



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Seddik Ben Yahia – Jijel

Faculté des Sciences Exactes et Informatique

Département de Chimie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Thème

**Extraction des huiles essentielles et d'autres métabolites
secondaires d'une plante médicinale algérienne**

Réalisé par : Merghit Ahlem & Chennouf Samah

Les membres de jury :

Mf. Boudjerda Abdelhamid

Encadreur

Université M. Seddik Benyahia - Jijel

M^{lle}. Boutabet Kheira

Examinatrice

Université M. Seddik Benyahia - Jijel

M^{me}. Boudebaz Khadidja

Présidente

Université M. Seddik Benyahia - Jijel

Année Universitaire :

2020 /2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

*En premier lieu nous tenons de dire « **El-Hamdouli'Allah** », merci à Dieu de nous avoir donné la santé, le courage, la force et la volonté pour accomplir ce travail.*

*Nos remerciements et notre vive reconnaissance à notre encadreur **M^r. Boudjerda Abdelhamid** pour avoir accepté de nous encadrées et dirigées ce travail par excellence. Aussi bien pour ces conseils judicieux, Merci pour sa disponibilité, sa grande patience, ses conseils et ses remarques précieuses. Soyez assuré Monsieur, de notre estime et de nos profonds respects.*

*Nous souhaitons également remercier les membres du jury **M^{me} Boudebaz Khadidja** qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être présidente de jury.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à **M^{lle} Boutabet Kheira** Maitre Assistance à l'Université de Mohammed Seddik Ben Yahia-Jijel, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à remercier vivement tout le personnel du laboratoire de pédagogie de chimie «**ingénieurs et collègues**» pour leurs aides et leurs soutiens, sans oublier tous nos enseignants surtout **M^{lle} Aichona Roufida ; M^r. Layoul Idriss**.*

*Nous remercions chaleureusement **M^{me} Bounar Hania ; M^{lle} Abdaziz Samia ; Mme Boudabaz Khadidja** pour l'encouragement, et la gentillesse.*

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et salutations à nos parents, pour leur soutien moral et de leurs conseils durant notre parcours d'études.

En fin, nous tenons à remercier toute personne ayant participé de près ou de loin à réaliser ce projet.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma famille et aux personnes les plus chères au monde mes parents ;

A mon cher père

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma très chère mère

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes sœurs : Mariem ; Moufida

A mes frères : Kamal ; Adel ; Zakaria ; Anis

À mon cher mari : Walid

A celui qui m'a soutenu et m'a accompagné dans mes pas, et m'a apaisé les difficultés, qui a beaucoup souffert et ma position dans ce lieu n'aurait pas été possible sans ses encouragements constants.

A mon fils : Sami

Aux yeux des quels je puise continuité... La chose la plus douce de ma vie.

A mon binôme Ahlem pour tous les moments de joie et de peine qu'on a passée ensemble, et à sa famille.

A mes chères amies : Roufida ; Wissal ; Amina ; Naziha ; Iman ; Abla ; Nadjiba ; Zineb ; Fariel ...

A ma grande famille, mes amis, mes collègues et tous les expulsés de force qui sont également restés chers.

En fin je le dédie à moi-même.

Samah

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma famille et aux personnes les plus chères au monde mes parents ;

À mon cher père...

Mon meilleur exemple et modèle de persévérance pour toujours aller de l'avant et ne jamais abandonner. Pour sa constante formation à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et ses précieux conseils, j'espère que cette mémoire sera à la hauteur de vos attentes et sera l'aboutissement de tous vos efforts.

A ma très chère mère

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute constante et son soutien sans pareil dans les moments les plus difficiles de ma vie. Là où je viens aujourd'hui, je vous dois mes chers parents, que Dieu vous protège.

A mes frères et mes sœurs : **Abd El Malek, Yasser, Nihad, Radia, Somia...**

A mon Mari : Hichem

À qui je continuerai mon voyage dans cette vie, vers le corps le plus merveilleux d'amour dans tous ses sens. C'était donc le lien et le don. Il a beaucoup donné en images de patience..espoir..et amour. Je ne dirai pas merci.. Mais je vivrai toujours grâce avec toi.

A mon binôme Samah pour tous les moments de joie et de peine qu'on a passée ensemble, et à sa famille.

A mes chères amies : Imen ; Abla ; Nadia ; Fatima ; Fariel ; Somia ; Zineb ; Nadjiba....

A ma grande famille, mes amis, mes collègues et tous les expulsés de force qui sont également restés chers.

En fin je le dédie à moi-même.

Ahlem

Sommaire :

Liste des abréviations et symbole	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	01
Chapitre I : Aperçu bibliographique	
I.1- <i>Laurus nobilis</i> L.	
I.1.1- Description botanique	03
I.1.2-Position systématique du <i>Laurus nobilis</i> L	03
I.1.3-Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L	04
I.1.4- Nom vernaculaire	05
I.1.5-Composition chimique	05
I.1.6-Usage et propriétés thérapeutiques	05
I. 2. Huiles essentielles	06
I.2.1- Définition de l'HE	06
I.2.2- Rôle des HEs	06
I.2.3- Localisation de l'HE	06
I.2.4- Propriétés physiques et composition chimique des HEs	07
I.3. Les métabolites secondaires	07
I.3.1. Les polyphénols	07
I.3.1.1-Les flavonoïdes	08
I.3.1.1.1- Structure chimique des flavonoïdes	08
 Les flavones et les flavonols	09
 Flavanons	09
 Flavanols	10
 Les isoflavones	10
 Chalcones	10
 Anthocyanines et anthocyanidines	10
I.3.1.2- Les Tanins	11
 Tanins hydrolysables	11
 Tanins Condensés (pro-anthocyanidines)	11
I.3.2. Les alcaloïdes	12
I.3.2.1-Rôle des alcaloïdes	13

I.3.3-Les Terpénoïdes	13
I.3.3.1-Classification des Terpénoïdes	14
✚ Hémiterpènes	14
✚ Monoterpènes	14
✚ Diterpènes	14
✚ Triterpènes	15
✚ Tétraterpènes	16
✚ Sesquiterpènes	16
I.3.3.2- Les Saponines	17
I.3.3.3- Propriétés pharmacologiques	18
Références bibliographiques	19
Chapitre II : Les Activités Biologiques	
Introduction	25
II.1-Stress oxydant	25
II.2-Les radicaux libres	26
II.3-Les antioxydants	27
II.3.1- Définition	27
II.3.2- Les différents types des antioxydants	27
II.3.2.1-Les antioxydants endogènes	27
II.3.2.2.1-Les antioxydants exogènes	28
II.3.3- Les caractéristiques des antioxydants	29
II.3.4- Les utilisation des antioxydants	29
II.3.5- Méthode d'évaluation de l'activité antioxydant	29
II.4- Test au DPPH	30
II.4.1- Définition	30
II.4.2- Principe	30
Références bibliographiques	31
Chapitre III : Partie expérimentale	
Introduction	33
III.1- Matière végétale	33
III.1.1- Récolte de la plante	33
III.1.2- Caractéristique du lieu de récolte	34
III.2- Etude phytochimique	34
III.2.1- Extraction des métabolites secondaires	34

✚ Principe	35
✚ Protocole	35
III.2.2- Analyse des extraits par chromatographie sur couche mince (CCM)	38
✚ Principe	38
III.2.3- Analyse des extraits par chromatographie sur colonne	39
✚ Principe	39
✚ Protocole	39
III.3- Screening phytochimique	42
III.3.1- Dosage des phénols totaux	42
III.3.2- Dosage des flavonoïdes par les méthodes de trichlorure d'aluminium	42
III.3.3-Test des saponosides	43
III.4- Activité biologique antioxydant	43
✚ Test de piégeage du radical libre DPPH (2.2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) ...	43
III.5. Etude chimique des huiles essentielles	44
III.5.1- Procédé d'extraction des huiles essentielles	44
III.5.2- Calcul du rendement	45
III.5.3- Analyse chimique de l'HE par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)	45
Référence bibliographique	48
Chapitre IV : Résultats et discussions	
IV.1- Extraction des métabolites secondaires	49
IV.1.1- Détermination de rendement de l'extraction	49
IV.1.2- Résultats de chromatographie sur couche mince de l'extrait CHCl ₃ et d'AcOEt	50
IV.3- Résultats des tests	51
IV.3.1- Tests phytochimiques	51
a. Dosage des phénols totaux	51
b. Dosage des flavonoïdes par les méthodes de trichlorure d'aluminium	53
c. Test des saponosides	55
IV.3.2- Evaluation de l'activité antioxydante de la plante.....	55
✚ Test de piégeage du radical DPPH	56
IV.2- Les huiles essentielles	58
IV.2.1- Rendement des huiles essentielles	58

IV.2.2- Evaluation des composants chimiques des huiles essentielles de l'espèce Laurus nobilis par CG-SM	58
Référence bibliographique	66
Conclusion générale	68
Résumé	

Liste des abréviations et symbole :

Abs	: Absorbance
AcOEt	: Acétate d'éthyle
AFNOR	: Association française de normalisation
CCM	: Chromatographie sur couche mince
CHCl₃	: Chloroforme
Cm	: Centimètre
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.
EAG/ g EXS	: Equivalents de l'acide gallique par gramme d'extraits sec
EQ/ g EXS	: Equivalents de la quercétine par gramme d'extraits sec
ERO	: Espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène
EXS	: Extraits sec
G	: Gramme
G/L	: Gramme/Litre
CG-SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HE	: Huile essentielle
IC50	: Concentration inhibitrice médiane.
I%	: Pourcentage d'inhibition
MeOH	: Méthanol
Ms	: Masse sèche
Mext	: Masse d'extrait
mg/ml	: Milligramme par millilitre.
Nm	: Nanomètre
ml	: Millilitre
n-BuOH	: n-Butanol
NaNO₂	: Nitrate de sodium
Na₂CO₃	: Carbonate de sodium
OMS	: Organisation mondiale de la santé
R (%)	: Rendement
R_{HE}	: Rendement de l'huile essentielle
M_{HE}	: Masse de l'huile essentielle
UV	: Ultraviolet

μL : Micro- litre
V/V : Volume sur volume

Liste des figures

Figure (1) : Différentes parties de <i>Laurus nobilis</i> L	03
Figure (2) : Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L	04
Figure (3) : Structure de base des flavonoïdes.....	08
Figure (4) : Différentes classes de flavonoïdes	09
Figure (5) : Structure chimique de l'acide gallique et de l'acide ellagique	11
Figure (6) : Exemple de structure d'un tanin condensé	12
Figure (7) : Structure d'isoprène	13
Figure (8) : Quelques exemples des monoterpènes	14
Figure (9) : Déséquilibre de la balance entre prooxydants et antioxydants	26
Figure (10) : Structure du DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant	30
Figure (11) : Espèce <i>Laurus nobilis</i> L	33
Figure (12) : Lieu de récolte du <i>Laurier noble</i> (Bazoul-Taïher)	34
Figure (13) : Protocole d'extraction des polyphénols de <i>Laurus nobilis</i> L.....	36
Figure (14) : Extraction par solvant (décantation)	37
Figure (15) : Evaporation des trois phases.....	37
Figure (16) : Les trois extraits obtenus après épuisement par des solvants.....	38
Figure (17) : Séparation par chromatographie sur colonne	40
Figure (18) : Les différentes fractions issues de la colonne	40
Figure (19) : Plaques CCM de différents fractions issues de la colonne (chloroforme ; acétate d'éthyle) (1 :1) ; (chloroforme / MeOH /H ₂ O) (à $\lambda=254\text{nm}$)	41
Figure (20) : Test d'activité antioxydant par la réduction du radical DPPH	44
Figure (21) : Montage d'hydrodistillation	45
Figure (22) : Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	46
Figure (23) : Rendement des extraits de <i>laurus nobilis</i> L	50
Figure (24) : Résultats de la CCM des deux phases	51
Figure (25) : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	55
Figure (26) : Teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait de 03 phases (n-butanol ; acétate d'éthyle ; chloroforme) équivalent d'acide gallique.....	52
Figure(27) : Courbe d'étalonnage de la quercétine	54
Figure (28) : Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait de 03 phases (n-butanol ; acétate d'éthyle ; chloroforme) équivalent de la quercétine	54

Figure (29) : La présence des saponines	55
Figure (30) : Pourcentage d'inhibition de radical DPPH des extraits de <i>Laurus nobilis</i> L	57
Figure (31) : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L.	59
Figure (32) : Familles des composés identifiés de l'espèce <i>laurus nobilis</i> L.....	64
Figure (33) : Représentation graphique des composés les plus majoritaires des HEs de l'espèce <i>Laurus nobilis</i> L.....	65

Liste des tableaux :

Tableau (1) : Position systématique du <i>Laurier noble</i>	04
Tableau (2) : Différents dénominations en fonction des pays	05
Tableau (3) : Classification, squelette de base et quelques exemples des triterpènes	15
Tableau (4) : Classification et quelques exemples des tétraterpènes.....	16
Tableau (5) : Classification et quelques exemples des sesquiterpènes.....	17
Tableau (6) : Caractérisation du lieu de récolte.....	34
Tableau (7) : Résultat du fractionnement par chromatographie sur colonne de l'extrait Acétate d'éthyle de <i>laurus nobilis</i> L.....	41
Tableau (8) : Rendement et aspects organoleptiques des extraits d'une espèce du genre <i>Laurus nobilis</i> L.....	49
Tableau (9) : Résultat de la quantification spectrophotométrique des phénols totaux...	52
Tableau (10) : Valeurs des IC50 exprimées en µg/ml des extraits (chloroforme ; acétate d'éthyle ; n- butanol) comparativement avec l'acide ascorbique	57
Tableau (11) : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L.....	59

Introduction

Générale

Introduction

Les médicaments actuels ont pour la majorité d'entre eux une origine naturelle, la recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années et les laboratoires pharmaceutiques, toujours à la recherche de nouveaux composés actifs, se tournent de plus en plus vers l'identification et la caractérisation de molécules issues de matrices naturelles, et s'inspirent de leur structure moléculaire pour imaginer de nouveaux médicaments. [1]

L'Algérie regorgeant d'une richesse floristique importante. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. grâce à sa situation géographique lui permettant de jouir d'une grande variation climatique à laquelle s'ajoutent des ressources hydriques. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie Algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de plusieurs régions.

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires posséder diverse propriétés biologiques. [2]

Le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national. De ce fait on s'est focalisé sur l'un de leurs métabolites secondaires : les huiles essentielles et les polyphénols.

L'objectif de notre travail est la valorisation de la biodiversité de notre région à travers l'étude des huiles essentielles et les polyphénols de plante aromatique (*Laurus nobilis* L). La valorisation de cette plante englobe plusieurs aspects, le criblage phytochimique des huiles essentielles et l'évaluation de la activité biologique par test de DPPH.

Notre manuscrit est scindé en quatre chapitres :

Le premier chapitre représente un rappel bibliographique consacré à une description botanique de la plante *Laurus nobilis* L.

Introduction générale

Dans le deuxième chapitre aborde une étude bibliographique réalisée sur l'activité antioxydant. Le troisième chapitre représente la partie expérimentale concerne les travaux personnels réalisés dans notre laboratoire.

Les résultats et la discussion de chaque expérimentation de notre travail, sont présentés dans le dernier chapitre.

Pour terminer, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude.

Chapitre 01

Aperçu

Bibliographique

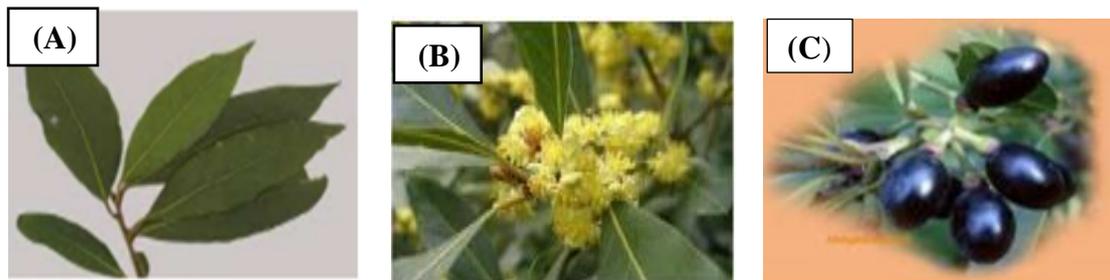
I.1-Laurus nobilis L

I.1.1-Description botanique

La famille des lauracées comprend près de 2500 – 3000 espèces regroupées en environ 52 genres. Cette famille est presque présente dans toutes les parties du monde, avec une forte concentration dans les zones subtropicales et dans les régions tempérées. Et parmi ces espèces le *laurier noble* (*Laurus nobilis* L). [3]

Le *laurier noble* est un arbuste ou arbre aromatique glabre de 2 à 10m de hauteur, très rameuse à rameaux dressés, feuilles alternes, coriaces persistantes, elliptiques, lancéolées, longues de 16 cm sur 8 cm de large, atténuées en court pétiole, entières, ondulées aux bords, fleurs dioïques blanchâtres, odorantes, en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées. Le fruit est une petite baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1 cm de largeur, noir vernissé à maturité cultivé dans les jardins comme ornement et pour ses feuilles condimentaires.

C'est un arbre dioïque. Les jeunes rameaux, flexibles et de couleur vert, portent des feuilles alternes, coriaces, ovales lancéolées à bord ondulé. [4]



Figure(1) : Différentes parties de *Laurus nobilis* L. (A) les feuilles. (B) les fleurs. (C) les fruits.

I.1.2-Position systématique du *laurier noble*

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure regroupée dans le tableau (1). [5]

Tableau (1) : Position systématique du laurier noble.

Règne	Végétale
Sous règne	Plante vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Décotylédones
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Lurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	Nobilis

I.1.3-Répartition géographique de *Laurus nobilis* L

Laurus nobilis L est la seule espèce des lauracées dans la région méditerranéenne d'où elle est originaire. Actuellement, la plante est largement cultivée comme plante ornementale et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis. [6]

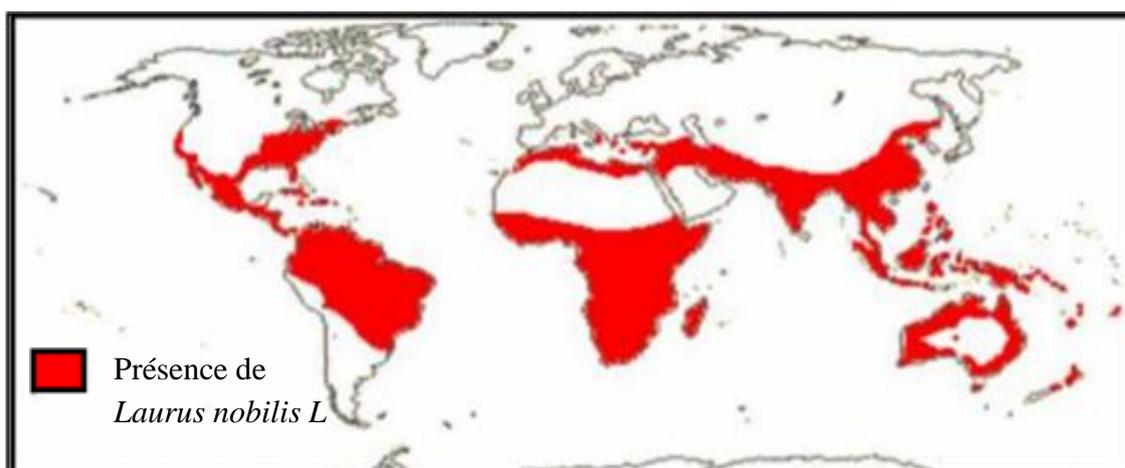


Figure (2) : Répartition géographique de *Laurus nobilis* L.

I.1.4-Nom vernaculaire

Tableaux (2) : Différents dénominations en fonction des pays. [7]

Pays	Dénomination vernaculaire
Français	Laurier commun, Laurier sauce, Laurier d'apollon laurier France, Laur noble.
Allemand	Bay, lorbeebaum, Gewurzlörbee
Anglais	Bay, sweet bay, bay laurel, true laurel, Roman Laurel, noble laurel
Arabe	الرنند
Kabille	Taselt

I.1.5-Composition chimique

Selon une recherche faite par BELOUED Abd al Kadar les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques, une essence aromatique incolore ou jaune pâle, à saveur chaude, constituée par un mélange de 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénol, de géraniol, de linacol, d'éthers des acides acétiques isobutyrique et valérianique. [8]

I.1.6-Usage et propriétés thérapeutiques

La saveur aromatique des feuilles est à l'origine des propriétés apéritives et digestives de laurier, en cas de perte d'appétit et de troubles digestifs, traditionnellement les feuilles de laurier sont employées comme carminatif, expectorant, diurétique, antispasmodique, emménagogue et sudorifique. Utilisé également dans le cas de flatulence, et de bronchites chroniques. [9 ; 10]

Le laurier a une action antiseptique, antivirale et bactériostatique, grâce à ses propriétés antibactériennes, antifongiques, et antioxydantes, ainsi, il est un remède efficace pour les plaies, les aphtes et les abcès dentaires. [11 ; 12]

D'autres vertus ont été démontrées pour cette espèce ; dans le cas des angines, d'infections bucco-pharyngées, affaiblissement de la mémoire, et dans le cas d'atonie musculaires. [13 ; 14]

En cuisine, l'usage de laurier pourrait avoir une place plus importante pour le plus grand profit du consommateur. [15] Les feuilles de laurier sont particulièrement appréciées dans le bassin méditerranéen. [16]

I.2-Huiles essentielles

I.2.1-Définition de l'HE

Le terme “huile essentielle” a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin suisse Parascelsus von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. [17]

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques. Elles sont obtenues soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques. [18]

I.2.2-Rôle des HEs

Les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant qu'antibactériennes, antivirales, antifongiques, insecticides et jouent aussi bien un rôle contre les herbivores en réduisant leur appétit donc de repousser les indésirables. [19] Elles peuvent également attirer certains insectes pour favoriser la dispersion de pollens et de graines, et constituent une défense chimique contre les prédateurs (animaux et parasites) et les maladies. [20]

I.2.3-Localisation des HEs

Il arrive très fréquemment que la composition de l'HE d'une plante soit variable, selon la partie (feuille ; fleur...) utilisé pour l'extraire. Dans le cas de certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres cas, elle se trouve en liaison glycosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante. [21]

I.2.4-Propriétés physiques et Composition chimique des HEs

Les HEs sont des mélanges très complexes de composés organiques possédant ses structures et des fonctions chimiques très divers. Elles sont reconnues par deux ou trois composants majeurs présents à des concentrations assez élevées (20-70%) comparativement aux autres. En général les huiles essentielles pures sont composées de deux groupes biosynthétiques distincts : Un principal groupe composé de terpènes et Terpénoïdes et un autre constitué de composants aromatiques et aliphatiques. [19]

I.3-Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpénoïdes. [22 ; 23]

I.3.1-Les polyphénols

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires des plantes. Ils possèdent dans leur squelette, un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs groupes hydroxyles ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...). [24] Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales [25] et les attaques microbiennes. [26] Généralement, ils sont subdivisés en :

- Flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ;
- Tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ;
- Acides phénoliques ;
- Coumarines ;
- Quinones ;
- Lignanes.

Ces dernières années, les recherches sur les composés phénoliques se sont accentuées en raison de leurs activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, anti oxydantes et même anticancéreuses. [27]

I.3.1.1-Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques presque toujours hydrosolubles qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaunes ou en blanc. Ils ont un champ d'action important et possèdent de nombreuses vertus médicinales. [28]

I.3.1.1.1-Structure chimique des flavonoïdes

La structure chimique des flavonoïdes est basée principalement sur un squelette quinze (15) atomes de carbones : le noyau flavane, constitué de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle, le noyau pyrane (C), ce qui donne aux flavonoïdes, un faible poids moléculaire. [29]

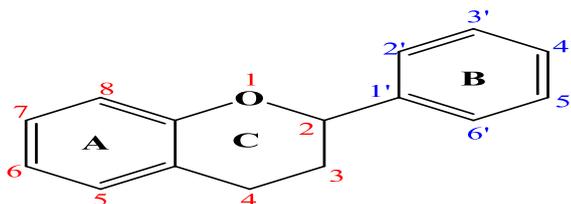


Figure (3) : Structure de base des flavonoïdes. [30]

La variation du degré d'oxydation et la différence de substituant de l'hétérocycle C peuvent subdiviser les flavonoïdes en classes bien distinctes :

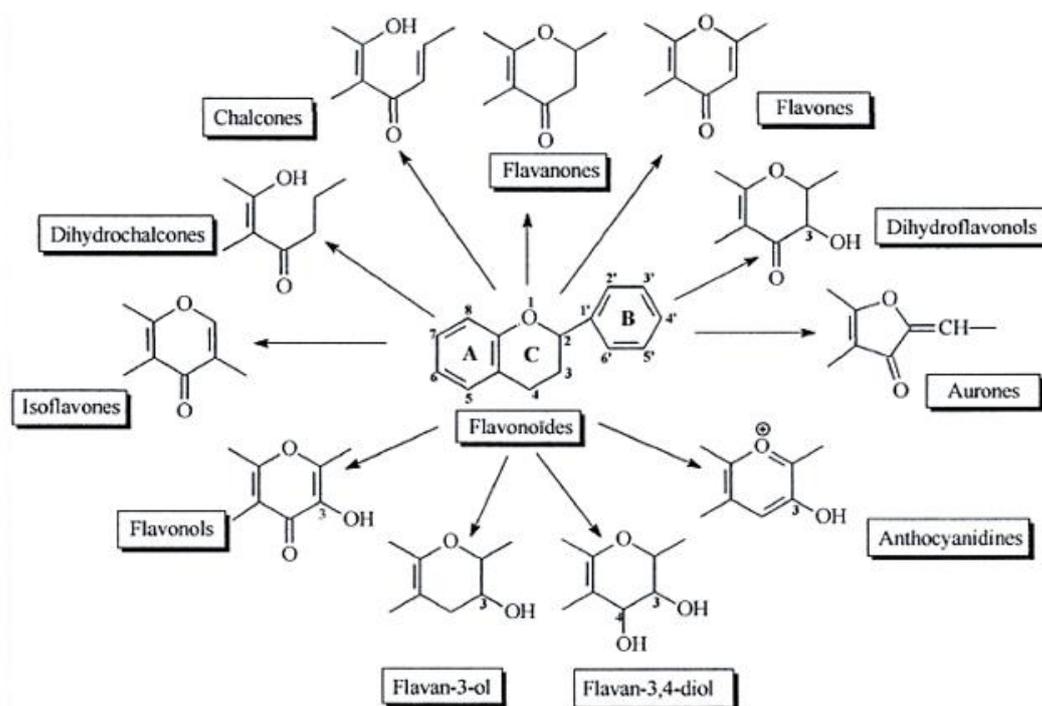


Figure (4) : Les différentes classes des flavonoïdes.

Flavones et flavonols

Les flavones sont caractérisées par la présence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du squelette flavane, et un groupement carbonyle en position 4 (4-oxo). Le cycle aromatique B est attaché à la position 2. Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle en position C3. [24]

Les principaux flavones sont l'apigénine et la lutéoline. Elles ont dans la majorité des cas la forme de glycosides.

Les flavonols sont beaucoup plus abondants dans le règne végétal que les flavones et leurs concentrations sont plus élevées. Les principaux sont la quercétine, kaempférol et myricétine.

Flavanons

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie. Elles existent sous formes libres ou sous formes

glycosylés. Sous forme libre, les carbones en position 5 et 7 sur le cycle A peuvent être hydroxylés ou méthoxylés. Le cycle B peut aussi être substitué en position 3', 4', 5' et 6'.

La principale flavanone est : La naringénine. [24]

Flavanols

Ils se distinguent des flavanones par l'absence à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison la plus rencontré est la catéchine. [24]

Isoflavones

Les isoflavones constituent une branche spécifique des flavonoïdes, qui diffèrent des autres par la position du noyau phénolique B (en position 3). Jusqu'à présent, plus de 1600 iso flavonoïdes aglycones et glycosides ont été identifiés, dont la grande majorité se trouvent chez la famille des légumineuses. [31]

Chalcones

Les Chalcones, ou 1,3-diaryl-2-propen-1-one, représentent une des classes majeures des produits naturels appartenant à la famille des flavonoïdes. Chimiquement, ils sont dépourvus du cycle C central et constituées par deux unités aromatiques A et B, reliées par une chaîne tricarbonée cétonique insaturée. Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées. Les plus abondants sont : butéine et phlorétine. [24]

Anthocyanines et anthocyanidines

Les anthocyanines désignent un vaste groupe des flavonoïdes, ce sont les glucosides des polyhydroxy et polyméthoxy des dérivés de 2-phenylbenzopyrylium ou les sels de flavylium.

Les différences de structures entre les anthocyanines sont reliées au nombre de groupes hydroxyles, la nature et le nombre de sucres attachés à la molécule, la position de cette liaison, la nature et le nombre des acides aliphatiques ou aromatiques attachés au

sucres dans la molécule. [32 ; 33] Les plus importants sont : pélagonidine, cyanidine et péonidine.

I.3.1.2-Les Tannins

Les tanins sont des polyphénols polaires de poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont caractérisés par leurs activités biologiques ou thérapeutiques telles que : l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique, antitumorale, antivirale et antidiarrhéique. [34]

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (tanins condensés). [1]

✚ Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique. Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique pour donner une fraction glucidique ou polyalcoolique et des acides carboxyphénoliques (acide gallique, acide ellagique) (Figure 5). [35]

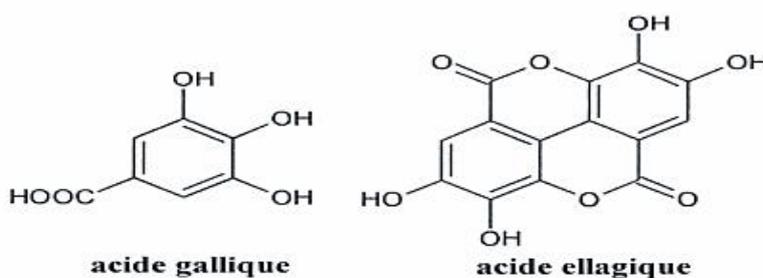


Figure (5) : Structure chimique de l'acide gallique et de l'acide ellagique.

✚ Les tanins condensés

Ou pro-anthocyanidines, elles résultent de la condensation d'oligomères ou de polymères de flavones (flavane-3-ol, flavane-4-ol, flavane-3,4 diol).

Ils dérivent de la catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils sont résistants à l'hydrolyse la structure des tannins condensés est illustré dans la figure 6. [36]

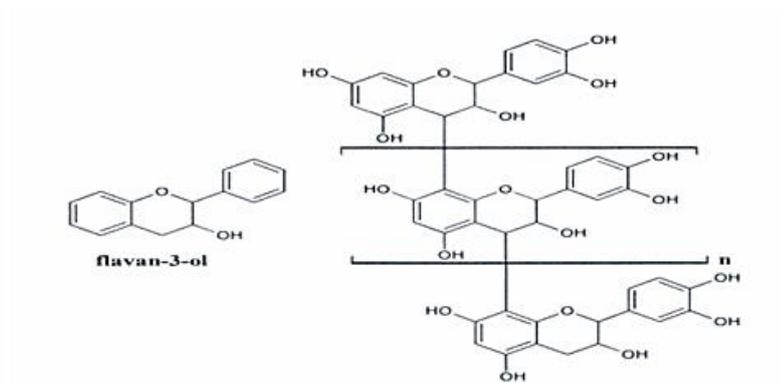


Figure (6) : Exemple de structure d'un tanin condensé.

I.3.2-Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux. Ils peuvent être présents dans tous les organes. Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0,1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue. Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins.

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes. Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau ; ils sont solubles dans l'alcool à chaud plus qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque. [37]

I.3.2.1-Rôle des alcaloïdes

Dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme. [38] Les alcaloïdes sont utilisés comme :

- ✚ Antalgique majeur (morphine).
- ✚ Antipaludéen (quinine).
- ✚ Pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine).
- ✚ Substance paralysante (curare, caféine).
- ✚ Poisons (strychnine, nicotine).
- ✚ Stupéfiants (cocaïne, mescaline).
- ✚ Cholinergique (pilocarpine).
- ✚ Anticancéreux (vinblastine, vincristine). [39]

I.3.3-Les Terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont des métabolites secondaires.[40] Les terpénoïdes, également appelés isoprénoïdes, sont des composés chimiques de type terpène qui sont de nature hydrophobe. Ce sont essentiellement des hydrocarbures synthétisés à partir de sous-unités d'isoprène (C₅H₈) par des réactions de condensation et de cyclisation. [41]

De nombreux terpénoïdes végétaux ont des qualités aromatiques, comme celles que l'on trouve dans les huiles essentielles d'eucalyptus et de gingembre. [42]

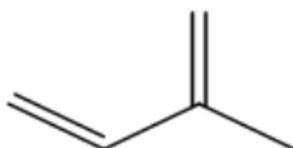


Figure (7) : Structure d'isoprène.

I.3.3.1-Classification des terpénoïdes

Selon le nombre de sous-unités d'isoprène, les terpènes sont classés en plusieurs sous classes telles que les hémiterpènes, sesquiterpènes, monoterpènes, diterpènes, triterpènes et tétraterpènes. [43]

✚ Hémiterpènes

Les terpénoïdes avec une seule unité isoprène sont classés comme hémiterpénoïdes. Le seul hémiterpènes est l'isoprène lui-même, mais les dérivés oxygénés de l'isoprène tels que l'acide isovalérique et le préinol sont également inclus dans cette classe. [37]

✚ Monoterpènes

Les monoterpènes sont constitués de deux unités d'isoprène. Une variété étonnante d'arrangements de décane (C₁₀) à base d'isoprène existe dans la nature. Les monoterpènes sont le principal composant de nombreuses huiles essentielles. Ils ont une importance économique en tant que saveurs et parfums. Les structures acycliques comprennent le myrcène, le géraniol et le linalol. Les structures cycliques comprennent de nombreux composés bien connus, tels que le menthol, le camphre, le pinène et le limonène. [44]

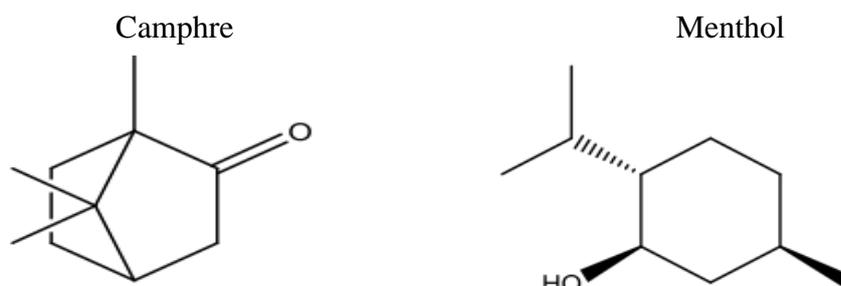


Figure (8) : Quelques exemples des monoterpènes

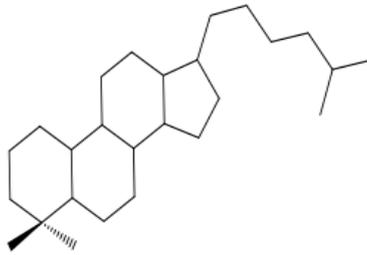
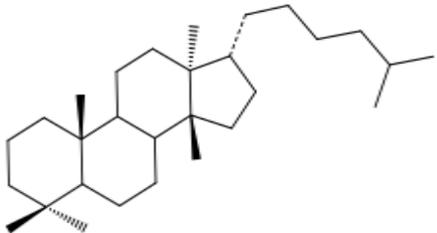
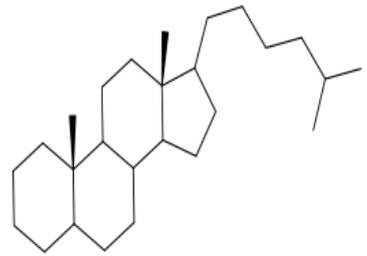
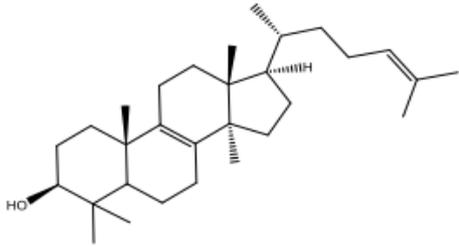
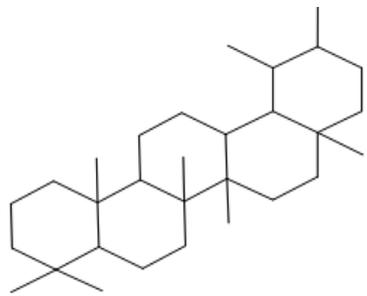
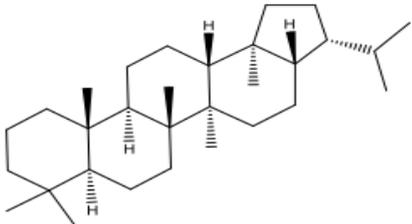
✚ Diterpènes

Les diterpènes (C₂₀) sont constitués de quatre groupes isoprène et ont un point d'ébullition plus élevé. En raison de leurs propriétés non volatiles, ils sont classiquement classés comme résines et non comme huiles essentielles. [45]

Triterpènes

Les triterpènes sont constitués généralement de 30 atomes de carbone donc six unités d'isoprène occupent une classe majeure de métabolites secondaires. Ils sont dérivés de la voie de biosynthèse du squalène. Les triterpènes ont de nombreux groupes méthyle et peuvent être oxydés en alcools, aldéhydes et acides carboxyliques, ce qui les rend complexes et les différencie biologiquement. [46]

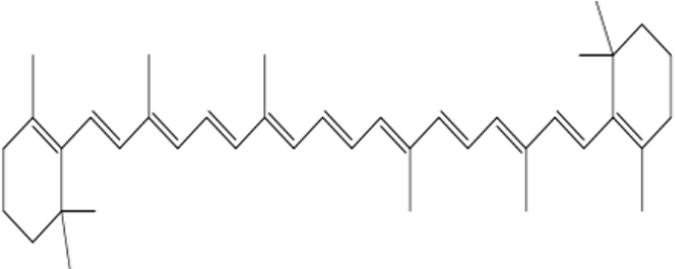
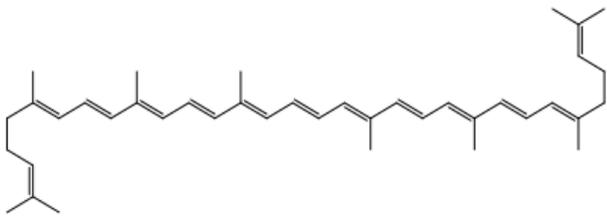
Tableau (3) : classification, squelette de base et quelques exemples des triterpènes.

Triterpènes	Squelette de base	Exemple
Tétracycliques		Euphane 
Stéroïdes		Lanostero 
Pentacycliques		Hopane 

Tétraterpènes

Les caroténoïdes sont les métabolites (C₄₀) polyoléfiniques dérivés de l'acide mevalonique. Presque tous les membres de ce groupe sont peuvent être acycliques. Tous ont le potentiel pour un vaste nombre d'isomères géométriques, mais dans la pratique presque tous de configurations (Trans) ; beaucoup de caroténoïdes sont colores parce qu'ils contiennent des systèmes conjugués prolongés. [47]

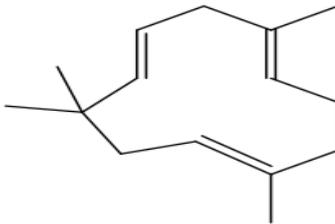
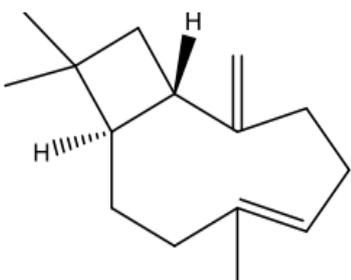
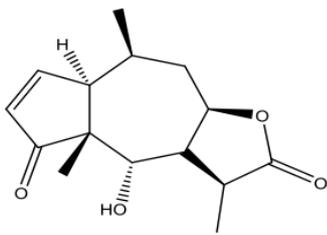
Tableau (4) : classification et quelques exemples de tétraterpènes.

Tétraterpènes	Exemple	Structure
Cycliques	β-carotène	
Acycliques	Lycopéne	

Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures constitué d'assemblage de trois unités isoprènes (C₁₅). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Dans la nature ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones. [48]

Tableau (5) : Classification et exemples de quelques sesquiterpènes.

Sesquiterpènes	Exemple	Structure
Acycliques	Farnésol	
Monocycliques	Humulène	
Bicycliques	Valéranone	
Tricycliques	Dihydrohélénaline	

I.3.3.2- Les Saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpènes.

Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène. [49]

I.3.3.3-Propriétés pharmacologiques

Les terpénoïdes sont connus comme doués de propriétés antifongiques et antibactériennes. Le mécanisme d'action des terpénoïdes n'est pas bien connu mais, il pourrait induire une destruction de la membrane du microorganisme par une action lipophile.

Des investigations concernant les activités biologiques des mono et des sesquiterpènes ont prouvé l'existence des effets suivants : anesthésique, antihistaminique (allergies), antirhumatismal, insecticide, analgésique quelquefois, antibiotique, anti-inflammatoire et anticancéreux. [50]

Références bibliographiques

- [1].Rizzo, G., Disante, M., Mencarelli, A., Renga, B., Gioiello, A., Pellicciari, R., & Fiorucci, S. (2006). The farnesoid X receptor promotes adipocyte differentiation and regulates adipose cell function in vivo. *Molecular pharmacology*, 70(4), 1164-1173.
- [2].Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science : Revue Internationale Des Sciences Et Technologie*, 5(2).
- [3].Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed Librairie moderne Rouiba, 46.
- [4].Ouibrahim, A., Kaki, Y. T. A., Bennadja, S., Mansouri, R., KAKI, S. A., Khbizi, S., & Djebar, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal Of natural Products*, 3(3), 209-216.
- [5].Karima, O. Y., Boumedienne, M., & touil Aicha, T. (2015). Etude de l'effet d'huile essentielle de laurier noble de l'ouest algérien sur *Salmonella* SPP. In vitro et in vivo. *European Scientific Journal*, 11(33).
- [6].Goudjil, M. B., & Ladjel, S. (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques (Doctoral dissertation).
- [7].Heilbronn, L. K., Smith, S. R., Martin, C. K., Anton, S. D., & Ravussin, E. (2005). Alternate day fasting in nonobese subjects : effects on body weight, body composition, and energy metabolism. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 69-73.
- [8].Beloued, A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires.
- [9].Verdian-rizi, M., & Hadjiakhoondi, A. (2008). Essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages growing in Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(11-12), 785-788.
- [10].Sayyah, M., Valizadeh, J., & Kamalinejad, M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole-and maximal electroshock-induced seizures. *Phytomedicine*, 9(3), 212-216.
- [11].RodríguezVega, E. (1976). Veinticinco años de contraloría (II).

- [12].Qamar, S., & Chaudhary, F. M. (1991). Antifungal activity of some essential oil from local plants. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 34(1), 30-1.
- [13].Mitra, P. P., Sen, P. N., Schwartz, L. M., & Le Doussal, P. (1992). Diffusion propagator as a probe of the structure of porous media. *Physical review letters*, 68(24), 3555.
- [14].Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191-198.
- [15].Valnet, J. (1992). *Phytothérapie*, Maloine. Paris, France.
- [16].Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G., & Kingston, D. G. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*, 104(4), 1478-1484.
- [17].El Kalamouni, C., Raynaud, C., & Talou, T. (2010). Design of an Artificial Crushing Finger Device for Rapid Evaluation of Essential Oils from Aromatic plants leaves. *Expression of Multidisciplinary Flavour Science*, 2, 525-528.
- [18].AFNOR, E. (1986). Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises, 64, 65.
- [19].Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- [20].Hossain, M. M., Kant, R., Van, P. T., Winarto, B., Zeng, S., & Teixeira da Silva, J. A. (2013). The application of biotechnology to orchids. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(2), 69-139.
- [21].Makhloufi, A. (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru (Doctoral dissertation).
- [22].Lutge, U., Kluge, M., & Bauer, G. (2002). *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation*. Lavoisier. Paris, 211.
- [23].Abderrazak, M., & Joël, R. (2007). *La botanique de A à Z*. Dunod. Paris, 177.
- [24].Khalili, A. M. (2005). Extraction et effet antibactérien d'extraits polyphénoliques bruts de *Limonium pruinatum* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- [25].Gee, J. M., & Johnson, I. T. (2001). Polyphenolic compounds : interactions with the gut and implications for human health. *Current medicinal chemistry*, 8(11), 1245-1255.

- [26].Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(2), 184-196.
- [27].Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., & De Tommasi, N. (2005). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food chemistry*, 92(2), 349-355.
- [28].Iserin, P., Masson, M., Restellini, J., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., & Vican, P. (2001). *Larousse des plantes médicinales : identification. Préparation, soins*. 2ième édition Larousse, VUEF, pp13-16, 291-296.
- [29].Clark, W. D., Brown, G. K., & Mays, R. L. (1980). Flower flavonoids of *Opuntia* subgenus *Cylindropuntia*. *Phytochemistry*, 19(9), 2042-2043.
- [30].Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids : old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353.
- [31].Veitch, N. C. (2007). Isoflavonoids of the Leguminosae. *Natural product reports*, 24(2), 417-464.
- [32].Davies, A. J., & Mazza, G. (1993). Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(5), 716-720.
- [33].Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933.
- [34].Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & function*, 10(2), 514-528.
- [35].Khanbabaee, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins : classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.
- [36].Rahim, A. A., Rocca, E., Steinmetz, J., & Kassim, M. J. (2008). Inhibitive action of mangrove tannins and phosphoric acid on pre-rusted steel via electrochemical methods. *Corrosion Science*, 50(6), 1546-1550.
- [37].Muanda F.N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz. France. Thèse doctorat.

- [38].Mccalley D.V., (2002). Analysis of the Cinchona alkaloids by highperformance Liquid chromatography and other separation techniques, Review. Journal of chromatography A. Vol (967) : 1-19.
- [39].Aouadhi. S, *Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Etude de 57 plantes recommandées par les herboristes*, Faculté de médecine de Tunis - Master spécialisé en toxicologie 2010.
- [40].Ayoola G.A., Ipav S.S., Solidiya M. O., Adepoju-Bello A.A., Coker H. A. B. et Odugbemi T. O., (2008).Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferae). International journal of health research, 1 (2) : 81-93.
- [41].Ruchika, J. N., & Pandey, A. (2018). Synthetic Metabolism and Its Significance in agriculture. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering : Synthetic Biology, Cell Engineering and Bioprocessing Technologies, 365.
- [42].Too good, H. S., Mansell, D., Gardiner, J. M., & Scrutton, N. S. (2012). 7.11 reductions : enantioselective bioreduction of C–C double bonds.
- [43].Naik, J. ETPandey, A. (2019). Métabolisme synthétique et son importance en agriculture. In Current Developments in Biotechnology and Bioengineering (pp. 365-391). Elsevier.
- [44].Jan, S., & Abbas, N. (2018). Himalayan Phytochemicals : Sustainable Options for Sourcing and Developing Bioactive Compounds. Elsevier.
- [45].Koné, K. P. F. O. (2018). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne (Doctoral dissertation).
- [46].Alihosseini, F. (2016). Plant-based compounds for antimicrobial textiles. In Antimicrobial Textiles (pp. 155-195). Woodhead Publishing.
- [57].Perveen, S., et Al-Taweel, A. (2018). Chapitre d'introduction : terpènes et terpénoïdes. Terpènes et terpénoïdes, 1-12.
- [48].Seigler, DS (1998). Tétraterpènes ou caroténoïdes. In Plant Secondary Metabolism (pp. 486-505).Springer, Boston, MA.

[49].El Haib, A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

[50].Kahlouche-Riachi, F. (2014). Evaluation chimique et activite antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie.

Chapitre 02

Activité

Antioxydante

Introduction :

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs sources naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires [1, 2, 3]. Les plantes, grâce à leurs composés chimiques, sont douées d'activités biologiques importantes dont l'activité antioxydante ou anticancéreuse. Mais, d'autres activités sont reconnues aux plantes ; activité antifongique, antivirale, insecticide". [4]

II.1-Le stress oxydant

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production d'espèce réactive et des substances azotées et la capacité du corps à neutraliser ces substances grâce au système antioxydant. [5]

Cependant, une production excessive de ces molécules pro-oxydants ou des mécanismes antioxydants insuffisants peuvent conduire à un déséquilibre de l'équilibre oxydant / antioxydant. [6]

Ce déséquilibre peut endommager certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines) et conduisant à l'apparition des divers pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré ; l'une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose. [7]

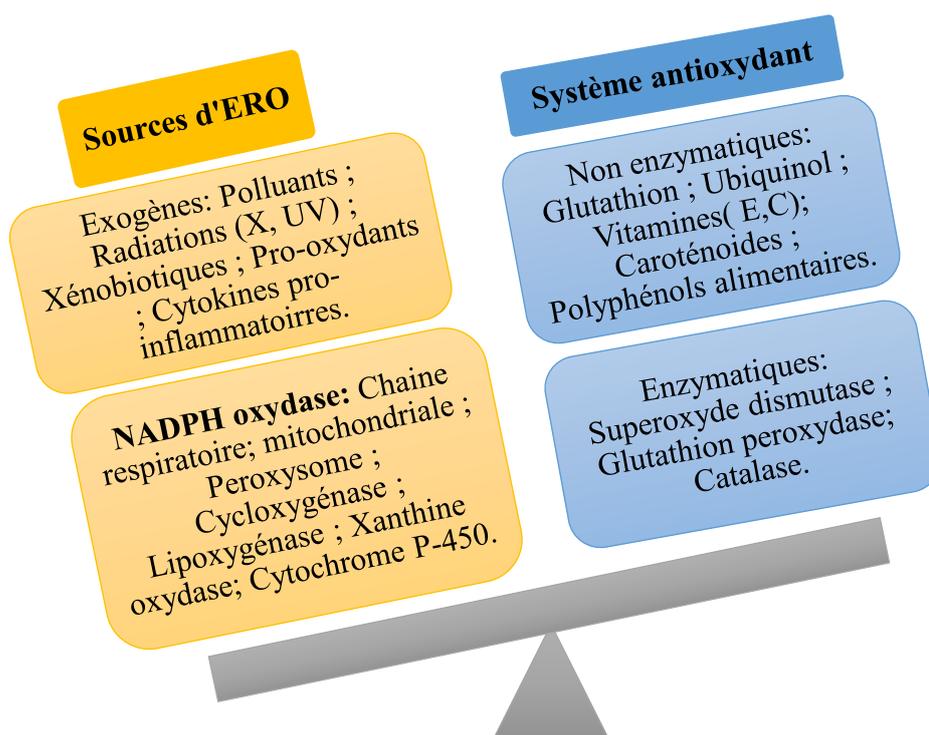


Figure (9) : Déséquilibre de la balance entre prooxydants et antioxydants. [8]

II.2-Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes avec un ou plusieurs électrons "non appariés" dans leurs orbitales externes [9]. Ces pro-oxydants sont extrêmement instables et peuvent réagir avec des molécules plus stables pour fournir leurs électrons uniques, ou former des liaisons pour remplir leurs orbitales, obtenant ainsi un état plus stable. [10] Les principaux radicaux libres sont :

- *Les espèces réactives de l'oxygène (ERO : spécifiques aux espèces réactives de l'oxygène)* combinent des radicaux libres avec au moins un électron libre sur l'orbitale externe (radical hydroxyle OH^\cdot ; superoxyde anion $\text{O}_2^{\cdot-}$ espèce radical pyrrol ROO^\cdot) et les dérivés non radicalaire à très haute réactivité, tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ et l'acide hypochloreux HOCl . [5]
- *Les espèces réactives azotées (RNS : réactive nitrogène spécifs)* sont dérivées du principal radical oxyde nitrique représentatif (NO), synthétisé par l'arginine et la NO synthase (NOS) dans l'oxygène. [11]

II.3-Les antioxydants

II.3.1-Définition

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. [12] Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires).

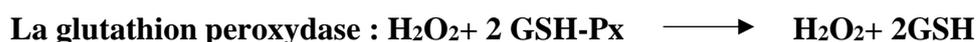
Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxydes dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation.

II.3.2-Les différents types des antioxydants

II.3.2.1-Les antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes enzymatiques

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes Ils sont principalement trois enzymes : le superoxyde dismutase SOD, la glutathion peroxydase GSH-Px et la catalase CAT. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire. [13]



Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, le glutathion transférase, les thiorédoxines réductases ou les thiorédoxines peroxydases. La plupart de ces enzymes, de même que les enzymes de réparation des dommages oxydants, vont utiliser un donneur d'équivalent réducteur, le NADPH, qui constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante. [13]

Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi les quelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la

mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire).

[13]

II.3.2.2. Les antioxydants exogènes

✚ Les antioxydants exogènes alimentaires (naturels)

L'alimentation c'est la source de divers composés antioxydants non-enzymatique, tels que la vitamine E (tocophérol) et C (acide L-ascorbique), les caroténoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols. Agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. [14]

La vitamine C est reconnue pour sa capacité à neutraliser les radicaux $O_2^{\cdot-}$ et OR ainsi que les hydroperoxydes produits par la peroxydation lipidique. [15]

La vitamine E existe sous huit formes, dont la plus active, l'alpha-tocophérol (*a*-tocophérol), inhibe la peroxydation lipidique. [15]

Les caroténoïdes ont la capacité de neutraliser différents ROS. Ces composés antioxydants non-enzymatiques ont la capacité de capter et de stabiliser l'électron non apparié des radicaux libres et ainsi les transformer en ions stables.

Comme produit de cette réaction, les vitamines se retrouvent elles-mêmes avec un électron non-apparié et elles vont être régénérées sous leur forme stable par un autre système enzymatique. Par exemple, l'*a*-tocophérol est régénérée par la vitamine C. Plusieurs études suggèrent également que les vitamines exercent un effet sur les enzymes antioxydantes en augmentant leur activité. [16]

Les polyphénols sont des molécules très importantes puisqu'elles ont la capacité de prévenir les dommages induits par les ROS. En effet, en plus de neutraliser les radicaux libres en captant leur électron non apparié, ces molécules pourraient augmenter l'activité d'enzymes antioxydantes. [17]

De nombreux composés phénoliques et spécialement les flavonoïdes sont des anti radicalaires puissants, à cause de sa particularité structure.

Ils peuvent piéger les radicaux libres qu' OH^{\cdot} et U_i en s'oxydant selon la réaction suivante :

Flavonoïde (OH) + R^{\cdot} (Instable) --- flavonoïde (O-) + RH (Stable)

1-de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des EOR.

2-d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases.

3-d' activer les enzymes antioxydantes. [18]

✚ Les antioxydants exogènes synthétiques

Plusieurs composés de synthèse sont utilisés comme agents antioxydants (comme additifs alimentaire) par exemple : le gallate de propyle PG (E310), le gallate d'octyle (E311), le gallate de dodécyle (E312), le butylhydroxyanisole ou BHA(E320) 2 isomères, le butylhydroxytoluène ou BHT(E321). [14]

II.3.3-Les Caractéristiques des antioxydants

Un composés considéré antioxydant *in vivo*, lorsque il requière les propriétés suivantes :

- ✓ Le produit de la réaction d'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être toxique pour l'organisme.
- ✓ L'antioxydant doit être présent dans l'organisme en concentration suffisant.
- ✓ La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

[20]

II.3.4-Les utilisations des antioxydants

- L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisées pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air.
- L'activité éventuelle de molécules médicamenteuses déjà connues, qui présentent avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques déjà bien connus.
- Sont concernées par l'utilisation dans l'industrie alimentaire.
- L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles.
- L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les même que dans l'industrie alimentaire. [21]

II.3.5-Méthode d'évaluation de l'activité antioxydant

Les antioxydants présentent une grande diversité moléculaire agissant contre les processus d'oxydation de différentes manières. Ainsi, afin de mesurer l'activité antioxydante d'une molécule, on peut coupler plusieurs tests. Par exemple, on retrouve le test au radical libre DPPH• (2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyle).

Dans ce mémoire, pour étudier la capacité d'antioxydant des extraits des plantes, le test au DPPH a été utilisé. [22]

II.4-Test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

II.4.1-Définition

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable qui agit en se combinant avec d'autres radicaux libres. Ce composé a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité des composés phénoliques. Il s'agit d'un test largement utilisé car il est simple et relativement reproductible. [23]

II.4.2-Principe

Le radical possède un électron libre sur un atome du pont d'azote. La délocalisation de cet électron se traduit par la coloration bleu-violette caractéristique du réactif (λ_{\max} MeOH = 515 nm, $\epsilon = 10870 \text{ m}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Cette délocalisation permet également au DPPH• de rester sous forme de monomères et d'être stable à température ambiante. [24]

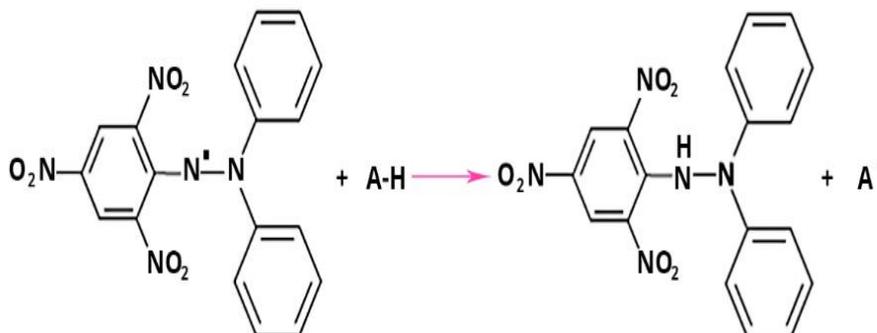


Figure (10) : Structure du DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant. [25]

Référence bibliographie :

- [1].Sanchez-Moreno C. Review : methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International* 2002, 8 (3)' 121- 137.
- [2].Marc Fr., Davin A., DeglOne-Benbrahim L., Ferrand C. et all. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit, M/S : médecine sciences* 2004' 20(4) ,458-463.
- [3].Huang ID., Ou, 8., Prior, R L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53, 1841-1856.
- [4]. <https://fsnv.univ-setif.dz/telecharger/EDT%7DITICawsElKolli-Meriem.pdf>.
- [5].Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques (Doctoral dissertation).
- [6].Dahmani, H. (2018). Cinétique de séchage conventionnelle (étuve) Des fines tranches d'orange sanguine Moro *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, et étude de l'activité antioxydante (Doctoral dissertation, Université de Bouira).
- [7].Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- [8].Pincemail, J., Degrune, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., & Defraigne, J. O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21(2), 66-75.
- [9].Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- [10].Marwa, R., & BENOUDINA, M. (2019). Le rôle des antioxydants dans la lutte contre le stress oxydatif (Doctoral dissertation, Abdelhafid boussouf university Centre mila).
- [11].Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress. *Sports medicine*, 36(4), 327-358.
- [12].Wainsten, J. (2009). *Le Larousse Médical*. Paris : Larousse.
- [13].Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
- [14].Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- [15].Margaritis, D. (2003). Learning Bayesian network model structure from data. Carnegie-Mellon Univ Pittsburgh Pa School of Computer Science.

- [16].Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: à personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- [17].Massart, A. (2011). Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
- [18].Psotová, J., Kolář, M., Soušek, J., Švagera, Z., Vičar, J., & Ulrichová, J. (2003). Biological activities of *Prunella vulgaris* extract. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(9), 1082-1087.
- [19].Duarte, T. L., Almeida, G. M., & Jones, G. D. (2007). Investigation of the role of extracellular H₂O₂ and transition metal ions in the genotoxic action of ascorbic acid in cell culture models. *Toxicology letters*, 170(1), 57-65.
- [20].Ouis, N. (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger).
- [21].Hennebelle, T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiacées productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées) (Doctoral dissertation, Lille 1).
- [22].SilviyaGeorgieva, L., & Angelov, G. (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydante ; Institut de génie chimique ; Académie bulgare des sciences ; Acad. Bonchev St., Block 103, 1113 ; Sofia ; Bulgarie. *Revue de génie industriel*, 5, 124-132.
- [23].Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [24].Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.
- [25].Grupiv's Blog. (2016). Method DPPH. [Online] Available at: <https://grupiv.wordpress.com/2009/11/03/metodo-dpph>.

Chapitre 03

Partie

Expérimentale

Introduction

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire de chimie à l'université Mohamed Seddik Ben Yahia -Jijel. Il est consacré à l'étude de la composition chimique des métabolites secondaires et des huiles essentielles extraites à partir de l'espèce *Laurus nobilis* L.

III.1- Matière végétale

III.1.1- Récolte de la plante

Les parties aériennes de *Laurus nobilis* L, ont été récoltées au mois de mars 2021 de la région de Bazoul (wilaya de Jijel, l'Est Algérie). Les parties aériennes ont été nettoyées et séchées à températures ambiante dans un endroit aéré à l'ombre pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière. Elles ont été ensuite pesées, broyées grossièrement et récupérées dans des sacs propres.



Figure (11) : Espèce *Laurus nobilis* L

III.1.2. Caractérisation du lieu de récolte

Tableau(6) : Caractérisation du lieu de récolte.

Région	Bazoul
Situation géographique	Nord de la commune de Taher dans la willaya de Jijel
Distance entre Jijel centre et Bazoul	15 km
Latitude	36.7091°
Longitude	6.1294°
DMS Latitude (degrés, minutes et secondes) :	41° 24 min 12,2 sec. N
DMS Longitude (degrés, minutes et secondes) :	2° 10 min 26,5 sec. E



Figure (12) : Lieu de récolte du laurier noble (Bazoul-Taher).

III.2- Etude phytochimique

III.2.1-Extraction des métabolites secondaires

La macération c'est un procédé d'extraction des principes actifs qui consiste à extraire la majorité des métabolites secondaires contenus dans les feuilles et les tiges sèches ; tout en utilisant des solvants organiques qui augmentent le rendement d'extraction.

Principe

L'extraction liquide-liquide est un processus physique qui permet la récupération et purification d'un ou des composés, basée principalement sur l'utilisation de solvants organique, et sur la différence de solubilité des liquides. Il est destiné à transmettre un ou (des) produit (s) d'une phase difficile à isoler vers une autre phase (solvant Extraction évaporée) ou la séparation est facilitée.

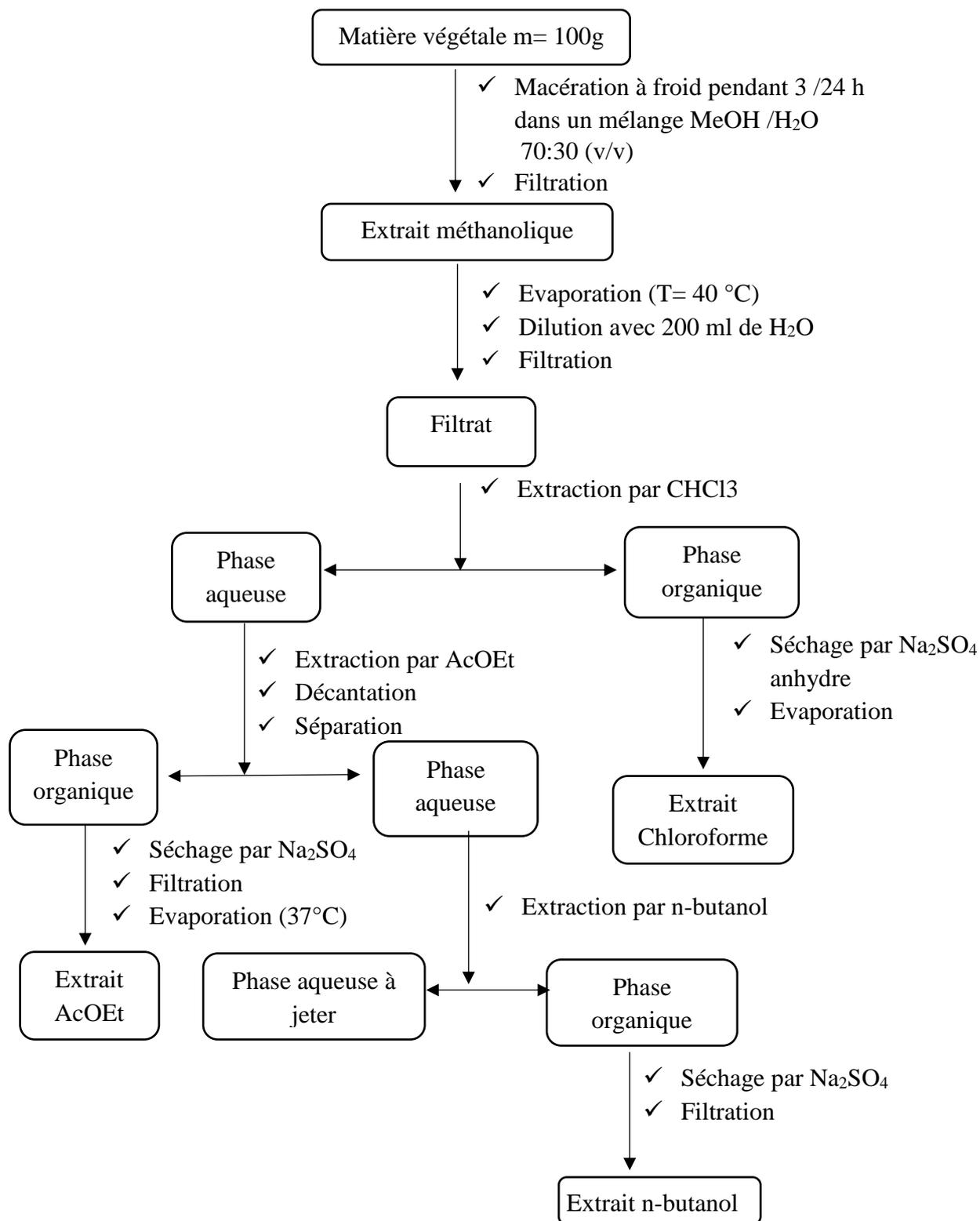
Protocole

Il existe plusieurs techniques pour extraire les produits d'une plante. Nous avons adopté pour l'ensemble de nos extractions la méthode la plus couramment utilisée soit la macération dans une solution méthanol-eau.

Les feuilles sèches du *Laurus nobilis* (100g) est mise à macérer à température ambiante dans un mélange méthanol-eau (70-30 v/v) pendant 24 heures, ce procédé est répétée 3 fois pour épuiser le substrat de tous ses composants phénoliques. Le macérât est ensuite filtré sur coton puis soumis à une évaporation à 40°C en utilisant un évaporateur rotatif. L'extrait obtenu est additionné à l'eau distillée pendant une nuit sous agitation à température ambiante. Après filtration la solution obtenue est épuisée successivement, dans une ampoule à décanter de 1000 ml, en utilisant des solvants de polarité croissante : le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle puis le n-butanol, deux fois pour chaque solvant à mêmes quantités.

- épuisement par le chloroforme (CHCl₃) : obtention de la phase chloroformique.
- épuisement par l'acétate d'éthyle (AcOEt) : obtention de la phase acétate.
- épuisement par le n-butanol : obtention de la phase n-butanolique.

Les 03 extraits sont évaporés à sec et pesés.



Figure(13) : Protocole d'extraction des polyphénols de *Laurus nobilis* L.



Figure (14) : Extraction par solvant (décantation).



Figure (15) : Evaporation des trois phases.



Figure (16) : Les trois extraits obtenus après épuisement par des solvants.

III.2.2- Analyse des extraits par chromatographie sur couche mince (CCM)

✚ Principe

La chromatographie est une méthode analytique largement utilisée pour séparer, identifier et quantifier les composants chimiques dans des mélanges complexes. [1]

✚ Protocole

La CCM est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse utilisée pendant la séparation et purification des métabolites. Cela dépend principalement du phénomène d'adsorption avec une couche absorbante en phase fixe (stationnaire) (gel de silice ou autres) étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de différentes dimensions (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10 cm ou 5 x 10 cm) avec des épaisseurs comprises entre 0,5 et 2 mm et une phase mobile comme éluant. Il se compose d'un solvant ou d'un mélange de solvants qui se migrent lentement le long de la plaque, ce qui conduit à l'entrée des composants de l'échantillon déposé. Une fois le chromatogramme développé, la plaque est créée et séchée à température ambiante puis examinée sous UV (longueurs d'onde) = 254 nm et 365 nm). Si nécessaire. Ensuite, le rapport frontal (Rf) est déterminé pour chaque composant. [2]

L'analyse des extraits bruts par CCM démontre que ces extraits sont riches en métabolites secondaires. Plusieurs systèmes de solvants sont utilisés lors de cette manipulation, et le choix du système dépend de ceux qui offrent les meilleures séparations (migrations) des différents composants des extraits.

III.2.3- Analyse des extraits par chromatographie sur colonne

Principe

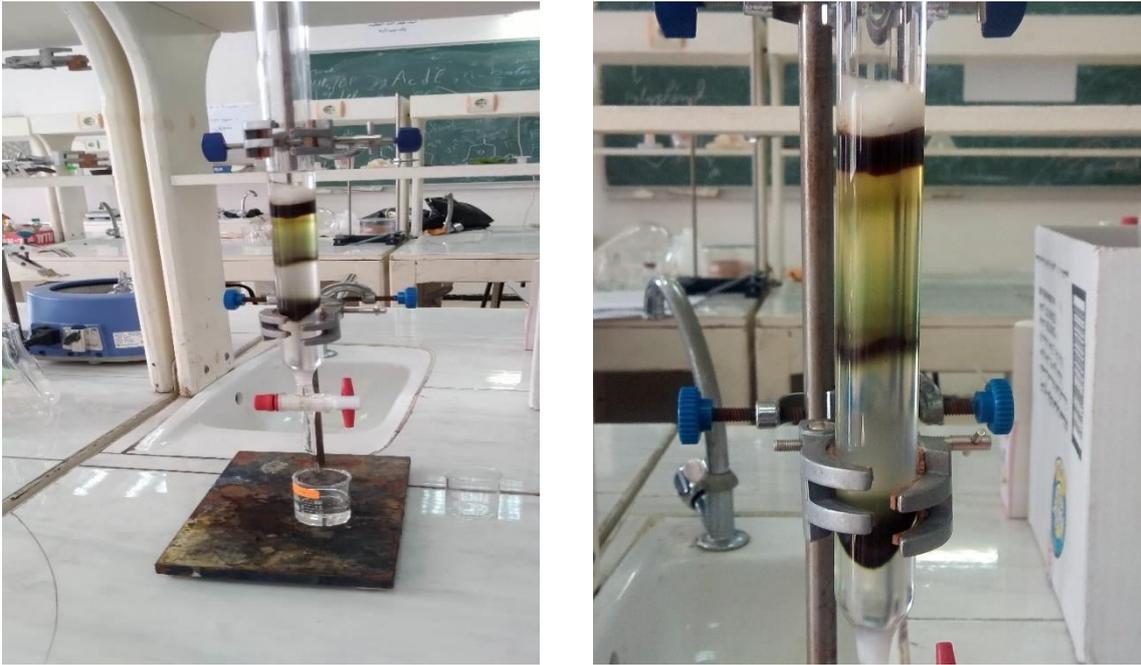
La chromatographie sur colonne est basée sur le même principe que la chromatographie sur couche mince. Cette technique est basée sur le phénomène d'adsorption cela nous permet, en effet, de séparer les composants du mélange ; Les isoler de partir des échantillons dont la masse peut parfois atteindre plusieurs grammes. La séparation cela dépend des conditions correctes (phase mobile et phase stationnaire) et aussi du solvant qui permette à tous les composants du mélange de se dissoudre. [3]

Protocole

Après avoir effectué une série de tests afin de trouver un système d'élution adapté pour séparer les différents composants des métabolites secondaires du *Laurus nobilis*

Nous avons sélectionné le mélange (chloroforme / acétate d'éthyle) (1: 1) ; qui nous semble comme être le meilleur système d'élution.

Une solution d'extrait d'acétate (1 g) a été absorbée en une quantité de gel de silice, après élimination à sec du solvant. Ce dernier est introduit dans une colonne de gel de silice. Le processus d'élution a été initialement effectué uniquement par le chloroforme, puis nous augmente progressivement la polarité de la phase mobile en ajoutant de l'acétate d'éthyle.



Figure(17) : Séparation par chromatographie sur colonne.

25 ml de fractions sont collectés dans des fioles. Le suivi parmi ces fractions a été réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM) de gel de silice. Les plaques sont imagées sous lumière ultraviolette (254 et 365 nm).



Figure (18) : Les différentes fractions issues de la colonne

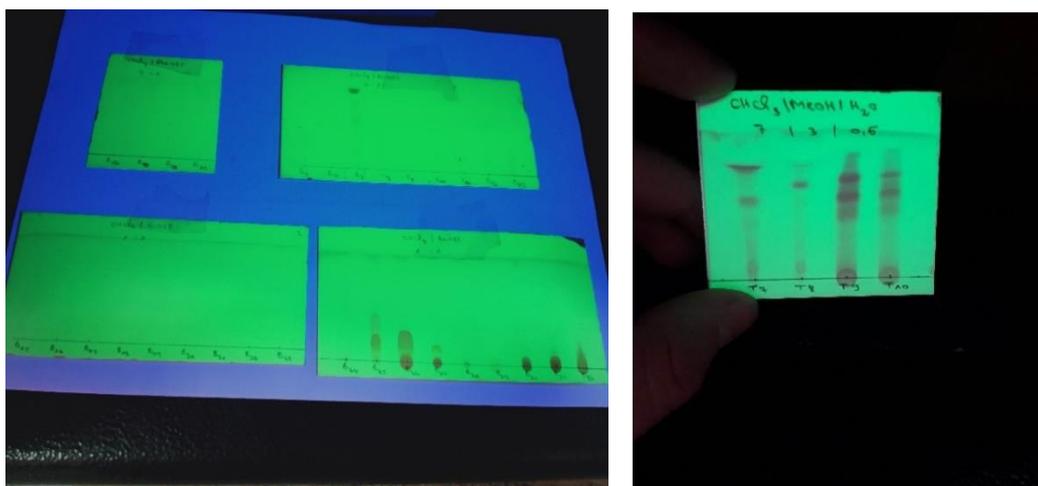


Figure (19) : Plaques CCM de différentes fractions issues de la colonne (Chloroforme/ Acétate d'éthyle) (1 : 1) ;(Chloroforme / MeOH / H₂O) (à $\lambda=245\text{nm}$).

Les 09 fractions récupérées de la colonne sont rassemblées dans le tableau (7) :

Tableau (7) : Résultat du fractionnement par chromatographie sur colonne de l'extrait Acétate d'éthyle de *Laurus nobilis* L

Erlens (25ml)	Fractions	Système d'Elution		Observation
		CHCl ₃	AcOEt	
1 à 6	F1	100 %	0%	Rien
7	F2	90%	10%	Trace d'une tache
8 à 12	F3	90%	10%	Trace d'une tache
13 à 15	F4	90%	10%	Trace d'une tache
16 à 19	F5	80%	20%	Trace d'une tache
20 à 23	F6	70%	30%	Deux taches séparables
24 à 26	F7	60%	40%	Deux taches séparables

27 à 30	F8	50%	50%	Trois taches séparables
31 à 32	F9	0%	100%	Trois taches séparables

III.3- Screening phytochimique

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter différentes familles chimiques présentes dans notre plantes par des réactions de coloration et de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette.

III.3.1-Dosage des phénols Totaux

Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre 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 polyphénols, 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 750 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal. [4]

Test

Dans des tubes à essai on introduit un volume de 500 μ l d'extrait végétal brut avec 2,5ml du réactif de folin-Ciocalteu (10%) après 4 min on ajoute 2,5 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%), L'ensemble est incubé à une température égale 4°C pendant 30 min. La lecture est effectuée contre un blanc sans extrait à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm. [5]

III.3.2- Dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$)

Principe

La formation d'un complexe 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. [6]

Test

La teneur totale en flavonoïdes (TFC) de différentes parties telles que les feuilles, les pétioles, les graines, l'écorce de la tige et la paroi du fruit de *Laurus nobilis* L a été déterminée en utilisant le dosage du chlorure d'aluminium par colorimétrie. Une aliquote (0,5 ml) d'extraits a été prélevée dans différents tubes à essai puis 2 ml d'eau distillée ont été ajoutés suivis de l'ajout de 150 µl de nitrite de sodium (5% NaNO₂) et laissés au repos pendant 6 min. Plus tard, 150 µl de trichlorure d'aluminium (10 % AlCl₃) a été ajouté et incubé pendant 6 min, suivi de l'ajout de 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH 4 %) et le volume a été porté à 200 µl avec de l'eau distillée. Après 15 min d'incubation le mélange vire au rose dont l'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un colorimètre. [5]

III.3.3- Test des saponosides

La détection des saponines est réalisée au moyen du test de yadav et agarwala (2011). A 1ml d'extrait, sont ajouté 3ml d'eau distillé. Après agitation pendant 2 min la formation d'une mousse persistant indique la présence des saponines.

III.4- Activité biologique antioxydante

Principe

L'activité anti radicalaire des composés polyphénoliques contenus dans les extraits préparés est évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) sa couleur violette foncée se transforme en jaune lors de sa réduction (capté par les produits testés). [7]

Protocole

Préparation d'une solution de DPPH' à concentration C = 60 µM. On dissout 1,7 mg du DPPH dans 70 ml de MeOH, puis on fait l'agitation est préparée à l'avance pendant 1 heure / 4°C (glace) au noir car la solubilisation est difficile. Pour les trois extraits, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol de *Laurus nobilis* L, différentes concentrations ont été préparées dans le méthanol.

Dans des tubes secs des volumes de 50 µL de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés A 1950 µL de la solution méthanolique du DPPH'.

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50pL de méthanol avec 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH', le test est répété 3fois de chaque extraits : chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes et ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température

ambiante. Après 30 min d'incubation, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc pour chaque concentration à 515 nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (% PI) suivant l'équation suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

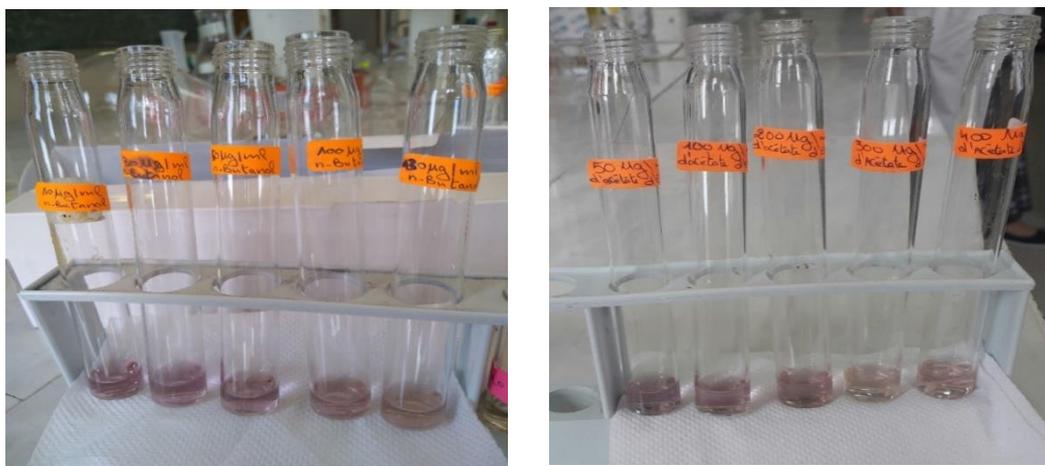


Figure (20) : Test d'activité antioxydant par la réduction du radical DPPH.

III.5- Etude chimique des huiles essentielles

La plante de *Laurus nobilis* a été récoltée et séchée dans un endroit frais à température ambiante. Ensuite, coupez les feuilles pour minimiser la perte d'huiles essentielles.

III.5.1- Procédé d'extraction des huiles essentielles

Notre travail est basé sur l'hydrodistillation comme méthode d'extraction, car sa simplicité et son coût en font l'une des méthodes les plus couramment utilisées.

L'extraction des huiles essentielles de l'espèce *Laurus nobilis* est effectuée par hydrodistillation de la partie aérienne, ou 100 g de la plante séchée est introduite dans un ballon de 500 ml (chaque partie), ajouter de l'eau distillée dans les coins et faire bouillir pendant 1 heure et 30 minutes. La vapeur d'eau remplie d'huile essentielle est condensée par le réfrigérant et recueillie dans une ampoule de séparation de 100 ml En raison de la

différence de densité, l'eau et l'huile sont séparées. Les huiles essentielles sont conservées à 4 ° C.



Figure (21) : Montage d'hydrodistillation.

III.5.2- Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la plante sèche traitée. Le rendement en pourcentage (R %) est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_S} * 100$$

R_{HE} : rendement d'huile essentielle en % ;

M_{HE} : Masse de l'huile essentielle (g) ;

M_S : Masse de la matière végétale sèche (g).

III.5.3- Analyse chimique du H.E par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/ SM) :

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

✓ **La chromatographie en phase gazeuse :**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique couramment utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage des constituants chimiques.

La chromatographie consiste à séparer les composés d'un mélange en fonction des vitesses d'entraînement à travers une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile gazeuse (gaz vecteur). [8]

La possibilité de coupler les chromatographes à divers spectromètres augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. En CPG/SM, la comparaison informatique des spectres d'un pic inconnu avec une ou plusieurs références permet son identification [9]



Figure (22) : Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse.

✓ **La spectrophotométrie de masse :**

La spectrophotométrie de masse repose sur l'ionisation et la fragmentation des molécules. Leur ionisation entraîne en effet une accumulation d'énergie qui en se dissipant, peut provoquer la rupture des liaisons interatomiques et donner naissance à des fragments caractérisés par le rapport de leur masse et leur charge. Les différents fragments ainsi produits, sont accélérés avant de parvenir à un analyseur appelé filtre de masse, qui les sépare. Le recueil sélectif des différents ions permet l'établissement d'un spectre caractéristique appelé : spectre de masse.

✓ **Protocole :**

Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par CG/MS. L'analyse a été réalisée par un chromatographe à phase gazeuse du type Shimadzu QP 2010 EI couplé à un spectromètre de masse. La colonne capillaire était du type OV1701 de 25 m longueur, diamètre 0.25 mm. Le débit du gaz porteur (hélium) était de 1,5 ml / min. 1 µl d'huile essentielle a été injecté, en utilisant le mode split. La température de la colonne a été maintenue à 70°C pendant 5 min puis augmentée de 5°C par min jusqu'à 230°C. Le détecteur était à une spectrométrie de masse (MS).

Référence bibliographie

- [1].Lagnika, L. (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises (Doctoral dissertation, Strasbourg 1).
- [2].Caude M. et Jardy A. Méthodes chromatographiques. Base documentaire : Techniques d'analyse. 1996. Référence : P1445.
- [3].www.zysmancolman.com/courses/chm302/Chromatographie%20sur%20colonne.pdf.
- [4].Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.
- [5].Samatha, T., Shyamsundarachary, R., Srinivas, P., & Swamy, N. R. (2012). Quantification of total phenolic and total flavonoid contents in extracts of *Oroxylum indicum* L. Kurz. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 5(4), 177-179.
- [6].Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.
- [7].Figuerola, L. A., Navarro, L. B., Vera, M. P., & Petricevich, V. L. (2014). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents, and cytotoxicity evaluation of *Bougainvillea xbutiana*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 497-502.
- [8].Arpino, P. J., & Haas, P. (1995). Recent developments in supercritical fluid chromatography-mass spectrometry coupling. *Journal of Chromatography A*, 703(1-2), 479-488.
- [8].Arpino, P.J., & Haas, P. (1995). Développements récents dans le couplage chromatographie en fluide supercritique-spectrométrie de masse. *Journal of Chromatography A*, 703(1-2), 479-488.
- [9].Likibi, B. N., Tsiba, G., Madiélé, A. B., Nsikabaka, S., Moutsamboté, J. M., & Ouamba, J. M. (2015). Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Mentha piperata* L. (Lamiaceae) du Congo. *Journal of Applied Biosciences*, 92, 8578-8585.

Chapitre 04

Résultats & Discussion

IV.1- Extraction des métabolites secondaires

IV.1.1- Détermination de rendement de l'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement de l'extrait (R%), est défini comme le rapport de la masse de l'extrait obtenu après extraction (m') à la masse de matière végétale utilisée (m₀). Il est donné par la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{masse de l'extrait}}{\text{masse de la matière végétale}} \times 100 = \frac{m'}{m_0} \times 100$$

R% : rendement en extraits de la plante

m' : masse de l'extrait obtenue en gramme

m₀ : masse de la plante utilisée en gramme

Les phases organiques récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées.

Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau (8) :

Tableau (8) : Rendement et aspects organoleptiques des extraits d'une espèce du genre *laurus nobilis* L.

Matière végétale	Extrait	Masse(g)	Rendement (%)	Couleur
100g	Chloroformique	0,53g	0,53%	Vert
	Acétate d'éthyle	0,73g	0,73%	Marron clair
	1-butanol	0,85g	0,85%	Orange

Grâce à l'extraction liquide-liquide, trois types d'extraits peuvent être obtenus : extrait de chloroforme (CHCl₃), extrait d'acétate d'éthyle (AcOEt) et extrait de n-butanol (n-BuOH).

En général, le rendement d'extraction augmente avec l'augmentation de la polarité des solvants utilisés. Cette constatation a été observée pour l'espèce *laurus nobilis* L où la phase butanolique représente le rendement le plus élevé, (0,85%) suivi de la phase d'acétate d'éthyle (0,73%). Par contre le rendement le plus faible est obtenu avec la phase chloroformique (0,53%). Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents (Figure(24)).

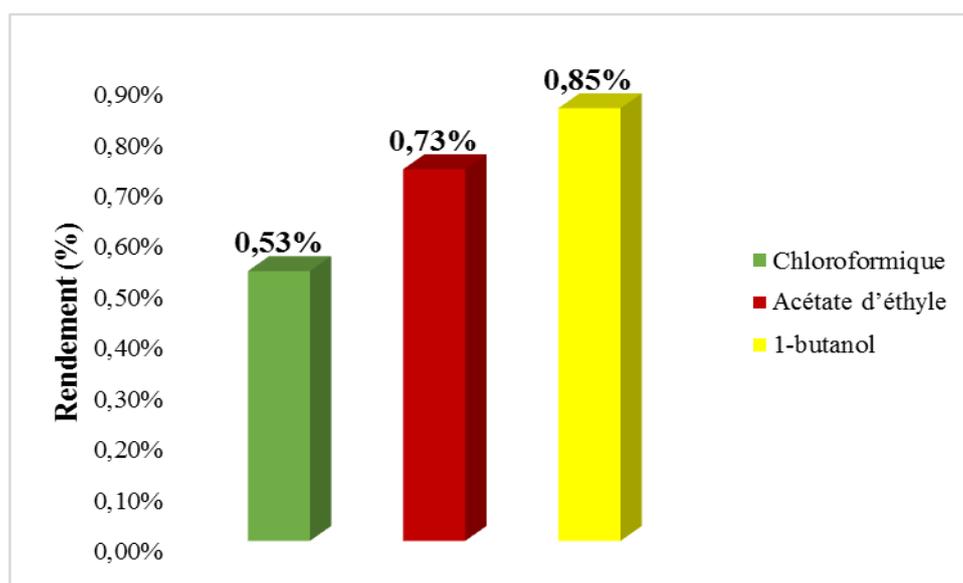


Figure (23) : Rendement des extraits de *laurus nobilis* L.

IV.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait CHCl_3 et d'AcOEt

Après plusieurs tests sur le système d'élution, nous avons trouvé une phase mobile adaptées qui permet de séparer divers composants de l'extrait. Les plaques CCM révèlent une série de taches indiquant la richesse de chaque extrait en produits.

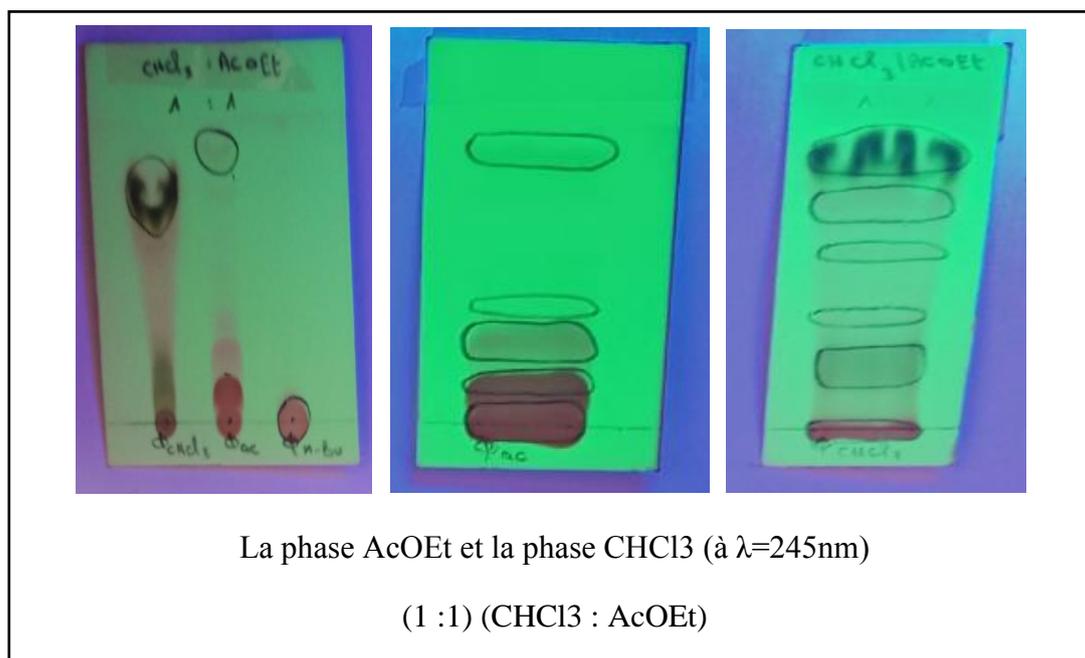


Figure (24) : Résultats de la CCM des deux phases.

IV.3- Résultats des tests

IV.3-1- Tests phytochimiques

a. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations d'acide gallique (l'équation standard de courbe ; $y = 0,0049x - 0,1153$; $R^2 = 0,9868$) (Figure(26)).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait sec (mg EAG/g EXS).

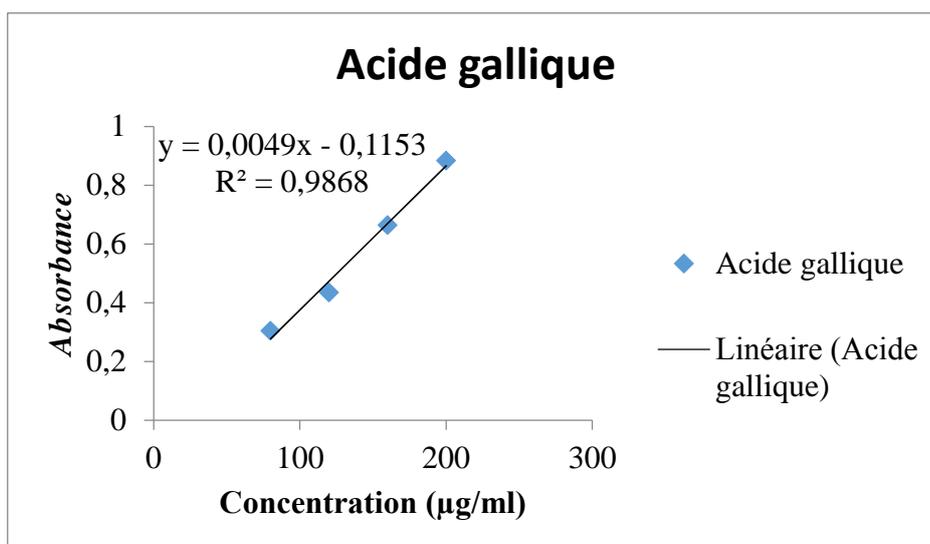


Figure (25) : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau (9) : Résultats de la quantification spectrophotométrique des phénols totaux.

Phase	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-Butanol
Teneur en mg EAG/g EXS	37,81±0,02	60,47±0,06	108,83±0,03

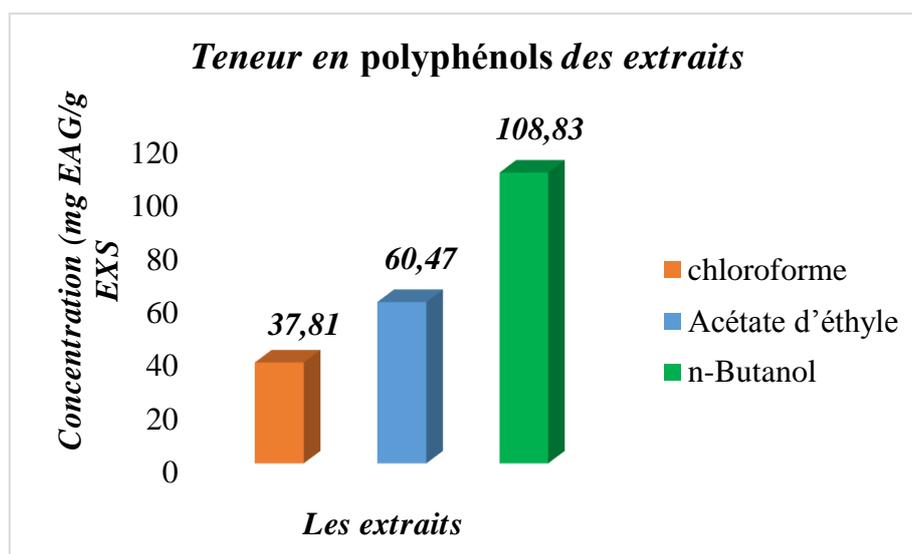


Figure (26) : Teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait de 3 phases (n-butanol, acétate d'éthyle, chloroforme) équivalent d'acide gallique.

D'après les résultats, nous pouvons voir que tous les extraits végétaux étudiés sont riches en polyphénols mais en quantités différentes.

La figure(27) montre que l'extrait de n-butanol a la teneur en polyphénols la plus élevée (108,83 mg EAG / g EXS), suivi de l'extrait d'acétate d'éthyle (60,47 mg EAG / g EXS) et enfin de l'extrait de chloroforme (37,81 mg EAG / g EXS).

Les teneurs totales en polyphénols identifiées ne sont pas des mesures absolues des quantités de polyphénols dans la matière de départ, elles sont en fait basées sur la capacité relative de l'acide gallique (EAG). [1]

Le profil polyphénolique des extraits de plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs, notamment une variété d'espèces, le climat et la situation géographique.

b- Dosage des flavonoïdes par les méthodes de trichlorure d'aluminium

La teneur flavonoïdes a été mesurée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Nous avons observé l'apparition de la couleur jaune après avoir ajouté du trichlorure d'aluminium à une solution méthanolique de quercétine. Il s'agit d'un flavonoïde connu de la famille des flavonols, ce dernier servant de référence pour la réalisation d'une courbe de titrage dans la gamme de concentration. Les résultats sont présentés dans le diagramme schématique (Figure(29)).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ / g d'extrait sec)

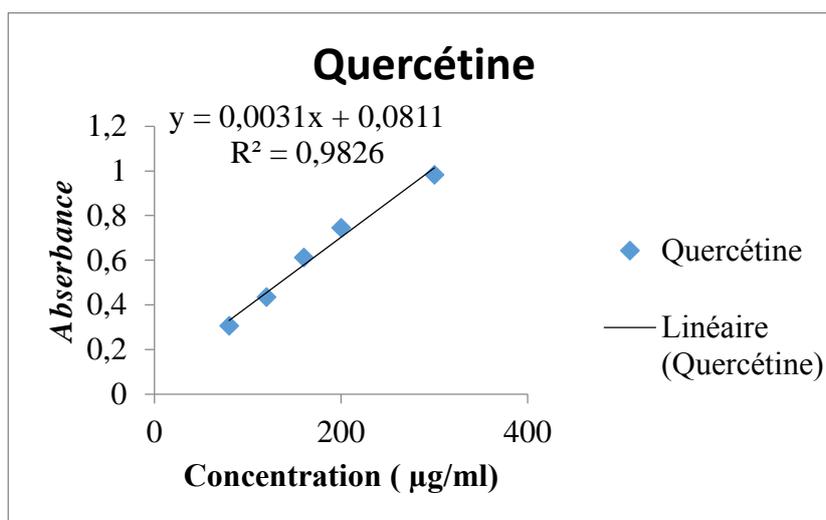


Figure (27) : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

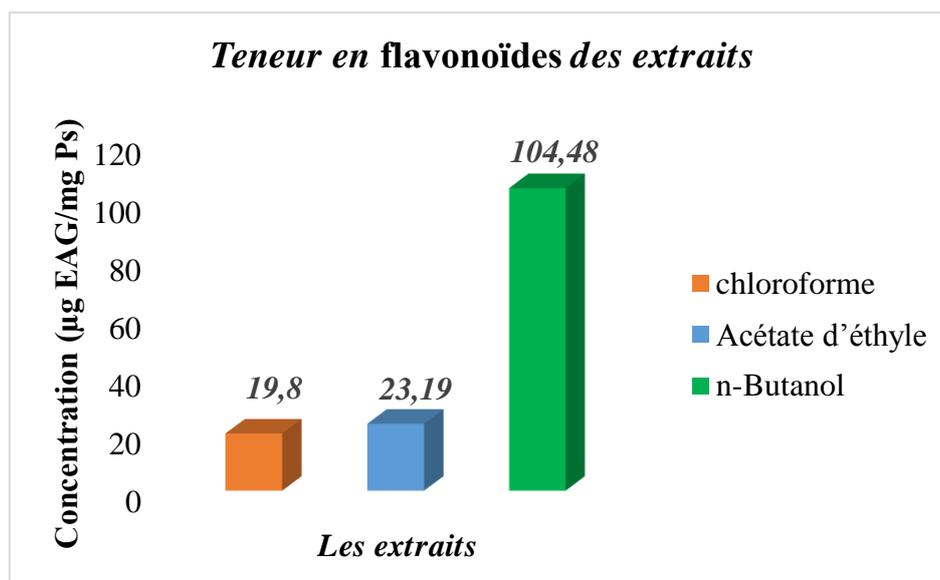


Figure (28) : Teneurs en flavonoïdes totaux dans trois extraits (n-butanol, acétate d'éthyle, chloroforme) équivalent de la quercétine.

Les teneurs en ces composés varient entre 23,19 et 104,48 mg EQ / g d'extraits. Des niveaux élevés ont été observés dans l'extrait de n-butanol 108,48 (mg EQ / g d'extrait sec), tandis que les niveaux les plus bas étaient le chloroforme et l'acétate d'éthyle avec 19,80 et 23,19 (mg EQ/g d'extrait sec) respectivement.

c- Test des saponosides

Le test a été réalisé sur des extraits préparés à partir des feuilles de l'espèce *Laurus nobilis* L permet d'obtenir le résultat présenté dans la Figure (30).



Figure(29) : la présence des saponines

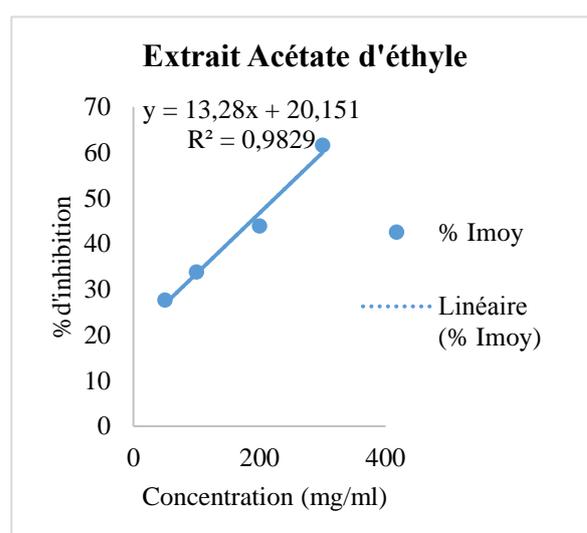
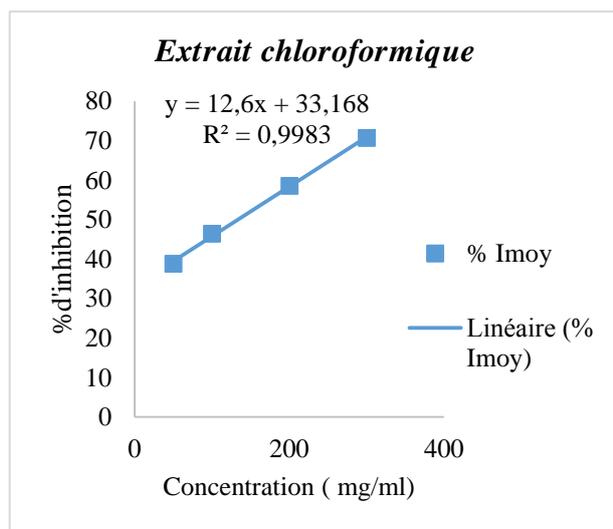
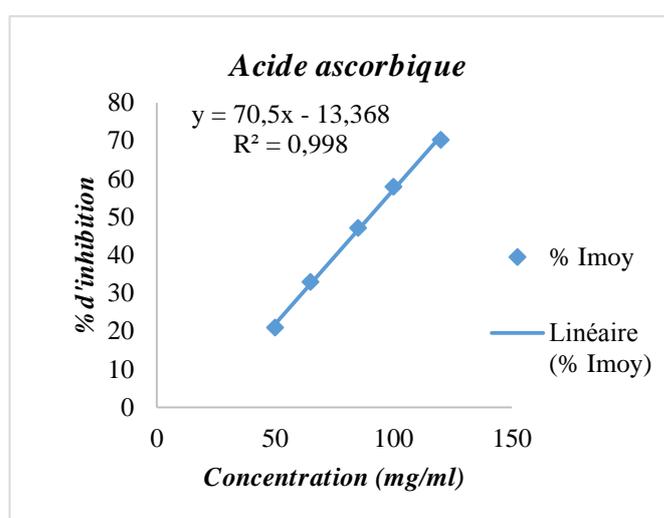
On remarque la présence d'une mousse chez l'espèce *Laurus nobilis* ce qui indique la présence des saponines, les indices des mousses indiquent que l'intensité des saponines est plus importante dans les feuilles *Laurus nobilis*.

IV.3.2- Evaluation de l'activité antioxydante de la plante

L'activité antioxydante des différents extraits a été déterminée à l'aide d'un seul dosage chimique décrit ci-dessus (piégeage des radicaux libres DPPH). Notre objectif était d'identifier les phases les plus actives pour une caractérisation phytochimique plus poussée.

Test de piégeage du radical DPPH

La capacité antioxydante des trois extraits ; chloroformique ; acétate d'éthyle et n-butanol est évaluée par leur réaction avec le radical DPPH. Le pourcentage d'inhibition est calculé pour chaque concentration. La figure (31) représente la variation du pourcentage de force inhibitrice en fonction de la concentration de chaque extrait. D'après les résultats obtenus, il apparaît que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres augmente avec l'augmentation de la concentration à la fois pour l'étalon (acide ascorbique), ou pour différents extraits de plante.



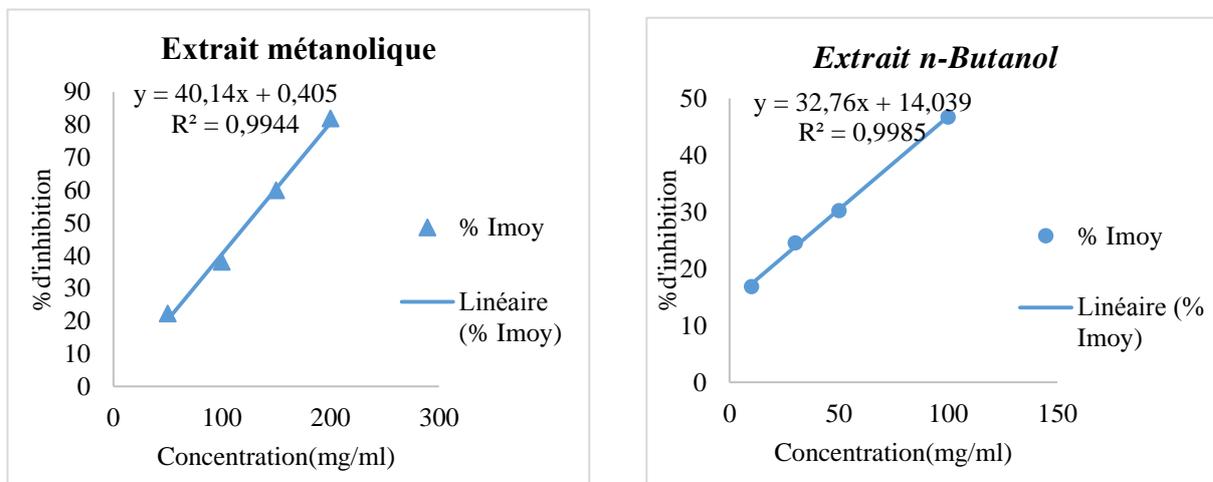


Figure (30) : Pourcentage d’inhibition de radical DPPH des extraits de *Laurus nobilis L* et de l’acide ascorbique.

Tableau (10) : Valeurs des IC₅₀ exprimées en µg/ml des extraits (chloroforme, n-butanolique, acétate d'éthyle) comparativement avec l’acide ascorbique.

Extrait	IC ₅₀ (mg /ml)
Chloroformique	1,336
Acétate d'éthyle	2,248
n-butanolique	1,097
Extrait méthanolique	1,235
Acide ascorbique	0,519

On remarque que les trois extraits étudiées possèdent une activité antioxydante mais inférieure à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ =0,519mg/ml). L'activité antioxydante est inversement proportionnelle à l'IC₅₀, l'extrait qui possède la plus basse valeur de IC₅₀ ; exerce l'activité anti-radicalaire la plus puissante. Nous constatons alors que l'extrait n-Butanolique montre la meilleur activité anti-radicalaire avec une valeur IC₅₀ égale à 1,097mg/ml, suivi de l'extrait méthanolique (1,235mg/ml) et de l'extrait Acétate d'éthyle qui presque 3 fois moins actif avec une IC₅₀ de l'ordre de 2,248mg/ml

Cependant l'extrait chloroformique montre une activité relativement faible avec IC₅₀ égale à 1,336 µg/ml. Il ressort donc que l'extrait n-butanolique constitue un bon piègeur des radicaux libres.

Nous notons aussi qu'il y a une bonne corrélation entre les teneurs en polyphénols et les activités antioxydants de quatre extraits chloroformique, acétate d'éthyle, et n-butanol, extrait méthanolique ; Les extraits qui possédant la teneur en polyphénols la plus élevée ont également montré l'activité antioxydante la plus forte. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante.

IV.2-Les huiles essentielles

On s'est intéressé dans cette partie à l'étude phytochimique de l'espèce, ainsi que l'extraction des huiles essentielles et la détermination de la composition chimique de ces derniers, en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/SM.

IV.2.1- Rendement des huiles essentielles

La masse de l'huile essentielle récupérée de l'espèce est de 0,7g, et la masse de la plante sèche est de 100g ; et comme le rendement étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle récupérée sur la masse utilisée de la plante que multiplie par cent, alors le rendement soit de ($R = 0,7\%$). Ce qui confirme la richesse de notre plante en huile essentielle.

IV.2.2- Evaluation des composants chimiques des huiles essentielles de l'espèce par CG-MS :

Les pics du chromatogramme de l'huile essentielle de chaque plante sont comparés à ceux des composés de référence présents dans une bibliothèque de spectre avec une banque de données informatisées, l'appareil GC/SM nous a donné les différents pic de masse et les indices de rétention des substances comparables qui peuvent constituer cet extrait.

Le chromatogramme de l'huile essentielle ont de nombreux pics. Le profil chromatographique d'huile essentielle de notre plante est illustré dans la figure (32).

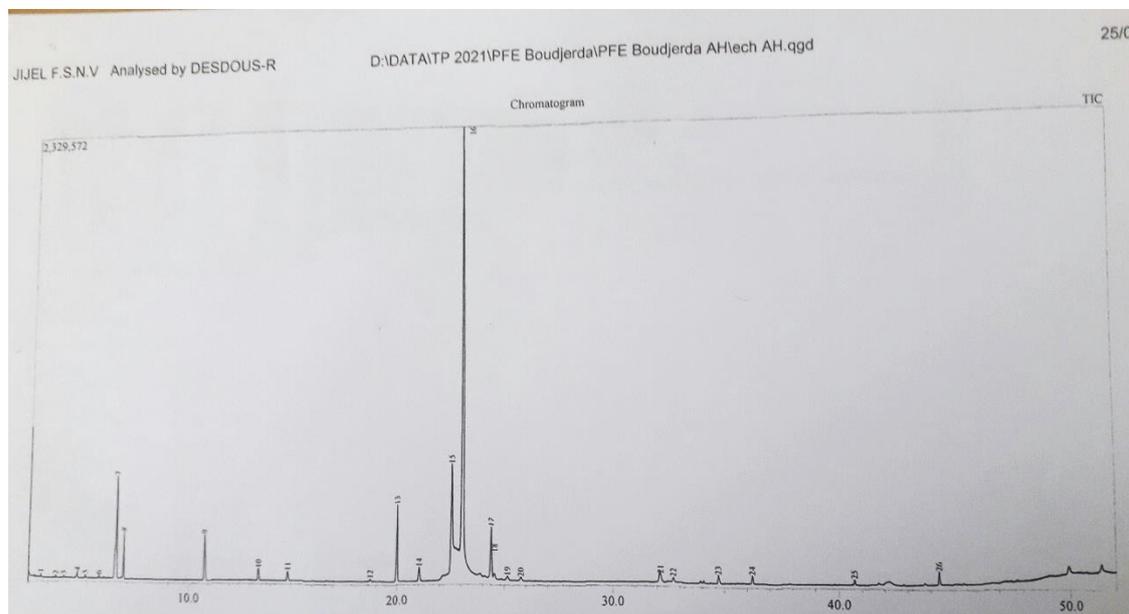
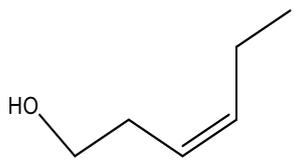
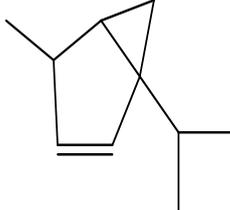
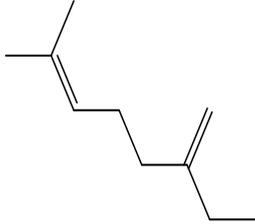
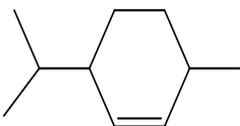
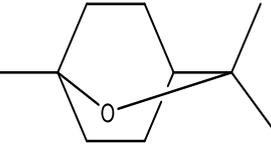
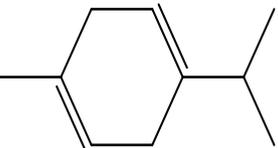


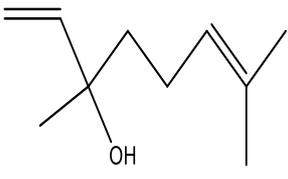
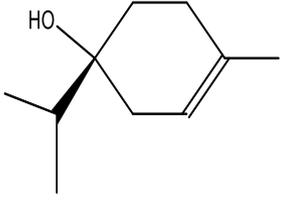
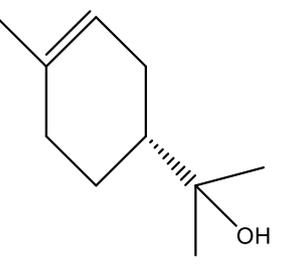
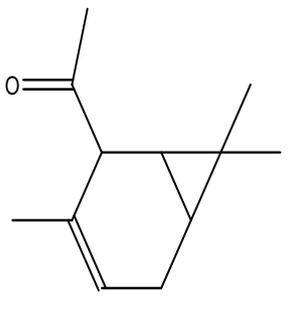
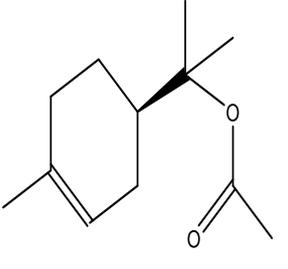
Figure (31) : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* L.

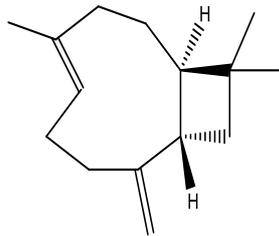
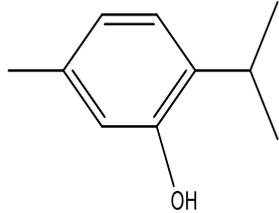
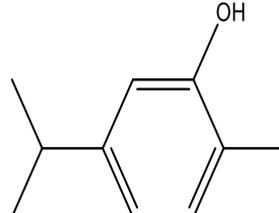
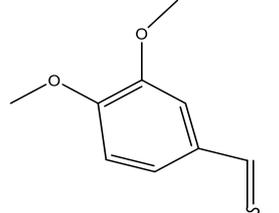
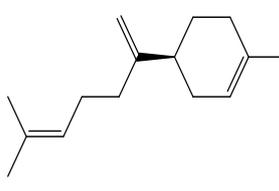
Tableau (11) : Composition chimique de l'Huile essentielle de *Laurus nobilis* L.

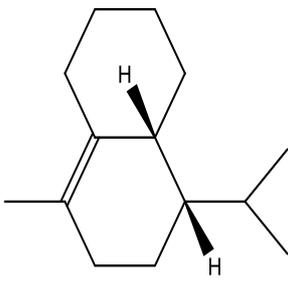
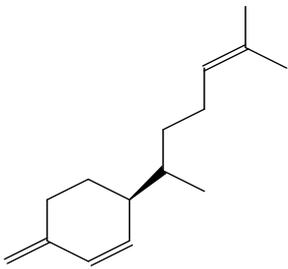
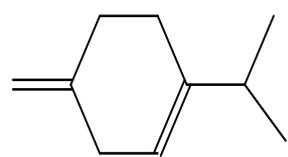
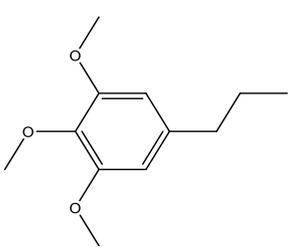
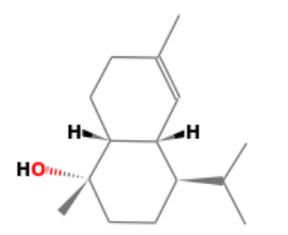
N° pic	Composé	Nom systématique	Structure	Aire	Tr
1	2,4-Dimethyl Pentane	Pentane, 2 ,4-dimethyl-		0,20	2,666
2	α -Thujene Origanene	Bicyclo [3.1.0] hex-2-ene-2- methyl-5- (1-methylethyl)		0,12	3,425

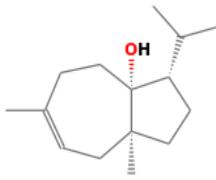
Résultat & Discussion

3	cis-3-hexène -1-ol	3-hexen-1-ol		0,17	3,827
4	β -Thujene	Bicyclo [3.1.0] hex-2-ene-2- methyl-4- (1-methylethyl)		0,45	4,508
5	Myrcène	β -Myrcène		0,18	4,902
6	2-Menthene	cyclohexene 3 -methyl-6-(1- methylethyl)-		0,17	5,573
7	1,8-Cineole	Eucalyptol		8,86	6,417
8	γ -Terpinen	1,4-Cyclohexadiene ,1-methyl-4- (1-methylethyl)-		3,02	6,803

9	β -Linalool	1,6-Octadien -3-ol, 3,7-dimethyl-		3,61	10,785
10	Terpinen-4-ol	3-Cyclohexen-1 -ol, 4-methyl-1- (1-methylethyl)-, (R)		0,96	13,421
11	α -Terpineol	3-Cyclohexene -1-methanol, α,α 4-trimethyl-		0,77	14,827
12	1-(4,7,7-Trimethyl bicyclo [4.1.0]hept- 4-enyl) ethanone (2- Acetylcarene)	3-Carene, 2-acetyl-		0,15	18,742
13	α -Terpinenyl acetat	3-Cyclohexene -1-methanol, α,α , 4-trimethyl- , acetate		6,74	19,994

14	β -Caryophyllene	Caryophyllene		1,18	21,053
15	Thyme camphor	Thymol		14,12	22,549
16	Carvacrol	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-		48,15	23,046
17	(E)-Methyl isoeugenol	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-		5,65	24,389
18	β -Bisabolene	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-		0,72	24,564

19	δ -Cadinene	Naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-		0,41	25,151
20	β -Sesquiphellandrene	Cyclohexene, 3-(1, 5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene-, [S-(R*, S*)]-		0,36	25,770
21	β -Terpinene	Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-		1,21	32,147
22	Elemicine	Benzene, 1, 2, 3-trimethoxy-5-(2-propenyl)-		0,35	32,715
23	δ -Cadinol	1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1, -dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1 α ,4 β ,4a β ,8a β)]-		0,77	34,745

24	Carotol	Carotol		0,55	36,248
25	n-Hexadecanoic acid methyl ester	Hexadecanoic acid, methyl ester		0,36	40,676
26	Methyl 8-octadecenoate	8-Octadecenoic acid, methyl ester		0,78	44,358

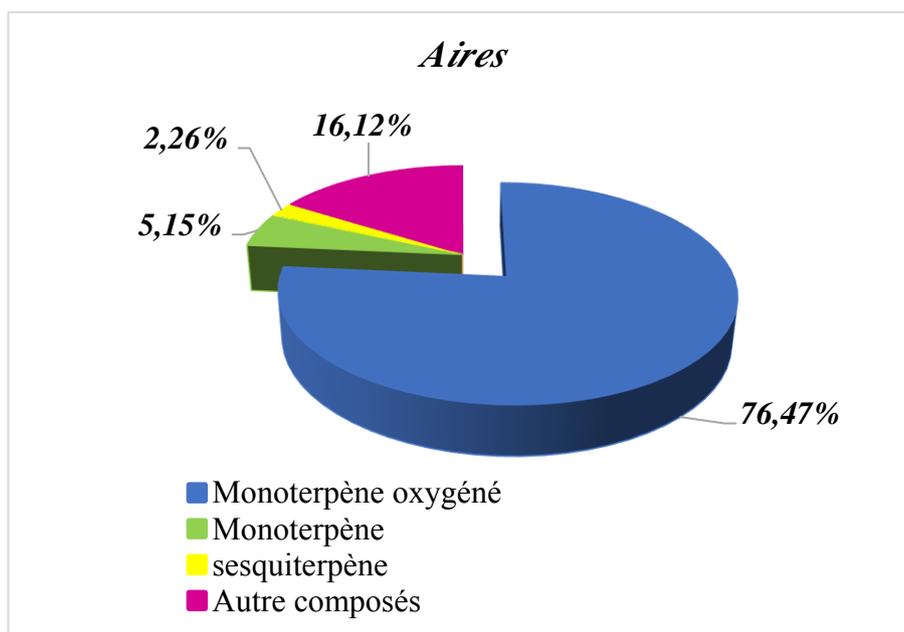


Figure (32) : Familles des composés identifiés de l'espèce *laurus nobilis*

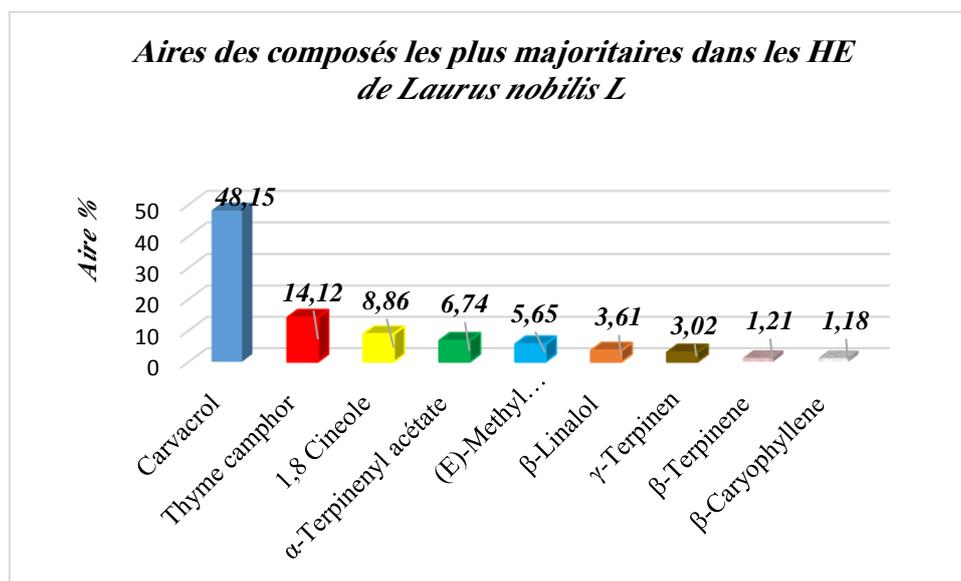


Figure (33) : Représentation graphique des composés les plus majoritaires des HEs de l'espèce *Laurus nobilis* L.

L'analyse par CG-MS des huiles essentielles de l'espèce *laurus nobilis* obtenues par hydrodistillation de la matière végétale sèche, a permis d'identifier 26 constituants représentant (76,47%) des monoterpènes oxygénés, (5,15%) des monoterpènes, (2,26%) des sesquiterpènes et (16,12%) d'autres composés. Dont les composés les plus majoritaires sont : **Carvacrol** (48,15%) est rapporté comme étant le principal composant de l'huile essentielle. Par ailleurs, cet échantillon ressort une teneur considérable en **Thyme camphor** (14,12%), et en **1,8 Cineole** (8,86%), **α -Terpinenyl acétate** (6,74%), **(E)-Methyl isoeugenol** (5,65%), accompagnés d'autres composés à des teneurs relativement faible comme : **β -Linalol** (3,61%), **γ -Terpinen**(3,02), **β -Terpinene** (1,21%), et le **β -Caryophyllene** (1,18%).

D'après les résultats obtenus, on conclut que le principe actif des huiles essentielles de l'espèce *Laurus nobilis* L soit le **Carvacrol** à un pic très intense (aire = 48,15%).

La composition chimique des HEs est influencée par des facteurs géographiques, bioclimatiques ainsi qu'aux conditions de récolte et de stockage de la plante.

Référence Bibliographique

- [1].Dharaneedharan, S., Harikrishanan, R., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2013). In vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rubus coreanus Ethanolic Extract, a Potent Biotherapeutic Component for Aquaculture. *Isr J Aquac Bamidgeh*, 9.
- [2].Ouibrahim, A., Kaki, Y. T. A., Bennadja, S., Mansouri, R., Kaki, S. A., Khbizi, S., & Djebar, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de Laurus nobilis L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian journal of natural products*, 3(3), 209-216.
- [3].Özcan, M., & Chalchat, J. C. (2005). Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (Laurus nobilis L.) leaves growing wild in Turkey. *Journal of Medicinal food*, 8(3), 408-411.

Conclusión Générale

Conclusion générale

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

Ce travail a été consacré à étudier les différents aspects de *Laurus nobilis* : l'extraction et la quantification des composés phénoliques et des huiles essentielles, en utilisant les techniques universelles appropriées après avoir effectué des analyses chromatographiques analytiques de ces composés (polyphénols, flavonoïdes, ... etc.) contenus dans cette plante afin d'évaluer quelques propriétés biologiques (activité antioxydante) des différents extraits de la plante.

L'extraction de la partie aérienne (feuilles et fleurs) de *Laurus nobilis* a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés, Le bon rendement est enregistré chez l'extrait n-butanol avec un pourcentage de **0,85%**.

L'analyse qualitative effectuée par la chromatographie sur couche mince CCM nous a permis d'avoir un aperçu sur la composition phénolique de notre plante. Ce qui indique que nos extraits sont riches en composés phénoliques tel que l'acide gallique.

Les tests réalisés sur ces différentes phases nous ont orientés vers la phase Acétate d'éthyle. Cette dernière a subi une séparation sur colonne chromatographique du gel de silice, permettant ainsi l'obtention de 9 fractions.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que le *Laurus nobilis* L est riche en polyphénols. Les teneurs de ces derniers sont comprises entre 108,83 (n- butanol) -60,47 (acétate d'éthyle) et 37,81 (mg EAG/g d'extrait sec) pour l'extrait de chloroforme. L'analyse quantitative des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a révélé que la plante *Laurus nobilis* contient une quantité moyennement importante de flavonoïdes avec des teneurs de 104,48 n-Butanol, d'acétate d'éthyle 19,80 et à 23,19 chloroforme (mg EQ/g d'extrait sec).

L'activité antioxydante de différents extraits de la plante étudiée est évaluée par la méthode suivante : DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les extraits sont doués d'un pouvoir antioxydant très important avec une IC_{50} de **1,097 mg/ml** dans l'extrait n-Butanol, IC_{50} de **1,235mg/ml** pour extrait méthanolique, et l'extrait chloroforme **1,336 mg/ml**, tandis que le plus faible est celui d'acétate d'éthyle avec une IC_{50} de **2,248 mg/ml**.

Conclusion générale

Les résultats de l'analyse par CPG-SM de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L ont permis d'identifier environ 26 constituants. Le composé majoritaires est **Carvacrol** (48,15%) est rapporté comme étant le principal composant de l'huile essentielle. Par ailleurs, cet échantillon ressort une teneur considérable en **Thyme camphor** (14,12%), et en **1,8 Cineole** (8,86%), **α -Terpinenyl acétate** (6,74%), **(E)-Methyl isoeugenol** (5,65%), accompagnés d'autres composés à des teneurs relativement faible comme : **β -Linalol** (3,61%), **γ -Terpinen**(3,02), **β -Caryophyllene** (1,18%), et le **Terpinen-4-ol** (0,96).

Globalement, la plante sélectionnée dans ce travail contient probablement des molécules très intéressantes qui peuvent être considérés comme des agents antioxydants de première classe et peuvent été employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies.

Résumé

On a fait cette étude dans le but de l'obtention et l'identification des métabolites secondaires, ainsi que l'extraction des huiles essentielles à partir de l'espèce : «*Laurus nobilis L*» appartenant à la famille des lauracées.

L'utilisation de différentes méthodes de séparation (couche mince, colonne) a permis de récupérer à partir de phase Acétate d'éthyle (09) fractions dont certaines sont des mélanges séparables.

Les extraits sont été obtenus par macération en utilisant le méthanol et/ou l'eau distillée comme solvants. La teneur en composés phénolique a été déterminée en utilisant le réactif de Folin- Ciocalteu, les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode au chlorure d'aluminium (AlCl₃). Ainsi que leurs potentiel anti radicalaire a été déterminée par la méthode de DPPH, le n-BuOH a révélé une bonne activité antioxydante avec IC50 égale à 1,097mg/ ml. Grâce à sa richesse en polyphénols.

L'analyse par GC-MS de l'huile essentielle de cette espèce a permis d'identifier 26 composés ce qui montrent une composition riche en produits, appartenant majoritairement à la classe des monoterpènes, dont le Carvacrol (48,15%) est rapporté comme étant le principal composant de l'huile essentielle suivi Thyme camphor (14,12%).

Mots clés : *Laurus nobilis L*, Métabolites secondaires, Huiles essentielle, activité antioxydante, Etude phytochimique, CG/MS, Monoterpènes.

Summary

This study was carried out for the purpose of obtaining and identifying secondary metabolites, as well as extracting essential oils from the species : "*Laurus nobilis L*" belonging to the lauraceae family.

The use of different separation methods (thin layer, column) made it possible to recover fractions from the ethyl acetate (09) phase, some of which are separable mixtures.

The extracts are obtained by maceration using methanol and / or distilled water as solvents. The content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu reagent ; the flavonoids were evaluated using the aluminum chloride (AlCl₃) method. As well as their anti-radical potential was determined by the DPPH method, n-BuOH revealed good antioxidant activity with IC50 equal to 1.097 mg / ml. Thanks to its richness in polyphenols.

The GC-MS analysis of the essential oil of this species made it possible to identify 26 compounds, which show a composition rich in products, belonging mainly to the class of monoterpenes, of which Carvacrol (48.15%) is reported. as being the main component of essential oil followed by Thyme camphor (14.12%).

Keywords : *Laurus nobilis L*, Secondary metabolites, Essential oils, Antioxydant activity, Phytochemical study, CG/MS, Monoterpenes.

المخلص

أجريت هذه الدراسة بغرض الحصول على المستقلبات الثانوية والتعرف عليها وكذلك استخراج الزيوت الأساسية من فصيلة "Laurus nobilis" التي تنتمي إلى عائلة Lauraceae. وذلك باستخدام طرق فصل مختلفة (طبقة رقيقة، عمود) مما سمح بالحصول على (09) عينات من مستخلص أسيتات الإيثيل، وبعضها عبارة عن خليط قابلة للفصل.

يتم الحصول على المستخلصات بالتعطين باستخدام الميثانول و / أو الماء المقطر كمذيبات. تم تحديد محتوى المركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، وتم تقييم مركبات الفلافونويد باستخدام طريقة كلوريد الألومنيوم AlCl₃. بالإضافة إلى إمكاناتهم المضادة للجذور التي تم تحديدها بواسطة طريقة DPPH، أظهر n-BuOH نشاطا جيدا مضادا للأكسدة مع IC50 يساوي 1.097 مجم / مل. بفضل غناه بالبوليفينول.

أتاح تحليل CG/MS للزيت العطري لهذا النوع تحديد 26 مركبا تظهر تركيبة غنية بالمنتجات، تنتمي بشكل أساسي الى فئة monoterpenes، والتي تم الإبلاغ عن (48,15%) Carvacrol على انه المكون الرئيسي يليه الكافور الزعتر (14,12%).

الكلمات المفتاحية

Laurus nobilis, الزيوت الأساسية, المستقلبات الثانوية, نشاط مضاد للأكسدة, دراسة الكيمياء النباتية, CG/MS, Monotérpenes.