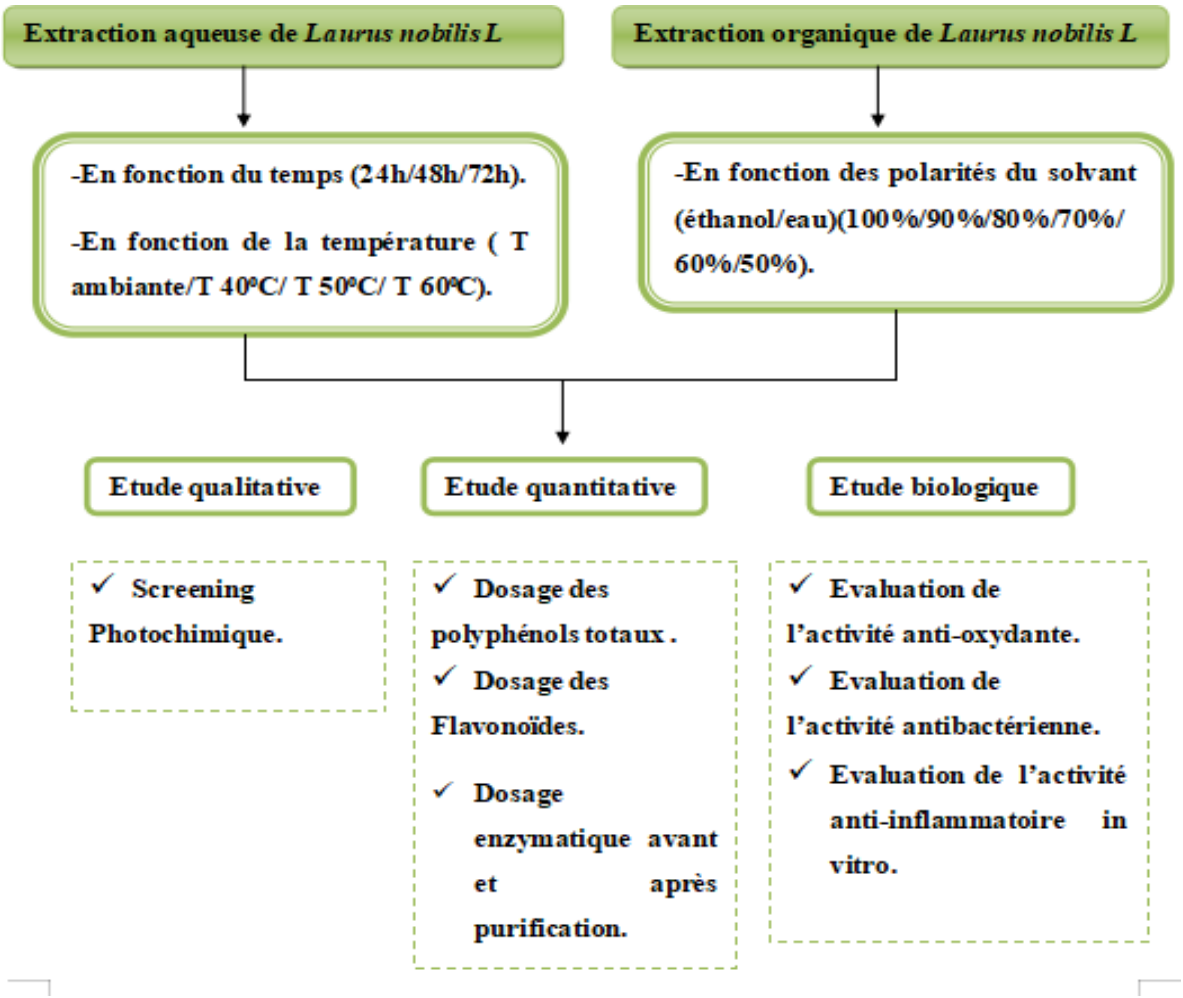


Figure II.1:Protocole expérimental suivi pour la caractérisation qualitative, quantitative et biologique de *Laurus nobilis L.*

II.3. Matériels utilisés

II.3.1. Matériel végétal

L'étude établie porte sur une espèce de la famille des *Lauraceae* qui est *Laurus nobilis L*. On a choisi cette espèce car elle contient divers composés phytochimiques tels que les polyphénols et les flavonoïdes susceptibles d'avoir des effets bénéfiques sur la santé.

II.3.2. Produits chimiques

Lors de cette étude expérimentale, divers produits chimiques ont été utilisé. Le tableau II.1 regroupe les différents produits et réactifs chimiques utilisés.

Tableau II.1: Les produits chimiques utilisés dans notre étude.

Réactifs chimiques	Formule chimique	La masse molaire (g/mol)
Phosphate de potassium Monobasique	KH_2PO_4	136.086
Ethanol	C_2H_6O	46.068
Folin-ciocalteu	C_6H_6O	94.11124
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	105.9888
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	110.98
Hydroxyde de sodium	$NaOH$	39.997
Phénophtaléine	$C_{20}H_{14}O_4$	318.32
Quercétine	$C_{15}H_{10}O_7$	302.236
Chlorure d'aluminium hexahydraté	$AlCl_3$*$6H_2O$	241.43
Acétate de sodium	$C_2H_3NaO_2$	82.0343
Acétone	C_3H_6O	58.079
Acide gallique	$C_7H_6O_5$	170.1195
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	394.317
Chlorure de sodium	$NaCl$	58.443

II.3.3. Appareillage

Tableau II.2: Les appareils utilisés dans notre étude.

Appareils	Utilisation
Etuve	▪ Détermination du taux d'humidité. ▪ Stérilisation du matériel.
Balance	▪ Pesées.
Incubateur	▪ Incubation des extraits préparés.
Pompe sous vide	▪ Filtration des extraits préparés.
pH-mètre	▪ Etude qualitative des extraits préparés (mesure du pH, indice de réfraction, la densité relative).
Réfractomètre	
Pycnomètre	
Homogénéiseur	▪ Homogénéisation.
Agitateur	▪ Agitation.
Spectrophotomètre U-Vis	▪ Mesure de l'absorbance
Centrifugeuse	▪ Centrifugation
Réfrigérateur	▪ Refroidissement
Thermomètre	▪ Mesure de la température

II.3.4. Verrerie

Les verreries du laboratoire utilisées dans notre étude sont

- ✓ Béchers
- ✓ Erlenmeyers
- ✓ Fioles
- ✓ Verre de montre
- ✓ Entonnoirs
- ✓ Eprouvettes
- ✓ Flacons ombrés
- ✓ Entonnoir büchner
- ✓ Pipettes graduées
- ✓ Pro-pipette
- ✓ Burette
- ✓ Tubes à essai
- ✓ Cristallisoir
- ✓ Boites de pétri
- ✓ Mortier et pilon
- ✓ Micropipette
- ✓ Micropipette

II.3.4. Matériel microbiologique

L'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques préparés a partir des feuilles de *Laurus nobilis* a été mise en évidence en utilisant des souches bactériennes et fongiques qui ont été fournies par le groupe Saidal de Médéa. Les caractéristiques des souches utilisées sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau II.3. Les souches utilisées lors de l'étude microbiologique.

	Espèce	**Coloration**	**Référence**
Les bactéries	*Staphylococcus epidermidis*	Gram +	ATCC 12228
	Staphylococcus aureus	Gram +	ATCC 6538
	Pseudomonas aeruginosa	Gram -	ATCC 9027
	Bacillus subtilis	Gram +	ATCC 6633
	Escherichia coli	Gram -	ATCC 8739
Les champignons	*Saccharomyces cerevisiae*	/	ATCC 9763
	Aspergillus brasiliensis	/	ATCC 16404
	Candida albicans	/	ATCC 10231

II.4. Méthodes

II.4.1. Protocole d'étude phytochimique

L'étude phytochimique d'une espèce végétale nécessite indispensablement le passage par les étapes suivantes :

- Récolte de la plante.
- Lavage.
- Séchage.
- Détermination de la teneur en eau.
- Découpage.

II.4.1.1. Récolte

La partie aérienne de *Laurus nobilis L* a été récoltée au mois de février 2025 dans la région de Theniet El-hdjer, wilaya de Médéa, loin de tout impact de pollution. La récolte de la plante a été effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents.



Figure II.2 : L'arbre de *Laurus nobilis* (photo personnelle).

II.4.1.2. Lavage

Les feuilles étudiées ont été séparées des tiges ensuite nettoyées, lavées avec de l'eau du robinet pour les débarrasser de la poussière et d'autres impuretés et laissées s'égoutter.

II.4.1.3. Séchage

Les feuilles sont séchées à l'ombre dans un endroit sec, aéré et à température ambiante pendant environ 2 semaines afin d'assurer que les feuilles sont complètement sèches.



Figure II.3 : Les feuilles de laurier fraiches et sèches (photos personnelles).

II.4.1.4. Détermination de la teneur en eau

- **Taux d'humidité**

Afin de déterminer la teneur en eau des feuilles de laurier, une quantité de 2g des feuilles fraiches et feuilles séchées à été pesée.

La dessiccation est réalisée par évaporation à 103 ±2 °C dans une étuve pendant 24 h (jusqu'à la fixation de la masse). La teneur en eau est définie comme étant la perte en poids subie lors de la dessiccation **(Audigié, Figarella, et Zonszain 1978).**

.

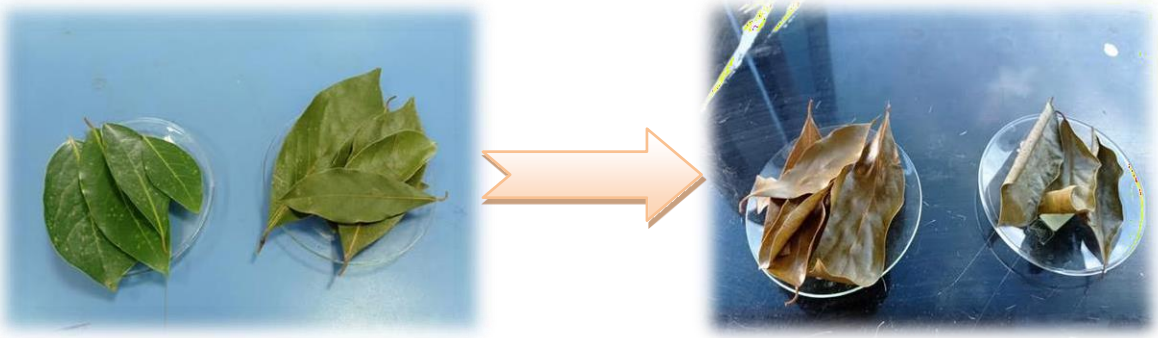


Figure II.4 : Les feuilles de laurier avant et après le séchage (photos personnelles).

- Le taux d'humidité des échantillons (H%) est calculé selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{m_1 - m}{m_1} \times 100 \qquad \textbf{(II.1)}$$

$H(\%)$**:** Taux d'humidité exprimé en pourcentage ;

m_1 **:** Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (gr) ;

m **:** Masse de l'échantillon après séchage en étuve (gr).

II.4.1.5. Découpage

Les feuilles séchées ont été découpées à l'aide d'un ciseau multi-lames jusqu'à l'obtention des petits morceaux. Nous avons remplacé le processus de broyage par le découpage afin de maintenir les molécules thermosensibles présentes dans notre plante.



Figure II.5: Les feuilles découpées de laurier (photo personnelle).

II.4.2. Préparation des extraits

L'extraction des molécules phytochimiques emprisonnées dans les feuilles de laurier est réalisée par la méthode de macération (extraction solide-liquide), c'est une opération qui consiste à laisser la matière végétale en contact prolongé avec un solvant.

- **Mode opératoire**

  - **Extrait tamponné**

Une quantité de 2.5gr de matière végétale subit une macération dans un volume de 50 mL de solution tampon phosphate (0.1M, pH= 7).

L'extraction a été réalisé à différentes températures (T ambiante, 40, 50 et 60 °C) en fonction du temps (24, 48 et 72 h) dans un incubateur multi-poses sous agitation à vitesse moyenne.

- **Extrait éthanolique**

La même quantité de matière végétale subit une macération dans l'éthanol à différentes polarité. Cette dernière a été modifier en ajoutant de l'eau a l'éthanol a des fractions volumiques bien déterminé (de 50% jusqu'à 100%) et ceci en tenant en compte le facteur temps (de 24, 48 et 72h).

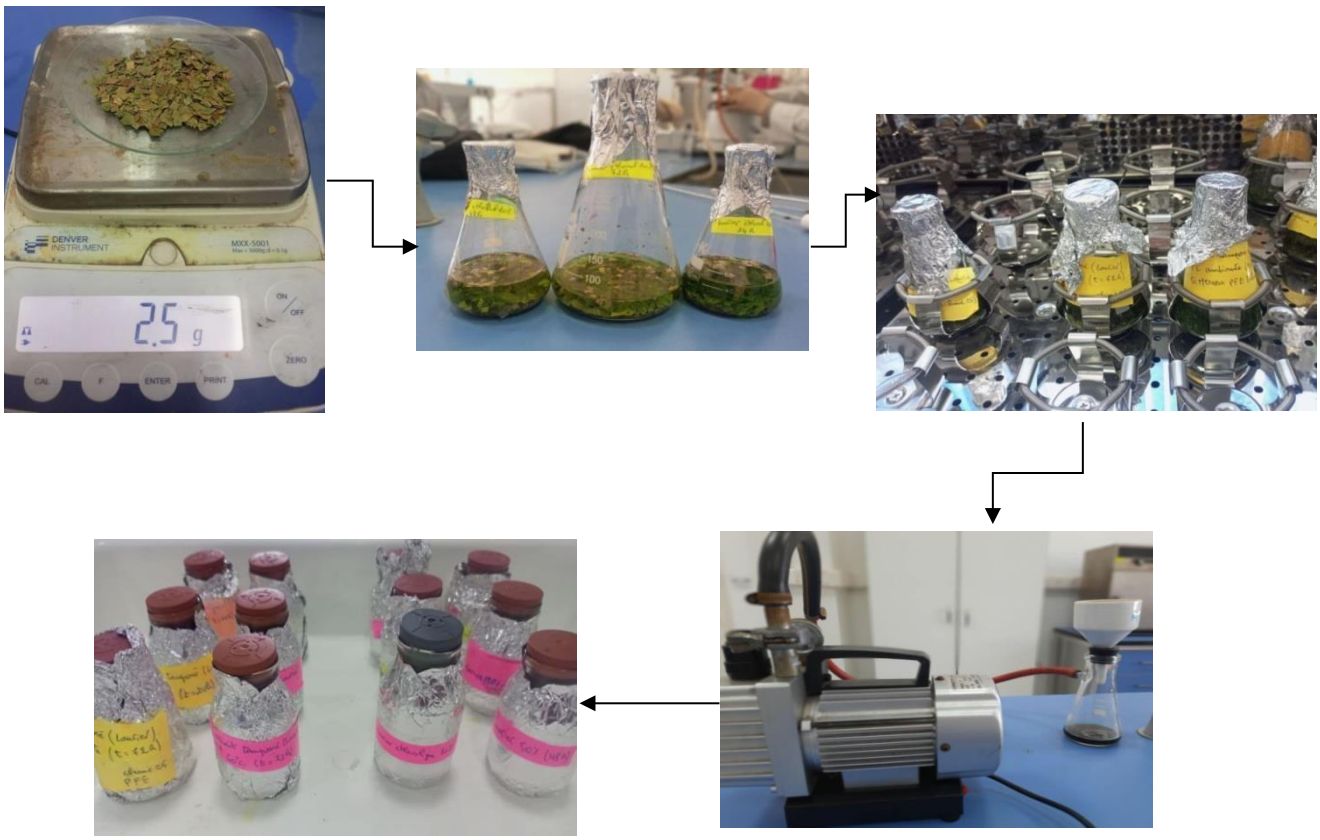


Figure II.6 : Protocole d'obtention des extraits par macération (photos personnelles).

Les extraits sont obtenus après avoir filtrés les mélanges et conservés à 4 °C dans des flacons ombrés a l'abri de la lumière.

II.4.3. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant et la masse de la matière végétale utilisée .Ce rendement est calculé par la formule suivante :

$$R\ (\%) = \frac{M}{M_0} * 100 \qquad \textbf{(II.2)}$$

$\boldsymbol{R}$(%) **:** Rendement des extraits exprimé en pourcentage % ;

$\boldsymbol{M}$ **:** La masse de l'extrait sec en (gr) ;

$\boldsymbol{M_0}$ **:** La masse de la matière végétale en (gr).

II.4.4. Caractérisation physico-chimiques et organoleptiques

II.4.4.1. Les propriétés organoleptiques

Les différents critères organoleptiques (aspect, couleur et odeur) des extraits préparés ont été notés.

II.4.4.2. Les propriétés physico-chimiques

II.4.4.2.1. Détermination du pH

Le pH représente la concentration des ions hydrogènes dans une solution. Cette mesure est importante, car le pH régit un grand nombre d'équilibres physico-chimiques. Il se définit comme le logarithme négatif de l'activité de l'ion hydrogène **(« methode-analyse-100-ph.pdf », s. d.).**

- **Mode opératoire**

La mesure du pH est effectuée à l'aide d'un papier de pH. Quelques gouttes d'extrait préparé ont été disposées sur un côté de la bande et comparer l'apparence de la couleur à un nuancier au dos suffisent.



Figure II.7 : Papier pH(photo personnelle).

II.4.4.2.2. Densité relative

La densité relative est le rapport de la masse d'un volume d'un liquide par la masse du même volume d'eau. La densité n'a pas d'unité, elle varie avec la température **(Kaloustian et Hadji-Minaglou 2012).**

➢ **Mode opératoire**

Cette mesure a été réalisée à l'aide d'un pycnomètre selon le protocole suivant :

- A une température de 20 °C, on pèse le pycnomètre vide et on note leur poids ;
- On remplit le pycnomètre d'eau distillée et on le pèse une deuxième fois ;
- Après l'avoir vidé et l'essuyer, on le remplit avec les extraits et on note leurs poids exacts.

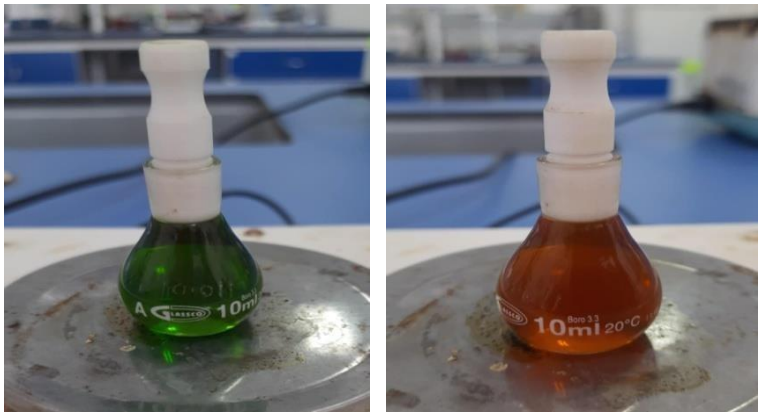


Figure II.8: Pycnomètre (photos personnelles).

- La densité relative est calculée par la formule suivante :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \qquad \textbf{(II.3)}$$

$\boldsymbol{m_0}$ **:** Masse de pycnomètre vide (gr) ;

$\boldsymbol{m_1}$ **:** Masse du pycnomètre rempli d'eau (gr) ;

$\boldsymbol{m_2}$ **:** Masse du pycnomètre rempli d'extrait (gr).

II.4.4.2.3. Indice de réfraction

La réfraction est le changement de direction subi par un rayon lumineux lorsqu'il passe d'un milieu optique donné (l'air) à un autre milieu (tel que les extraits). L'indice de réfraction d'un milieu est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et dans la substance à analyser, il n'a donc pas d'unité **(Bouzabata 2015).**

➢ **Mode opératoire**

- On met en place un réfractomètre pour mesurer l'indice de réfraction de l'eau distillée. Il devrait être de 1.333 à 20 °C ;
- Après ouverture du prisme secondaire, on dispose 2 à 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme primaire ;
- On ferme soigneusement le prisme secondaire ;

- L'échantillon s'étale comme un film mince entre le prisme principal et le sous prisme ;
- La lecture de la mesure s'effectue à une température stable.



Figure II.9 : Réfractomètre (photo personnelle).

- L'indice de réfraction IR, à la température de référence T, est donné par l'équation suivante :

$$IR = nT' + 0,00004\,(T' - T) \qquad \textbf{(II.4)}$$

nT' **:** Valeur de la lecture obtenue à la température T';

T' **:** Température à laquelle la mesure est effectuée ;

T**:** Température de référence (20°C).

II.4.5. Caractérisation quantitative

II.4.5.1. Dosage enzymatique

a) Mesure de l'activité lipasique

Dans cette étude la recherche de l'activité lipasique est effectuée par quantification des acides gras libérés sous l'action des lipases (présentent au niveau des feuilles de Laurier Noble) sur l'huile d'olive, en se basant sur la méthode de titration Acide (les acides gras) /Base ($NaOH$) **(Houde, Kademi, et Leblanc 2004).**

Les lipases catalysent la réaction suivante :

$$\textbf{Triglycéride} + H_2O \xrightarrow{\textbf{Lipase}} \textbf{Diglycéride} + \textbf{acide gras}$$

➢ **Mode opératoire**

Le milieu réactionnel utilisé est préparé selon la procédure suivante :

- 5mL d'émulsion d'huile d'olive dans la gomme arabique (0.5 mL d'huile/4.5mL d'une solution de gomme arabique 2%) ;
- Mélange 4 fois, 1 min avec des intervalles d'arrêt de 30 secondes ;
- 4 mL de tampon phosphate pH 7 (0.2M) ;
- 1 mL de $CaCl_2$ (0.11M) ;
- 1 mL d'extrait ;
- Le milieu réactionnel est incubé à 37 °C pendant 30min ;
- Après incubation, 5mL d'un mélange de solution d'arrêt (Éthanol/acétone) (1:1) sont ajoutés ;
- Le titrage est effectué avec du $NaOH$ (0.02N) pour déterminer la quantité d'acides gras libérés par la lipase. La phénolphtaléine est utilisée comme indicateur de virage de pH ;
- Les mêmes conditions sont réalisées pour le blanc, sauf qu'avant incubation le blanc est exposé sous un choc thermique dans un bain de glaçons pendant 4 minutes.



Figure II.10 : Protocole de l'activité lipasique (photos personnelles).

- L'activité lipasique est calculée par la formule suivante**:**

$$\textbf{Activité lipasique (µmol/min/mL)} = \frac{(V_2 - V_1) \times 0.02 \times 10^6}{30 \times V_{enz}} \quad \textbf{(II.5)}$$

$\boldsymbol{V_2}$ **:** Volume versé au témoin en (L) ;

$\boldsymbol{V_1}$ **:** Volume de l'essai en (L) ;

$\boldsymbol{V_{enz}}$ **:** Volume de l'extrait enzymatique en (mL).

a) Purification partielle de la lipase

Pour obtenir un extrait enzymatique partiellement pur, l'extrait brut subira un processus de purification pour éliminer tout contaminant ou substance potentielle susceptible de provoquer des modifications (comme les lipides, les sels minéraux, etc.…). Parmi les différentes méthodes disponibles pour la séparation des protéines et des enzymes, la précipitation à l'aide de solvants organiques qui est une approche simple et couramment utilisée.

L'acétone a été choisie comme un agent de précipitation puisqu'il est relativement peu couteux et il est disponible sous une forme pure avec peu de contamination qui peut inhiber ou empoisonner l'enzyme**(Muto et Beevers 1974).**

- **Mode opératoire**
  - La purification de l'enzyme a été réalisée à 4°C ;
  - Trois volumes d'acétone glacial sont versés goutte à goutte dans un volume de l'extrait brut disposé sous agitation dans la glace pilée ;
  - Une fois l'acétone est versé totalement, le mélange (extrait brut-acétone) est laissé dans le réfrigérateur pendant 2heures ;
  - Sa récupération se fait par centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 minutes ;
  - Le culot récupéré a été séché à température ambiante, la poudre obtenue est un extrait enzymatique de la lipase partiellement purifiée (EEPP).



Figure II.11 : Protocole de purification partielle de la lipase par précipitation à l'acétone (photos personnelles).

b) Détermination de l'activité spécifique:

Dans le but de vérifier l'efficacité de l'opération de purification, il est indispensable de mesurer l'activité lipasique de l'extrait purifié en dosant la quantité de lipase après sa solubilisation dans un solvant approprié afin de mesurer l'activité spécifique.

- L'activité spécifique est calculée par la formule suivante :

$$\textbf{Activité spécifique (µmol/min/mg)} = \frac{Activité\ enzymatique}{masse de protéine} \quad \textbf{(II.6)}$$

II.4.4.2. Dosage des poly-phénoles totaux

Le dosage des poly-phénols totaux dans les extraits de feuilles de *Laurus nobilis* a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode de réactif du Folin-Ciocalteu décrite par **(Singleton et Rossi 1965).**

- **Principe**

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée par des méthodes colorimétriques avec un spectrophotomètre UV-V en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho-molybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation des poly-phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal **(Boizot et Charpentier 2006).**

La quantité des poly-phénols totaux présente dans un extrait est déterminée par l'utilisation d'une gamme étalon réalisée avec un acide phénolique de référence comme l'acide gallique par exemple.

- **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit parSingleton et Rossi**(Singleton et Rossi, 1965)**. Avec quelques modifications. Un volume de 1 mL de chaque extrait (éthanolique et tamponné) adéquatement dilué est mélangé avec 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10. Après 4 min d'agitation manuelle, 0.8 mL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 % sont additionnés. Après incubation à température ambiante pendant 2 heures à l'obscurité.

L'absorbance est lue à 760nm contre un blanc (en absence d'extrait) à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-Visible).

Le taux de poly-phénols totaux dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide gallique comme standard de référence à une concentration (0.1mg/mL), dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MVS).

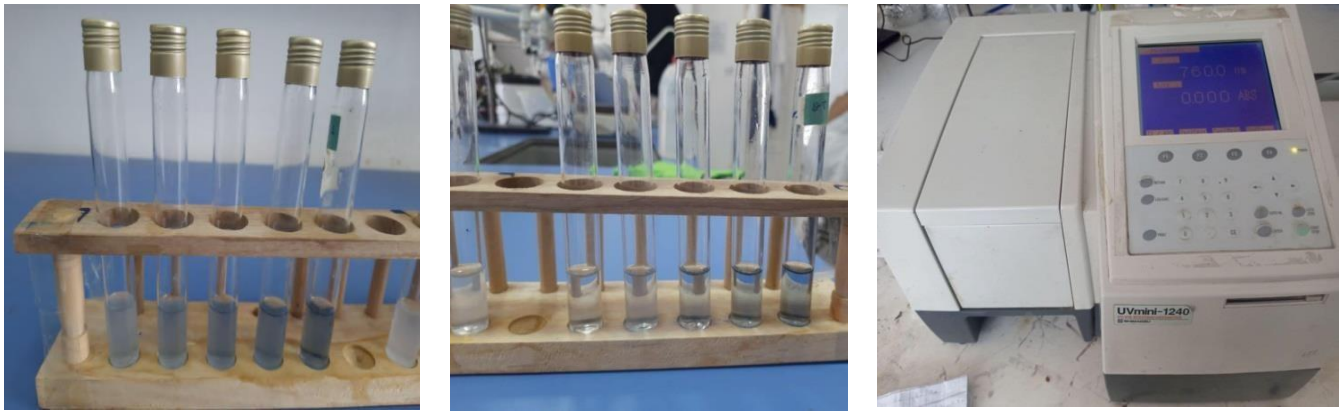


Figure II.12 : Dosage des poly-phénols totaux (photos personnelles).

Les teneurs en poly-phénols totaux (TPP) sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche selon la formule (II.7) :

$$\boldsymbol{TPP} = \frac{\boldsymbol{V_S \times C \times K}}{\boldsymbol{m_p}} \qquad \textbf{(II.7)}$$

$\boldsymbol{TPP}$ **:** Teneur en poly-phénols totaux (mgr EAG/g MVS) ;

$\boldsymbol{V_s}$ **:** Volume de l'échantillon (mL) ;

$\boldsymbol{C}$ **:** Concentration de l'échantillon à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL) ;

$\boldsymbol{K}$ **:** Facteur de dilution ;

$\boldsymbol{m_p}$**:** Masse d'échantillon en (gr).

II.4.4.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable et jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al^{3+} sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité de flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon

le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon **(Bahorun et al. 1996).**

- **Mode opératoire**

La détermination de la quantité des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode d'écrite par **(Pourmorad, Hosseinimehr, et Shahabimajd 2006)**avec quelques modifications. Le protocole du dosage consiste à mélanger, dans des tubes à essai, 0.5 mL d'extrait dilué avec 1.5 mL d'éthanol, on ajoute 0,1 mL d'($AlCl_3$,$6H_2O$) à (10%), 0,1 mL d'acétate de sodium (1M) et 2,8 mL d'eau ultra pure. Après une incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à 430 nm en utilisant un spectrophotomètre UV. Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.

La quantité des flavonoïdes a été évaluée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations (0.1-0.4 mg/mL). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercitrine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MVS).

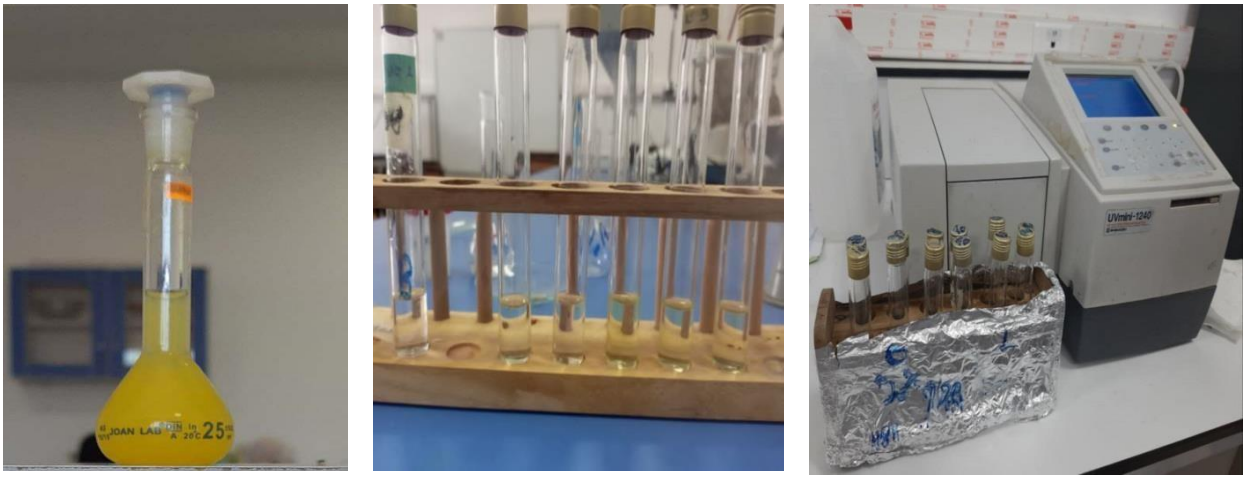


Figure II.13 : Dosage des flavonoïdes (photos personnelles).

Les teneurs en flavonoïdes (TF) sont exprimées en milligramme équivalent de la quercétine par gramme de la matière sèche selon la formule (II.8) :

$$TF = \frac{V_S \times C \times K}{m_p} \qquad \textbf{(II.8)}$$

$\boldsymbol{TF}$ **:** Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g MVS) ;

$\boldsymbol{V_s}$ **:** Volume de l'échantillon (mL) ;

$\boldsymbol{C}$ **:** Concentration de l'échantillon à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL) ;

$\boldsymbol{K}$ **:** Facteur de dilution ;

$\boldsymbol{m_p}$**:** Masse d'échantillon en (g).

II.4.5. Evaluation des activités biologiques

II.4.5.1. Activité antioxydante

- **Piégeage du radical DPPH**

La méthode du DPPH (diphenylpicryl-hydrayl) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH) , qui aboutit à la formation d'une forme non - radicalaire , le DPPH - H (diphénylpicryl-hydrazine). La réduction du DPPH + en DPPH-H induit un changement de sa couleur violette en jaune, caractérisé par son spectre UV avec un maximum d'absorbance à 517nm. L'intensité de la couleur jaune est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons, ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort **(Mansouri , A et al. 2005).**

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti radicalaires des extraits végétaux **(Lim, Lim, et Tee 2007).**

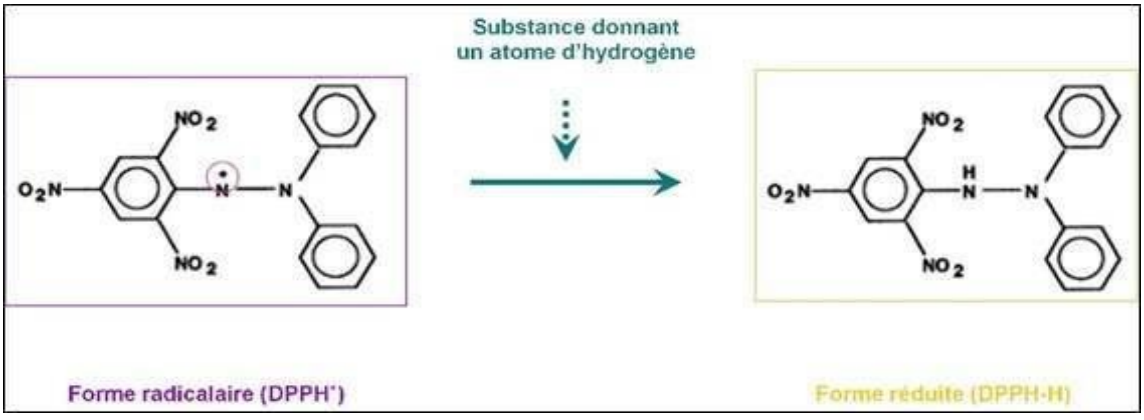


Figure II.14 : Réduction du DPPH par un antioxydant**(Molyneux 2004).**

- **Mode opératoire**

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par **(Amandine 2016)**avec quelques modifications.

- La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol, la solution doit être conservée à l'abri de la lumière à 4 °C pour éviter sa dégradation.



Figure II.15 : Solution éthanolique de DPPH (photos personnelles).

- Les extraits éthanoliques et tamponnés ont été diluées à diverses concentrations dans une solution d'éthanol et tampon phosphate respectivement.
- 3.9 mL d'une solution de DPPH, sont rajoutés à 0.1 mL des solutions des extraits à différentes concentrations.
- La lecture de l'absorbance est faite pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.
- Le blanc à été préparé en remplaçant le DPPH par l'éthanol absolu et la solution contrôle contient 3.9 mL d'une solution de DPPH avec 0.1 mL des solvants éthanol/tampon phosphate.
- Le pouvoir anti-oxydant des différents extraits a été estimé et comparé avec un anti-oxydant puissant (acide férulique).

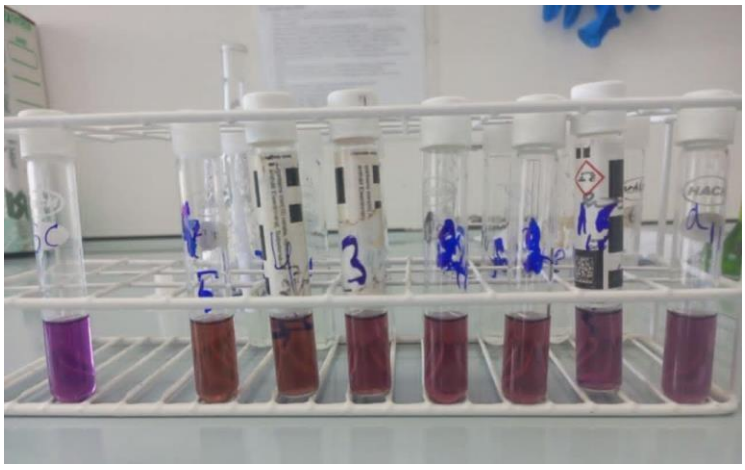


Figure II.16 : Les solutions préparées (photo personnelle).

- L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH·.

L'activité de piégeage du radical DPPH· est calculée en utilisant la formule suivante :

$$\textbf{\% Inhibition} = \frac{[A_{sc}-(A_{ech}-A_b)]}{A_{sc}} \times 100 \qquad \textbf{(II.9)}$$

A_{sc}: Absorbance de la solution contrôle ;

A_{ech}: Absorbance de l'échantillon ;

A_b: Absorbance du blanc.

- L'activité antioxydant est exprimée ensuite par des valeurs d'IC50, des concentrations d'extrait nécessaires pour déterminer l'inhibition de 50% de la forme réduite du radical DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés (Y=ax+b), pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées selon l'équation suivante :

$$IC_{50} = (Y - b)/a) \qquad \textbf{(II.10)}$$

II.4.5.2. L'activité anti-inflammatoire in vitro

La réponse inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre des agressions qui entrainent une altération tissulaire ou une infection. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, qui conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé **(Ashley, Weil, et Nelson 2012).**

II.4.5.2.1. Activité anti-hémolytique

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

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

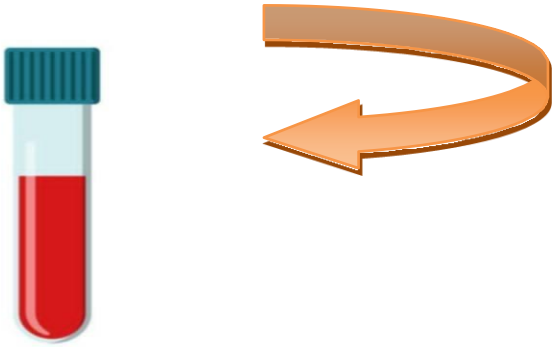
a. Préparation de suspension érythrocytaire

Selon **(Gandhidasan R, Thamaraichelvan A, et Baburaj S 1991)**, le sang utilisé a été prélevé au niveau du laboratoire d'analyses -Zitouni- à Médéa dans des tubes d'héparine à partir d'une personne saine qui n'était pas sous traitement anti-inflammatoire pendant au moins deux semaines avant la prise de sang (**Figure II.17**). Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min. Le surnageant est par la suite éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique (0.9%). Le volume des globules rouges a été mesuré pour préparer une suspension de (10%) de globules rouges humains, avec l'eau physiologique. Ce protocole est résumé par l'organigramme de la **Figure II.18.**



Figure II.17: Le sang utilisé (photos personnelles).

Echantillon de sang dans un tube hépariné



Centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 min

Récupération de culot

Lavage de culot trois fois par l'eau physiologique (0.9%) jusqu'à l'obtention d'un surnageant claire



Préparation d'une suspension de (10%) de globules rouges avec l'eau physiologique

Figure II.18 : Schéma de la préparation de la suspension érythrocytaire.

b. Hémolyse induite par solution hypotonique

Le principe de cette méthode consiste à l'exposition des érythrocytes à une solution hypotonique qui peut détruire la membrane de ces dernières, qui s'accompagne avec la libération d'hémoglobine avec les différents extraits des plantes étudiées afin de déterminer la capacité de ces extraits de protéger les érythrocytes contre l'hémolyse **(Gandhidasan R, Thamaraichelvan A, et Baburaj S 1991).**

Dans des tubes à hémolyse: 1 mL de tampon phosphate (pH=7 ; 0.1M), 2 mL de solution hyposaline (NaCl 0.36%), et 0.5 mL d'extrait convenablement dilué, ces tubes ont été mélangés, par la suite 0.5 mL de suspension érythrocytaire 10% est rajouté. Ensuite les tubes sont incubés à 37°C pendant 30 min puis centrifugés à 2500 tours/min pendant 5 min.

Un test control positif est réalisé dans les mêmes conditions mais en remplaçant l'extrait par l'eau distillée pour produire une hémolyse à 100%, tandis que le témoin négatif contient la solution érythrocytaire avec PBS. Le standard est le diclofénac de sodium.

Pour estimer la teneur en hémoglobine dans le surnageant une lecture d'absorbance de surnageant est faite à 560 nm.

- Le taux d'hémolyse de notre extrait a été calculé en pourcentage par rapport à l'hémolyse totale selon la formule suivante :

$$\textbf{Hémolyse (\%)} = \frac{DO_{ext} - DO_{Tn}}{DO_{Tp}} \times 100 \qquad \textbf{(II.11)}$$

DO_{ext} : Densité optique de l'extrait ;

DO_{Tn} : Densité optique de témoin négatif ;

DO_{Tp} : Densité optique de témoin positif.

II.4.5.3. L'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de notre extrait a été mise en évidence suivant le même principe que l'antibiogramme. L'effet antibactérien du produit (l'extrait) sur la cible (microorganisme) est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche microbienne sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Ainsi, dans cette méthode il y a compétition entre la croissance de la bactérie et la diffusion du produit à tester **(Brodasky, Lewis, et Eble 1976).**

- **Mode opératoire**

Préparation de l'inoculum microbien

A l'aide d'une anse en platine, des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile (0.9%) afin d'avoir des suspensions bactériennes avec une densité comprise entre 0.08 et 0.1 à 625 nm.



Figure II.19 : Préparation des suspensions bactériennes (photos personnelles).

Antibiogramme

- Ensemencement du milieu de culture : Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé (Tryptic Soy Agar pour les bactéries et Sabouraud pour et les champignons) en surfusion a été coulé aseptiquement à raison de 20 mL par boite. Après sa solidification, un écouvillon stérile a été imbibé de la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose en stries serrées de haut en bas pour avoir un tapie qui couvre toute la surface de la boite de pétrie.

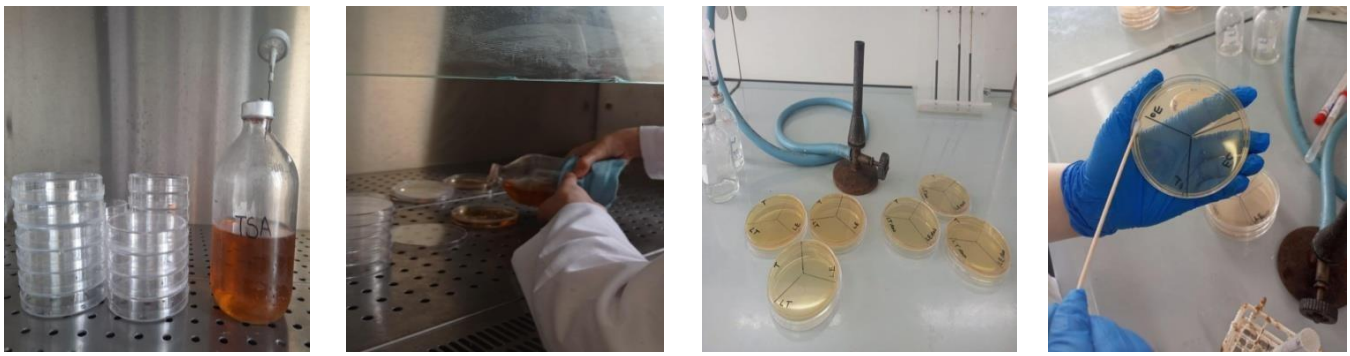


Figure II.20 : Protocole d'ensemencement du milieu de culture (photos personnelles).

- Application des disques et incubation : Dans des conditions aseptiques, des disques de 9 mm de diamètre sont préalablement imbibés dans chaque concentration des extraits préparés ainsi que des disques d'antibiotiques sont placés à l'aide d'une pince stérile sur les boites de pétri. On laisse ces dernières diffuser dans un réfrigérateur pendant quelques heures. Les boites de pétri sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 h.

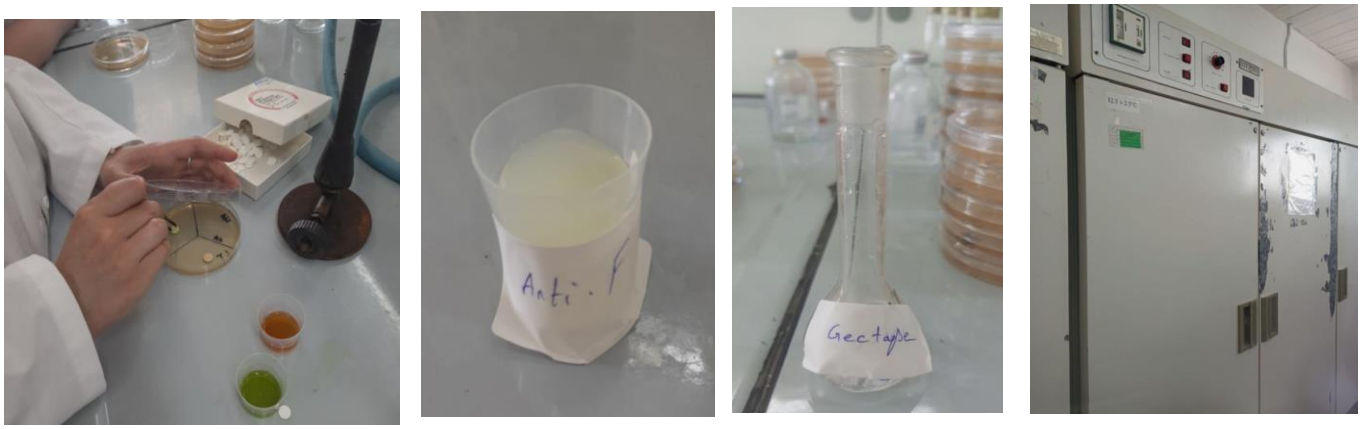


Figure II.21 : Protocole d'application des disques (photos personnelles).

- La lecture : Les diamètres des zones d'inhibition, qui se sont formées autour des disques, sont mesurés et enregistrés. La souche ayant un diamètre D < 8mm, 9 ≤ D≤ 14mm, 15 ≤ D ≤ 19 mm, D > 20mm est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++), extrêmement sensibles (+++)**(Mutai et al. 2009)**.

II.5. Formulation d'une émulsion à base des extraits obtenus

II.5.1. Les constituants de l'émulsion

a. Phase grasse (organique):

- Vaseline: **12 g;**
- Huile de ricin: **10 g;**
- Mono-stéarate de sorbitane (Span 60): **1 g;**
- Cire d'abeille Blanche: **9 g.**

b. Phase aqueuse

- Tween (polysorbate 60 ou 80) : **5 g,**
- Propylène glycol : **10 g;**
- Propylparabène (conservateur) : **20 g**
- Eau distillée : **42,85 mL**
- Extrait aqueux : **1 g** d'extrait liquide
- Extrait organique : **1 g** d'extrait liquide

II.5.2. Le procédé de formulation

a. Préparation de la phase grasse

- Peser séparément tous les ingrédients de la phase organique ;
- Introduire la vaseline, l'huile de ricin, le mono-stéarate de sorbitane et la cire d'abeille dans un bécher ;
- Chauffer le mélange à 60 °C au bain-marie en agitant doucement jusqu'à dissolution complète et formation d'un liquide homogène.

b. Préparation de la phase aqueuse

- Dans un second bécher, peser et mélanger le tween, le propylène glycol, le propylparabène et l'eau distillée ;
- Ajouter ensuite les extraits aqueux et organiques.
- Chauffer également cette phase à 60 °C tout en mélangeant jusqu'à homogénéisation.

c. Émulsification

Lorsque les deux phases atteignent 60 °C, verser lentement la phase aqueuse dans la phase grasse, tout en agitant vigoureusement à l'aide d'un homogénéisateur pendant 5 min.

d. Refroidissement

- Laisser refroidir le mélange à température ambiante ;
- Une fois la crème refroidie et dégazifiée, observer la consistance.
- Transférer dans un pot stérile, étiqueter et conserver à l'abri de la lumière et de la chaleur.

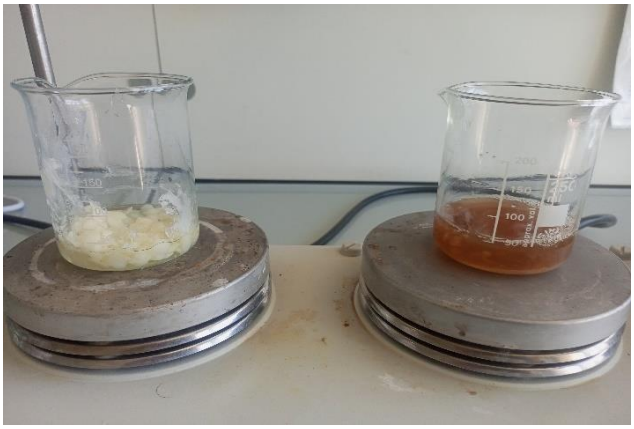


Figure II.22 : Préparation de la phase organique et aqueuse pour la formulation d'une émulsion (photo personnelle).

Chapitre III
Résultats & discussion

L'optimisation des extraits préparé à partir des feuilles de laurier ont été étudiée en utilisant la technique d'extraction par macération afin d'évaluer l'influence des paramètres physicochimique telque la température et le temps de macération et la variation de la polarité du milieu d'extraction a travers la variation des fraction éthanol/eau (pour les extraits organiques) et d'analyser l'interaction entre ces facteurs.

Pour cela, nous présentons dans ce chapitre les différents résultats obtenus de l'analyse quantitative des poly-phénols, des flavonoïdes et du pouvoir lipasique des extraits préparés. Cela nous a permis d'optimiser les conditions d'extraction afin d'évaluer les activités biologiques, en analysant leur activité antioxydante, enzymatique, antimicrobienne et anti-inflammatoire in vitro.

III.1. Caractérisation de la matière végétale

III.1.1. Taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80% d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10% **(Paris 1965).**

Dans notre travail nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans des feuilles fraîches et feuilles séchées à l'air libre de la plante *Laurus nobilis L*. C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve à 105°C pendant 24 h.

Les résultats obtenus sont récapitulés dans la **Figure III.1**

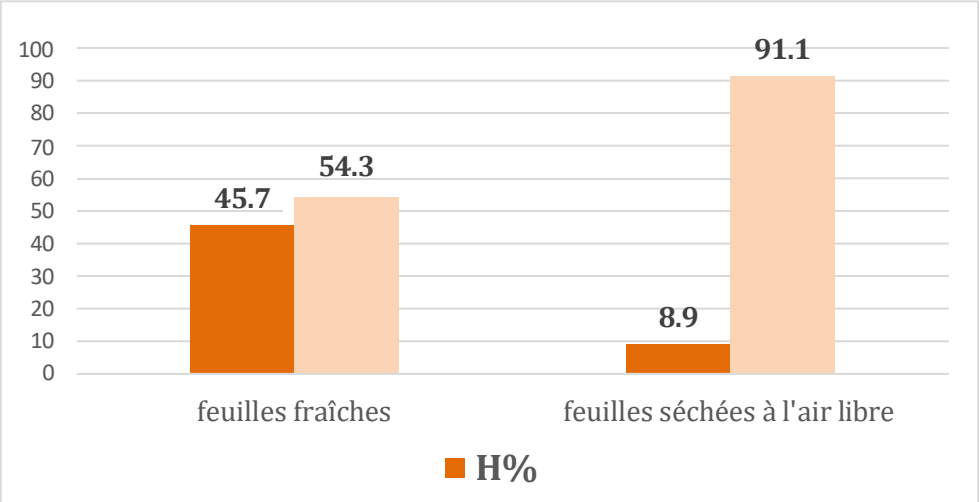


Figure III.1: Taux d'humidité des feuilles de laurier.

Les résultats de séchage ont révélé un taux d'humidité de 8.9% pour les feuilles séchées à l'air libre; qui est inférieure à 10% et lui confère une meilleure conservation à long terme, par rapport aux feuilles fraîches qui renferment un taux d'humidité de 45.7%.

Plusieurs travaux ont été menés dans ce contexte pour déterminer les taux d'humidités des feuilles de la plante étudie. Les résultats obtenus par **(Harchi, N et Icheboubene, D 2019)**ont montré que les feuilles de laurier noble provenant de trois régions différentes: Bir-khadem, Azeffon et Attatba, contiennent un taux d'humidité de 55%, 46% et 48% respectivement, alors nos résultats sont relativement similaires.

III.2. Caractéristiques organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur et odeur) des extraits éthanoliques et tamponnés de *Laurus nobilis L*. sont notées et présentées dans le **tableau III.1.**

Tableau III.1 : Les caractéristiques organoleptiques des extraits éthanoliques et tamponnés de *Laurus nobilis L* **(original)**

	Extraits éthanoliques	**Extraits tamponnés**
Aspect	Liquide	Liquide
Couleur	Vert 	Jaune clair 
Odeur	Puissante, aromatique, épicée, fraîche.	Aromatique, épicée, moins prononcée

- **Effet de la température**



Figure III.2: Effet de la température sur la coloration des extraits tamponnés à t=24h .

La **Figure III.2** montre deux ensembles de tubes à essai contenant des extraits tamponnés, soumis à deux conditions thermiques différentes.

On observe une différence marquée de couleur entre les deux échantillons :

- À température ambiante, l'extrait est jaune clair.
- À 60 °C, l'extrait devient jaune foncé à brunâtre.

Cette différence de couleur peut être interprétée comme une augmentation de la solubilité de certains composants colorés à température élevée.

- **Effet de durée d'incubation**



Figure III.3 : Évolution de la coloration des extraits tamponnés de laurier (50°C) en fonction du temps d'incubation.

D'après la **Figure III.3,** les trois flacons des extraits tamponnés de laurier à 50°C montrent une intensité croissante ou variable de brunissement selon la durée. La couleur

devient plus foncée, ce qui peut indiquer une augmentation en concentration de composants dissous.

- **Effet de concentration d'éthanol**

Pour les extraits organiques: plus la fraction de l'éthanol est grande et importante, plus la couleur est significative.

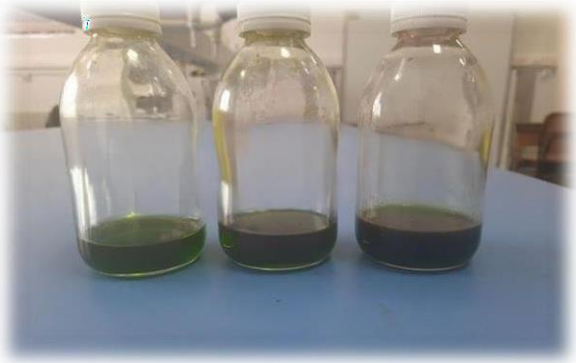


Figure III.4 : Influence de la fraction d'éthanol sur la couleur des extraits organiques à t=24 h.

Concernant les extraits éthanoliques, nous avons observé que plus la fraction de l'éthanol est grande et importante, plus la couleur est significative. Cette tendance peut s'expliquer par la polarité d'éthanol, qui est un solvant polaire, capable d'extraire efficacement une large gamme de composés organiques polaires et semi-polaires (comme les polyphénols, flavonoïdes, anthocyanes, etc.). Ainsi, une fraction d'éthanol plus importante permet d'extraire une plus grande quantité de ces pigments, ce qui rend la couleur de l'extrait plus intense.

III.3. Caractérisation physico-chimique

III.3.1. Détermination du pH

La mesure du pH des extraits est une étape importante pour mieux comprendre la nature chimique des composés extraits et leur comportement dans un environnement biologique.

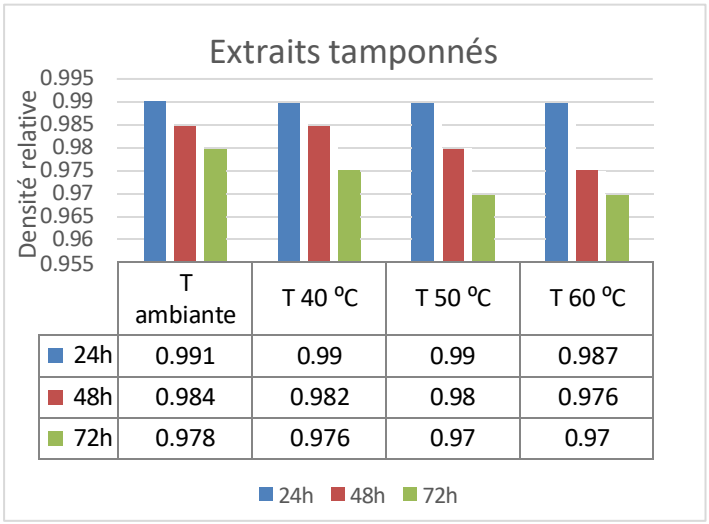
Dans cette étude, nous avons observé que :

- Les extraits tamponnés présentent un pH compris entre **6 et 7**, soit un milieu légèrement acide à neutre**.** Cela s'explique par l'utilisation du tampon PBS, dont le pH est de 7, et qui est justement conçu pour conserver la neutralité du pH.

- Les extraits éthanoliques présentent un pH compris entre **7 et 8**, ce qui correspond à un milieu neutre à légèrement basique. Cette variation du pH peut s'expliquer par l'utilisation de l'éthanol comme solvant. En effet, l'éthanol change le comportement des ions dans la solution et rend la mesure du pH un peu différente. Cela peut faire apparaître un pH légèrement plus élevé que celui que l'on obtiendrait avec une solution contenant uniquement de l'eau.

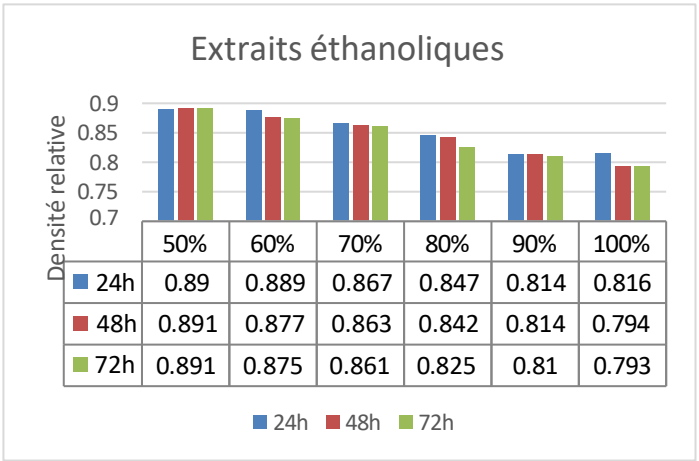
III.3.2. Densité relative

L'évolution de la densité relative en fonction de différentes conditions d'extraction (fraction éthanol/eau pour les extraits éthanoliques, température pour les extraits tamponnés), et selon la durée (24h, 48h, 72h) est présenté dans les **Figure III.5 et Figure III.6**.



	T ambiante	T 40 °C	T 50 °C	T 60 °C
24h	0.991	0.99	0.99	0.987
48h	0.984	0.982	0.98	0.976
72h	0.978	0.976	0.97	0.97

Figure III.5 : la densité relative des extraits tamponnés.



	50%	60%	70%	80%	90%	100%
24h	0.89	0.889	0.867	0.847	0.814	0.816
48h	0.891	0.877	0.863	0.842	0.814	0.794
72h	0.891	0.875	0.861	0.825	0.81	0.793

Figure III.6 : la densité relative des extraits éthanoliques.

D'après les résultats obtenus et représentés dans la **figure III.6**, les extraits éthanoliques montrent une diminution claire de la densité relative avec l'augmentation d'éthanol. Cela signifie que plus le solvant est riche en éthanol pur (90–100 %), plus l'extrait obtenu est léger (moins dense). Cette baisse de densité peut être expliquer par l'effet d'éthanol, ce dernier a une densité plus faible que l'eau (0.789 g/cm^3)en plus, certains composés hydrophiles (solubles dans l'eau) ne sont pas bien extraits à haute teneur en éthanol.

Les densités les plus élevées sont observées avec des mélanges à 50–60 % d'éthanol, ce qui suggère que ce rapport eau/éthanol est plus efficace pour extraire des substances lourdes ou abondantes.

De l'autre côté, les extraits tamponnés ont en général des densités plus élevées que les extraits éthanoliques, et les variations sont moins marquées. Toutefois, la densité tend à diminuer légèrement avec l'élévation de la température et avec un temps d'extraction prolongé. Cela peut indiquer que des températures élevées (50–60°C) et des extractions prolongées (72h) entraînent une perte de certains composés (par dégradation ou évaporation), ce qui rend l'extrait final moins dense. Cela peut également être dû à une dilatation thermique.

III.3.3. Indice de réfraction

Les résultats obtenus de l'indice de réfraction des extraits tamponnés et éthanoliques sont représentés graphiquement par les histogrammes (**Figure III.7** et **Figure III.8**)

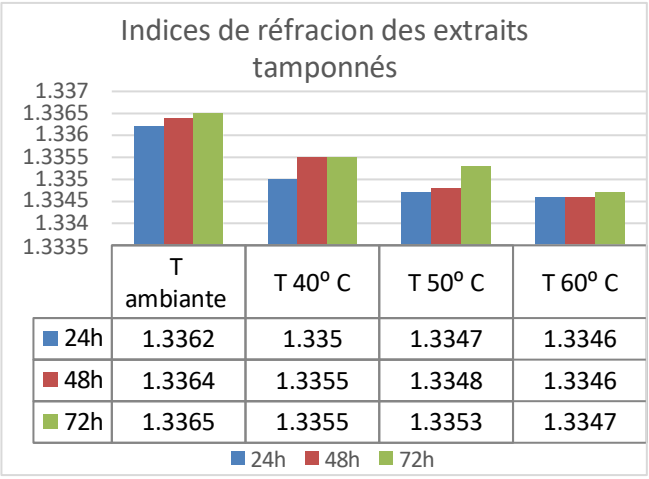


Figure III.7 : Indice de réfraction des extraits tamponnés.

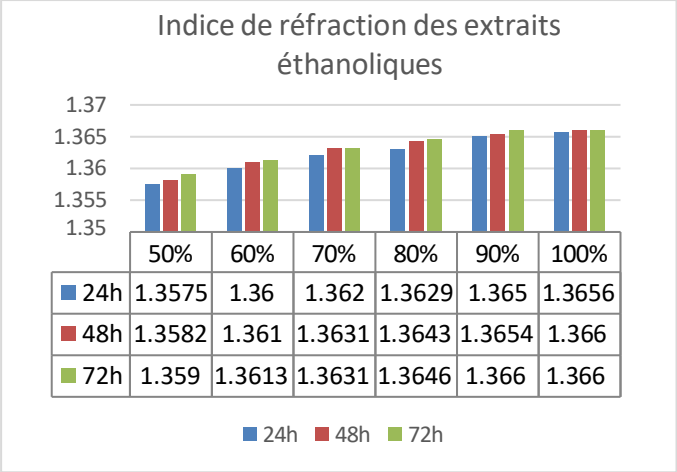


Figure III.8 : Indice de réfraction des extraits éthanoliques.

Les deux graphes illustre l'évolution de l'indice de réfraction pour les extraits éthanoliques et tamponnés, en fonction de la variation de la température, la fraction d'éthanol et le temps d'extraction. L'examen de ces graphes montre que les extraits éthanoliques présentent des indices de réfraction globalement plus élevés que les extraits tamponnés, surtout à forte concentration en éthanol. Cela peut s'expliquer par le fait que l'éthanol est un solvant organique capable d'extraire une plus grande quantité de composés organiques solubles.

Cela montre que plus la solution est riche en éthanol, plus elle assure le transfert de composés organique, en particulier ceux qui sont peu solubles dans l'eau. En plus, en remarque que la durée d'extraction (24h, 48h ou 72h) n'affecte que légèrement l'indice de réfraction, surtout à partir de 70% d'éthanol, ce qui indique une stabilisation des composés extraits.

En revanche, pour les extraits tamponnés, l'indice de réfraction diminue avec l'augmentation de la température, ce qui suggère une dégradation ou perte de certaines molécules thermosensibles. Là encore, la durée d'extraction n'a pas d'effet significative sur les résultats.

III.4. Analyse quantitative

III.4.1.Dosage enzymatique

III.4.1.1. Détermination de l'activité lipasique

Les lipases sont des sérines hydrolases définies comme des triacylglycérolacyl hydrolases**(Robic, A et al. 2017)**.Le rôle physiologique des lipases est de catalyser l'hydrolyse des triacylglycérides pour libérer des acides gras et du glycérol**(Houde, Kademi, et Leblanc 2004).**

La recherche de l'activité lipasique dans les extraits des feuilles de laurier noble (extraits éthanoliques et extraits tamponnés) est effectuée en utilisant la méthode de titration des acides gras libérés pendant la réaction de lipolyse. Cette méthode consiste à déterminer la quantité d'acides gras libérés en utilisant une base (NaOH) selon le principe de neutralisation d'un acide par une base. Une fois que la couleur vire au rose, le volume de NaOH introduit est utilisé pour calculer l'activité des lipases en suivant la formule correspondante.

L'activité des lipases peut être influencée par plusieurs paramètres, notamment la température , le temps et le solvant d'extraction **(Menden et al. 2019)**.Pour cela, nous avons caractérisé l'activité lipasique afin de déterminer l'influence du temps d'extraction et la température sur les extraits de plantes préparés.

Les résultats de l'effet de la température sur l'activité lipasique sur les extraits tamponnés et éthanoliques sont représentés dans les **Figure III.9**, **Figure III.10.**

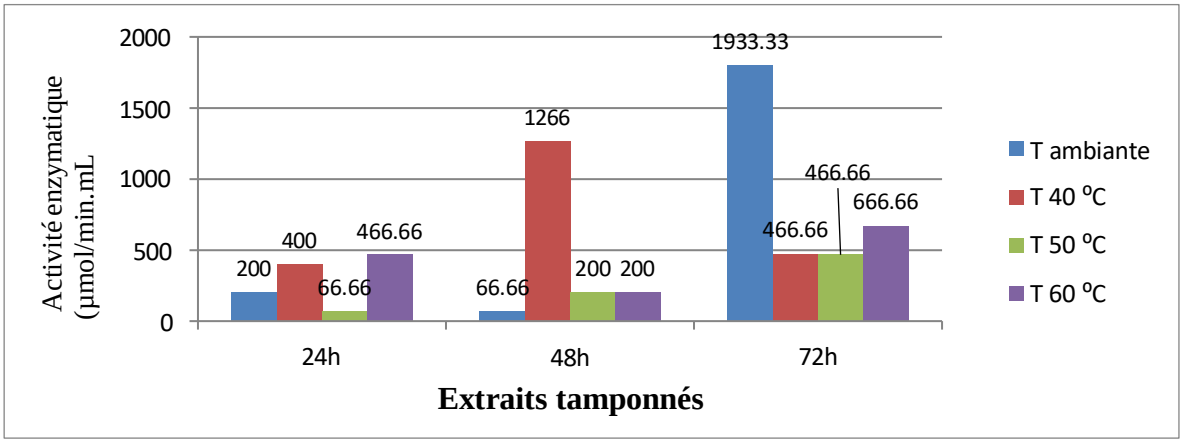


Figure III.9 : Effet de la température et du temps d'incubation sur l'activité lipasique des extraits tamponnés de *Laurus nobilis* L.

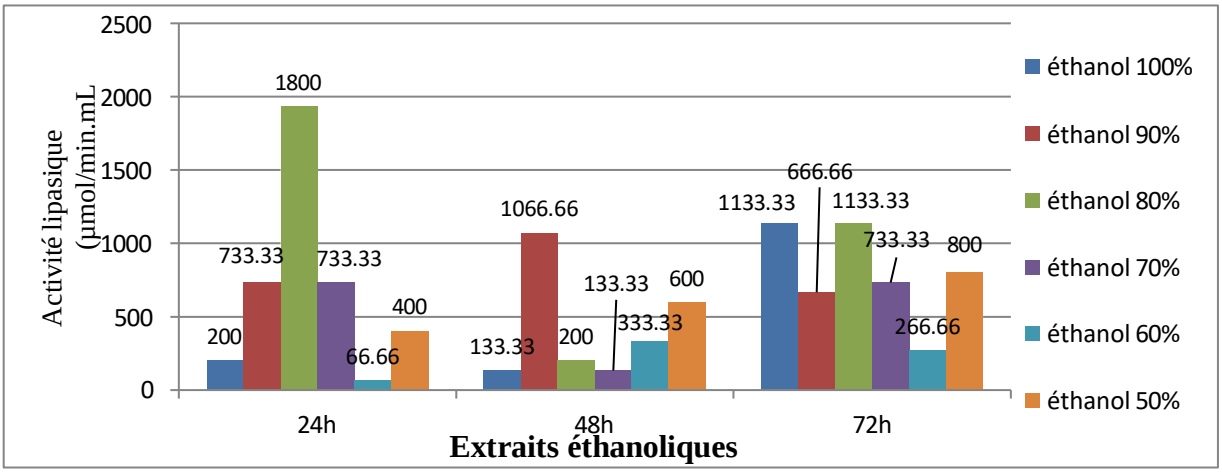


Figure III.10 : Influence du temps d'incubation et de la fraction éthanol/eau sur l'activité lipasique des extraits éthanoliques de *Laurus nobilis* L.

L'analyse de la **figure III.9** montre que la température optimale de l'activité lipasique des extraits tamponnés au cours des 72h et a une température ambiante est de 1933.33(µmol/min.mL d'extrait), tandis que les autres extraits ont des activités lipasiques trés fiables en raison des températures plusélevées ce qui provoque la dégradation de l'enzyme.

D'après la **figure III.10**, Les résultats montrent que l'extrait éthanolique à 80% présente une activité lipasique optimale après 24 heures, atteignant une valeur de 1800 µmol/min/mL d'extrait. Cette activité est suivie par celles des extraits à 90% et 100% d'éthanol. En revanche, les extraits préparés avec des fractions d'éthanol inférieures présentent une activité nettement plus faible, inférieure à 800 µmol/min/mL d'extrait. Cela s'explique que la concentration de 80% en éthanol semble offrir un équilibre optimal entre la polarité du solvant et la solubilité des composés enzymatiques, favorisant ainsi une meilleure extraction ou préservation de l'activité enzymatique.

III.4.1.2. Purification de l'enzyme

Notre étude consiste à purifier les deux extraits optimisés en activité enzymatique (tamponné à la température ambiante et après 72h de macération) et (éthanolique80%) .

Après une étape de purification on a obtenu une quantité importante d'enzyme pour l'extrait tamponné avec une valeur de 0.144 g, contrairement à l'extrait éthanoliquene montre aucune quantité précipitée. Cette différence suggère que les solvants organiques

comme l'éthanol lors d'une extraction ne sont pas adaptés lorsqu'un objectif de précipitation et de récupération de la lipase est visé. Pour cela, il est préférable de trouver un autre agent de précipitaion ou bien utilisé une autre technique.

De plus, Quantitativement, on exprime le degré de pureté d'une préparation de protéines par la mesure de son activité spécifique après chaque étape de purification. Pour cela, on a évalué l'activité lipasique après purification et ceci après avoir solubilisé la quantité de lipase récupérée dans un solvant approprié.

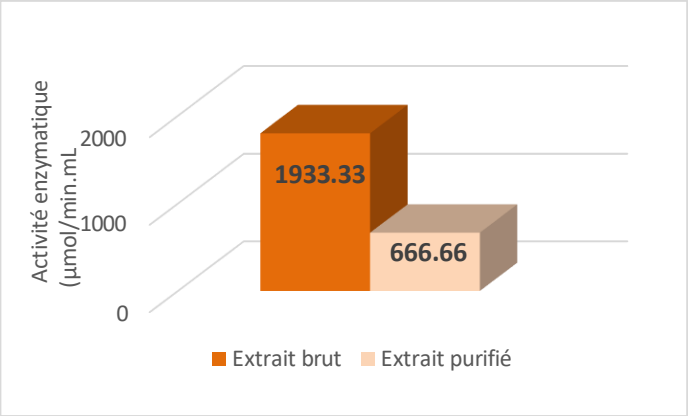


Figure III.11 : Activité enzymatique d'extrait tamponné avant et après purification.

L'évaluation de l'activité enzymatique des deux extraits a montré des résultats positifs quant à la présence de l'enzyme de lipase. Mais l'activité enzymatique est variable de l'extrait avant et après purification. Les résultats obtenus montrent une activité enzymatique plus élevé pour l'extrait brut par rapport à celle de l'extrait semi-purifier.

III.4.1.3. Activité spécifique

L'activité enzymatique spécifique est un paramètre qui peut évaluer la pureté d'une préparation enzymatique. Alors, plus l'activité spécifique est élevée, plus l'enzyme est pure.

Tableau III.2 : Activité spécifique d'un extrait purifié.

	Extrait purifié
Activité spécifique après la purification (µmol/min/mg)	**6666.6**

III.4.2. Détermination de la teneur en poly-phénols totaux (PPT)

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

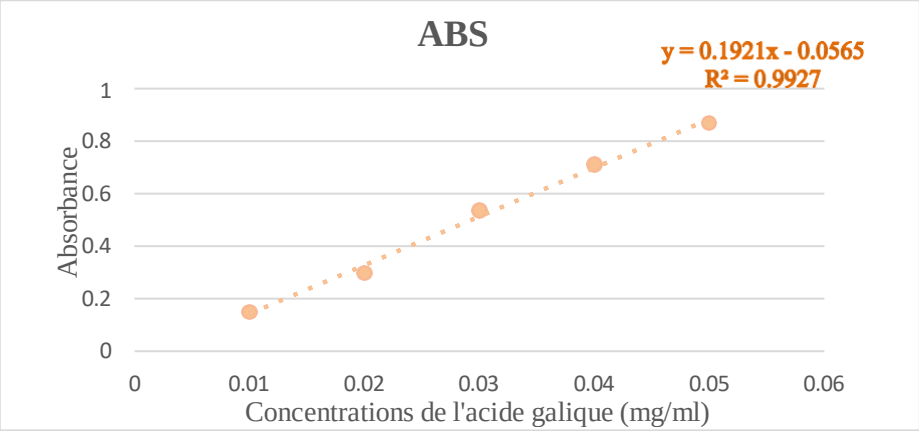


Figure III.12: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique/ gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MVS).

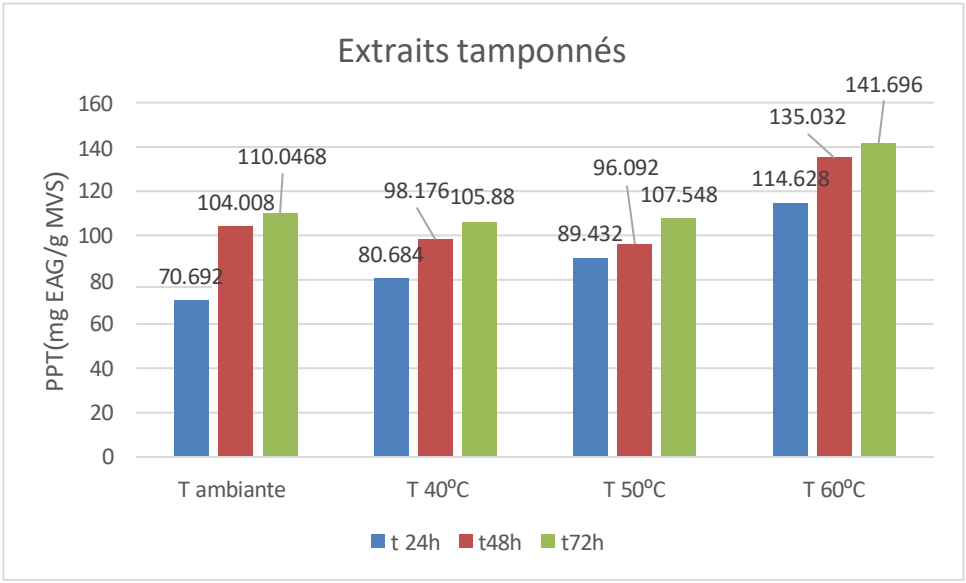


Figure III.13: Teneur en poly-phénols totaux (mgEAG /g MVS) des extraits tamponnés de *Laurus nobilis L.*

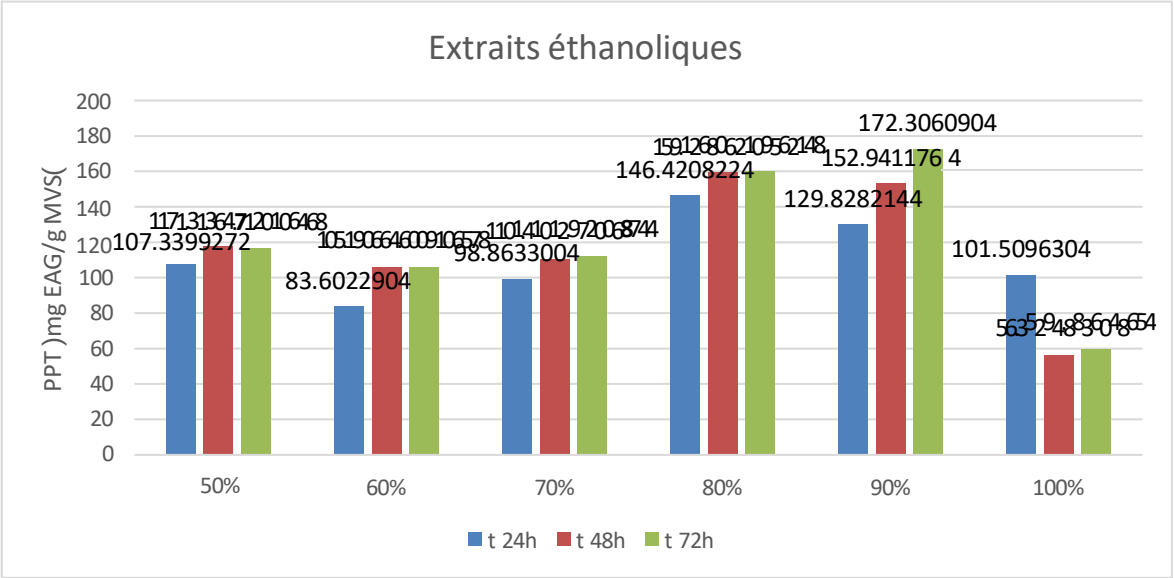


Figure III.14: Teneur en poly-phénols totaux (mgEAG /g MVS) des extraits éthanoliques de *Laurus nobilis L*.

D'après les figures ci-dessus, les teneurs en poly-phénols totaux des extraits obtenus varient entre 70.692 et 141.696 (mg EAG /g MVS) pour les extraits tamponnés (aqueux) et entre 56.324 et 172.30609 (mg EAG /g MVS) pour les extraits éthanoliques (organiques) selon les différents paramètres d'extraction .

- **L'effet de la température sur la teneur en PPT**

La teneur la plus importante en poly-phénols totaux pour les extraits aqueux obtenus est enregistréeà 60°C avec une valeur de 141.696(mgEAG /g MVS), cela s'explique par le fait que la chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation ce qui augmente la solubilité des matières à extraire. De plus, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite aussi le passage du solvant à travers la masse du substrat solide. Donc, plus la température est élevée plus la teneur en PPT est importante.

- **L'effet de temps sur la teneur en PPT**

L'influence du temps sur la teneur en PPT des extraits éthanoliques et tamponnés de notre plante étudiée, a été déterminée par l'optimisation de la durée d'extraction (24 h ,48 h et 72 h).

D'après la **figure III.13**, nous avons remarquéé une augmentation continue de la teneur en PPT au fil de temps pour divers températures fixées.

- **L'effet de fraction éthanol/eau sur la teneur en PPT**

L'examen de la **figure III.14**, indique que la teneur la plus importante en poly-phénols totaux est enregistrée pour l'extrait éthanolique 90% après une durée de macération de 24 h avec une teneur de 172.30609 (mgEAG /g MVS).

Selon l'étude **Mohsen et Ammar,** le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques est l'éthanol suivis du méthanol et finalement par l'eau (**Mohsen et Ammar 2009)**.

D'après les résultats obtenus par **Mahmoudi**, l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des poly-phénols totaux, et pour obtenir des fractions riches en poly-phénols, il est préférable d'employer des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau **(Mahmoudi, S et al 2013)**.

L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des poly-phénols par modulation de la polarité du solvant organique, qui peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses **(Mahmoudi, S et al 2013)**. Elle joue un rôle important dans le gonflement de la matière végétale, tandis que l'éthanol est responsable de perturber la liaison entre les solutés et la matrice végétale et permettre aussi un meilleur transfert de masse des composés.

En plus, la variation des résultats obtenus par ces différentes études est due aux différents paramètres d'extraction des poly-phénols et le solvant utilisé pour la réalisation de cette dernière **(Djahra, A.B 2014).**

III.4.2.1. Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement de l'extrait sec, obtenu après évaporation, à été déterminé par rapport à 2.5 g de la matière végétale introduite au début. La masse de l'extrait sec est déterminé par la variation du poids avant et après évaporation des extraits préparés. Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **Tableau III.3**

Tableau III.3: Poids d'extrait sec et rendement correspondant aux extraits éthanolique et tamponné optimisés

Exraits prepares	Poids d'extrait sec mg/ml	Rendement (%)
Extrait éthanolique	11.15	22.3
Extrait tamponné	5.95	11.9

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extrait éthanolique à 90% et tamponné à 60 °C chez la plante avec des valeurs respectivement de 22.3% et 11.9%. Donc le rendement d'extraction par mélange éthanol/eau a raison de 90% en éthanol est plus important que celui de l'extraction par tampon car le premier est un bon solvant pour les composés moyennement polaires tel que les poly-phénols.

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon **(Do et al. 2014).**

D'après **(Do et al. 2014**), l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

- **Détermination de PPT en mg EAG/g d'exrait sec**

Après avoir calculé les rendements des extraits éthanoliques et tamponnés optimisés, la teneur en polyphénols totaux a été évaluée et exprimée en mg d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) avec des valeurs respectives de 38633.65 mg EAG/g ES et 59536.13 mg EAG/g.

Ceci peut être expliqué par l'efficacité des alcools pour l'extraction d'une large gamme de plyphénols (flavonoides, tanins et acides phénoliuqes), car ils pénètrent bien dans les parois cellulaires végétales. Mais ils sont moins efficaces pour certains polyphénols très hydrophiles. Par contre, l'extraction par tampons est excellente pour les polyphénols très

polaires (acides phénolique) mais moins efficaces pour les polyphénols moins polaires et lipophiles.

Dans le cas d'une matière végétale très riche en polyphénoles polaires (fruits rouges et feuilles) un tampon peut donner une meilleure teneur. Et pour une extraction plus générale un alcool hydrolique est souvent préféré car il équilibre la polarité et l'efficacité.

III.4.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) **(Chang et al 2002).** La quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été mesuré à une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés par une courbe d'étalonnage, d'où on a déterminé la teneur en flavonoïdes des extraits optimisés.

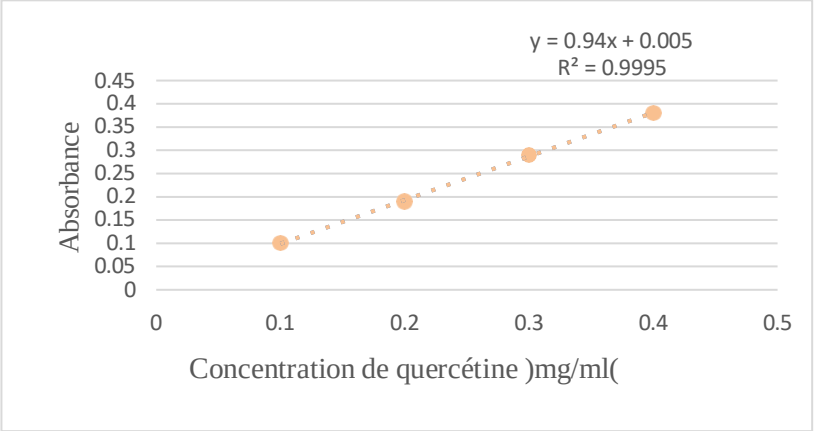


Figure III .15 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalent de quercétine/gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

Tableau III.4 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits éthanolique et tamponné.

Echantillon dosé	Teneurs en Flavonoïdes (Mg d'Equivalent de Quercétine par g d'Extrait sec)
L'extrait éthanolique 90% éthanol, 72h	**177.46**
L'extrait tamponné	**78.66**

T 60°C, 72h	

D'après les résultats regroupés dans le tableau III.4, on remarque une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes dans les deux extraits à savoir 174.88 mg EQ/g d'extrait sec pour l'extrait éthanolique et 78.99 mg EQ/g d'extrait sec pour l'extrait tamponné.

En plus, la teneur des flavonoïdes totaux trouvés dans l'extrait éthanolique de laurier noble sont beaucoup plus élevés que celles trouvés par les recherches de l'équipe de **Vinha** sur les feuilles de la même espèce avec une teneur de 20.88mgEQ/g d'extrait éthanolique **(Vinha et al. 2015)**.

Les résultats du dosage montrent également que la proportion en polyphénols est nettement supérieure à celle des flavonoïdes, ceci suggère que les polyphénols présents ne sont pas tous des flavonoïdes , il peut y avoir présence d'autres polyphénols tels que les tanins catéchiques ainsi que les coumarines **(Al-Khateeb, E, Ohan, A. A, et Al-Ani H 2012)**. Ces rapports permettent de conclure que la variation des flavonoïdes n'est pas relative à celles des polyphénols, cela peut être expliqué par la prépondérance des polyphénols non flavonoïdes.

III.5. Analyse biologique

III.5.1. Activité anti-oxydante in-vitro

L'évaluation du pouvoir antioxydant est réalisée sur les extraits optimisés en teneurs en polyphénols totaux (exrait éthanolique 90% et extrait tamponné à T 60°C) en utilisant une méthode complémentaire basée sur le piégeage du radical DPPH qui a été évaluée par spectrophotométrie en suivant son réduction qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm **(Yi et al. 2008)**. Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage des extraits grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à de faibles concentrations **(Maisuthisakul, Suttajit, et Pongsawatmanit 2007).**

Le pouvoir antioxydant des différents extraits a été estimé et comparé avec un antioxydant puissant (L'acide férulique).

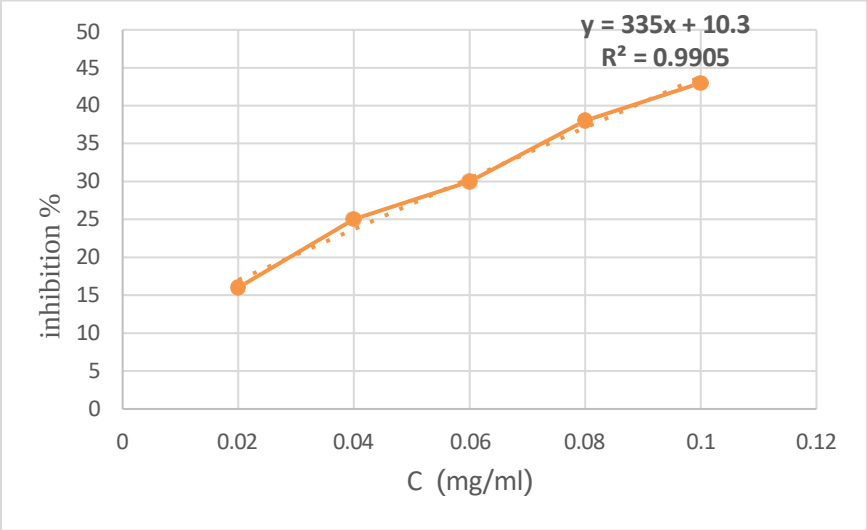


Figure III.16 : Courbe d'étalonnage de l'acide férulique.

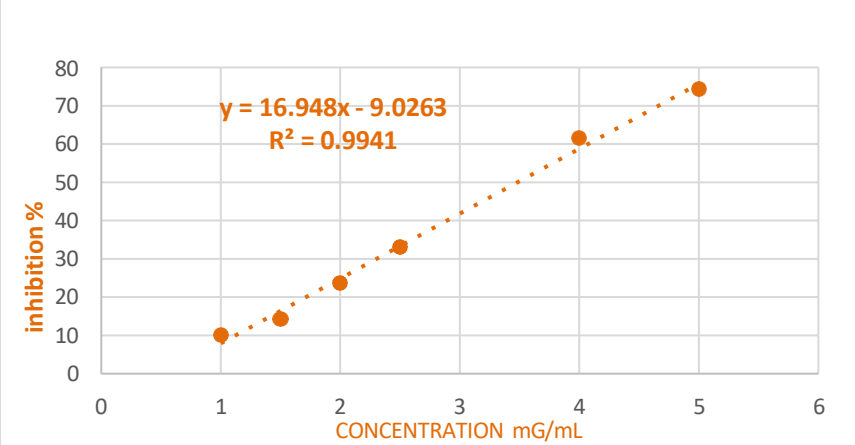


Figure III.17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis*.

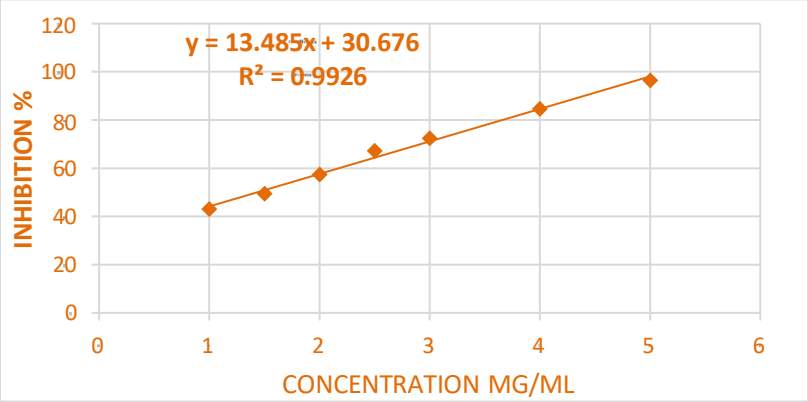


Figure III.18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis*.

La figures **III.17 et figure III.18** illustrent l'efficacité des extraits tamponnés et éthanoliques obtenus à partir des feuilles de laurier noble à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition en fonction des différentes concentrations.

Nos résultats, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, révèlent une activité remarquable d'inhibition du radical DPPH pour les deux extraits. L'extrait aqueux présente un pouvoir d'inhibition relativement faible à celui de l'extrait éthanolique. Ce dernier a révélé un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH qui atteint (96.52%).

Nos valeurs sont presque proches de celles trouvées par **(Elmasta`, M et al. 2006)** et **(Muñiz-Márquez et al. 2013b)**, dont les valeurs sont 92% et 94.73%, respectivement.

En plus, les résultats du test DPPH sont exprimés en IC50. La valeur IC50 (Concentration d'inhibition à 50%) est définie comme étant la concentration en substrat nécessaire à diminuer de 50% l'absorbance de la solution initiale du DPPH. Les IC50 sont inversement proportionnelles à l'effet piégeage dont les valeurs faible reflètent un effet anti-radicalaire important **(Dasgupta et De 2007 ;Maisuthisakul et al. 2007).**

Les valeurs d'IC50 des différents extraits, sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau III.5 : L'IC50 du test DPPH des extraits étudiés.

	IC50 (mg/mL)
Extrait éthanolique	1.43
Extrait tamponné	3.48
Acide férulique	0.12

Ces résultats indiquent que l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante plus élevée que l'extrait tamponné, ce qui peut être explique par sa teneur plus importante en composés phénoliques et flavonoïdes, reconnus pour leurs propriétés anti-radicalaires. En effet, l'éthanol, en tant que solvant organique polaire, est capable d'extraire efficacement une large gamme de composés antioxydants lipophiles et hydrophiles, ce qui renforce l'activité globale de l'extrait.

En revanche, l'extrait tamponné, bien qu'il présente une activité antioxydante non négligeable, montre une efficacité moindre, probablement en raison d'un profil en composés bioactifs moins riche ou moins réactif vis-à-vis le DPPH.

La comparaison des résultats trouvés avec l'acide férulique (IC50 = 0,12 mg/mL), un composé antioxydant pur, met en évidence que les extraits végétaux étudiés possèdent une activité notable, leur efficacité reste inférieure à celle des antioxydants standards purs, ce qui est attendu en raison de la complexité et de la diversité chimique des extraits bruts.

III.5.2. Acivité anti-inflammatoire in vitro

III.5.2.1. Activité anti-hémolytique induite par solution hypotonique

Le pourcentage d'hémolyse obtenue après incubation de la suspension des globules rouges de 10% avec l'extrait tamponné et éthanolique de laurier à 37°C, sont calculés en référence à un témoin positif induisant 100% d'hémolyse (eau distillée) et à un témoin négatif (PBS tampon).

Ces résultats sont comparés à ce enregistré pour le diclofénac (considérée dans ce test comme molécule anti-inflammatoire de référence).

Tableau III.6. Résultats de pourcentage d'hémolyse des extraits.

	Extrait éthanolique (1/100)	**Extrait tamponné (1/100)**	**Diclofénac**
Taux d'hémolyse (%)	35.17	25	22.75

D'après les résultats obtenus et représenté dans le **Tableau III.13** concernant le taux d'hémolyse, on remarque que l'extrait éthanolique montre un pourcentage d'hémolyse légèrement élevé, égal à 35.17%, comparé au standard dont la valeur est de 22.75%. En revanche, l'extrait tamponné exprime un pourcentage d'hémolyse plus proche de celui du diclofénac, soit 25% par rapport à l'extrait éthanolique à la même concentration.

Ces résultats nous ont permis de dire que les extraits testés présentent un effet hémolytique très faible. Ces données indiquent que l'extrait tamponné des feuilles de *Laurus nobilis L.* présente un effet protecteur, qui est relativement important vis-à-vis l'hémolyse induite par les solutions hypotoniques, ce qui signifie qu'il est plus efficace

pour stabiliser les membranes cellulaires par rapport à l'extrait éthanolique, qui peut augmenter l'hémolyse à cause des résidus d'éthanol perturbant la structure cellulaire et déstabiliser les protéines membranaires**.**

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

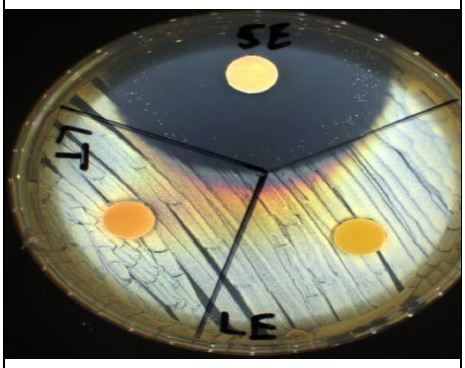
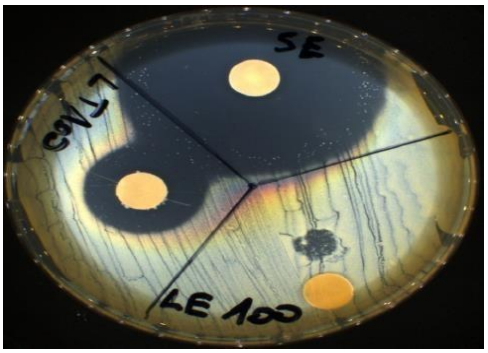
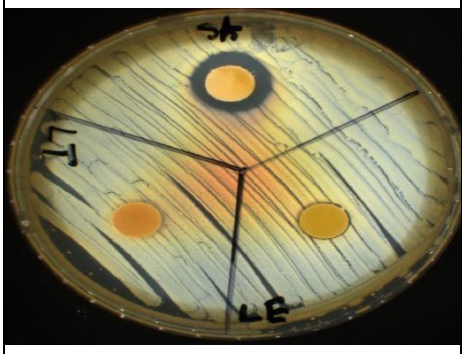
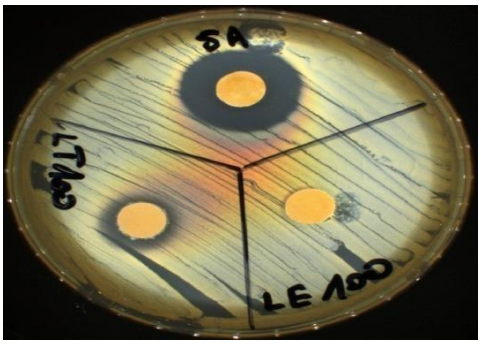
III.5.3. Activité anti-bactérienne

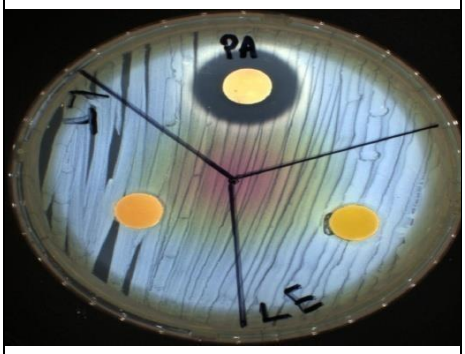
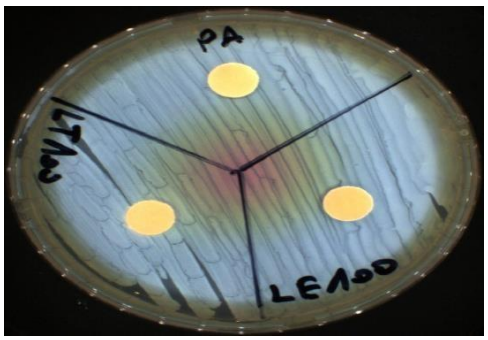
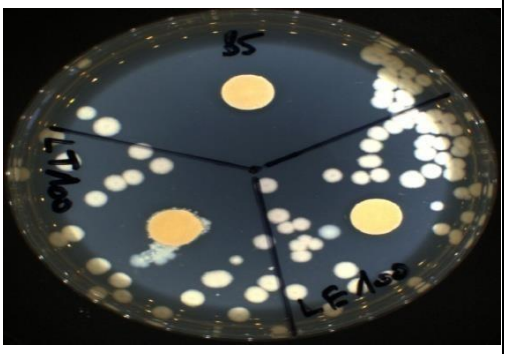
L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits de feuilles de *Laurus nobilis L* a été effectuée par la méthode de diffusion sur des milieux de culture à base de Tryptic Soy Agar (TSA)vis-à-vis cinq souches bactériennes de référence qui peuvent être divisé en deux groupes : les bactéries Gram négatif dont fait partie: *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et les bactéries Gram positif dont fait partie: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, tandis que des milieux de culture à base de gélose Sabouraud vis-à-vis trois souches fongiques dont fait partie: *Aspergillusbrasiliensis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*.

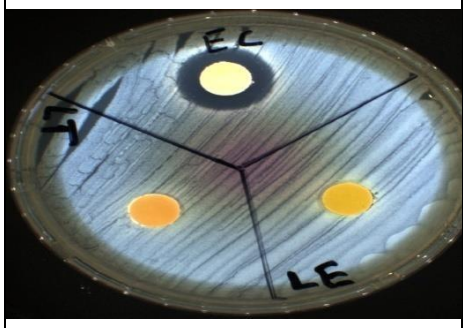
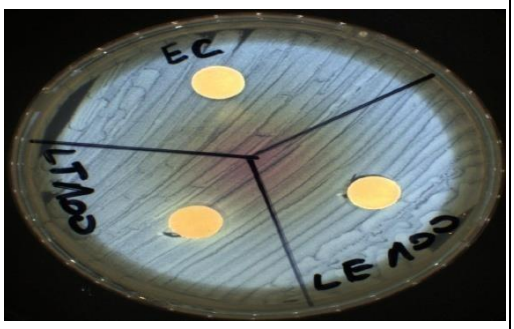
L'effet inhibiteur se manifeste par la formation d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imbibé des extraits étudiés, où la croissance des micro-organismes est entravée. Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux ci-contre :

Tableau III.7: Diamètres (en mm) des zones d'inhibition observées pour les différentes souches bactériennes.

La bactérie	***Staphylococcus epidermidis***				
Le type des extrais utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Gectapène

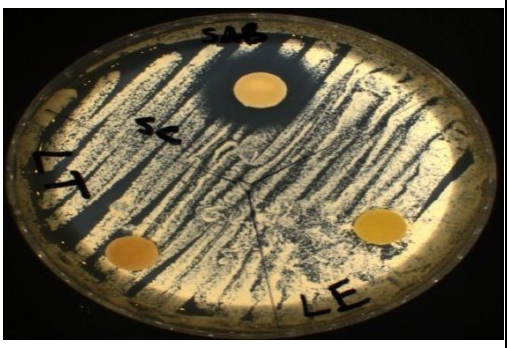
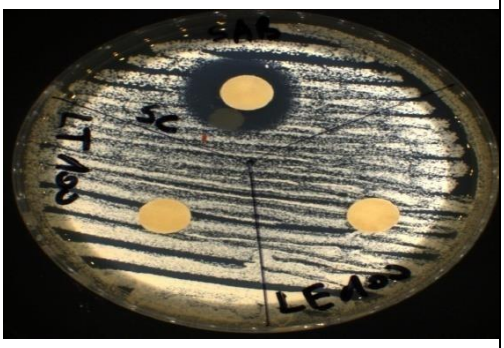
					
Le diamètre (mm)	0	0	22.9	0	50.1
La bactérie	***Staphylococcus aureus***				
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Gectapène
					
Le diamètre (mm)	9	9	17.1	12.5	23.5
La bactérie	***Pseudomonas aeruginosa***				
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Gectapène

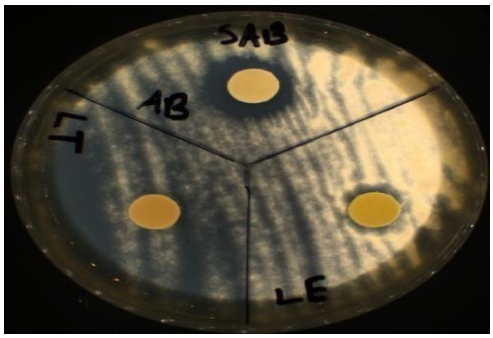
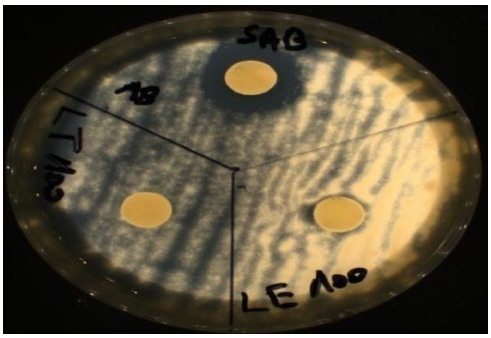
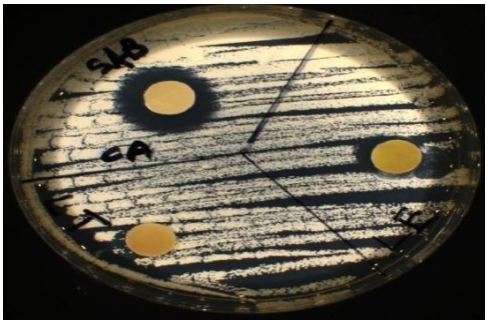
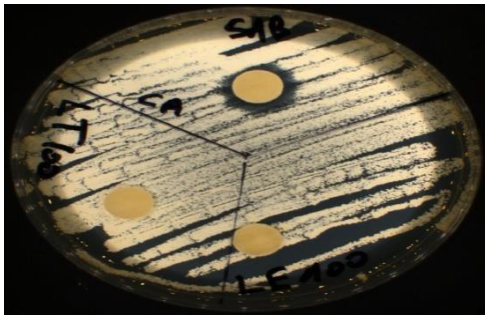
					
Le diamètre (mm)	0	0	0	0	20.7
La bactérie	***Bacillus subtilis***				
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Gectapène
					
Le diamètre (mm)	12.3	12.2	29.6	19	43.9
La bactérie	***Escherichia coli***				
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Gectapène

					
Le diamètre (mm)	0	0	0	0	18.4

(LT : Laurier Tamponné / LE: Laurier Ethanolique / LT 100 : Laurier tamponné dilué 100 fois / LE 100 : Laurier Ethanolique dilué 100 fois).

Tableau III.8 : Diamètres (en mm) des zones d'inhibition observées pour les différentes souches fongiques.

Le champignon	***Saccharomyces cerevisiae***				
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Nystatine
					
Le diamètre (mm)	0	0	0	0	25
Le	***Aspergillus brasiliensis***				

champignon					
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Nystatine
					
Le diamètre (mm)	0	13.4	0	12	17.7
Le champignon	***Candida albicans***				
Le type des extraits utilisés	LT	LE	LT 100	LE 100	Nystatine
					
Le diamètre (mm)	0	15.6	0	0	21.3

A partir des observations, on remarque que les souches testées réagissent différemment aux antibiotiques utilisés. Les diamètres des zones d'inhibition sont les suivants : pour les bactéries (*Staphylococcus epidermidis* 50.1mm, *Staphylococcus aureus* 23.5mm, *Pseudomonas aeruginosa* 20.7 mm, *Bacillus subtilis* 43.9mm et*Escherichia coli* 18.4 mm) et pour les champignons (*Saccharomyces cerevisiae* 25mm , *Aspergillus brasiliensis* 17.7mm et *Candida albicans* 21.3mm).

D'après la sensibilité au Gectapène, on constate que *Staphylococcus epidermidis* est la souche la plus sensible, avec un diamètre d'inhibition maximal de 50,1 mm. En ce qui concerne la Nystatine, *Saccharomyces cerevisiae* s'est montrée la plus sensible, avec une zone d'inhibition de 25 mm.

Les résultats regroupés dans le **Tableau III.7** obtenus montrent que les extraits aqueux et organiques des feuilles de *Laurus nobilis .L* ne présentent aucune activité antibactérienne vis-à-vis des souches *Pseudomonas aeruginosa et Escherichia coli* et agissent uniquement sur les bactéries à Gram (+). Les Gram positifs sont constitués d'une seule couche de peptidoglycane qui est perméable aux molécules qui réussissent à atteindre leur cible. A l'inverse des Gram négatif qui possèdent une structure multicouche liée par une membrane externe qui fait office de barrière imperméable **(Scherrer et Gerhardt 1971).** De nombreuses études montrent que les composés phénoliques exercent une activité plus importante sur les Gram (+) que les Gram (-) **(Toda, M. et al. 1989)** .

D'une part, l'extrait éthanolique des feuilles de *Laurus Nobilis L.* a marqué un effet inhibiteur important envers la croissance des souches (*Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis , Aspergillus brasiliensis , Candida albicans*) dont les zones d'inhibition obtenues varie entre 9 et 15.6mm. D'autre part, l'extrait éthanolique dilué a inhibé la croissance des souches bactériennes avec des zones d'inhibition plus importantes varie entre 12 et 19mm. En plus de cela, L'extrait tamponné dilué 100 fois (LT100) conserve une activité notable, surtout contre *Bacillus subtilis* (29,6mm) et *Staphylococcus epidermidis* (22,9mm), ce qui est surprenant et pourrait indiquer la présence de composés actifs même à faible concentration. L'extrait éthanolique dilué (LE100), quant à lui, reste peu actif.

Et d'après le **Tableau III.8,** Les extraits tamponnés ne montrent aucun effet vis-à-vis *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans* tandis que les extraits éthanoliques présentent un effet légèrement faible par rapport à la Nystatine. L'absence des zones d'inhibition avec *Saccharomyces cerevisiae* indique sa résistance à nos extraits.

Cette différence des diamètres des zones d'inhibition est due d'une part à la capacité de diffusion de l'extrait dans le milieu de culture ; elle dépend de plusieurs

facteurs : concentration de la substance diffusante, sa solubilité, l'épaisseur de la gélose...etc. Mais aussi à la teneur en polyphénols essentiellement en flavonoïdes et en tanins**(Ferreira et al. 2012)**.

III.6. Les propriétés biologiques de l'émulsion formulée

La crème formulée à base d'extrait tamponné (1%) et éthanolique (1%) de *Laurus nobilis L.* est une émulsion de type huile-dans-eau, idéale pour une application dermique rapide et non grasse. Grâce à la richesse des extraits en composés phénoliques et flavonoïdes, elle présente une double activité anti-inflammatoire et antimicrobienne, contribuant à accélérer la cicatrisation des plaies.

Les polyphénols et terpènes présents agissent en réduisant l'inflammation locale, en stimulant la régénération tissulaire, et en inhibant la croissance de bactéries et champignons pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*ou et *Candida albicans*.

De plus, la phase grasse (vaseline, huile de ricin, cire d'abeille) protège la zone traitée tout en favorisant une hydratation adéquate. Ainsi, cette crème naturelle constitue une formulation efficace et bien tolérée pour des soins cutanés**,** notamment dans les cas de lésions superficielles, irritations ou infections légères.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie suscite un intérêt croissant dans le domaine de la recherche biomédicale, notamment en raison de leur capacité à prévenir les effets secondaires fréquemment associés aux médicaments de synthèse chimique.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer in vitro les propriétés antibactériennes, anti-oxydantes et anti-inflammatoires des extraits tamponnés et éthanoliques obtenus à partir des feuilles de *Laurus nobilis*, tout en optimisant des conditions d'extraction en faisant varier la température, la durée et la proportion éthanol/eau.

Cette optimisation a été réalisée en mesurant la concentration en polyphénols et flavonoïdes dans nos extraits, ainsi que l'activité de la lipase avant et après une étape de purification. Les résultats obtenus montrent que *Laurus nobilis* est plus riche par ces métabolites.

À la lumière des résultats obtenus, la teneur optimale en polyphénols totaux a été observée dans l'extrait tamponné incubé à 60°C pendant 72 heures, ainsi que dans l'extrait hydroéthanolique (90% éthanol/eau), avec des concentrations respectives de 141,696mg EAG/g MVS et 172,30609mg EAG/g MVS. Parallèlement, l'activité lipasique maximale, déterminée par titrage des acides gras libérés, a été enregistrée pour l'extrait tamponné après 72 heures d'incubation à température ambiante, avec une valeur de 1933,33 µmol/min·mL d'extrait. Pour l'extrait hydroéthanolique (80% éthanol/eau), l'activité maximale a été atteinte également après 72heures, avec une valeur de 1800 µmol/min·mL d'extrait.

En ce qui concerne les activités biologiques évaluées sur les extraits optimisés, l'activité anti-oxydante, mesurée par la méthode du DPPH, a montré que l'extrait éthanolique présente unecapacité antiradicalaire nettement supérieure à celle de l'extrait tamponné, avec des valeurs d'IC50 de 1,43 mg/mL et 3,48 mg/mL, respectivement. Par ailleurs, une corrélation positive a été observée entre l'activité antioxydante et la teneur en composés polyphénoliques.

L'activité anti-inflammatoire a été aussi évaluée par le test d'activité anti-hémolytique et appréciée par le test de stabilisation des érythrocytes vis-à-vis d'un stress osmotique et thermique, où l'extrait tamponné des feuilles de *Laurus nobilis L*. présente un effet hémolytique très faible plus proche de celui du diclofénac par rapport à l'extrait

éthanolique à la même concentration avec des pourcentage d'hémolyse de 25% et 35.17% respectivement .

Concernant l'activité antimicrobienne, les extraits aqueux et organiques des feuilles de *Laurus nobilis* ont présenté une activité ciblée, agissant exclusivement sur les bactéries Gram positives. Cette activité a été principalement observée avec les extraits dilués. En revanche, les souches fongiques testées se sont révélées plus sensibles aux extraits concentrés qu'aux extraits dilués.

En fin, l'ensemble des résultats obtenus au cours de notre investigation, constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

En perspective, il serait très intéressant:

D'isoler et d'identifier les composés responsables des effets observés (comme les polyphénols), afin de mieux comprendre comment ils agissent.

D'améliorer les méthodes d'extraction pour obtenir plus de composés actifs, il serait possible d'optimiser les techniques d'extraction en utilisant, par exemple, des ultra-sons ou des micro-ondes.

Développer des produits à base de ces extraits optimisés comme des crèmes, gels, compléments alimentaires et détergents, après avoir vérifié leur efficacité et leur stabilité.

Références bibliographiques

A

Académie de Pharmacie, éd. 1997. *Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques*. Paris: Éditions Louis Pariente.

Ahirwar, Ramesh Kumar. 2015. « Diversity of Ethnomedicinal Plants in Boridand Forest of District Korea, Chhattisgarh, India ». *American Journal of Plant Sciences* 06 (02): 413-25. https://doi.org/10.4236/ajps.2015.62047.

Ait El Cadi, M., S. Makram, M. Ansar, Y. Khabbal, K. Alaoui, M.A. Faouzi, Y. Cherrah, et J. Taoufik. 2012. « Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de Zygophyllum gaetulum. Ann. Pharm. Fr. 70, 113–116. » *Annales Pharmaceutiques Françaises* 70 (2): 113-16. https://doi.org/10.1016/j.pharma.2011.11.004.

Alejo-Armijo, Alfonso, Joaquín Altarejos, et Sofía Salido. 2017. « Phytochemicals and Biological Activities of Laurel Tree (Laurus Nobilis).Natural Product Communications , 743- 757. » *Natural Product Communications* 12 (5): 743-57.

Al-Khateeb, E, Ohan, A. A, et Al-Ani H. 2012. « Cytotoxicity studies of Tamus communis root and berries HEP – 2 and AMN – 3 carcinoma cell. Hygei : Journal for drugs and medicines, 4 (2), 1-5. » 2012. http://www.hygeiajournal.com/Abstract.aspx?did=159.

Amandine, GUILLOUTY. 2016. « Plantes médicinales et antioxydants [DOCTEUR EN PHARMACIE, Université Toulouse lll - Paul Sabatier]. http://thesesante.upstlse.fr/1635 ».

Ashley, Noah T., Zachary M. Weil, et Randy J. Nelson. 2012. « Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation.Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 43: 385-406 ». *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43 (Volume 43, 2012): 385-406. https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-040212-092530.

Audigié, Claude, Jean Figarella, et François Zonszain. 1978. *Manipulation biochimique. Doin (Ed). Paris, 274p.* Doin.

Audigié, Claude, et F. Zonszain. 1995. *Biochimie métabolique, Biosciences et techniques, paris, 1995.* Doin.

Augère B. 2001. « Les enzymes, biocatalyseurs protéiques, Ellipses, Paris, 2001. » Éditions Ellipses. 2001. https://www.editions-ellipses.fr/accueil/837-les-enzymes-biocatalyseurs-proteiques-9782729800642.html.

B

Baba, Tadashi, Deborah Downs, Kenneth W. Jackson, Jordan Tang, et Chi Sun Wang. 1991. « Structure of Human Milk Bile Salt Activated Lipase, Biochemistry, 30, 1991. » *Biochemistry* 30 (2): 500-510. https://doi.org/10.1021/bi00216a028.

Bae, Ji-Yun, Yeon-Hee Seo, et Se-Wook Oh. 2022. « Antibacterial activities of polyphenols against foodborne pathogens and their application as antibacterial agents ». *Food Science and Biotechnology* 31 (8): 985-97. https://doi.org/10.1007/s10068-022-01058-3.

Bahorun, T, B Gressier, F Trotin, C Brunet, T Dine, M Luyckx, J Vasseur, M Cazin, J C Cazin, et M Pinkas. 1996. « Oxygen Species Scavenging Activity of Phenolic Extracts from Hawthorn Fresh Plant Organs and Pharmaceutical Preparations ». *Arzneimittel-Forschung* 46 (11): 1086-89.

Ballabio, R., et P. Goetz. 2010. « Huile de graine/fruit de laurier Laurus nobilis L., Laurus azorica (Seub.) Franco, Laurus novocanariensis Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, J.C. Costa et C. Aguiar ». *Phytothérapie* 8 (2): 141-44. https://doi.org/10.1007/s10298-010-0547-8.

Barla, A, G Topcu, S Oksuz, G Tumen, et D Kingston. 2007. « Identification of Cytotoxic Sesquiterpenes from Laurus Nobilis L. » *Food Chemistry* 104 (4): 1478-84. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.019.

Barnes, P.J. 1998. « Anti-Inflammatory Actions of Glucocorticoids: Molecular Mechanisms. Clin. Sci. 94, 557–572. » *Clinical Science (London, England : 1979)* 94 (6). https://doi.org/10.1042/cs0940557.

Bassolé, Imaël Henri Nestor, et H. Rodolfo Juliani. 2012. « Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties ». *Molecules* 17 (4): 3989-4006. https://doi.org/10.3390/molecules17043989.

Beaulieu, Pierre, Vincent Pichette, Julie Desroches, et Patrick du Souich. 2015. *Précis de pharmacologie, 2e édition*. Presses de l'Université de Montréal. https://www.perlego.com/fr/book/3055087/prcis-de-pharmacologie-2e-dition.

Beaumont, Simon. 2007. *Biochimie PCEM 1: Cours, exercices, annales et QCM corrigés*. 2e édition. Paris: Ediscience.

Beisson, F., N. Ferté, S. Bruley, R. Voultoury, R. Verger, et V. Arondel. 2001. « Oil-Bodies as Substrates for Lipolytic Enzymes, Biochim. Biophys. Acta, 1531, 2001. » *Biochimica Et Biophysica Acta* 1531 (1-2): 47-58. https://doi.org/10.1016/s1388-1981(01)00086-5.

Beloued, A. 2003. *Plantes medicinales d'Algérie*. Alger: Office des publications universitaires.

Bendif H. 2025. « Caractérisation Phytochimique et Détermination Des Activités Biologiques in Vitro Des Extraits Actifs de Quelques Lamiaceae: Ajuga Iva (L.) Schreb., Teucrium Polium L., Thymus Munbyanus Subsp. Coloratus (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et Rosmarinus Eriocalyx Jord & Fourr. | Request PDF ». ResearchGate. 6 janvier 2025.
https://www.researchgate.net/publication/317319035_Caracterisation_phytochimique_et_d

etermination_des_activites_biologiques_in_vitro_des_extraits_actifs_de_quelques_Lamiaceae_Ajuga_iva_L_Schreb_Teucrium_polium_L_Thymus_munbyanus_subsp_coloratus_Boiss_.

Bernhard, Sidney A. 1969. *Structure et functions des enzymes, Ediscience, Paris, 1969*. Paris: Édiscience.

Bidie, P et al. 2011. « Activités Antioxydantes de Dix Plantes Medicinales de La Pharmacopée Ivoirienne. Sci. Nat. 8, 1–12. » ResearchGate. 2011. https://www.researchgate.net/publication/229085497_Activites_antioxydantes_de_dix_plantes_medicinales_de_la_pharmacopee_ivoirienne.

Boizot et Charpentier. 2006. « Méthode Rapide d'évaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Organes d'un Arbre Forestier ». ResearchGate. 2006. https://www.researchgate.net/publication/341819016_Methode_rapide_d'evaluation_du_contenu_en_composes_phenoliques_des_organes_d'un_arbre_forestier.

Bors, Wolf, Christa Michel, Werner Heller, et Heinrich Sandermann. 1998. « Flavonoid Radicals ». In *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants*, édité par Tomris Özben, 85-92. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2907-8_8.

Botineau, Michel. 2015. *Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Paris: Ed. Tec&Doc, pp : 320*. Paris: Lavoisier : Tec & doc.

Bouhlali, Eimad dine Tariq, Khalid Sellam, Mohamed Bammou, Chakib Alem, et Younes Filali-Zehzouti. 2016. « In Vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Selected Moroccan Medicinal Plants. Journal of Applied Pharmaceutical Science,6 (05):156- 162. » *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6 (5): 156-62. https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60525.

Bourkhiss, M., M. Hnach, J. Paolini, J. Costa, A. Farah, et B. Satrani. 2010. « Propriétés anti oxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de Tetraclinis articulata (Wahl) Masters du Maroc. Bull. Société R. Sci. Liège. 141-154. » *Bull. Soc Royale des Sci de liège*, n° 79, 141-54.

Bouzabata, Amel. 2015. « CONTRIBUTION A L'ÉTUDE D'UNE PLANTE MÉDICINALE ET AROMATIQUE MYRTUS COMMUNIS L. » Phdthesis, Faculté de Médecine, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie. https://theses.hal.science/tel-01493134.

Brittany W. 2023. « Coumarin Definition, Structure & Uses | Study.com ». 2023. https://study.com/academy/lesson/what-is-coumarin-structure-synthesis-derivatives.html.

Brodasky, T. F., C. Lewis, et T. E. Eble. 1976. « Bioautographic thin-layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal: 1. Clindamycin in the rat.Journal of chromatography A 123(1): 33-44. » *Journal of Chromatography A* 123 (1): 33-44. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)81099-7.

Bruneton, Jean. 1999a. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3e éd. rev. et Augm. Paris Cachan: Éd. Tec & doc-Lavoisier Éd. médicales internationales.

Bruneton. 1999b. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3. éd. rev. et Augm. Paris: Ed. Tec & doc-Lavoisier [u.a.].

C

Caputo, Lucia, Filomena Nazzaro, Lucéia Fatima Souza, Luigi Aliberti, Laura De Martino, Florinda Fratianni, Raffaele Coppola, et Vincenzo De Feo. 2017. « Laurus nobilis: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities ». *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry* 22 (6): 930. https://doi.org/10.3390/molecules22060930.

Chang et al. 2002. « Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary ColorimetricMethods ».2002. https://www.researchgate.net/publication/279893687_Estimation_of_Total_Flavonoid_Content_in_Propolis_by_Two_Complementary_Colorimetric_Methods.

Cornish et al. 2005. « Cinétique enzymatique - - Athel Cornish-Bowden, Marc Jamin, Valdur Saks (EAN13 : 9782759801169) | La boutique EDP Sciences : e-librairie, vente en ligne de livres et ebooks scientifiques ». EDP Sciences. 2005. https://laboutique.edpsciences.fr/produit/185/9782759801169/cinetique-enzymatique.

D

Dall'Acqua, Stefano, Rinaldo Cervellati, Ester Speroni, Stefano Costa, Maria Clelia Guerra, Laura Stella, Emanuela Greco, et Gabbriella Innocenti. 2009. « Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of *Laurus Nobilis* L. Leaf Infusion. J. Med. Food 12, 869–876. » *Journal of Medicinal Food* 12 (4): 869-76. https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0119.

Dasgupta, Nabasree, et Bratati De. 2007. « Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study ». *Food Chemistry* 101 (2): 471-74. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.003.

Demir, V., T. Gunhan, A.K. Yagcioglu, et A. Degirmencioglu. 2004. « Mathematical Modelling and the Determination of Some Quality Parameters of Air-Dried Bay Leaves ». *Biosystems Engineering* 88 (3): 325-35. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2004.04.005.

Derwich, et al. 2009. « Chemical Composition and Antibacterial Activity of Leaves Essential Oil of Laurus Nobilis from Morocco ». ResearchGate. 2009. https://www.researchgate.net/publication/228672057_Chemical_Composition_and_Antibacterial_Activity_of_Leaves_Essential_Oil_of_Laurus_nobilis_from_Morocco.

Di Leo Lira, P., D. Retta, E. Tkacik, J. Ringuelet, J.D. Coussio, C. Van Baren, et A.L. Bandoni. 2009. « Essential Oil and By-Products of Distillation of Bay Leaves (Laurus Nobilis L.). Argentina-Industrial Corps and Products , 259-264. » *Industrial Crops and Products* 30 (2): 259-64. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.04.005.

Djahra, A.B. 2014. « (PDF) Etude Phytochimique et Activité Antimicrobienne, Antioxydante, Antihépatotoxique Du Marrube Blanc Ou Marrubium Vulgare L(PhDThesis). Thèse de Doctorat Unique. Université Badji Mokhtar–Annaba (Algérie) 114p. » ResearchGate. 2014. https://www.researchgate.net/publication/281494263_Etude_phytochimique_et_activite_antimicrobienne_antioxydante_antihepatotoxique_du_Marrube_blanc_ou_Marrubium_vulgare_L.

Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker, et N. Vidal. 2006. « Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. food chemistry , 654-660. » *Food Chemistry* 97 (4): 654-60. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028.

Do, Quy Diem, Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen, Lien Huong Huynh, Felycia Edi Soetaredjo, Suryadi Ismadji, et Yi-Hsu Ju. 2014. « Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* ». *Journal of Food and Drug Analysis* 22 (3): 296-302. https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001.

E

Elmasta`, M et al. 2006. « (PDF) Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts. J. Iran. Chem. Soc. 3, 258–266. » *ResearchGate*. https://doi.org/10.1007/BF03247217.

Encyclopédie Des Plantes Médicinales (2001 Larousse). s. d. Consulté le 29 avril 2025. http://archive.org/details/encyclopedie-des-plantes-medicinales-2001-larousse.

« **enzymologie: Caractéristique générales des enzymes, TSTL-Bioch, 2008**. » s. d. Consulté le 8 mai 2025. https://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/laroui_salah/files/enzymologie.pdf.

Epifano, Francesco, Salvatore Genovese, Luigi Menghini, et Massimo Curini. 2007. « Chemistry and Pharmacology of Oxyprenylated Secondary Plant Metabolites ». *Phytochemistry* 68 (7): 939-53. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.01.019.

F

Fang, Fang, Shengmin Sang, Kuang Y. Chen, Alexander Gosslau, Chi-Tang Ho, et Robert T. Rosen. 2005. « Isolation and Identification of Cytotoxic Compounds from Bay Leaf (Laurus Nobilis) ». *Food Chemistry* 93 (3): 497-501. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.029.

Farnsworth, Norman R, Olayiwola Akerele, Audrey S Bingel, Djaja D Soejarto, et ZHENGANG GuoS. s. d. « Place des plantes medicinales dans la therapeutique ».

Favier, A. 2003. « Favier, A. (2003) Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité

chimique, 108-115. - References - Scientific Research Publishing ». 2003. https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2298584.

Ferreira, S., J. Santos, A. Duarte, A. P. Duarte, J. A. Queiroz, et F. C. Domingues. 2012. « Screening of Antimicrobial Activity of Cistus Ladanifer and Arbutus Unedo Extracts. Natural Product Research , 1558-1560. » *Natural Product Research* 26 (16): 1558-60. https://doi.org/10.1080/14786419.2011.569504.

Fickers, Patrick, Jacqueline Destain, et Philippe Thonart. 2008. « Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 12, 2008. »

Fiorini, Christel, Bruno David, Isabelle Fourasté, et Joseph Vercauteren. 1998. « Acylated Kaempferol Glycosides from Laurus Nobilis Leaves ». *Phytochemistry* 47 (5): 821-24. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00563-3.

Flamini, Guido, Marianna Tebano, Pier Luigi Cioni, Lucia Ceccarini, Andrea Simone Ricci, et Iginio Longo. 2007. « Comparison between the Conventional Method of Extraction of Essential Oil of Laurus Nobilis L. and a Novel Method Which Uses Microwaves Applied in Situ, without Resorting to an Oven ». *Journal of Chromatography. A* 1143 (1-2): 36-40. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.031.

Furutani, Toshiyuki, Masakatsu Furui, Hiroshi Ooshima, et Jyoji Kato. 1996. « N-Acylation of β-Amino Alcohol by Acyl Migration Following Enzyme-Catalyzed Esterification ». *Enzyme and Microbial Technology* 19 (8): 578-84. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)82684-1.

G

Gandhidasan R, Thamaraichelvan A, et Baburaj S. 1991. « Anti-inflammatory action of Lannea coromandelica by HRBC membrane stabilization. Fitoterapia;Voll LXII; No1:81-83. » 1991. https://www.scienceopen.com/document?vid=5a94a6a2-16fd-42e0-80dd-66d2aeb891d1.

Garrett, Reginald H. 2000. *Biochimie, 2e édition américaine, De Boeck université s.a. 2000.* Paris : De Boeck Université. http://archive.org/details/biochimie0000garr.

Ghesterm, A., Seguin, E., Paris, M., et Orecchioni, A.M. 2001. « Le Préparateur en pharmacie, dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris, 275p. » 2001. https://www.abebooks.fr/9782743004439/Pr%C3%A9parateur-pharmacie-dossier-Botanique-Pharmacognosie-2743004436/plp.

Godet S. 2008. « (24) Isolement et Caractérisation de Trois Gènes Codant Une Lipase et Deux Estérases Hypothétiques Chez La Microalgue Marine Isochrysis Galbana (Prymnesiophyceae, Haptophyta), Thèse de Doctorat, Université de Maine, 2008. » 2008. https://www.academia.edu/72498278/Isolement_et_caract%C3%A9risation_de_trois_g%C3%A8nes_codant_une_lipase_et_deux_est%C3%A9rases_hypoth%C3%A9tiques_chez_la_microalgue_marine_Isochrysis_galbana_Prymnesiophyceae_Haptophyta_.

Guitton, Yann. 2010. « Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre Lavandula : aspects évolutifs et physiologiques ». Phdthesis, Université Jean Monnet - Saint-Etienne. https://theses.hal.science/tel-00675866.

H

Haleng, J et al. 2007. « Le stress oxydantt. Rev. Médicale Liège 62. » 2007. https://rmlg.uliege.be/article/1647.

Halliwell, B., R. Aeschbach, J. Löliger, et O.I. Aruoma. 1995. « The Characterization of Antioxidants ». *Food and Chemical Toxicology* 33 (7): 601-17. https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00024-V.

Hamzaa N., Berkea B., Chezea C., Aglib A.N., Robinsona P., Ginc H., et Moorea N. 2010. « (PDF) Treatment of high fat diet induced type 2 diabetes in C57BL/6J mice by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria ». 2010. https://www.researchgate.net/publication/49625451_Treatment_of_high_fat_diet_induced_type_2_diabetes_in_C57BL6J_mice_by_two_medicinal_plants_used_in_traditional_treatment_of_diabetes_in_the_east_of_Algeria.

Harchi, N et Icheboubene, D. 2019. « Etude de quelques activités thérapeutiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat des feuilles de laurier ; Laurus nobilis L. provenant de trois régions différentes d'Algérie. Mémoires de Master, Université Saad Dahlab blida. » 2019. https://www.theses-algerie.com.

Hasan, Fariha, Aamer Ali Shah, et Abdul Hameed. 2006. « Industrial applications of microbial lipases, Enzyme and Microbial Technlogy, 39,235-51, 2006. » *Enzyme and Microbial Technology* 39 (2): 235-51. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.016.

Hassanien, Fawzi R., et Kumar D. Mukherjee. 1986. « Isolation of Lipase from Germinating Oilseeds for Biotechnological Processes, J. Am. Oil Chem. Soc., 63, 1986. » *Journal of the American Oil Chemists' Society* 63 (7): 893-97. https://doi.org/10.1007/BF02540922.

Hills, M. J., et K. D. Mukherjee. 1990. « Triacylglycerol Lipase from Rape (Brassica Napus L.) Suitable for Biotechnological Purposes, Appl. Biochem. Biotechnol., 26, 1990. » *Applied Biochemistry and Biotechnology* 26 (1): 1-10. https://doi.org/10.1007/BF02798388.

Hirasa, Kenji, et Mitsuo Takemasa. 1998. *Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.* Boca Raton: CRC Press. https://doi.org/10.1201/9780367800451.

Houde, Alain, Ali Kademi, et Danielle Leblanc. 2004a. « Lipases and Their Industrial Applications: An Overview. AppliedBiochemistry And Biotechnology, 118(1-3), 155-170. » *Applied Biochemistry and Biotechnology* 118 (1-3): 155-70. https://doi.org/10.1385/abab:118:1-3:155.

———. 2004b. « Lipases and Their Industrial Applications, Applied Biochemistry and Biotechnology, 118 (2004), 155-170. » *Applied Biochemistry and Biotechnology* 118 (1-3): 155-70. https://doi.org/10.1385/abab:118:1-3:155.

Houessou, Sotelle. s. d. « Thème : Effets de la réduction de la diversité floristique sur la santé des populations rurales au sud du Bénin Colloque International de Sifee. Paris. communauté Electrique du Bénin (CEB) Lomé-Togo,2010. »

I

Indge, B. 2007. *Biologie de A à Z - 1100 définitions - Bill Indge - Librairie Eyrolles ,paris. pp 172-173*. https://www.eyrolles.com/Sciences/Livre/biologie-de-a-a-z-9782100511877/.

Iserin P. 2001. *Encyclopedie des plantes medicinales . 2ème Ed . Larousse . Londres Pp : 143 et 225-2*. http://archive.org/details/EncyclopedieDesPlantesMedicinales.

Ito, C., M. Itoigawa, K. Nakao, T. Murata, M. Tsuboi, N. Kaneda, et H. Furukawa. 2006. « Induction of Apoptosis by Carbazole Alkaloids Isolated from Murraya Koenigii ». *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology* 13 (5): 359-65. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2005.03.010.

Ivanović J., Žižović I., Petrović S. D., et Skala D.,. 2009. « (PDF) The Analysis of Different Processes of Extraction: Yield of Extracts Obtained from Aloe Vera (Aloe Barbadensis Miller) and Sweet Bay (Laurus Nobilis L.) and the Exergy Analysis of Applied Processes .Chemical Industry &Chemical Engineering Quarterly 15 (4): 271−278. » *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/267030196_The_analysis_of_different_processes_of_extraction_yield_of_extracts_obtained_from_Aloe_Vera_Aloe_barbadensis_Miller_and_Sweet_Bay_Laurus_nobilis_L_and_the_exergy_analysis_of_applied_processes.

K

Kaloustian, Jacques, et Francis Hadji-Minaglou. 2012. *La connaissance des huiles essentielles qualitologie et aromathérapie,Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Paris : Edition Springer, (2012), p : 23-25*. Collection Phytothérapie pratique. Paris: Springer. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0309-8.

Kandikattu K et al. 2013. « Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Canthium Parviflorum by in-Vitro Method. 1(5):729-730. » 2013. https://europub.co.uk/articles/evaluation-of-anti-inflammatory-activity-of-canthium-parviflorum-by-in-vitro-method-A-33114.

Karthik, K., Rathna,B., Kumar,P., Venupriya, R., Kumar, S. K., et Singh, R.,. 2013. « Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Canthium Parviflorum by In-Vitro Method. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology, 1, 2320–3471. » Scribd. 2013. https://www.scribd.com/document/506063184/Antiinflammatoryact2.

Khanbabaee, K., et T. van Ree. 2001. « Tannins: Classification and Definition ». *Natural Product Reports* 18 (6): 641-49. https://doi.org/10.1039/b101061l.

KHODJA et al. 2020. « Conventional method and microwave drying kinetics of Laurus nobilis leaves: effects on phenolic compounds and antioxidant activity ». 2020. https://www.researchgate.net/publication/343240575_Conventional_method_and_microwa

ve_drying_kinetics_of_Laurus_nobilis_leaves_effects_on_phenolic_compounds_and_anti oxidant_activity.

Kivçak, Bijen, et Tuba Mert. 2002. « Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts ». *Fitoterapia* 73 (3): 242-43. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00060-6.

L

Larousse. s. d.*Encyclopedie des plantes medicinales*. Consulté le 9 avril 2025. http://archive.org/details/EncyclopedieDesPlantesMedicinales.

« **LAURACEAE**. » s. d. Consulté le 8 avril 2025. https://www.jean-marc-gil-toutsurlabotanique.fr/page/introduction-a-la-botanique/classification-des-vegetaux/nomenclature-des-familles/lauraceae-.html.

« **LAURIER SAUCE : Description, Utilisation, Localisation, Confusion ». 2021**. Monde Végétal. 29 mars 2021. https://monde-vegetal.fr/blogs/blog/laurier-sauce.

Lim, Y. Y., T. T. Lim, et J. J. Tee. 2007. « Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. Food Chemistry , 103 (3) , 1003-1008 . Doi : 10.1016 / j.foodchem.2006.08.038 ». *Food Chemistry* 103 (3): 1003-8. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.038.

Louerrad, Yasmina, Rihab Haddi, et Meriem KAID Harche. 2016. « Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale Haloxylon scoparium. Journal of bioresources valorisation , 28- 33. » 01 (1).

M

Macheix, Jean-Jacques, Annie Fleuriet, et Christian Jay-Allemand. 2005. *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique .pp 203- 204*. EPFL Press.

Mahmoudi, S et al. 2013. « Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.). Nature & Technology, 2013(9): p. 35. » 2013. https://www.theses-algerie.com.

Maisuthisakul et al. 2007. « Assessment of Phenolic Content and Free Radical-Scavenging Capacity of Some Thai Indigenous Plants ». ResearchGate. 2007. https://www.researchgate.net/publication/223948076_Assessment_of_phenolic_content_and_free_radical-scavenging_capacity_of_some_Thai_indigenous_plants.

Maisuthisakul, Pitchaon, Maitree Suttajit, et Rungnaphar Pongsawatmanit. 2007. « Assessment of Phenolic Content and Free Radical-Scavenging Capacity of Some Thai Indigenous Plants, Food Chem, (2007), 100:1409-1418. » *Food Chemistry* 100 (4): 1409-18. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.032.

Mansouri , A, Embarek , G, Kokkalou , E., et Kefalas , P. 2005. « Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera) . Food

Chemistry , 89 (3) , 411-420 . » 2005. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881460400216X.

Marouf, Abderrazak, et Joël Reynaud. 2007. *La botanique de A à Z: 1662 définitions pp :114 ,175,295.* Paris: Dunod.

Matsuda, Hisashi, Tadashi Kagerura, Iwao Toguchida, Hiroki Ueda, Toshio Morikawa, Masayuki Yoshikawa, Kyoto PharmaceuticalUniversity, et Misasagi Yamashina-ku. 2000. « INHIBlTORY EFFECTS OF SRSQUITERPE.NESFROM BAY LEAF ON NITRIC OXIDE PRODUCTION IN LIPOPOLYSACCHARIDE-ACTIVATED MACROPHAGES: STRUCTURE REQUIREMENT AND ROLE OF HEAT SHOCK PROTEIN INDUCTION », 2071-77.

McGettigan, Patricia, et David Henry. 2013. « Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs That Elevate Cardiovascular Risk: An Examination of Sales and Essential Medicines Lists in Low-, Middle-, and High-Income Countries. PLOS Med. 10, E1001388. 3-5. » *PLoS Medicine* 10 (2): e1001388. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001388.

Medi, Marica. 2004. « Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids,Croatica ChemicaActa,77(1-2) : 361-366p. » *Croat. Chem. Acta*.

Mediouni Ben Jemâa, Jouda, Nesrine Tersim, Karima Taleb Toudert, et Mohamed Larbi Khouja. 2012. « Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition ». *Journal of Stored Products Research* 48 (janvier):97-104. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.10.003.

Menden, Ariane, Davane Hall, Daniel Paris, Venkatarian Mathura, Fiona Crawford, Michael Mullan, Stefan Crynen, et Ghania Ait-Ghezala. 2019. « A Fast, Miniaturised *in-Vitro* Assay Developed for Quantification of Lipase Enzyme Activity. Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry, 34(1), 1474-1480. » *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34 (1): 1474-80. https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1651312.

« **methode-analyse-100-ph.pdf** ». s. d. Consulté le 9 juin 2025. https://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/methode-analyse-100-ph.pdf.

Mohsen, Sobhy M., et Abdalla S. M. Ammar. 2009. « Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. Food Chem. 112, 595–598. » *Food Chemistry* 112 (3): 595-98. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.014.

Molyneux, Philip. 2004. « The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl- Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity » 26 (2).

Moualek, I., Aiche, G., Guechaoui, N., Lahcene, S., et Houali, K. 2016. « Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Arbutus Unedo Aqueous Extract. AsianPac. J. Trop.Biomed. 6.937-944. » ResearchGate. 2016. https://www.researchgate.net/publication/308364784_Antioxidant_and_anti-inflammatory_activities_of_Arbutus_unedo_aqueous_extract.

Muniz, Mauro Neves. 2006. « Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la ()-camptothécine ».

Muñiz-Márquez, Diana B., Guillermo C. Martínez-Ávila, Jorge E. Wong-Paz, Ruth Belmares-Cerda, Raúl Rodríguez-Herrera, et Cristóbal N. Aguilar. 2013a. « Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Laurus Nobilis L. and Their Antioxidant Activity. Ultrasonics Sonochemistry 20, 1149-1154. » *Ultrasonics Sonochemistry* 20 (5): 1149-54. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.008.

———. 2013b. « Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Laurus Nobilis L. and Their Antioxidant Activity,Ultrasonics Sonochemistry. » *Ultrasonics Sonochemistry* 20 (5): 1149-54. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.008.

Mutai, Charles, Christine Bii, Constantinos Vagias, Dennis Abatis, et Vassilios Roussis. 2009. « Antimicrobial Activity of Acacia Mellifera Extracts and Lupane Triterpenes ». *Journal of Ethnopharmacology* 123 (1): 143-48. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.007.

Muto, S., et H. Beevers. 1974. « Lipase Activities in Castor Bean Endosperm during Germination. Plant Physiology, 1974, Vol. 54, No 1, p. 23-28. » *Plant Physiology* 54 (1): 23-28. https://doi.org/10.1104/pp.54.1.23.

N

Nijveldt, R. J., E. van Nood, D. E. van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren, et P. A. van Leeuwen. 2001. « Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 74 (4): 418-25. https://doi.org/10.1093/ajcn/74.4.418.

O

Okuda, T., Y. Kimura, T. Yoshida, T. Hatano, H. Okuda, et S. Arichi. 1983. « Studies on the Activities of Tannins and Related Compounds from Medicinal Plants and Drugs. I. Inhibitory Effects on Lipid Peroxidation in Mitochondria and Microsomes of Liver ». *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 31 (5): 1625-31. https://doi.org/10.1248/cpb.31.1625.

Orliaguet, Gilles, Olivier Gall, et Fatema Benabess-Lambert. 2013. « Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Prat. En Anesth. Réanimation 17, 228–237. » *Le Praticien en Anesthésie Réanimation* 17 (5): 228-37. https://doi.org/10.1016/j.pratan.2013.08.002.

Ouchikh, Olfa, Thouraya Chahed, Riadh Ksouri, Mouna Ben Taarit, Hanen Faleh, Chedly Abdelly, Mohamed Elyes Kchouk, et Brahim Marzouk. 2011. « The Effects of Extraction Method on the Measured Tocopherol Level and Antioxidant Activity of L. Nobilis Vegetative Organs ». *Journal of Food Composition and Analysis* 24 (1): 103-10. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.04.006.

P

Pahoja V et Sethar M. 2002. « A Review of Enzymatic Properties of Lipase in Plants, Animals and Microorganisms, Pakistan J.Appl. Sci, 2, 2002. » 2002. https://doi.org/10.3923/jas.2002.474.484.

Paris, R. R. 1965. *Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris. 412 p.* Paris: Masson.

Pech, Brigitte, et Jean Bruneton. 1982. « Alcaloïdes Du Laurier Noble, Laurus nobilis .journal of Natural Products, Vol. 45, n° 5, pp :560-563. » *Journal of Natural Products* 45 (5): 560-63. https://doi.org/10.1021/np50023a008.

« **Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles** ». s. d. Consulté le 9 avril 2025. https://bibliotheques.mnhn.fr/medias/doc/exploitation/HORIZON/366369/plantes-aromatiques-epices-aromates-condiments-et-huiles-essentielles.

Pourmorad, F, S J Hosseinimehr, et N Shahabimajd. 2006. « Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants ».

« **Production de lipases** ». s. d. Consulté le 16 mai 2025. https://123dok.net/article/production-de-lipases-lipases-microbiennes.q2m5pxjy.

Q

Quézel, P., et S. Santa. 1962. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, vol. 1. Editions du Centre National de la recherche scientifique. https://books.google.dz/books?id=74czAAAAIAAJ.

R

Reynier, A. 2007. « Manuel de viticulture (10° Éd.) - Alain Reynier - Point de côté.Paris. pp : 532 ». 2007. https://www.librairiepointdecote.fr/livre/466225-manuel-de-viticulture-10-ed--alain-reynier-lavoisier-tec-doc.

Robic, A et al. 2017. « Enzymes for industrial applications. Oilseeds And Fats, Crops And Lipids/OCL. Oilseeds & Fats Crops And Lipids, 24(4), D404. » 2017. https://www.researchgate.net/publication/318072552_Enzymes_for_industrial_applications.

Roux, Danielle, et Odile Catier. 2007. *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China, pp: 141.* Wolters Kluwer France.

S

Sarda, L., et P. Desnuelle. 1958. « Action de la lipase pancréatique sur les esters en émulsion, Biochim. Biophys. Acta, 30, 1958. » *Biochimica et Biophysica Acta* 30 (3): 513-21. https://doi.org/10.1016/0006-3002(58)90097-0.

Savithramma, N., M Rao, et S. Ankanna. 2011. « Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites ». *Middle-East J Sci Res* 8 (janvier).

Sayyah, M., G. Saroukhani, A. Peirovi, et M. Kamalinejad. 2003. « Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of the Leaf Essential Oil of Laurus Nobilis Linn. Phytother. Res. 17, 733–736. » *Phytotherapy Research: PTR* 17 (7): 733-36. https://doi.org/10.1002/ptr.1197.

Sayyah, M., J. Valizadeh, et M. Kamalinejad. 2002. « Anticonvulsant Activity of the Leaf Essential Oil of Laurus Nobilis against Pentylenetetrazole- and Maximal Electroshock-Induced Seizures ». *Phytomedicine* 9 (3): 212-16. https://doi.org/10.1078/0944-7113-00113.

Scherrer, R., et P. Gerhardt. 1971. « Molecular Sieving by the Bacillus Megaterium Cell Wall and Protoplast. Journal of Bacteriology , 718-735. » *Journal of Bacteriology* 107 (3): 718-35. https://doi.org/10.1128/jb.107.3.718-735.1971.

Schønheyder, Fritz, et Kirsten Volqvartz. 1945. « On the Affinity of Pig Pancreas Lipase for Tricaproin in Heterogeneous Solution. Acta Physiol Scand, 9, 57-67, 1945. » *Acta Physiologica Scandinavica* 9 (1): 57-67. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1945.tb03084.x.

Science, Simple. 2025. « Terpéoïdes :" Les merveilles chimiques de la nature" consulté le 3 mai 2025 ». Simple Science. 12 février 2025. https://scisimple.com/fr/articles/2025-02-12-terpeoides-les-merveilles-chimiques-de-la-nature--a9r0dw7.

Seyoum, Asres, et El-Fiky. 2006. « Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids ». *Phytochemistry* 67 (18). https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.002.

Shahidi, Fereidoon, et Marian Naczk. 2003. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. 2e éd. Boca Raton: CRC Press. https://doi.org/10.1201/9780203508732.

Simic M, Kundakovic T, Kovacevic N. 2003. « Preliminary Assay on the Antioxidative Activity of Laurus Nobilis Extracts .Fitoterapia, Vol 4, Pp : 613–616. » ResearchGate. 2003. https://www.researchgate.net/publication/10590123_Preliminary_assay_on_the_antioxidative_activity_of_Laurus_nobilis_extracts.

Singleton, V. L., et Joseph A. Rossi. 1965. « Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal Enology Viticulture .16:144- 158. » *American Journal of Enology and Viticulture* 16 (3): 144-58. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144.

Stalikas, Constantine D. 2007. « Extraction, Separation, and Detection Methods for Phenolic Acids and Flavonoids ». *Journal of Separation Science* 30 (18): 3268-95. https://doi.org/10.1002/jssc.200700261.

Stavric B et al. 1992. « "Phenolic compounds in food and their effects on health". II (ASC symposium series, no. 507). (Editors) rlmericao Chemical Sociem, Washington, DC. p. 239. » 1992. https://www.sciepub.com/reference/454199.

Stolkowski J. 1983. « Les Enzymes,6°édition, De Boeck université s.a., Paris, 1983. » Chasse-aux-livres. 1983. https://www.chasse-aux-livres.fr/prix/2130376894/les-enzymes-joseph-stolkowski.

Stryer L. 1985. *Biochimie (5. ed.) (5e édition) - Lubert Stryer - Lavoisier Medecine Sciences - Grand format - Librairie Gallimard Paris*. https://www.librairie-gallimard.com/livre/9782257171160-biochimie-5-ed-5e-edition-lubert-stryer/.

Sun, Lijun, Jianbao Zhang, Xiaoyun Lu, Liyu Zhang, et Yali Zhang. 2011. « Evaluation to the Antioxidant Activity of Total Flavonoids Extract from Persimmon

(Diospyros Kaki L.) Leaves ». *Food and Chemical Toxicology* 49 (10): 2689-96. https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.07.042.

T

Talbi, H, A Boumaza, J Talbi, et A Hilali. 2015. « Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la Nigella sativa L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of Nigella sativa L.) ».

Tamara S. 2025. « Lignine: structure, fonctions, extraction, dégradation, utilisations - Science - 2025 .consulté le 4 mai 2025 ». warbletoncouncil. 2025. https://fr1.warbletoncouncil.org/lignina-13481.

Teuscher, Eberhard, Ulrike Bauermann, Monika Werner, Robert Anton, et Annelise Lobstein. 2005. *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles Paris: Ed. Tec&Doc. pp. 285-289.* Paris Cachan: Éd. Tec & doc Éd. médicales internationales.

« **These doctorat Nozha Mayouf.pdf** ». s. d. Consulté le 14 mai 2025. http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/bitstream/123456789/3550/1/These%20doctorat%20Nozha%20Mayouf.pdf.

Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi,R, et Shimamura, T. 1989. « The anti-haemolysin activity of tea and coffee - Okubo - 1989 - Letters in Applied Microbiology - Wiley Online Library ». 1989. https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1472-765X.1989.tb00292.x.

U

Uchiyama, Nahoko, Keiji Matsunaga, Fumiyuki Kiuchi, Gisho Honda, Akiko Tsubouchi, Junko Nakajima-Shimada, et Takashi Aoki. 2002. « Trypanocidal Terpenoids from Laurus Nobilis L. » *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50 (11): 1514-16. https://doi.org/10.1248/cpb.50.1514.

V

Velioglu Y et al. 1998. « (PDF) Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. Food Research Program, Agricultural and Food Chemistry. Canada. » 1998. https://www.researchgate.net/publication/215523945_Antioxidant_Activity_and_Total_Phenolics_in_Selected_Fruits_Vegetables_and_Grain_Products.

Verpoorte, Rob. 1998. « Exploration of Nature's Chemodiversity: The Role of Secondary Metabolites as Leads in Drug Development ». *Drug Discovery Today* 3 (5): 232-38. https://doi.org/10.1016/S1359-6446(97)01167-7.

Vinha, Ana F., Luís F. Guido, Anabela S. G. Costa, Rita C. Alves, et M. Beatriz P. P. Oliveira. 2015. « Monomeric and Oligomeric Flavan-3-Ols and Antioxidant Activity of

Leaves from Different Laurus Sp. Food & Function, 6(6), 1944-1949. » *Food & Function* 6 (6): 1944-49. https://doi.org/10.1039/c5fo00229j.

Voet, Donald. 2005. , *Biochimie, 2e édition américaine, De Boeck et Lacier, Paris, 2005.* Bruxelles : De Boeck. http://archive.org/details/biochimie0002voet.

W

Wang L et al. 2003. « Antioxidant Effect of Methanol Extracts from Lotus Plumule and Blossom (Nelumbo nucifera Gertn.).Journal of Food and Drug Analysis. 11 (1): 60-66 ». 2003. https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2074586.

Warden, C. H., R. C. Davis, M. Y. Yoon, D. Y. Hui, K. Svenson, Y. R. Xia, A. Diep, K. Y. He, et A. J. Lusis. 1993. « Chromosomal Localization of Lipolytic Enzymes in the Mouse: Pancreatic Lipase, Colipase, Hormone-Sensitive Lipase, Hepatic Lipase, and Carboxyl Ester Lipase, J. Lipid Res., 34, 1993. » *Journal of Lipid Research* 34 (8): 1451-55.

Williams, L. a. D., A. O'Connar, L. Latore, O. Dennis, S. Ringer, J. A. Whittaker, J. Conrad, B. Vogler, H. Rosner, et W. Kraus. 2008. « The in Vitro Anti-Denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-Steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin Is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-Inflammatory Compounds, without the Use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process.The West Indian Medical Journal 57(4):327-31 ». *The West Indian Medical Journal* 57 (4): 327-31.

Y

Yi, ZhiBiao, Yan Yu, YiZeng Liang, et Bao Zeng. 2008. « In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids, LWT Food Sci. Technol, (2008), 41:597–603. » *LWT - Food Science and Technology* 41 (4): 597-603. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.04.008.

Z

Zenk, Meinhart H., et Melanie Juenger. 2007. « Evolution and Current Status of the Phytochemistry of Nitrogenous Compounds. Phytochemistry, 68, Pp : 2757- 2772. » *Phytochemistry* 68 (22-24): 2757-72. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.009.

Zheng, Wei, et Shiow Y. Wang. 2001. « Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. Journal. Agricultural. Food Chemistry. 49: 5165−5170. » *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (11): 5165-70. https://doi.org/10.1021/jf010697n.

Zhu, F, Du, B, et Xu, B. 2018. « Anti-Inflammatory Effects of Phytochemicals from Fruits, Vegetables, and Food Legumes: A Review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 58, 1260–1270. » *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58 (8). https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1251390.