

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE



N° :.....

DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : BIOLOGIE
OPTION : BIODIVERSIT ET
PHYSIOLOGIE VEGETALE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par:

Tahari soraya

Tahmi khalissa

Intitulé

**Contribution à la connaissance du métabolisme
secondaire et l'activité biologique de la plante**

Laurus nobilis L.

Soutenu devant le jury composé de:

BISKRI Mohammed	MAA	Université de M'Sila	Président.
BELKASSAM Abdelouahab	MCB	Université de M'Sila	Rapporteur.
HADJI Abasse	MAA	Université de M'Sila	Examineur.

Année universitaire : 2018 /2019

REMERCIEMENTS

En premier lieu et avant tout on tient à remercier DIEU le tout puissant qui nous donnée le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

*Les plus vifs remerciements s'adressent d'abord à notre directeur de mémoire, le Professeur **Belkassam abedelouahab** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qui nous permet de réaliser ce travail.*

*Nous tenons tout particulièrement à remercier vivement Monsieur **Biskri Mohamed** d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à Monsieur **Hadji abasse**, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant d'examiner notre travail*

*De même nous remercie infiniment Mr **Seghiri Kamel** (chef des laboratoires De BPV) aussi tous les ingénieurs, de nous avoir ouvert les portes du laboratoire Avec ses qualités humaines et sont expériences*

Nous souhaitons démontrer nos plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de cette mémoire.

Soraya et Khalissa

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes chers parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices
durant toutes mes années d'étude.*

Mes sœurs: Aicha, Ghania, Pherifa, Sabrina, Fatima.

Mes frères: Atheman, El Saïd.

A mes chères neveux: Mohamed ELAmine, Farouk, Aissam, Karthar,

Kais, Bendesse, Nihal, Amjad, Ahmad yassine

et Toutes ma familles.

À mon très cher Marié faras toujours ne cesse pas mon soutenir pour terminer mon travail.

*A toi Soraya ma chère binôme, merci pour tous les moments qu'on a passé ensemble,
ainsi qu'à tout sa famille.*

Zhalissa



Dédicace

S'adresse, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à la lumière de mes yeux ; mes parents qui m'ont soutenu en toutes circonstances au cours de toutes mes années d'études

A mes très chers frères : Houari, Salim et Mesaoud.

A mes très chères sœurs : Zahira, Nadjet, Hacima, Samira, merzaka et basma.

A mes chères et adorables nièces : Khadidja, Ikram et Mohamed

A tout ma famille

*A Mon chère binôme **khalissa** qui partagé avec moi Tous les moments d'élaboration de ce travail*

A mes très chères amis : Samia, Samira, Siham, Samra, Mesaouda, Marwa, Meriem, Zolika.

*A toutes la promotion de **BDV**«2019 »*

Soraya



Liste des figures

Figure 1 : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	5
Figure 2 : Feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L.	5
Figure 3: Fleurs de <i>Laurus nobilis</i> L.	6
Figure 4 : Fruits de <i>Laurus nobilis</i> L.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 5 : Structure d'une molécule de coumarine.....	9
Figure 6 : Structure de base d'un flavonoïde	10
Figure 7 : Structures chimiques des sous-groupes des flavonoïdes. . .	11
Figure 8 : L'Espèce bactérienne <i>Escherichia coli</i>	18
Figure 9 : Staphylococcus aureus au microscope électronique.....	19
Figure 10 : L'Espèce bactérienne <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Figure 11 : L'Espèce bactérienne <i>Bacillus subtilis</i>	20
Figure 12: Carte Géographique de la station de récolte	21
Figure 13:: La filtration	22
Figure 14 : Un rotavapeur rotatif type (BÛCHI R-210).....	22
Figure 15: Protocole d'extraction.....	23
Figure 16 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle de la fruit	24
Figure 17 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle de la feuille	24
Figure 18 : : Extraction liquide-liquide Par n-butanol du feuille	25
Figure 19 : Extraction liquide-liquide par n-butanol du fruit	25
Figure 20 : Méthode d'extraction des flavonoïdes	26
Figure 21 : Extraction des alcaloïdes de la fruit.....	27
Figure 22: Extraction des alcaloïdes de la feuille	27
Figure 23 : Protocole d'extraction des alcaliodes	28
Figure 24 : Appareil de clevenger	30
Figure 25 : Lampe Ultra-violet 254- 365nmDe solvant	32
Figure 26 : Les plaques dans le système.....	32
Figure 27 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	33
Figure 28 : l'appareil de spectrophotomètre UV mini – 1240.....	34
Figure 29 : Rendement des différents extraits de l'espèce <i>Laurus nobilis</i> L.....	36
Figure 30 : Rendement des alcaloïdes de la plante <i>Laurus nobilis</i> L.....	38
Figure 31 : Rendement en huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L.. ..	39
Figure 32 : Rendement des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.....	39
Figure 33 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de Ebrt et EacOEt du feuille et du fruit de <i>Laurus nobilis</i> L. sous lampe UV365nm	41

Figure 34 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de EnBuOH du feuille et du fruit de <i>Laurus nobilis</i> L., sous lampe UV 365nm de S1, S2.	42
Figure 35 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de alcaloïde de feuille et de fruit de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sous lampe UV365 nm S1, S2, S3	47
Figure 36 : Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'des IC_{50} différents extraits de <i>Laurus nobilis</i> L.	50
Figure 37 : L'effet des extraits de la feuille et de la fruit de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur les souches bactériennes testée.....	59

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différents système des solvants pour la CCM	31
Tableau 2 : Les souches bactérienne utilisés	34
Tableau 3: Résultats de chromatographie sur couche mince d'extrait brut de <i>Laurus nobilis</i> L.	43
Tableau 4 : résultats de chromatographie sur couche mince de l'extrait d'Acetate d'éthyle de <i>Laurus nobilis</i> L.	44
Tableau 5 : Résultats de chromatographie sur couche mince de l'extrait n-Butanol de <i>Laurus nobilis</i> L.	45
Tableau 6 : Résultats de chromatographie sur couche mince des alcaloïdes de la plante <i>Laurus nobilis</i> L.	48
Tableau 7 : diamètre de zone d'inhibition de déférents extraits de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i>	52
Tableau 8 : diamètre de zone d'inhibition de déférents extraits de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur la croissance de <i>Salmonella enterica</i>	53
Tableau 9 : diamètre de zone d'inhibition de déférents extraits de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur la croissance de <i>Bacillus Subtilis</i>	54
Tableau 10 : diamètre de zone d'inhibition de déférents extraits de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus subsp</i>	55
Tableau 11 : Diamètre de zone d'inhibition de déférents extraits de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Tableau 12 : Diamètre de zone d'inhibition de déférents extraits de la plante <i>Laurus nobilis</i> L. sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginos</i>	57

Liste des abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle.

ATCC : American type culture collection.

ATCC : American type culture collection.

BHT : Butyl-Hydroxy-Toluène.

BuOH : Butanol.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CHCl₃ : Chloroforme.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

EAcOEt.F : Extrait d'acétate d'éthyle de feuille.

EAcOEt.Fr : Extrait d'acétate d'éthyle de fruit.

E. Coli : *Escherichia coli*.

En-BuOH.F : Extrait n-butanol de feuille.

En-BuOH.Fr : Extrait n-butanol de fruit.

F : Feuille.

Fr : Fruit.

GMH : gélosé Mueller Hinton.

HEs : huile essentielle.

I (%) : Pourcentage d'inhibition.

IC50 : concentration inhibitrice médiane.

L : Laurus.

MeOH : Méthanol

Mg : Milligramme

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mm : Millimètre.

P : Poids.

Rf : Rapport frontal.

T⁺ : Antibiotique.

UV : Ultra-violet.

Table des matières

Introduction :	1
Chapitre I : Etude bibliographique	
1. Présentation de la plante	3
1.1 La famille lauraceae.....	3
1.1.1 Généralité sur la famille Lauracées	3
1.1.2 Description botanique de la famille Lauracées :.....	3
1.1.3 Intérêt économique de la famille Lauraceae.....	3
1.1.4 Le genre	4
1.1.5 L'espèce <i>Laurus nobilis</i> L	4
.2 Métabolismes secondaires	8
2.1 Généralités.....	8
2.2 Classification des métabolites.....	8
2.2.1 Les huiles essentielles	12
2.2.2 Les alcaloïdes	13
3. Activité biologique	15
3.1 L'activité antioxydant	15
3.1.1 Les antioxydants	15
3.1.2 Définition du stress oxydant	15
3.1.3 Les radicaux libres	16
3.1.4 Mode d'action des antioxydants	16
3.2 Activité antimicrobienne	16
3.2.1 Généralité	16
3.2.2 Définition des bactéries	17
3.2.3 La culture bactérienne « milieu et condition »	17
3.2.4 Les antibiotiques	17
3.2.5 Description des bactéries étudiées	17
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
1. Matériel végétal :	21
1.1 Récolte de la plante	21
1.2 Localisation de la plante	21
2. Caractérisation quantitative des extraits :	21
2.1 Principe de macération	21
2.2 Rendement de l'extrait brut.....	29
3. Extraction des huiles essentielles	29
3.1 procédé d'extraction	29

3.2	Calcul du Rendement	30
4.	Caractérisations qualitatives des extraits	31
5.	Evaluation du pouvoir antioxydant	32
6.	Evaluation de l'activité antibactérienne	34
Chapitre III : Résultats et Discussion		
1.	Evaluation des techniques d'extraction :.....	36
1.1	Rendement des extraits flavonoïde de la plante <i>Laurus nobilis</i> L.....	36
1.2	Rendement des extraits alcaloïdes de la plante <i>Laurus nobilis</i> L.....	37
1.3	Rendement en huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	38
2.	Analyse qualitative des extraits	40
2.1	Chromatographie sur couche mince CCM.....	40
2.2	Révélation (visualisation des taches)	40
2.3	Analyse sur couche mince des alcaloïdes.....	47
3.	Résultats des activités biologiques	49
3.1	Activité antioxydant.....	49
3.2	Activité antibactérienne	51
3.2.1	Activité anti bactérienne de l'huile essentielle	58
Conclusion :		60
Références bibliographiques :		61

Introduction

Introduction

L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives (**Iserin, 2001**). En effet il y a environ 500 000 plantes sur terre ; 10 000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales (**Iserin, 2001**). L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. De nos jours, la médecine traditionnelle occupe une place importante malgré les progrès de la médecine moderne (**Jacob et al., 2016**).

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation (**Schauenberg et Paris, 2006**).

La plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (**Iserin et al., 2001**). En effet, ils ont été employés pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique. Récemment, l'intégration de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles ou l'apparition des effets secondaires ont mené les chercheurs à étudier et mettre en évidence les effets thérapeutiques des plantes médicinales (**Bercisse, 2015**).

L'Algérie possède une richesse floristique considérable. En compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (**Rahmounu et Seghiri, 2016**).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes (**Boudjouref, 2011**).

Ce travail vise dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, par l'étude d'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits, et de l'huile essentielle de la plante aromatique *Laurus nobilis* L. qui appartient à la famille des Lauracées. Parmi les familles de plantes les

plus utilisées comme source mondiale d'épices, et d'extraits à qualité médicale intéressante, et en raison du bénéfice des propriétés thérapeutiques que lui attribuées la médecine traditionnelle, à savoir : les industries de l'aromatization, de la parfumerie, de la conservation, des cosmétiques et de la pharmacologie grâce à ses divers effets antimicrobiens et antioxydants.

Ce manuscrit comporte deux parties :

- Le premier partie aborde une étude bibliographique préalable réalisée sur décrit la plante étudié *Laurus nobilis*L. Les métabolites secondaires, et leurs activités biologiques ; l'activité antioxydants et antibactérienne ;
- Le deuxième partie présente les matériels et les méthodes d'extraction et l'évaluation de leurs activités antioxydants et antibactériennes, et la présentation des résultats obtenus avec leurs discussion.

Au terme de ce mémoire, nous présenterons une conclusion générale dans laquelle nous rappellerons les principaux résultats obtenus.

Chapitre I :

Etude

Bibliographique

1. Présentation de la plante

1.1 La famille Lauraceae

1.1.1 Généralité sur la famille Lauraceae

La famille de laurier, du cannellier et de l'avocatier, comprenant 30 genres qui rassemblent 2500 espèces toutes ligneuses, des régions tropicales, bien que peu présentes en Afrique. Seul *Laurus nobilis* L., est indigène en région méditerranéenne (Philippe, 2014). Ce sont des arbres ou arbustes à feuilles quasi persistantes (Federico et Victoire, 2013).

1.1.2 Description botanique de la famille Lauraceae

Arbre ou buissons, ou plante grimpante parasite (cassytha) (Judd et al., 2002), Branches parfois verticillées, jeunes rameaux anguleux (Daniel et al., 2004). Feuille alterne et spirales, rarement opposées, entière, à nervation généralement pennée, ou parfois à paire inférieure de nervures secondaire plus importante (Judd et al., 2002), inflorescence paniculée ou cymeuse, rarement fleur solitaire (Daniel et al., 2004), Fleurs hermaphrodites ou unisexués, actinomorpe, à réceptacle concave caractéristique, habituellement petites, vert pâle, blanches ou jaune, tépales généralement 6, libres ou légèrement soudés, imbriqués, étamine généralement 3-12 (Judd et al., 2002) Anthères à deux ou quatre clapets (valves). Ovaire supérieur formé d'un seul carpelle, uniloculaire ; un style ; un stigmate parfois sessile ; placentation marginale, ovule anatrope, bitégumenté (Daniel et al., 2004). Fruit une drupe ou rarement une baie 1-sperme (Judd et al., 2002). Grain avec un grand embryon, droit, à cotylédons riches en matière grasse, pas d'albumen. (Daniel et al., 2004).

1.1.3 Intérêt économique de la famille Lauraceae

Certaines espèces ont une grande importance économique : *Laurus nobilis* L., laurier, utilisé comme épice et dont la connotation mythologique et symbolique est importante (Philippe, 2014). Le Cannellier, le Camphre, le Sassafras. L'avocatier fournit un fruit tropical important. Certaines espèces de *Beilschmiedia*, *Ocotea*, *Litsea* et quelques autres genres fournissant du bois d'œuvre (Judd et al., 2002). *Cinnamomum verum*, dont l'écorce fournit la cannelle. Onnotera aussi dans cette famille *Sassafras albidum*, arbre d'Amérique du nord, dont l'huile essentielle contient du saffrole, cancérigène avéré, et qui peut être utilisé comme précurseur pour la production d'ecstasy (Philippe, 2014).

1.1.4 Le genre

Le genre *Laurus* est originaire des îles Canaries et du bassin méditerranéen comprend trois espèces d'arbres ou d'arbustes persistants : *Laurus nobilis*, *Laurus azorica* et *Laurus novocanariensis* (Ouibrahim, 2015). Ces végétaux sont caractérisés par des fleurs dépourvues de corolle, à calice en adhérent, plus ou moins profondément fendu en 4, 6 ou 8 segments disposés en deux séries alternes et imbriqués en préfloraison ; par des étamines ou nombre déterminé. Les fruits est une baie charnue, remplie par une graine ovale ou globuleuse, dépourvue de périsperme, à tégument souvent osseux ou coriace; l'embryon est gros, huileux, rectiligne dicotylédoné, à radicule courte, supère (S.M.Ch, 1818).

1.1.5 L'espèce *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis L. est un arbuste de la famille des lauracées. Originaire du bassin méditerranéen, on le trouve au Maroc, en France, au Portugal, en Turquie et en Serbie (Federico et Victoire, 2013). Rivières méditerranéennes. Forêt galerie méditerranéenne (Gérard, 2008). Où on le cultive comme condiment. Les feuilles sont récoltées toute l'année (Iserin, 2002).

1.1.5.1 Description botanique de l'espèce *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis L. est un arbuste ou un petit arbre de 5-20 m, aromatique toujours vert, très rameux et à rameaux dressés



Figure1 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (Beloued, 2005).

Les feuilles alternes sont persistantes, coriaces, elliptiques lancéolées, atténuées en court pétiole, pennénervées, à bord entiers et ondulés (Gérard, 2008).



Figure2 : Feuilles de *Laurus nobilis* (Guedouari, 2012).

Fleurs dioïques, blanchâtres, 4-6 en ombelles courtes, à l'aisselle de feuilles supérieures involucre 2-4, divisions obovales ovales glabres. Calice tétramère, caduc. Fleurs mâles à 8-12 étamines, à anthères s'ouvrant par des valvules. Fleurs femelles à 2-4 staminodes et à ovaire uniloculaire (Quezel et Santa, 1962).



Figure 3: Fleurs de *Laurus nobilis* L.(Guedouari, 2012).

Fruits drupacés, noir à maturité, ovoïde de 2cm de long sur 1cm de large (Beloued, 2001).



Figure4 :Fruits de *Laurus nobilis* L.(Guedouari, 2012).

1.1.5.1 Position systématique de la plante *Laurus nobilis* L. (Quezel et Santa, 1963)

RègnePlantes

Sous règne Plantesvasculaires

Embranchement Spermaphytes

Sous embranchement Angiospermes

Classe Dicotylédones

Sous classe Dialypétales

Ordre Laurales

Famille Lauracées

Genre *Laurus*

Espèce *Laurus nobilis*L.

1.1.5.2 Utilisation de la plante *Laurus nobilis*L.

Les feuilles sont très aromatiques et largement employées dans la cuisine.(Gérad, 2008).Ils sont traditionnellement utilisés par voie orale, dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que ballonnement épigastrique lenteur à la digestion, éructations, flatulence (Bruneton, 1999), les feuilles et les fruits sont stimulants, stomachiques, carminatifs et antiseptiques, rhumatismes, digestions difficiles, anti-infectieuse, expectorante,

Antispasmodique puissante, antalgique. L'écorce de laurier "brise les pierres dans les reins et soulage les affections du foie (**Iserin, 2001**). On utilisera les huiles essentielles pour arrêter des douleurs aiguës physique ou psychiques, gripes, hépatites virales, acnés et furoncles (**Gérard, 2008**). L'huile de laurier s'emploie en liquoristerie, en parfumerie dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants. En médecine vétérinaire, on l'emploie beaucoup comme parasiticide (**Paul, 1999**).

1.1.5.3 Composition chimique de la plante *Laurus nobilis* L.

Le laurier commun est un arbre dioïque, ses feuilles sont alternes, coriaces. Par hydrodistillation elles fournissent environ 10-20ml/kg d'une huile essentielle (**Bruneton, 1999**). Les feuilles contiennent du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques, et une essence aromatique incolore ou jaune pâle, à saveur chaude, constituée par un mélange de 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénol, de géraniol, de linacol, d'éthers des acides acétique isobutyrique et valérianique. Elles renferment 17 à 25% d'huile de laurier, 23% d'amidon, 2% de sucre, 0,85% de principes amers, une résine, du mucilage, de la bassorine, et 1 à 3% d'essence (**Belouede, 2011**).

2. Métabolismes secondaires

2.1 Généralités

L'ensemble des processus biochimiques permettant aux cellules de produire des métabolites et l'énergie qui sont nécessaires à leur vie, par la dégradation de matières organique complexes. Le métabolisme est soumis à une régulation équilibrée évitant toute accumulation de produits finaux ou intermédiaires (**Marouf et Raynaud, 2007**).

❖ Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules présentes dans toutes les cellules végétales et nécessaires à la vie de la plante. Les sucres simples, les acides aminés, les protéines et les acides nucléiques sont des exemples de métabolites primaires (**Raven et al., 2014**). Sont des substances produites par des micro-organismes en période de croissance active. Lorsque des micro-organismes sont mis en culture, ils entrent rapidement en phase de croissance. Pendant cette phase, des substances nécessaires à leur développement sont produites par des réactions enzymatiques (**Marouf et Joel, 2004**).

❖ Métabolites secondaires

L'ensemble des voies métaboliques produisant des composés, généralement de faible poids moléculaire, qui n'ont pas de fonction apparente et vitale pour l'organisme qui les produit mais qui ont un rôle écologique (**Marouf et Reynaud, 2007**). Il existe chez tous les végétaux, mais leur nature chimique diffère selon les taxons. On estime que chaque végétal produit au moins une certaine de ces molécules (**Mayer et al., 2008**).

2.2 Classification des métabolites :

On les classe en trois catégories principales selon leur structure :

- ❖ Les poly phénols, ou composé phénoliques
- ❖ Les terpénoides
- ❖ Les alcaloïdes (**Mayer, 2008**).

a. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemple, les tanins et la lignine (**Hopkins, 2003**).

a.1 Les tanins

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de Plante pour tanner les peaux d'animaux. On distingue deux catégories : les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines, Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Hopkins, 2003**). Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (**Isrin et al., 2001**).

a.2 Les Coumarines

Historiquement le nom de coumarine vient de « cumaru » qui est le nom dans une langue amazonienne, de l'arbre de Tonka (*Dipteryx odorata* Willd., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3 % de coumarine. Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820, ils sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-cinnamiques (**Bruneton, 1999**). Elles sont présentes en quantités plus faibles dans plusieurs plantes comme le mélilot, les sauges claires et la lavande. On la trouve aussi dans le miel, le thé vert, etc. Les coumarines sont des composés phénoliques végétaux, portant un groupement benzopyrone dans leur structure (**Alignan, 2006**).

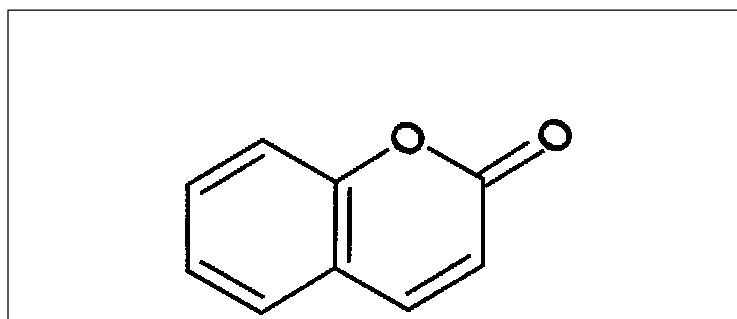


Figure 1 : Structure d'une molécule de coumarine (**Cowan, 1999**).

a.3 Les lignines

La lignine est un polymère fortement ramifiée, formé par trois alcools phénoliques simples. La lignine est localisée dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées (Hopkins, 2003).

a.4 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés. Ce sont des composés polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal, avec plus de 4000 structures décrites et dont la liste s'allonge constamment avec le développement de nouvelles techniques analytiques. Certains d'entre eux ont des propriétés (Reynaud, 2007). Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existant sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun d'hétérosides, portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliés par un pont carboné (Heller et Forkmann, 1993).

Les flavonoïdes représentent la classe la plus répandue des composés phénoliques dans le règne végétal. La structure de base d'un flavonoïde est formée de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un cycle C (hétérocycle par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un cycle C (hétérocycle)).

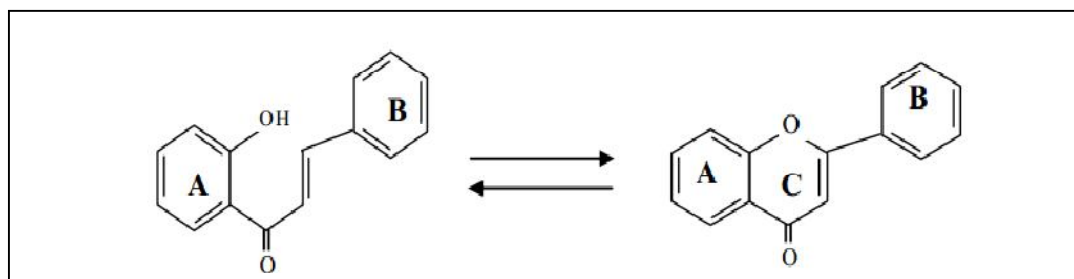


Figure 2 : Structure de base d'un flavonoïde (Missaoui, 2018).

Les principaux sous-groupes des flavonoïdes sont : les flavones, les flavonols, les anthocyanes, par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un cycle C (hétérocycle).

Les isoflavones les flavan-3-ols, et les flavanones. Il y a d'autres flavonoïdes qui se trouvent à faible concentrations dans les aliments tels que les flavane-3,4-diols, les dihydroflavonols, les coumarines, les dihydrochalcones, les chalcones, et les aures.

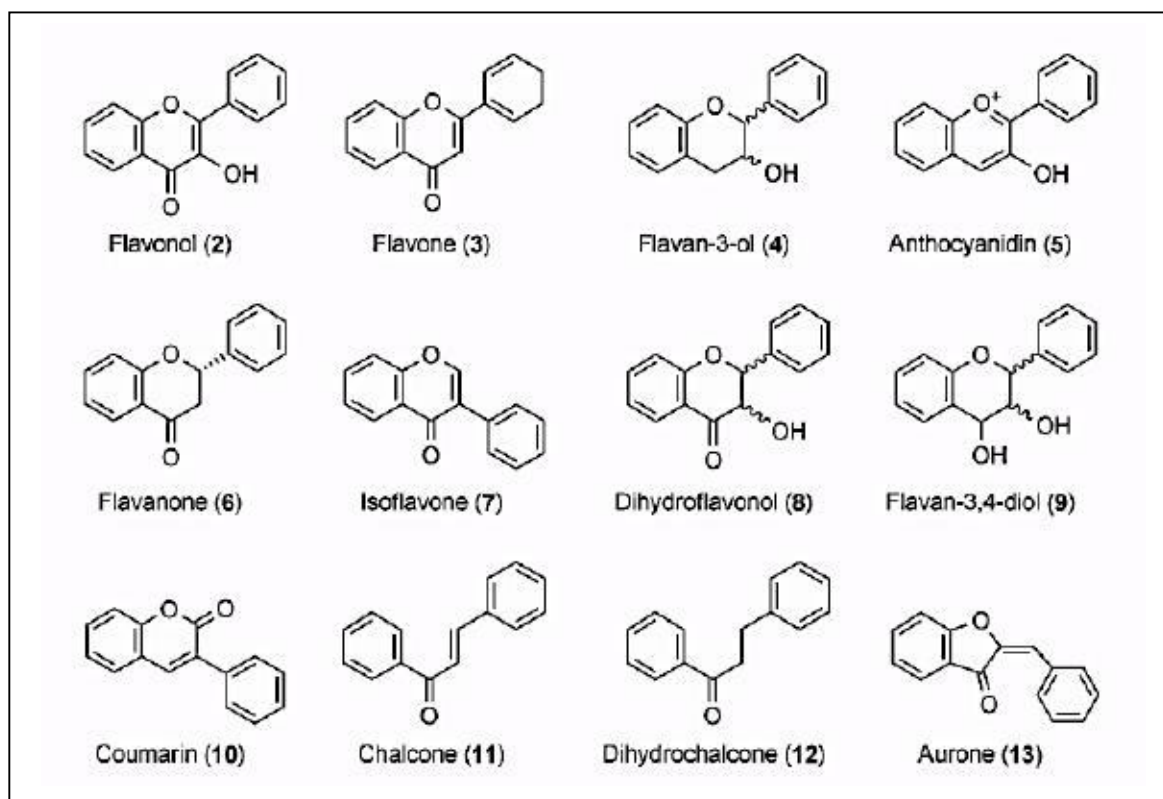


Figure 3 :Structures chimiques des sous-groupes des flavonoïdes (Missaoui, 2018).

✓ Répartition et localisation

Les flavonoïdes sont surtout abondants et diversifiés chez les plantes supérieures, présents dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux). Les deux principaux groupes de flavonoïdes, les flavones et les flavonols (le plus souvent sous forme O-hétérosides), se rencontrent dans les fleurs et les feuilles des plantes vertes. Les catéchines et les proanthocyanidines, sont plus abondants dans les tissus lignifiés que dans les autres tissus. Les anthocyanes, dont les couleurs vont du rose au bleu violacé, sont souvent responsables de la couleur des fleurs et des fruits.

Les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles, préférentiellement dans les cellules des tissus superficiels (épiderme des feuilles ou entre l'épiderme et le mésophylle). Chez les fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermiques. Cette localisation superficielle leur permet de jouer un rôle de protection contre les rayons ultraviolets, et de défense contre les pathogènes des plantes (phytoalexines). Les isoflavonoïdes jouent également un rôle dans la nodulation par les Rhizobium. Par les couleurs qu'ils confèrent aux pétales des fleurs, ils interviennent dans la production, dans l'attraction des pollinisateurs (Marouf et Reynaud, 2007).

b. Les terpenoïdes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Hopkins, 2003**).

2.2.1 Les huiles essentielles

a. Définition

Les huiles essentielles (=essences=huiles volatiles) sont : des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Bruneton, 1999**).

b. Origine et localisation des HEs

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (**Narishetty et Panchagnula, 2004**). Les essences sont synthétisées par les végétaux supérieurs, il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles dont les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae et les Lauraceae. Ces espèces sont caractérisées par la présence d'organes spécifiques responsables de la synthèse et de stockage des huiles essentielles : les poches (Myrtacées, Rutacées) ou les canaux sécréteurs, les poils sécréteurs (Lamiaceae) et les cellules sécrétrices (Zingiberaceae, Lauraceae) (**Bruneton, 1993**).

c. Propriétés physiques

- Liquides à température ambiante.
- Les huiles essentielles sont volatiles
- Elles ne sont que très rarement colorées
- Solubles dans les solvants organiques usuels
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau
- Elles sont liposolubles (**Bruneton, 1999**).

d. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

2.2.2 Les alcaloïdes

a. Définition

Les alcaloïdes sont exceptionnels chez les bactéries et assez rares chez les champignons. Les ptérydophytes sont rarement alcaloïdifières la même remarques'applique aux Gymnospermes. Les alcaloïdes sont donc des composés essentiellement présents chez les Angiospermes. Certaines familles ont une tendances marquée à élaborer des alcaloïdes : c'est vraisemblablement Chez les monocotylédones (amaryllidaceae, liliaceae) que chez les Dicotylédones (Annonaceae, Apocynaceae, Fumariaceae, Lauraceae, Rutaceae, Solanaceae, etc). Certains alcaloïdes existent dans plusieurs genres appartenant à des familles différentes, parfois très éloignées taxonomiquement (caféine), le plus souvent assez proches (réticuline, yohimbine). D'autres sont caractéristiques d'un nombre limité de genres à l'intérieur d'une famille ou d'un groupe d'espèces à l'intérieur d'un genre ; certains sont étroitement spécifiques (morphine). (**Bruneton, 1999**).

b. Localisation

Chez le végétal, les alcaloïdes existent sous la forme, soluble, de sels, ou sous celle d'une combinaison avec les tanins. La microchimie permet de montrer que les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, tégument des graines etc (**Bruneton, 1999**). Chez nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, dans les fruits ou les graines (**Guignard J-L, 2000**).

c. Répartition

La répartition des alcaloïdes est variable : par exemple, tous les organes végétatifs et le péricarpe du fruit du pavot contiennent des alcaloïdes tandis que chez les colatiers et les caféiers, seules les graines en renferment (**Guignard J-L, 2000**).

d. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont des molécules variant de 100 à 900. Si la plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire (nicotine, spartéine, coniine), celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène, et c'est le cas de la quasi-totalité des structures connues, sont normalement des solides cristallisables rarement colorés. Presque toujours capables de dévier la lumière polarisée. Les bases cristallisées donnent des points de fusion nets, sans décomposition surtout au-dessous de 200 °C. Les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau solubles dans les solvants organiques apolaires ou polaires (Bruneton, 1999).

e. Classification des alcaloïdes

Les alcaloïdes vrais : leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative, ils sont issus du seul règne végétal, ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.

Les pseudo-alcaloïdes : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

Les proto-alcaloïdes : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (Bruneton et al, 2002).

3. Activité biologique

3.1 L'activité antioxydant

3.1.1 Les antioxydants

a. Définition

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (**Favier, 2003**). On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule.

b. Les antioxydants endogènes

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. 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 (**Boudjouref, 2011**).

c. Les antioxydants exogènes

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels, etc. sont considérés comme des antioxydants (**Boudjouref, 2011**).

3.1.2 Définition du stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

3.1.3 Les radicaux libres

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés , cette molécule est très instable et réagie rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre **(Boudjouref, 2011)**

a. Rôles des radicaux libres

Les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme. En effet, ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à l'apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes. L'organisme en produit en continu **(Amandine, 2016)**.

3.1.4 Mode d'action des antioxydants

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories :

- Système de défense primaire : ex : la catalase (CAT), le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation. Ils agissent donc en prévention.
- Système de défense secondaire : ex : les tocophérols. Ces molécules sont dites «chainbreaking». Elles réagissent avec les ROO° et/ou les R° , bloquant ainsi les réactions de propagation **(Pastre, 2005)**.

3.2 Activité antimicrobienne

3.2.1 Généralité

Les microbes sont indispensables à la vie. Parmi leurs nombreux rôles, ils sont nécessaires au cycle géochimique et à la fertilité des sols. Ils sont utilisés pour produire des aliments ainsi que des composants pharmaceutiques et industriels. D'un autre côté, ils peuvent être la cause de nombreuses maladies végétales et animales et de contaminations alimentaires. Enfin les microbes sont largement utilisés dans les laboratoires de recherche pour étudier les processus cellulaires. **(Nicklin et al., 2000)**.

3.2.2 Définition des bactéries

Les bactéries sont des microorganismes petits et unicellulaires qui appartiennent à un groupe appelé procaryote (Nicklin et al., 2000). Dont leur chromosome unique n'est pas entouré d'une membrane nucléaire. Il y manque de nombreux organites et de structures internes que l'on trouve dans les cellules eucaryotes. Les procaryotes peuvent être divisés en deux groupes, les archaebactéries et les eubactéries (Nicklin et al., 2000). Il existe une grande variation dans la forme des cellules. Deux formes cellulaires prédominent, les cocci « sphérique » et les bacilles mais il existe d'autres formes (Nicklin et al., 2000). S'incurvent « vibrions », et il existe aussi des cellules spiralées : certaines plutôt rigides (spirilles), d'autres flexibles (spirochètes). Il y a encore ce que l'on appelle les bactéries carrées et les bactéries en formes de boîte « cellules anguleuses, de forme variée » (Paul, 2005).

3.2.3 La culture bactérienne « milieu et condition »

Chaque espèce de bactérie présente une température, une concentration en oxygène un pH et une activité hydrique optimum pour sa culture et ne survit que sous certaines conditions autour de ces données optimales (Nicklin et al., 2000). En laboratoire les bactéries sont normalement cultivées dans un milieu liquide, dans des flacons, bouteilles, ou dans un milieu solide, comme les boîtes pétri. (Nicklin et al., 2000). Le milieu de culture contient toutes les substances requises pour la croissance, le milieu utilisé peut être défini ou tous les ingrédients sont connus ou complexe contenant un mélange de nutriment non définis. L'agar est utilisé pour solidifier un milieu liquide. Des milieux sélectifs ou différentiels sont utilisés pour détecter la présence de groupes particuliers de microbes (Nicklin et al., 2000).

3.2.4 Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Boudjouref, 2011).

3.2.5 Description des bactéries étudiées

a. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à gram négatif (Patrick et al., 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur

varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies) (Boudjouref, 2011).

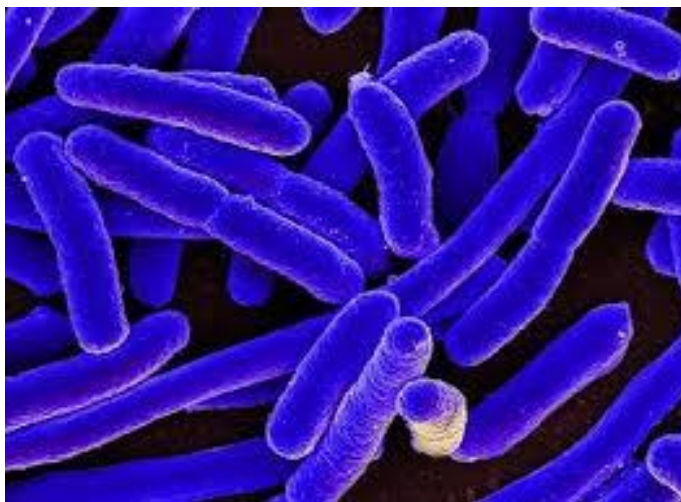


Figure 4 : L'Espèce bactérienne *Escherichia coli*

b. Staphylococcus aureus

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 μm . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, sporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré. *S. aureus* représente est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée) (Boudjouref, 2011).

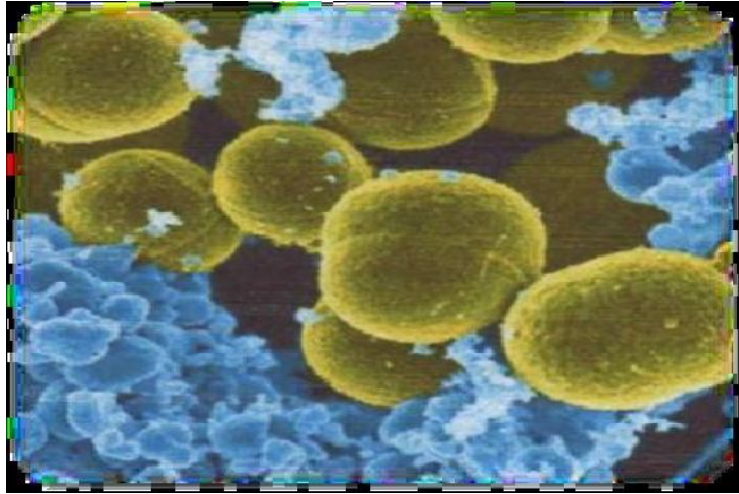


Figure 5 : *Staphylococcus aureus* au microscope électronique

c. *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ». *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéroplast. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3^{ème} rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3^{ème} rang pour les infections urinaires (Boudjouref, 2011).



Figure 6 : L'Espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*

d. Bacillus subtilis

Bacillus subtilis est une espèce de bactéries du genre *Bacillus* de la famille des Bacillaceae. C'est un bacille à Gram-positif groupé en chaînette, mobile, aérobic strict. Il se développe à des températures allant de 10 à 55°C, avec des taux de croissance plus rapide d'environ 42°C. Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais il peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer des intoxications alimentaires. Il est impliqué dans diverses infections cliniques comme la méningite, l'otite, l'infection urinaire, la pneumonie, l'endocardite, l'abcès de l'orbite (Chenni, 2016).

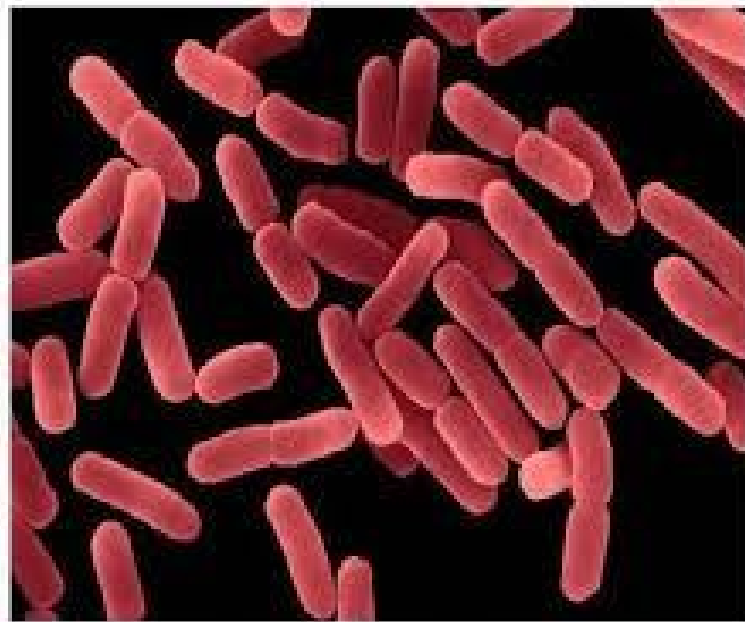


Figure 7 : L'Espèce bactérienne *Bacillus subtilis*

Chapitre II :

Matériel

Et

Méthodes

1. Matériel végétal


1.1 Récolte de la plante

Cette étude a été réalisée sur deux parties de la plante *Laurus nobilis*L. Qui ont été récoltées pendant le mois de Mars 2019 de la wilaya de Batna. Après récolte, les Feuilles et les Fruits sont séparées minutieusement du reste de la plante elles sont nettoyées puis laissées sécher à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Après séchage, les deux parties ont été broyées pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

1.2 Localisation de la plante :



Figure 8: Carte Géographique de la station de récolte

 Station de récolte de matériel végétal

2. Caractérisation quantitative des extraits

Les flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis*L. par extraction par macération dans l'éthanol aqueux.

1.3 Principe de macération

L'extraction des principes actifs est effectuée par la macération, qui est une opération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs, est une extraction qui se fait à température ambiante.

A. Extraction des flavonoïdes de la plante *Laurus nobilis* L. (feuille et fruit)

A.1 Extraction type solide/liquide « Extraction par macération dans l'éthanol aqueux »

Préparation de l'extrait

Après séchage, les feuilles et les fruits sont broyées puis nous avons pris 100g de feuilles et 50 g de fruit séparément, chaque partie est macérée dans un mélange éthanol/eau (70/30 : v/v). Cette opération est répétée trois fois successives pendant 48h avec renouvellement du solvant. Les macérats sont réunis et filtrés sur papier filtre. Le solvant est éliminé du filtrat sous vide à 40°C à l'aide d'un Rotavapor de type BUCHI R-210 avec une vitesse de rotation 3. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut des feuilles et des fruits qui est ensuite prêt à être utilisé.

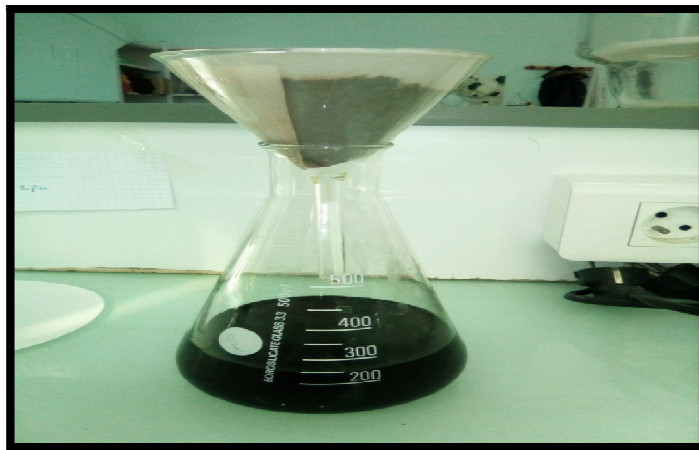


Figure 9: La filtration



Figure 10 : Un rotavapor rotatif type BÛCHI R-210 (photo original)

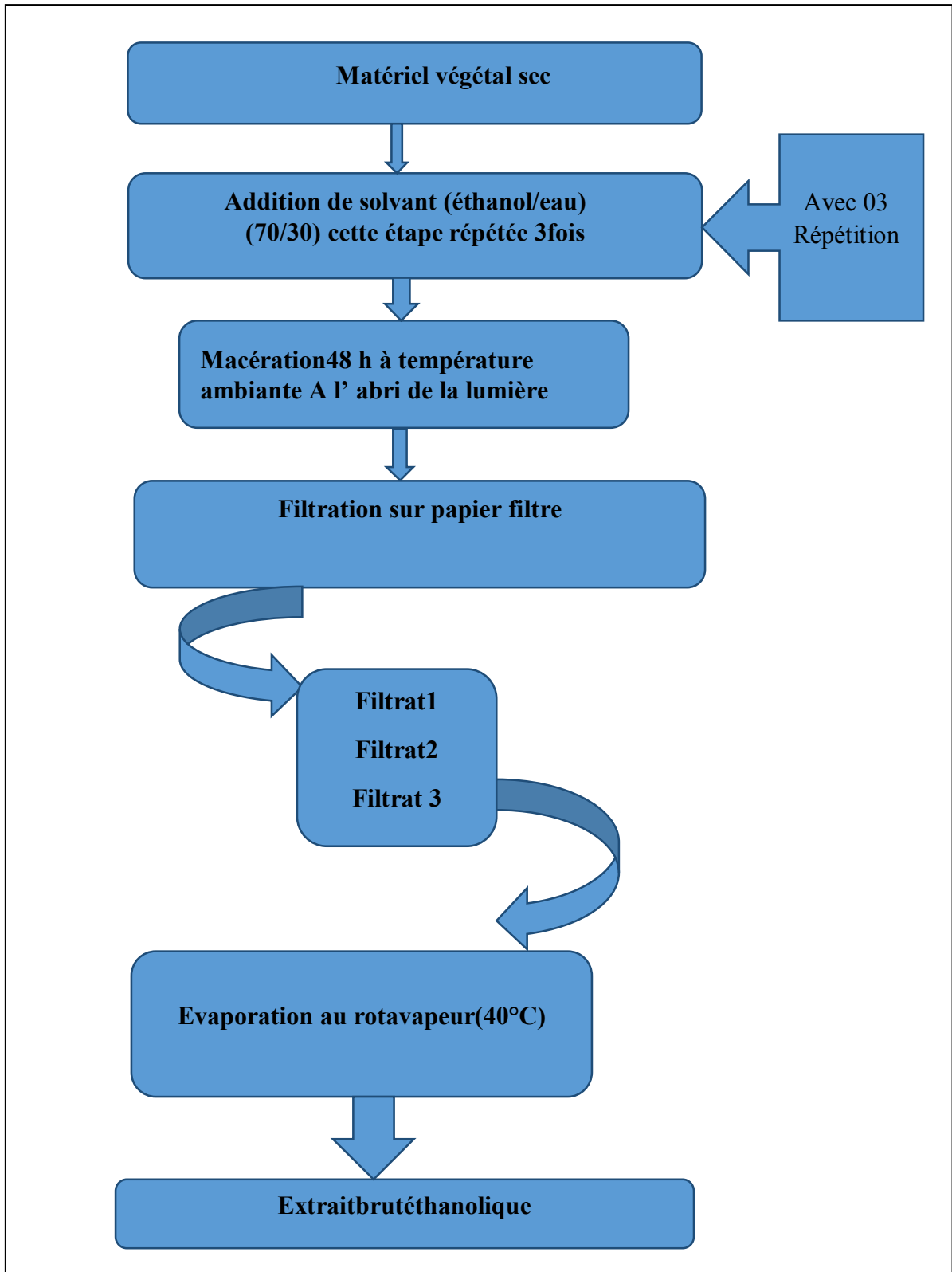


Figure 11: Protocole d'extraction (ciulel, 1983).

A. 2. Extraction type liquide / liquide

L'extrait éthanoïque sec de feuille et de fruit subi a un autre type d'extraction c'est l'extraction liquide/ liquide par l'utilisation des solvants de polarité croissante ; l'acétate d'éthyle et n-butanol qui sont spécifiques des composés phénoliques et des flavonoïdes. Premièrement les deux extraits sont mélangés séparément avec 30ml d'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanté, agiter et laisser un certain temps jusqu'à l'obtention de deux phases, une supérieure c'est la phase organique, et autre inférieure c'est la phase aqueuse, récupérer la phase organique, répéter l'opération trois fois et chaque fois faire les mêmes étapes précédentes. Puis ajouter l'autre solvant ; n-butanol avec un volume de 60ml répartie en trois fois et chaque fois séparer les deux phases avec récupération de la phase organique à chaque fois. Le résultat de cette extraction c'est l'obtention de quatre extraits organiques :

- Extrait d'acétate d'éthyle de feuille (**EAcOEt.F**) ;
- Extrait d'acétate d'éthyle de fruit (**EAcOEt.Fr**) ;
- Extrait n-butanol de feuille (**En-BuOH.F**) ;
- Extrait n-butanol de fruit (**En-BuOH.Fr**).

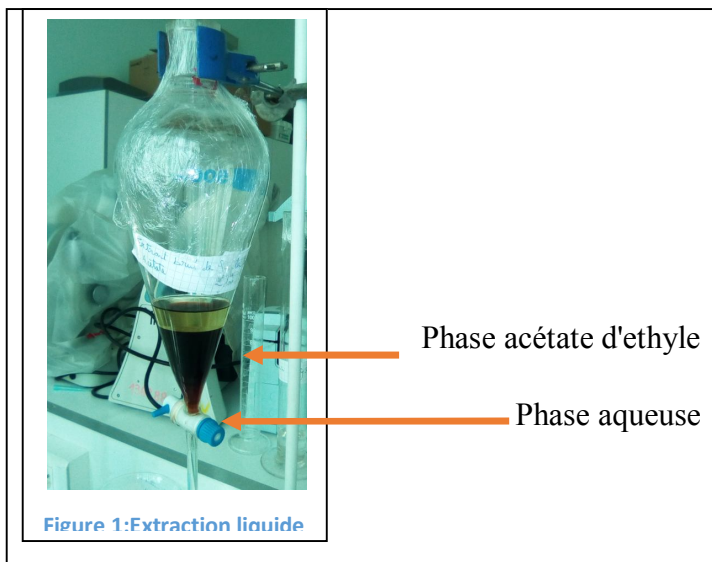


Figure 13 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle de la feuille (photo originale)

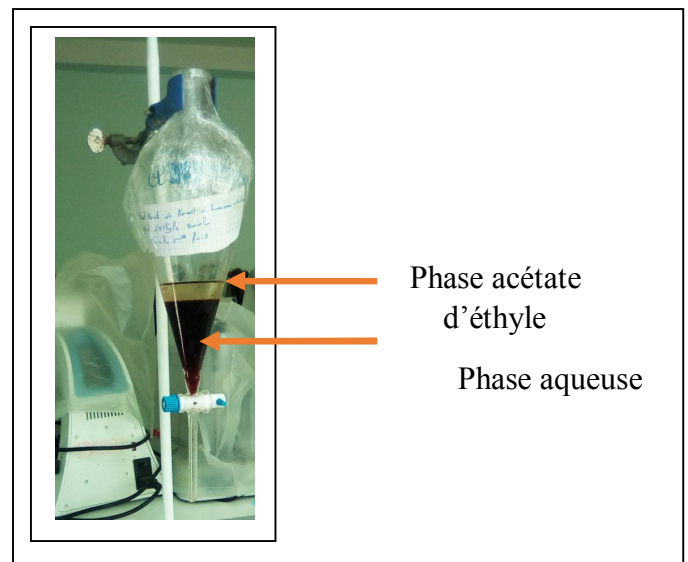


Figure 12 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle du fruit (photo originale)

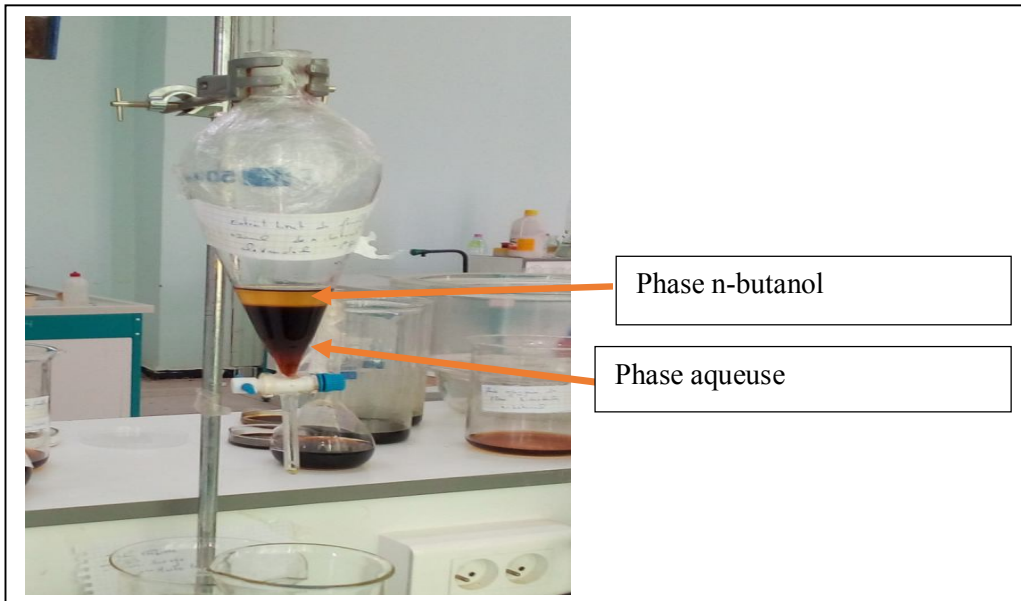


Figure 14 : Extraction liquide-liquide Par n-butanol de la feuille (photo originale)

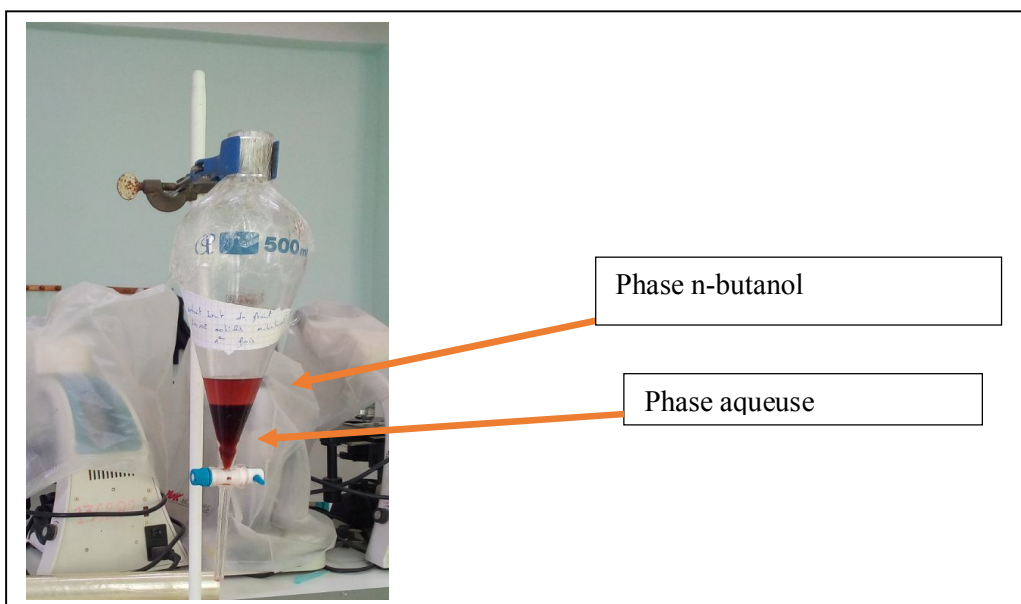


Figure 15 : Extraction liquide-liquide par n-butanol du fruit (photo originale)

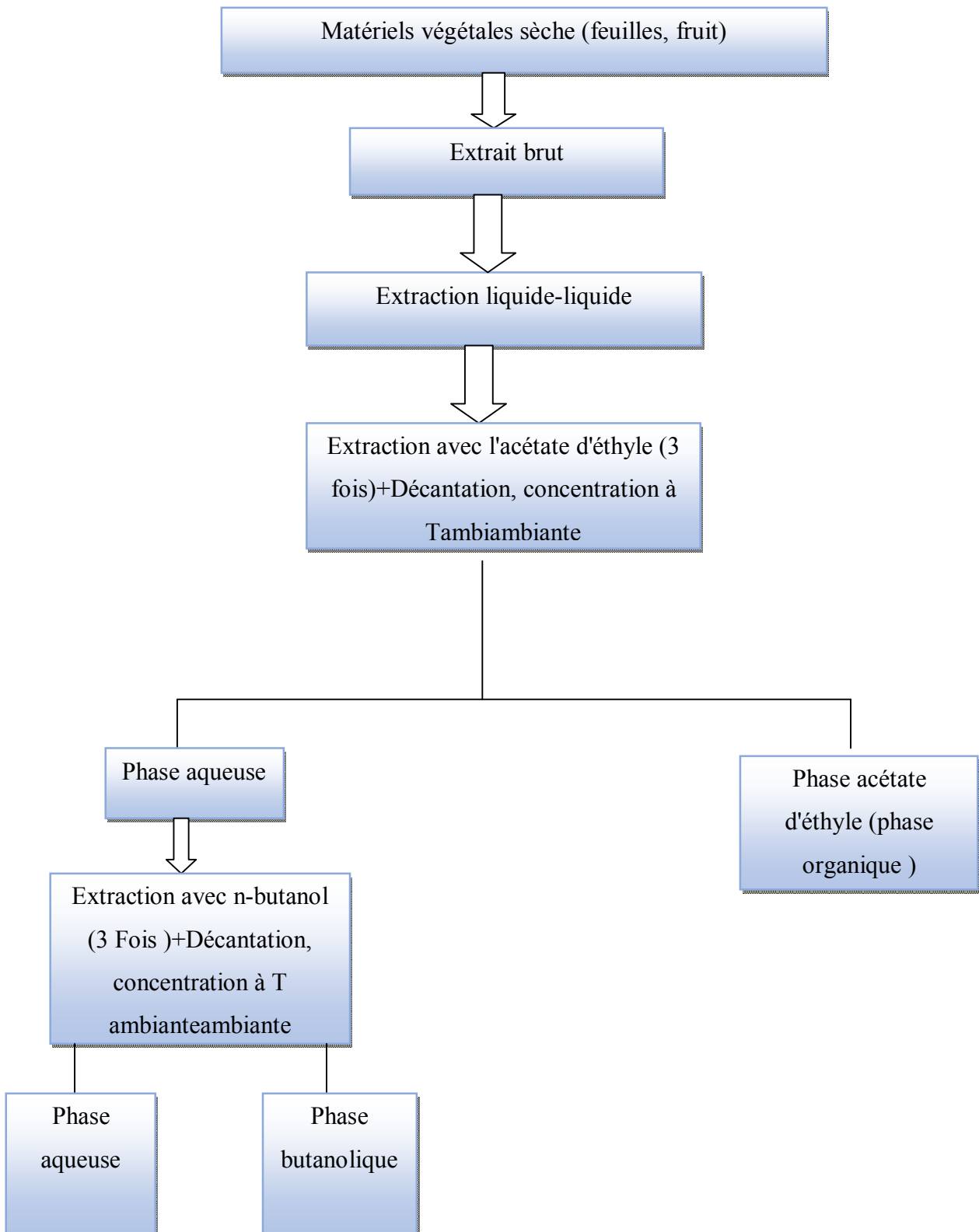


Figure 16 : Méthode d'extraction des flavonoïdes (ciulel,1983).

B. Extraction des alcaloïdes de la plante *Laurus nobilis* L. (feuille et fruit)

B 1. Extraction type solide/liquide

Après séchage et broyage du matériel végétal, prendre 60g du feuille et 50 g de fruit et ajouter le solvant éthanol /eau (80/20 : v/v) avec l'agitation, puis faire la filtration après 24h et répété cette macération trois fois avec renouvellement de solvant à chaque fois. Après collecte du filtrat il y a élimination du solvant sous vide à 40°C à l'aide d'un Rotavapeur de type BUCHI R-210 avec une vitesse de rotation 03. On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut des feuilles et des fruits qui est gardées pour des utilisations suivantes.

B 2. Extraction type liquide/ liquide

L'extrait éthanoïque sec de feuille et de fruit subi à une autre extraction ; premièrement prendre chaque extrait et ajusté leur pH en 2% par l'utilisation de solution HCl puis met chacun dans une ampoule a décanté et ajouté le solvant chloroforme 20ml et laissé jusqu'à l'apparition de deux phase de couleur différent ; puis séparé et gardé la phase organique (1) «inferieur » et récupéré l'autre phase aqueuse « supérieur » répété l'opération trois fois. Après nous avons réglé le pH de la phase aqueuse en 9% par l'ajout de quelque goutte de solution NH_4OH puis le met dans l'ampoule a décanté avec 60ml répartie en trois fois avec la séparation des deux phases et gardé la phase organique qui est NH_4OH riche en alcaloïde.

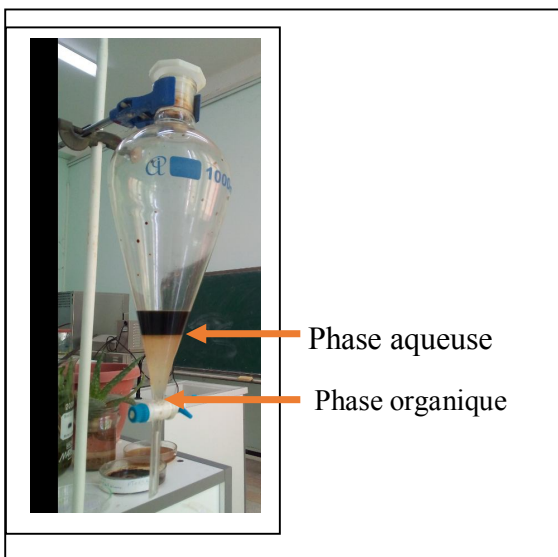


Figure 18: Extraction des alcaloïdes de la feuille
(Photo originale)

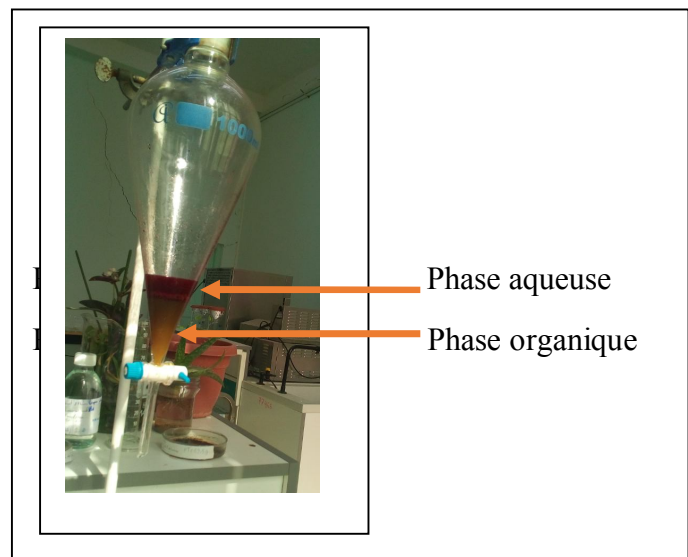


Figure 17 : Extraction des alcaloïdes du fruit (photo originale)

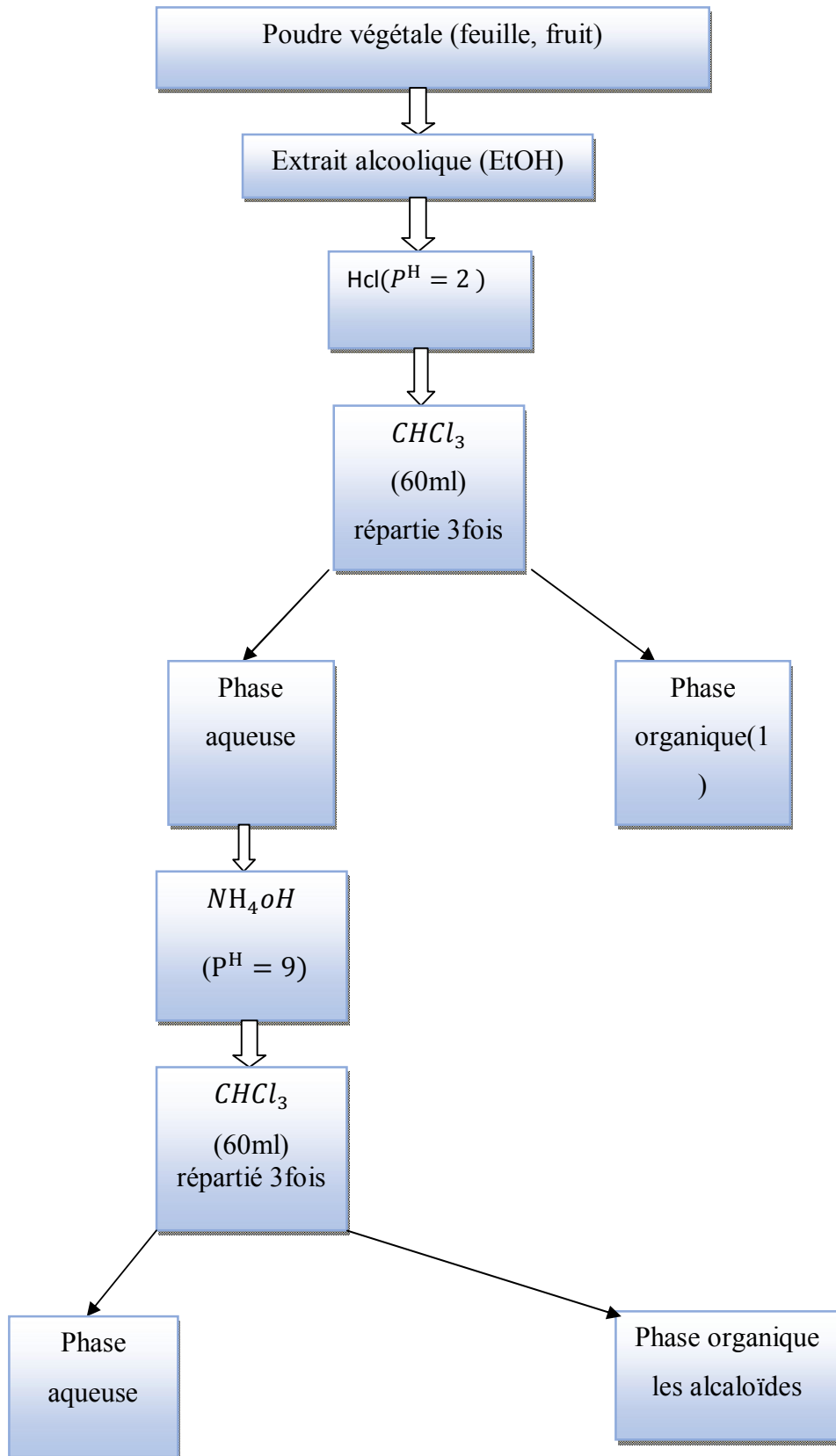


Figure 19 : Protocole d'extraction des alcaloïdes (ciulel, 1983).

1.4 Rendement de l'extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

R(%) : Rendement en % ;

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en g ;

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction en g.

2. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles de plante étudiée ont été extraites par hydro distillation grâce à un appareil du type Clevenger. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée d'huiles essentielles traverse un Serpentin ou elle se condense pour donner deux produits : l'eau florale et l'huile essentielle.

2.1 Procédé d'extraction

Après récolte, les feuilles sont séparées minutieusement du reste de la plante. Elles sont nettoyées puis laissées sécher à l'ombre. Suite à cela, 200g des feuilles séchées sont introduites dans un hydro distillateur (type Clevenger) avec 2L d'eau distillé et laissées distiller pendant 3 heures, Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité et l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. sera par la suite récupérée et stockée à 4° C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement.

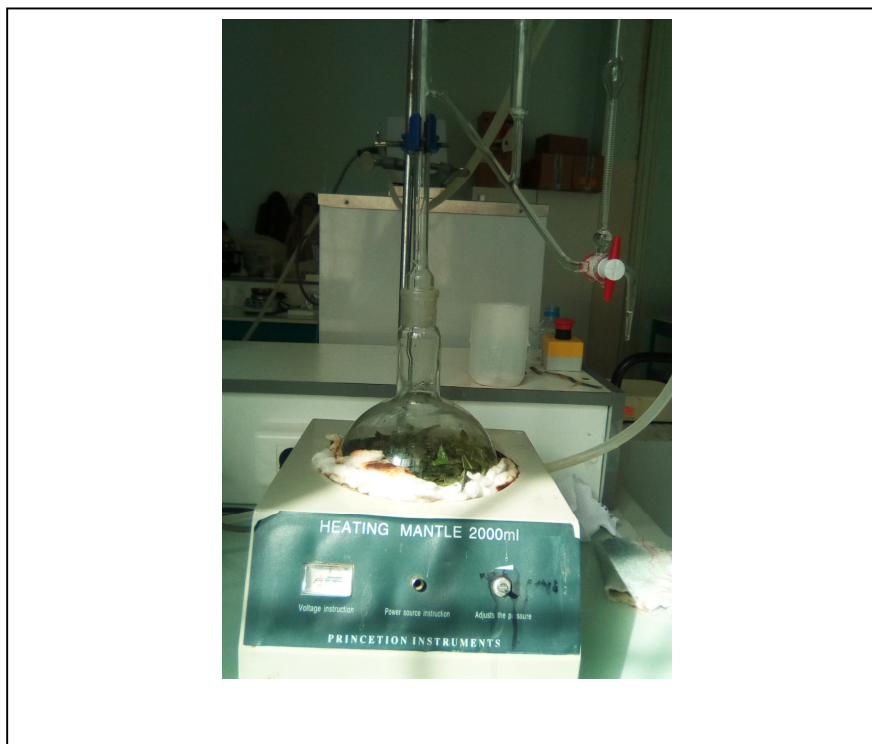


Figure 20 : Appareil de clevenger (photo originale).

2.2 Calcul du Rendement

Le rendement de l'huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le Poids de la matière sèche de la plante. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{RHE(\%) = (MHE / MS) \times 100}$$

RHE : rendement en huile essentielle de la partie aérienne du plante ;

MHE : le poids de l'huile extraite en g ;

MS : le poids de la matière végétale sèche en g.

3. Caractérisations qualitatives des extraits

Chromatographie sur couche mince

La CCM est une technique analytique simple, rapide et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption et de partage, où les molécules à séparer s'adsorbent à la surface d'un support (phase stationnaire) et seront entraînées à travers ce dernier par un éluant (phase mobile), donc la séparation est fonction des différences d'adsorption des composants de l'échantillon sur la phase stationnaire et des différences de leur solubilité dans la phase mobile (Yakhlef, 2010).

Mise on ouvre la pratique

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques CCM en gel de silice ce qui constitue la phase stationnaire.

Sur elles, on a déposé quelque goutte de chaque extrait à l'aide d'une pipette pasteur sur 1 Cm du bord inférieur, le diamètre de la tâche environ 2mm.

- Effectuer plusieurs dépôts au même point en séchant rapidement après chaque dépôt;
- les plaques sont ensuite introduites dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange des solvants, selon le type de séparation recherchée.
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme ;
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieur ;
- Sécher le chromatogramme à l'air libre ;

Dans notre cas, les systèmes des solvants utilisés sont :

Tableau 1 : Les différents systèmes des solvants pour la CCM

Les systèmes	Les solvants	Proportion
01	Chloroforme/ MeOH	(3: 1) / (1: 1) / (9: 1)
02	n-Hexane / $CHCl_3$ + /MeOH	(7: 4: 0,25) / (7 :4: 0,5)
03	CH_2cl_2 / MeO H	(4: 0,5)
04	CH_2cl_2 /Heptane	(4:1)
05	Heptane / Acétate d'éthyle	(1: 3) / (1: 4)

Une fois le développement du chromatogramme est effectué, les plaques CCM sont séchées, puis observées sous lampe UV à 254 nm et 365 nm à fin de révéler les spots issus de la séparation. Chaque substance a été identifiée par sa fluorescence sous UV, par son rapport frontal (R_f) dans un système de solvant précis et par sa couleur. Le R_f calculé par la formule suivante :

$$R_f = d/D$$

d : la distance parcourue par la molécule ;

D : distance parcourue par la phase mobile (front des solvants)



Figure 22 : Les plaques dans le système solvant (photo originale).



Figure 21: Lampe Ultra-violet 254- 365nm (photo originale)

4. Evaluation du pouvoir antioxydant

Les antioxydants présentent une grande diversité moléculaire agissant contre les processus d'oxydation de différentes manières. Ainsi, afin de mesurer l'activité antioxydant d'une molécule, on peut coupler plusieurs tests. Par exemple, on retrouve le test au radical libre DPPH.

Test DPPH

Le DPPH (2,2-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le

pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Parejo et al., 2002).

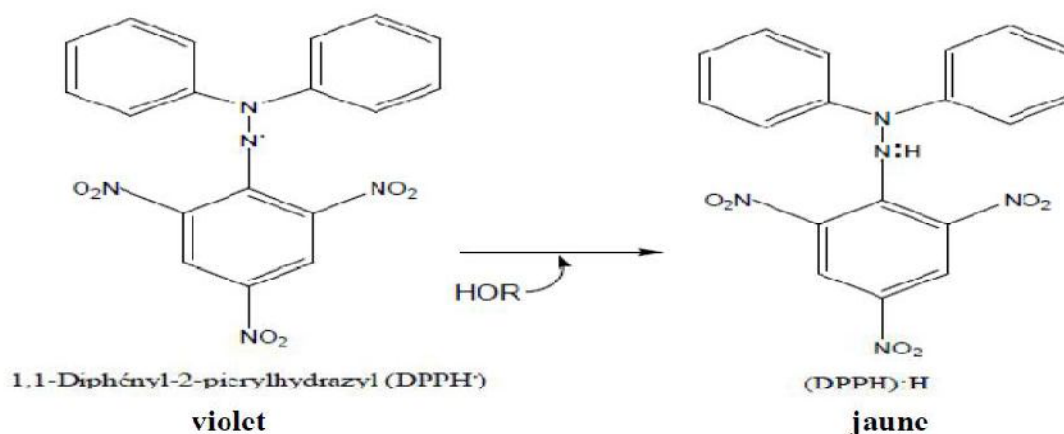


Figure 23 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Parejo et al., 2002).

Mise en œuvre pratique :

Pour tester l'activité anti radicalaire des extrait et des huiles de notre plante nous avons utilisé le teste DPPH, premièrement une solution de DPPH a été préparé par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100ml d'éthanol, l'échantillon des extraits ont été préparés par dissolution dans l'éthanol pour préparer la solution mère S1 qui est ensuite dilué pour donner une autre solution S2 qui est pour avoir les concentrations suivant: 10, 25, 50, 100µg/ml. Pour chaque concentration nous avons prend un mélange des volumes précise de l'extrait / éthanol / DPPH. Ensuite faire la mesure de l'absorbance à 517 nm à l'aide du spectrophotomètre après incubation 30 min à température ambiante et à l'obscurité. Cette lecture de ce contrôle positif est couplée par la lecture du contrôle négatif qui est préparé par le mélange de DPPH et l'éthanol, qui est aussi incubée à l'obscurité pendant 30 minutes. Ily a un autre contrôle positif qui est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT(Butyle-Hydroxy-Toluène) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Pour chaque concentration, les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures.

Expression du résultat :

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution. Celui-ci est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs CN} - \text{Abs ech} / \text{Abs CN}) \times 100$$

Abs CN : l'absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait ;

Abs ech: l'absorbance de la solution de DPPH en présence d'extrait.



Figure 24 : l'appareil de spectrophotomètre UV mini – 1240 (original).

5. Evaluation de l'activité antibactérienne

- **Préparation des dilutions des extraits et d'huile essentielle**

On prépare plusieurs dilutions à 1/2 ,1/4, 1/8, 1/16, par mélange d'extrait avec le DMSO

- **Préparation des disques**

Les disques sont préparés à partir du papier wattman, à un diamètre égal 6mm qui sont ensuite stérilisé dans un autoclave.

- **Souches bactériennes utilisées**

Les souches bactériennes utilisées pour l'activité antibactériennes sont des souches référencées un Gram positif, et des souches gram négatives.

Tableau 2 : Les souches bactériennes utilisées

Nom de souche bactérienne	Gram	Code
<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	ATTC 8739
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram négatif	ATTC 27853
<i>Salmonella enterica</i>	Gram négatif	ATTC 14028
<i>Staphylococcus aureus subsp</i>	Gram positif	ATTC 25923
<i>Bacillus Subtilis</i>	Gram positif	ATTC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	ATTC6538

- **Préparation du préculture**

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri ensuite incubée à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Préparation de la suspension bactérienne**

Dans de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne, une lecture a été réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. La *Do* obtenu doit être comprise entre 0,08 et 0,1.

- **Ensemencement**

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé Mueller Hinton en surfusion a été coulé après la solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum, cette culture ce fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène. Chaque boîte contient un type de bactérie.

- **Application des disques et incubation**

Dans chaque boîtepétrie nous avons disposé des disques autour la Boîte et l'antibiotique dans le centre puis prend 10µl de l'extrait et trompé sur le disque jusqu'à saturation, chaque disque contient un extrait déférent demême concentration. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C.

- **La lecture**

Pendant l'incubation, les germes se développe sous forme de colonies visibles autour de disque indique l'inhibition du développement bactérienne. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en millimètre, ce diamètredétermine l'efficacité de la matière active. Ce diamètre peut être exprimé par des signes selon la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les déférents extraits ;

Non sensible(-) ou résistante :diamètre inférieur à 8mm

Sensible(+) :diamètre compris entre 9 à 14mm

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15à19mm

Extrêmement sensible(+++) : diamètre supérieur à 20mm.

Chapitre III :

Résultats et Discussion

1. Evaluation des techniques d'extraction

Pour l'obtention des différents extraits de la poudre de feuilles et des fruits de la plante *Laurus nobilis*L. nous avons réalisé des extractions avec des solvants à polarité croissante :

EtOH, n-butanol, acétate d'éthyle et le chloroforme.

La détection de ces composé chimique par étude qualitative et quantitative (alcaloïde et flavonoïde totaux, CCM) et en utilisant le spectrophotomètre et UV ainsi que différentes techniques d'analyse.

1.1 Rendement des extraits flavonoïde de la plante *Laurus nobilis*L.

L'utilisation des solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de la poudre de feuilles et fruit selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction et donc permet de séparer ses flavonoïdes.

Cette extraction a permis d'obtenir ces extraits : extrait d'acétate d'éthyle de feuille (**EAcOEt.F**) ; extrait d'acétate d'éthyle de fruit (**EAcOEt.Fr**) ; extrait n-butanol de feuille (**En-BuOH.F**) ; extrait n-butanol de fruit (**En-BuOH.Fr**) ; les extraits bruts de chaque partie.

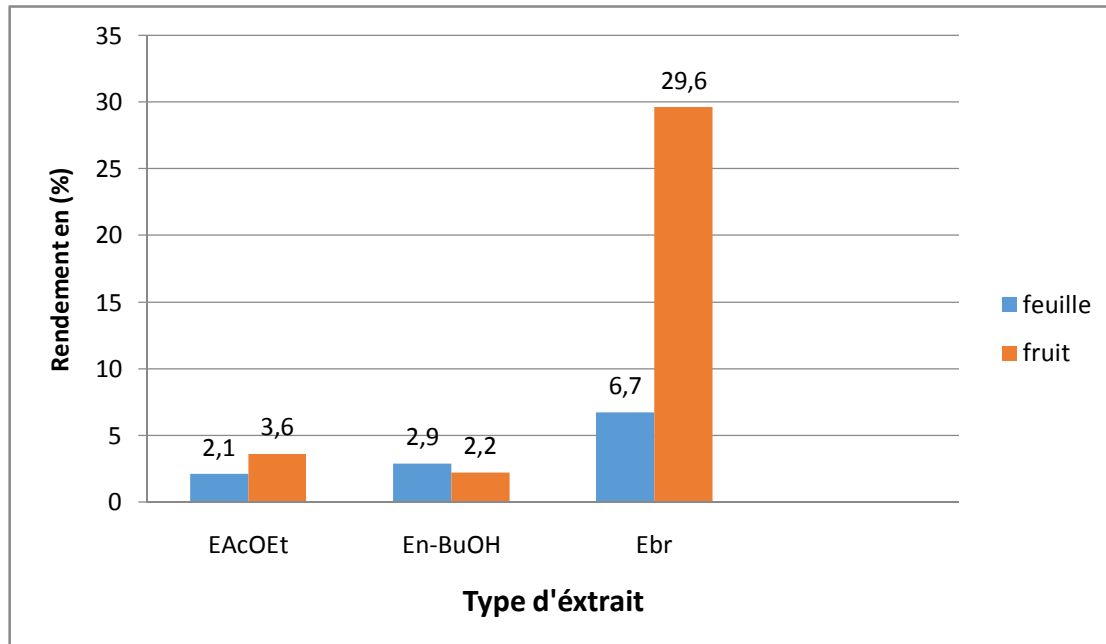


Figure 25 : Rendement des différents extraits de l'espèce *Laurus nobilis*L.

Selon les résultats obtenus, on constate que chaque extrait obtenu a une couleur et un aspect déférent.

Le calcul des rendements par rapport au poids total de la poudre végétale montrent que les deux parties ont donné des masses en extraits variables selon le type d'extrait. Du point de vue rentabilité en poids, les extraits brut donnés les proportions les plus élevées ; l'extrait brut du fruit par (29,6%) suivi par les extraits brut de la feuille par (6,7%), en seconde lieu l'extrait d'acétate d'éthyle qui représente (3,6%) dans les fruits et (2,1%) dans les feuilles, finalement il y a les extraits butanolique avec les faibles proportions (2,9%) chez les feuilles et (2,2%) chez les fruits.

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits des deux parties, feuille et fruit de la plante *Laurus nobilis*L. sont plus ou moins variables et sont plus importants de la partie fruit par rapport à la feuille. Le plus grand rendement déterminé est raisonnablement celui de l'extrait brut éthanolique.

D'après ces résultats, nous remarquons que les taux d'extraction de l'extrait éthanolique concernant les deux parties sont remarquables, ce qui nous permet de conclure la richesse des deux parties en composés phytochimiques. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par deux études. En effet, (Khorsi, 2015) a trouvé un pourcentage de 15% concernant un extrait éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis*L., de la même manière, ont obtenu un taux de 11,18% pour un extrait des feuilles de *Laurus nobilis*L. par (Abdelfettah et Lettat, 2013).

D'après les résultats obtenus, on constate que la méthode d'extraction et le type des solvants utilisés jouent un rôle très important dans les rendements des extraits.

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

1.2 Rendement des extraits alcaloïdes de la plante *Laurus nobilis*L. :

A partir de l'extraction de type liquide-liquide qui a été appliquée sur notre plante et par l'utilisation de solvant chloroforme $CHCl_3$ nous déterminons l'existence des alcaloïdes totaux quel que soit dans les feuilles ou les fruits avec une couleur caractéristique (rougeâtre) avec un rendement d'extraction suivants :

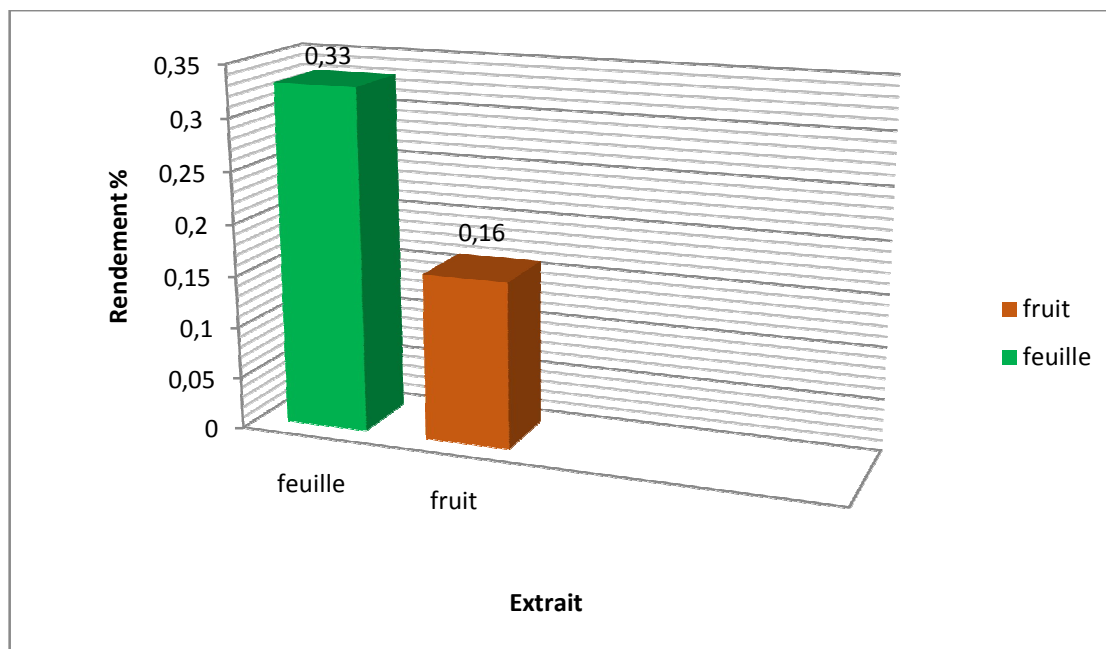


Figure 26 : Rendement des alcaloïdes de la plante *Laurus nobilis*L..

Pour les deux parties feuilles et fruits de la plante *Laurus nobilis*L., le rendement de (0,32%) est marqué chez les feuilles qui représentent une valeur supérieure par rapport au fruit qui représente (0,15%).

Les résultats obtenus confirment que les feuilles de *Laurus nobilis*L sont plus riches en alcaloïdes.

Ces résultats varient considérablement entre les différents essais, notre résultat est inférieur à celle trouvée par (**Guedouari, 2012**), les résultats sont de l'ordre (1,54%) pour les feuilles et (1,03%) pour les fruits.

Tous ces résultats montrent que, La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal. Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (**Stalikas, 2005**).

1.3 Rendement en huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

Pour l'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* 200g de feuilles séchées, puis ont subi une hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger.

Après l'extraction, les huiles essentielles ont été récupérées dans de petits flacons opaques et conservées à l'abri de la lumière, et à la température de 4°C. Le rendement fut exprimé en pourcentage.

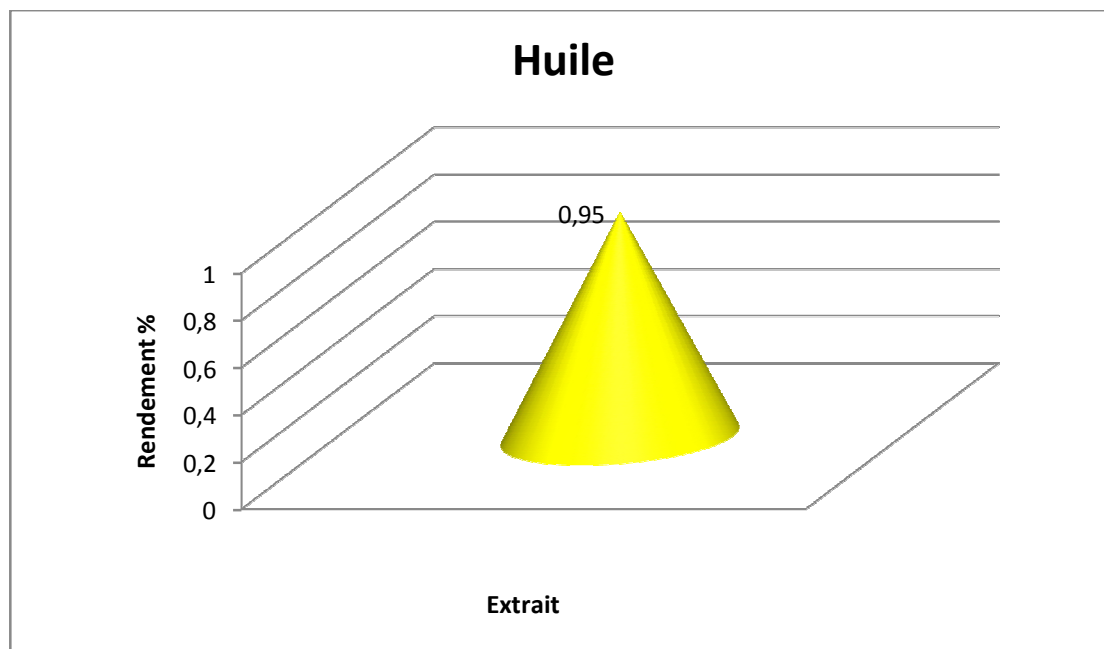


Figure 27 : Rendement en huile essentielle de *Laurus nobilis*L.

Nous avons obtenu un rendement d'extraction de l'ordre de 0,95%. Ce qui est supérieur aux pourcentages rapportés dans d'autres travaux tels que (Ouibrahim *et al.*, 2015) El Kala avec un rendement de (0,71%) qui est presque égale du rendement trouvée par (Guedouari, 2012) Alger qui est (0,79%), ces valeurs sont plus supérieur par rapport à celle décrit par (Jacob *et al.*, 2016) Bénin qui trouve (0,34%), tous ces résultats est inférieur du celle trouvée par (Derwich, 2009) au Maroc qui trouvé un rendement de (1,86%) .

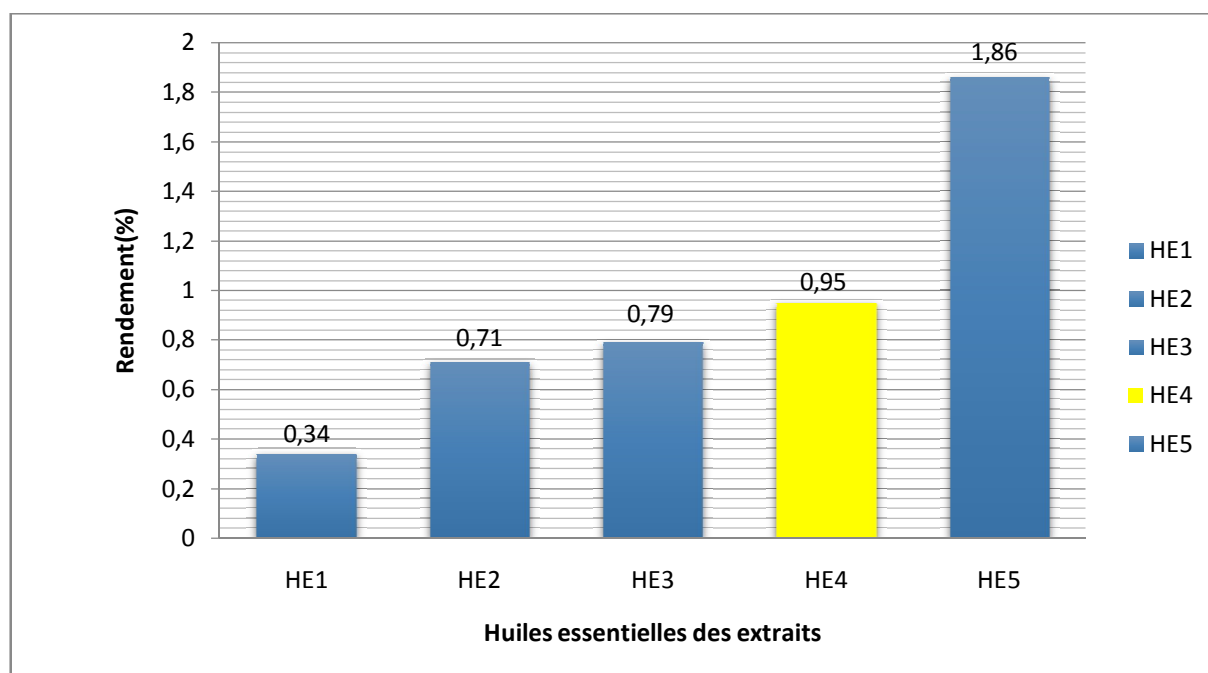


Figure 28: Rendement des huiles essentielles de *Laurus nobilis*L.

HE1 : huile essentielle extraite dans Bénin (0,34%) ;

HE2 : huile essentielle extraite dans El kala (0,71%) ;

HE3 : huile essentielle extraite en Algérie (0,79%) ;

HE4 : huile essentielle extraite dans notre étude (0,95%) ;

HE5 : huile essentielle extraite dans Maroc (1 ,86%).

Ce variable taux peut-être due aux conditions climatiques et pédologiques, taux d'humidité qui caractérise les sites de collecte du matériel végétal. Il est connu que les rendements maximaux sont obtenus par temps sec.

2. Analyse qualitative des extraits

2.1 Chromatographie sur couche mince CCM

Afin d'avoir une appréciation qualitative des composés présents dans les extraits des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis*L. des chromatographies sur couche mince (CCM) comparatives par rapport à quelques standards, ont été réalisées. L'observation des chromatogrammes à la lumière du jour, sous lampe UV à 254 nm et après révélation à la vanilline sulfurique a permis de visualiser différentes fractions (spots).

2.2 Révélation (visualisation des taches)

Dans cette étude, nous avons réalisé la séparation des extraits en utilisant Cinque systèmes solvants moyennement polaires, la visualisation sous UV à 254 nm et 365nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) colorées. Les couleurs des spots est ensuite analysée avec les calculs de leur *R_f*. Les résultats sont représentés dans les figures et les tableaux.

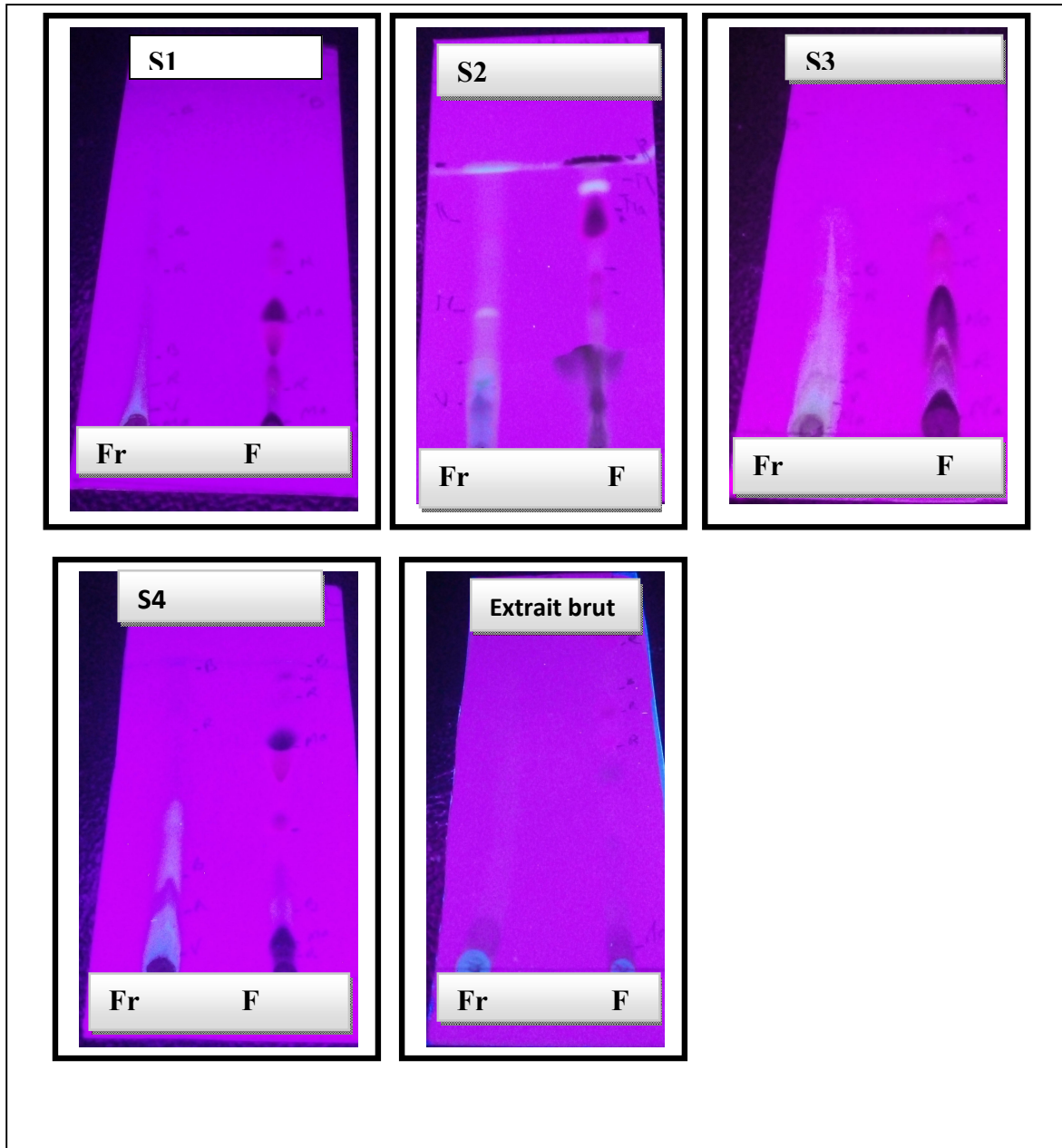


Figure 29 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de Ebrt et EacOEt du feuille et du fruit de *Laurus nobilis*L. sous lampe UV365nm

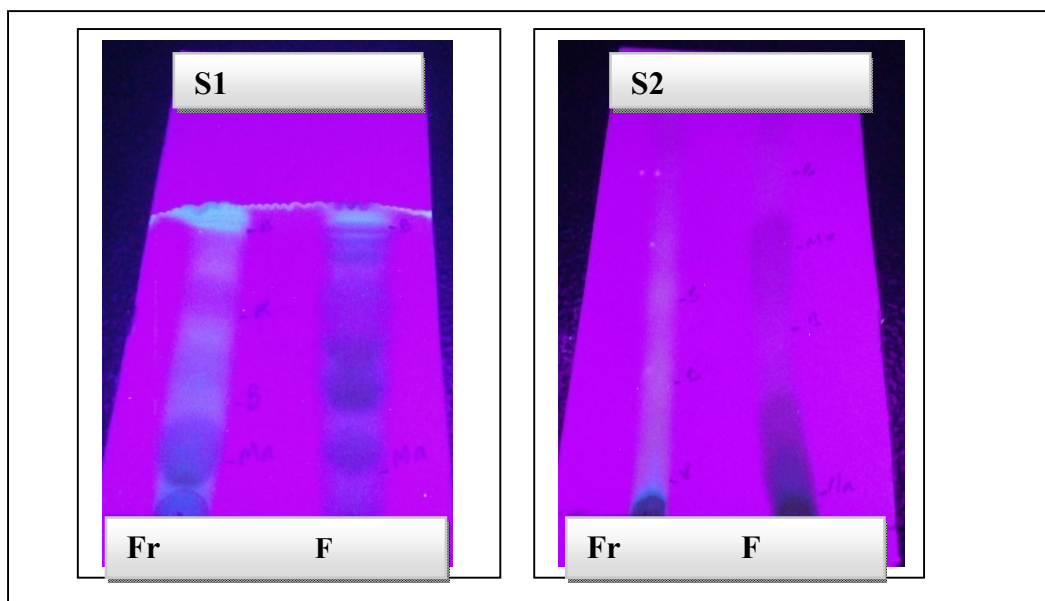


Figure 30: Révélation de plaque CCM de gel de silice de EnBuOH du feuille et du fruit de *Laurus nobilis*L., sous lampe UV 365nm de S1, S2.

La CCM permet de séparer les composants des extraits dans le but de les caractériser. Le profil chromatographique révélé par la vanilline sulfurique des extraits des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis*L. montre la présence de plusieurs taches de différentes couleurs qui correspondraient à des composés phytochimiques bien définis.

Donc les résultats de la CCM confirment la présence des composés phénolique et des flavonoïdes dans les différents extraits de la plante étudiée et renforce également ce que nous avons obtenus précédemment.

Tableau 3: Résultats de chromatographie sur couche mince de l'extrait Brut de *Laurus nobilis*

N° des systèmes de solvants	Extrait Brut					
	Partie Feuille			Partie fruit		
	N° de spot	Couleur des spots	RF (cm)	N° de spot	Couleur des spots	RF (cm)
01 Chloroforme/MeOH (3 :1)	1	Vert	0,037	1	Bleu 1	0,05
	2	Violet	0,25	2	Marron	0,26
				3	Bleu 2	0,91
02: n-Hexane/ <i>CHCl₃</i> / MeOH (7 :4 :0,5)	1	Rouge 1	0,23	1	Vert	0,024
	2	Rouge 2	0,77	2	Bleu	0,11
05 : Heptane / Acétate d'éthyle (1 :4)	1	Violet	0,042			
	2	Rouge 1	0,56			
	3	Rouge 2	0,67			
	4	Bleu	0,77			
	5	Rouge 3	0,94			

Tableau 4 : résultats de chromatographie sur couche mince de l'extrait d'Acetate d'éthyle de *Laurus nobilis*L.

N° des systèmes de solvants	Extrait Acetate d'Ethile					
	Partie Feuille			Partie fruit		
	N° de spot	Couleur des spots	RF (cm)	N° de spot	Couleur des spots	RF (cm)
02 :n-Hexane/ <i>CHCl₃</i> / MeOH (7 :4 :0,5)	1	Marron 1	0,025	1	Marron	0,012
	2	Rouge 1	0,087	2	Vert	0,037
	3	Marron 2	0,25	3	Rouge 1	0,1
	4	Rouge 2	0,37	4	Bleu 1	0,16
	5	Bleu	0,91	5	Rouge 2	0,37
				6	Bleu 2	0,47
				7	Bleu 3	0,83
03 : <i>CH₂cl₂</i> / MeOH(1: 3)	1	Marron	0,8	1	Vert	0,13
	2	Violet	0,91	2	Bleu	0,26
				3	Violet	0,45
				4	Rouge	0,76
04 : <i>CH₂cl₂</i> /Heptane(4 :1)	1	Marron 1	0,04	1	Marron	0,014
	2	Rouge 1	0,15	2	Vert	0,071
	3	Marron 2	0,27	3	Rouge 1	0,12
	4	Rouge 2	0,44	4	Bleu 1	0,18
	5	Bleu 1	0,51	5	Rouge 2	0,35
	6	Bleu 2	0,64	6	Bleu 2	0,42
	7	Bleu 3	0,78	7	Bleu 3	0,95

Tableau 5 : Résultats de chromatographie sur couche mince de l'extrait n-Butanol de *Laurus nobilis*L.

N° des systèmes de solvants	Extrait n-Butanol					
	Partie Feuille			Partie fruit		
	N° de spot	Couleur des spots	RF (cm)	N° de spot	Couleur des spots	RF (cm)
01 Chloroforme/MeOH (3 :1)	1	Marron	0,12	1	Marron	0,14
	2	Bleu	0,89	2	Bleu 1	0,87
				3	Bleu 2	0,30
				4	Rouge	0,56
02 :n-Hexane/ <i>CHCl₃</i> / MeOH (7 :4 :0,5)	1	Rouge 1	0,06	1	Rouge 1	0,09
	2	Bleu	0,13	2	Bleu	0,15
	3	Rouge 2	0,4	3	Rouge 2	0,36
				4	Rouge 3	0,58
05 : Heptane / Acétate d'éthyle (1 :4)	1	Marron	0,06	1	Vert	0,066
	2	1	0,37	2	Bleu 1	0,25
	3	Bleu 1	0,56	3	Bleu 2	0,43
	4	Marron 2 Bleu 2	0,76			

A partir les résultats obtenus nous avons remarque

Cas d'extrait brut : On observe que il y a une séparation des composé phénolique, enregistrée dans les deux partie de la plante, avec les fluorescences, et nombre du tache variée et différencié d'un système solvant à autre. Comme par exemple le système **S5** : Heptane / Acétate d'éthyle (1 :4) enregistre la meilleure séparation par un nombre du tache élevé, et coloration variée dans la partie des feuilles par rapport aux fruits, qui ne donne aucun séparation. En second lieu il y a le système **S1** : Chloroforme/MeOH (3 : 1) avec un nombre du tache remarquable qui été enregistrée dans la partie des fruits par rapport au feuille, Ce système est suivie par le système **S2** : n-Hexane/ $CHCl_3$ / MeOH (7 :4 :0,5) qui enregistre un nombre du tache réduit et coloration moins variée. On les cite respectivement :

S5 : 5 spots chez les feuilles avec les couleurs suivantes : violet, rouge, rouge, bleu, rouge.

S1 :3 spots chez les fruits avec les couleurs : bleu, marron, bleu, et dans les feuilles il y a 2 spots de coloration ; vert et violet.

S2 : dans chaque partie nous avons enregistré 2 spots avec coloration déférent, dans les feuilles il y a : rouge, rouge et dans les fruits il y a : violet et le bleu.

Donc l'extrait brut de notre plante contient des flavonoïdes qui apparaissent colorée en bleu aussi il y a des terpènes qui apparaissent en violet et vert.

Cas d'extrait acétate d'éthyle : on observe que la meilleure séparation des composé phénolique a été enregistrée dans le système **S4**avec un nombre du tache et coloration caractéristique dans les deux parties.

Après ce système, il y a le système **S2**avec une séparation supérieur et élevé surtout dans la partie fruits en comparaison au celle des feuilles et en fin il y a le système **S3**qui est moins riche en spots, on les cite respectivement :

S4 :7 spots dans la partie des feuilles avec les couleurs : marron, rouge, marron, rouge, bleu, bleu, bleu ; et 7 spots dans la partie des fruits avec les couleurs : marron, rouge, marron, rouge, bleu, bleu, bleu.

S2 :7 spots dans la partie fruit avec les couleurs suivants : marron, vert, rouge, bleu, rouge, bleu, bleu et 5 spots est enregistré dans les feuilles avec les couleurs : marron, rouge, marron, rouge, bleu.

S3 : 4 spots dans les fruits avec les couleurs suivants ; vert, bleu, violet et rouge. et 2 spots dans la partie des feuilles qui apparaissent en marron et en violet.

Cas d'extrait n-butanol : on observe que les extraits de deux partie enregistre la meilleure séparation des composé phénolique dans les déférents systèmes solvant par les fluorescences et nombre du tache supérieur, on autre cette séparation est différencié un peu entre les deux partie.

Selon (Akhanovna et al., 2012) la couleur Bleu indique la présence des Acide phénolique, flavonoïdes. la couleur marron indique la présence de Cineole, et la couleur Violet a des Terpènes et Triterpènes, et le Vert a des Terpène (Akhanovna et al., 2012; Jork et al., 1994).

D'après les tableaux, on constate que les feuilles et les fruits de *Laurus nobilis* seraient riches en composés phénolique tel que les flavonoïdes, les terpènes, triterpènes, cineole.

Une autre étude phytochimique réalisé par (Yakhlef, 2010) montre que Après révélation par le Godin, la majorité des spots apparaissent en bleu sombre, signalons la présence des spots franches de couleur violet foncé, rose et vert bleu. Tout ce nombre de spots élevé et de couleurs variés constitue une indication sur la présence de plusieurs types de substances chimiques. Selon (Bruneton, 1993), la fluorescence à 366 nm pourrait indiquer la présence des coumarines, des stérois ou des triterpènes et jaune intense au Godin pourraient être des flavonoïdes.

2.3 Analyse sur couche mince des alcaloïdes

Nous avons étudiée la chromatographie sur couche mince des alcaloïdes des feuilles et des fruits de la plante *Laurus nobilis*L on utilisant les 5 systèmes solvants précédents. Les résultats obtenus présent dans les figures et le tableau suivant :

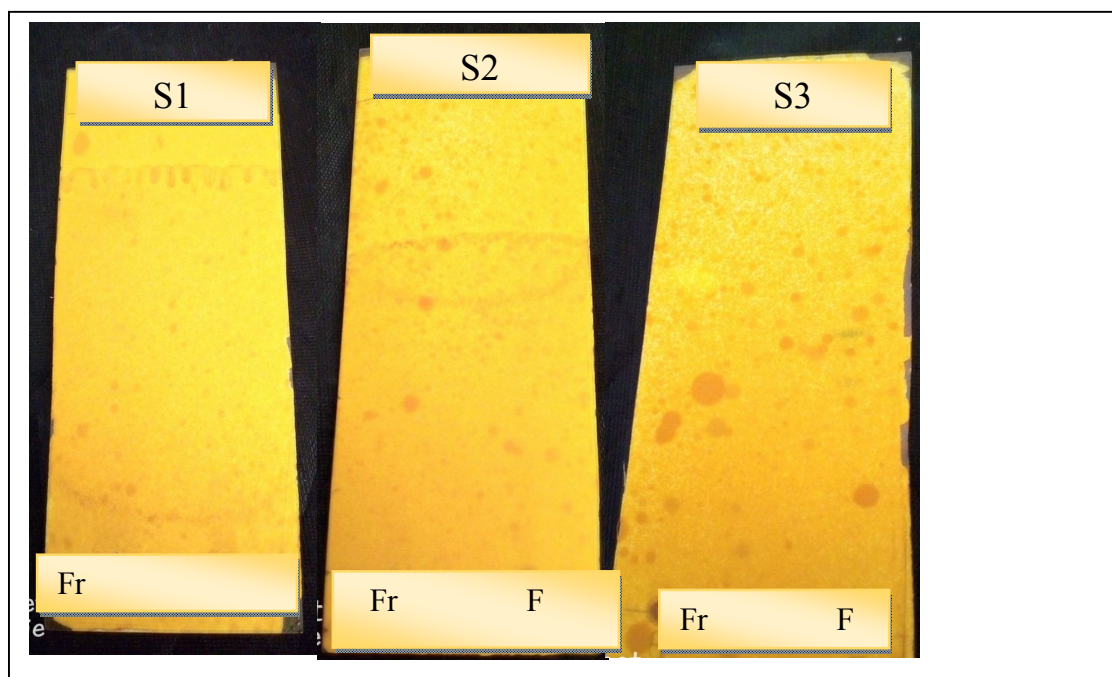


Figure 31 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de alcaloïde de feuille et de fruit de la Plante *Laurus nobilis*L sous lampe UV365 nm S1, S2, S3.

Tableau 6 : Résultats de chromatographie sur couche mince des alcaloïdes de la plante *Laurus nobilis*L.

Partie	Système 01 (Chloroforme/ MeOH)	Système 02- (Hexane / $CHCl_3$ + /MeOH)	Système 03 (Heptane / Acétate d'éthyle)
Feuille	1. Tache orange RF=0,1	/	1. Tache orange RF=0,08 2. Tache orange RF=0,26 3. Tache orange RF=0,66
Fruit	1. Tache orange RF=0,125 2. Tache orange RF=0,75 3. Tache orange RF=0,82	1. Tache orange RF=0,27	1. Tache orange RF=0,08 2. Tache orange RF=0,33 3. Tache orange RF=0,65

Ces résultats montrent que les deux parties donnent une séparation remarquable, la meilleure séparation présente dans l'extrait des fruits dans les 3 systèmes solvants par rapport aux feuilles qui donne une bonne séparation dans le système **S3**, faible dans le système **S1**, et l'absence des taches dans le système **S2**.

3. Résultats des activités biologiques

3.1 Activité antioxydant

Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Laurus nobilis*L. par la méthode DPPH :

L'activité anti-oxydante des extraits de *Laurus nobilis*L. a été évaluée en utilisant le radical libre DPPH.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivants :

Extrait n-butanolique:

Feuille : $y=0,448x + 37,36$

Fruit : $y=0,522x + 19,75$

Extrait d'acétate d'éthyle :

Feuille : $y=0,513x + 9,973$

Fruit : $y=0,058x + 29,13$

Extrait alcaloïdes :

Feuille : $y=0,133x + 9,19$

Fruit : $y=0,30x + 46,94$

L'huile essentielle : $y=0,116x + 18,36$

BHT : $y=0,377x + 2,934$

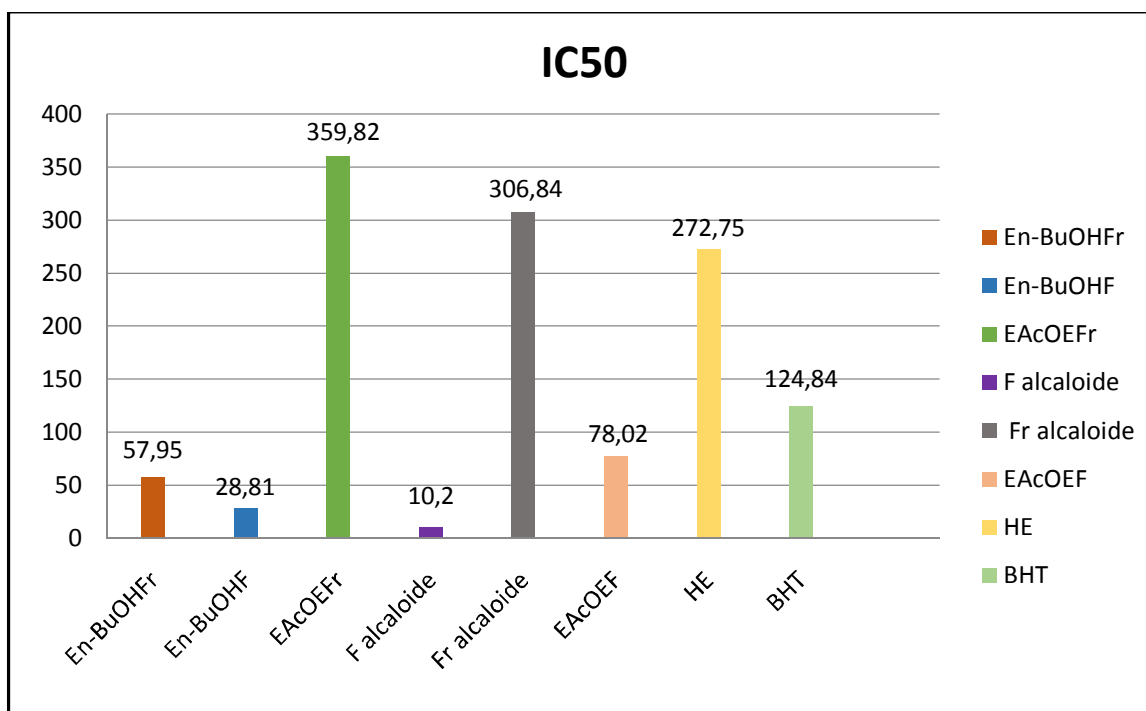


Figure 32 : Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC₅₀ déferents extraits de *Laurus nobilis* L.

L'activité antioxydant des extraits a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, la lecture faite à longueur d'onde 517nm. Le radical libre DPPH de couleur violacée ; en présence de composés anti-radicalaires, est réduit et change de couleur en virant au jaune .Par conséquent, une bande active se manifeste par une bande jaune signifiant le virage de la couleur violette du DPPH.

Les propriétés antioxydants sont mesurées et mises en évidence par la concentration efficace IC₅₀. Cela correspond à la réduction de 50% de la concentration du DPPH dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydant d'un composé est d'autant plus élevée que son IC₅₀ est petit (**Guillouty, 2016**).

Nos résultats permettent de mettre en évidence par le test du DPPH quels extraits de deux parties étudiées possèdent une activité antioxydant. On a vu précédemment qu'en présence d'un antioxydant, le radical DPPH est réduit : on observe une décoloration de la solution. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures.

L'analyse des résultats d'IC₅₀ de déferents extraits montre que ; L'extrait des alcaloïdes des feuille donne l'excellent activité antioxydant par un IC₅₀ = 10,2 µg/ml par rapport au fruit qui donne une valeur de IC₅₀ = 306,8 µg/ml qui reflètent une activité plus faible. En second lieu il y a l'extrait n-butanol des feuilles qui donne une meilleur activité par un IC₅₀ = 28,21 µg/ml avec celle des fruits qui est 57,95 µg/ml. Alors que l'extrait acétate d'éthyle des feuilles et des

fruits de *Laurus nobilis*L. donne une $IC_{50} = 78,02 \mu\text{g/ml}$, et $359,82 \mu\text{g/ml}$ respectivement, Ces résultats prouvent à une faible activité antioxydante ce résultat proche de celle de l'huile avec un $IC_{50} = 272,75 \mu\text{g/ml}$. Le BHT donne une valeur de $IC_{50} = 124,84 \mu\text{g/ml}$.

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antioxydant de certains extraits de *Laurus nobilis*L, on cite celles de (**Vardapetyan et al., 2013**) qui trouve un $IC_{50} = 25.3 \mu\text{g/ml}$ de l'extrait des feuilles qui est plus proche de nos résultats de l'extrait n-butanol. Une autre étude réalisée par (**Abdelfettah et Lettat, 2013**) pour caractérisation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et *Laurus nobilis* par Chromatographie sur couche mince montre que l' IC_{50} des extraits éthanoliques de *Laurus nobilis* est $9 \mu\text{g/ml}$ qui reflète une activité importante.

D'une autre côté (**Khorsi, 2015**) indiquent que l'extrait brut éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis*L. présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un $IC_{50} = 0,198 \mu\text{g/ml}$.

L'extrait éthanolique a enregistré une valeur d' $IC_{50} = 6.46 \mu\text{g/ml}$, suivi de l'extrait aqueux avec un $IC_{50} = 7.89 \mu\text{g/ml}$, Ce résultat s'expliquerait non seulement par la richesse de l'extrait organique en phénols totaux, mais aussi par la nature de ces composés phénoliques hydrosolubles. Ces composés sont caractérisés par la présence des groupements hydroxyles qui jouent un rôle primordial dans l'activité anti-radicalaire (**Robards, 1999**).

(**Ouibrahim et al., 2015**) ont montré que l'HE de *L.nobilis* présente une bonne efficacité de piéger le radical libre DPPH avec un IC_{50} qui est estimé à $1,55 \mu\text{g/ml}$.

3.2 Activité antibactérienne :

Dans le présent travail, nous avons proposé d'étudier l'influence des extraits et d'HE de *Laurus nobilis*L. vis-à-vis de quelques souches bactériennes, par méthode de diffusion des disques (Aromatogramme) sur un milieu GMH.

Le pouvoir antibactérien traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Tableau7 : diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de la plante *Laurus nobilis*L. sur la croissance d'*Escherichia coli*.

Souches bactérienne	Extrait	Concentration			Sensibilité	
		16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml		
		Diamètre de zone d'inhibition en mm				
<i>Escherichia coli</i>	Feuille	EAcOEF	8	8	7	+
		Alcaloïde	11	9	8	+
		Huile	13	9	/	+
	Fruit	EAcOEFr	10	11	6	+
		Alcaloïde	6	6	6	-
	<i>T</i> ⁺		27	24	22	+++

Les résultats obtenus, et qui est représentée dans le tableau et les figures montre que : les différents extraits de feuille et de fruit de *Laurus nobilis* présente différentes activités antibactériennes contre la souche bactérienne *Escherichia coli*. Dans la partie feuille l'HE présente la meilleure activité avec un diamètre de 13mm dans la concentration C=16mg/ml par rapport à l'extrait acétate d'éthyle et alcaloïdes qui ont une activité moyenne et plus proche entre eux qui sont 11mm et 8 mm respectivement dans C=16mg/ml. Dans la partie des fruits l'extrait d'acétate d'éthyle provoque une sensibilité de 11mm dans C=8mg/ml par rapport aux alcaloïdes qui présentent une faible activité (6mm), tandis que l'antibiotique présente l'excellente activité par un diamètre (27 mm) dans C=16mg/ml.

Tableau 8 : diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de la plante *Laurus nobilis*L sur la croissance de *Salmonella enterica*

Souches bactérienne	Extrait	Concentration			Sensibilité	
		16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml		
		Diamètre de zone d'inhibition en mm				
<i>Salmonella enterica</i>	Feuille	EAcOEF	10	12	6	+
		Alcaloïdes	8	10	12	+
		Huile	15	10	/	++
	Fruit	EAcOEFr	6	11	6	+
		Alcaloïdes	8	12	14	+
	<i>T</i> ⁺		18	16	23	+++

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits de notre plante à une activité antibactérienne ; dans la partie feuille l'huile a une forte activité contre la souche bactérienne *Salmonella enterica* avec un diamètre 15mm dans C=16mg/ml, qui est supérieur aux l'autre l'extrait d'acétate d'éthyle. Avec l'extrait d'alcaloïdes sont sensibles. L'extrait d'acétate d'éthyle et d'alcaloïde des fruits présentent une activité remarquable, dans les alcaloïdes est supérieur que l'acétate d'éthyle par un diamètre 14mm dans C=16mg/ml. Avec l'antibiotique, les souches sont extrêmement sensibles avec un diamètre (23mm).

Tableau 9 : diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de la plante *Laurus nobilis*L sur la croissance de *Bacillus Subtilis*.

Souches bactérienne	Extrait	Concentrations			Sensibilité	
		16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml		
Diamètre de zone d'inhibition en mm						
<i>Bacillus Subtilis</i>	Feuille	EAcOEF	8	8	18	++
		Alcaloïde	9	7	13	+
		Huile	15	9		++
	Fruit	EAcOEFr	8	11	15	++
		Alcaloïde	8	12	8	+
	<i>T</i> ⁺		27	18	26	+++

Dans le cas de bactérie *Bacillus subtilis*, on observe que dans la partie des feuilles l'extrait acétate d'éthyle présent la plus forte activité par un diamètre de 18mm dans C=4mg/ml, qui est proche de diamètre de l'huile qui est 15mm. Dans le cas des alcaloïdes la souche est sensible avec un diamètre 13mm. L'extrait acétate d'éthyle des fruits provoque une forte activité par rapport à l'extrait des alcaloïdes par une zone d'inhibition de 15mm. Dans le cas d'antibiotique les souches sont extrêmement sensibles avec un diamètre (27mm).

Tableau 10 : diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de la plante *Laurus nobilis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus subsp.*

Souches bactérienne		Extrait	Concentrations			Sensibilité
			16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	
			Diamètre de zone d'inhibition en mm			
<i>Staphylococcus aureus subsp</i>	Feuille	EAcOEF	11	10	10	+
		Falcaloide	8	10	11	+
		Huile	13	15	13	++
	Fruit	EAcOEFr	6	11	9	+
		alcaloide	8	8	11	+
	<i>T</i> ⁺		25	16	18	+++

Les résultats présents dans le tableau montrent que les extraits des deux parties de la plante *Laurus nobilis*L. présentent une activité anti bactérienne vis à vis de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*. Dans la partie des feuilles l'HE présente une forte activité avec un diamètre d'inhibition de 15mm dans C=8mg/ml, et qui est supérieur par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle et des alcaloïdes qui sont moyennement actifs. L'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait d'alcaloïde des fruits présentent aussi une activité remarquable avec une zone d'inhibition de 11mm. Dans le cas d'antibiotique la souche présente une sensibilité extrêmement forte avec un diamètre (25mm).

Tableau 11 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de la plante *Laurus nobilis*L. sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Souches bactérienne		Extraits	Concentrations			Sensibilité
			16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	
			Diamètre de zone d'inhibition en mm			
<i>Staphylococcus aureus</i>	Feuille	EAcOEF	9	12	6	+
		alcaloïde	8	10	6	+
		Huile	11	20	11	++
	Fruit	EAcOEFr	6	8	6	+
		alcaloïde	6	20	10	+
	<i>T</i> ⁺		22	19	11	+++

A partir des résultats représentés dans le tableau on trouve que tous les extraits de la plante ont une activité lors du contact avec les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*. L'huile essentielle extraite des feuilles donne une activité extrêmement forte avec un diamètre de 20mm à C=8mg/ml, suivie par l'extrait d'acétate d'éthyle qui est aussi sensible avec un diamètre de 12mm, l'extrait d'alcaloïde qui provoque une sensibilité. Dans la partie des fruits ; la souche présente est sensible avec l'extrait acétate d'éthyle alors qu'avec les alcaloïdes elle est extrêmement sensible. Avec l'antibiotique la bactérie présente une sensibilité extrêmement forte avec un diamètre de 22mm.

Tableau 12: Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de la plante *Laurus nobilis*L. sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Souches bactérienne		Extraits	Concentrations			Sensibilité
			16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	
			Diamètre de zone d'inhibition en mm			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Feuille	EAcOEF	10	10	8	+
		alcaloïde	8	12	8	+
		Huile	21	8		++
	Fruit	EAcOEFr	10	10	16	++
		alcaloïde	10	17	13	++
	<i>T⁺</i>		22	19	20	+++

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que les extraits de *Laurus nobilis*L. à une activité antibactérienne vis-à-vis de souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*. Dans la partie des feuilles l'HE présente l'excellente activité avec un diamètre de 21 mm par rapport à celles d'alcaloïde et d'acétate d'éthyle qui donnent des zones d'inhibition avec des diamètres de 12 mm et 10 mm respectivement. Dans la partie des fruits les deux extraits ; acétate d'éthyle et alcaloïde sont très actifs et provoquent une sensibilité bactérienne avec des diamètres de 16 mm et 17 mm. L'antibiotique a une activité antibactérienne extrêmement forte avec un diamètre de 20 mm.

À la fin de cette étude et à partir des résultats présentés dans les figures et les tableaux on constate que le *Laurus nobilis*L. a une activité antibactérienne. Cette activité est différenciée d'un extrait à l'autre.

Les souches bactériennes testées et la méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne peuvent également être la cause de divergences dans les résultats (Ouibrahim, 2015).

L'organisation architecturale de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives est moins complexe que celle des bactéries Gram négatives. Cette différence structurale rend ainsi les bactéries Gram positif plus sensibles à l'action des huiles essentielles (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Qui est d'accord avec nos résultat, a partir laquelle les bactéries de Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus subsp*, *Bacillus subtilis* doué une forte sensibilité avec les déférent extrait quel que soit l'acétate d'éthyle ou alcaloïde, des feuilles ou des fruits avec des diamètre large par rapport aux bactéries Gram négatif qui sont sensible avec des zone d'inhibition moyenne.

3.2.1 Activité anti bactérienne de l'huile essentielle

D'après les résultats de l'aromatogramme, l'HE ont présenté un pouvoir inhibiteur Modéré contre la majorité des souches bactériennes testées. La meilleur est contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 21mm, suivi par *Staphylococcus aureus* avec 20mm, puis *Staphylococcus aureus subsp*, *Salmonella enterica* et *Bacillus subtilis* avec 15mm, et la souche *Escherichia coli* par un diamètre 13mm.

L'huile essentielle du *L. nobilis* de région de Bejaia a également été étudiée pour son action sur cinq souches bactériennes parmi les quelle : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. L'HE a été efficace sur la totalité des micro-organismes testés, donnant des diamètres d'inhibitions nettement supérieurs aux nôtres soient 29,5 mm pour *Escherichia coli* et 29,5 mm pour *Staphylococcus aureus* (**Ouibrahim, 2015**). L'étude menée par (**Derwichetal., 2009**) sur l'activité antibactérienne de *L. nobilis* provenant du Maroc a été étudiée in vitro sur trois souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Klebsiella pneumoniae*. L'huile essentielle testée a montré une meilleure action sur les souches de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 13 mm qui est inférieur de notre qui est 20mm. Selon (**Elharas et al., 2013**). Les huiles essentielles extraites à partir les feuilles de *Laurus nobilis* L. inhibent la croissance de *Staphylococcus aureus* (**Goumni et Salhi, 2013**) constatons que l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. est présenté une certaine activité vis à la souche *Escherichia coli* avec un diamètre 9,2mm.

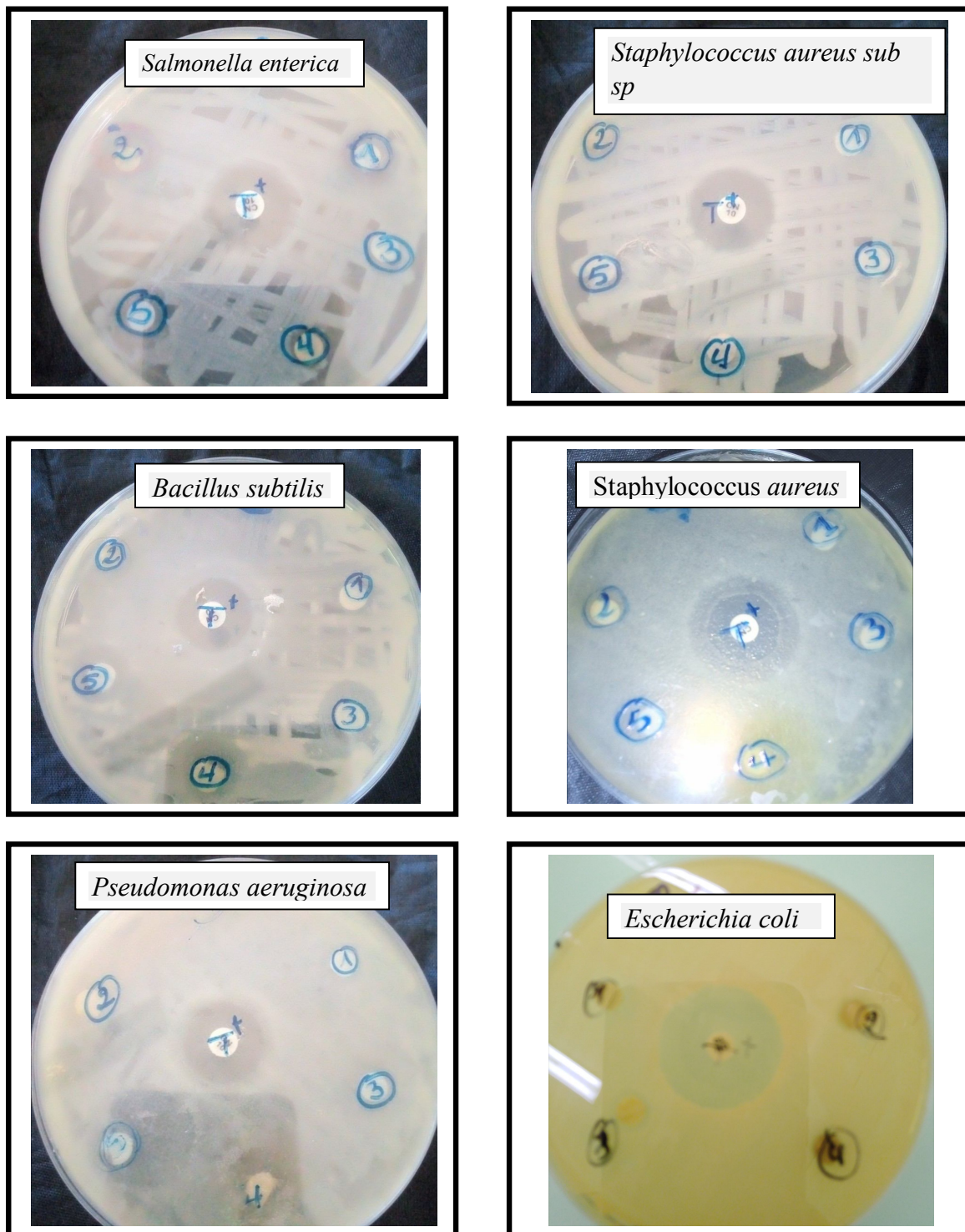


Figure 33 : L'effet des extraits des feuilles et des fruits de la plante *Laurus nobilis*L. sur les souches bactériennes testée.

Conclusion

Conclusion

La flore de la région de Batna jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des Caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, la plantes aromatiques *Laurus nobilis*L., fait l'objet d'une étude phytochimique de leurs extraits et leur huiles essentielles et d'uneévaluation de leur potentiel antioxydant et antibactérienne.

Dans un premier temps, notre travail a été consacré à la détermination du rendement en extraits, qui montré que les rendements varient en fonction des solvants utilisé lors l'extraction de l'extrait des feuilles et des fruits de la plante étudié.

Le meilleur rendement est enregistrés chez l'extrait éthanoïque brut fruit par un pourcentage de 29,6%,les rendements les plus faible enregistrés chez l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles qui représente 2,1% et l'extrait butanolique des feuilles par 2,2%.tandis que lors l'extraction des alcaloïdes le rendement de 0,32% est marqué chez les feuilles qui représentent une valeur supérieure par rapport ou fruit qui enregistre une pourcentage de 0,15%.l' huile essentielle extraite des feuilles donne un rendement important qui est 0,95%.

Par la suite une analyse qualitative chromatographique CCM a été réalisée, dans le but d'identifier les constituants chimiques des extraits. Cette analyse indique la présence des composés phénoliques dans les divers extraits de la plante étudiée par la présence de plusieurs spots de différentes couleurs dans les 5 systèmes solvant utilisée.

En troisième temps, une étude de l'activité antioxydant a été réalisée en employant la méthode du test du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus montrent que les extraits possèdent une activité antioxydant moyenne et variable entre les deux parties, la plus important enregistré chez l'extraits des alcaloïdes des feuilles avec un $IC_{50}=10,2$ suivie de l'extrait n-butanol des feuilles avec un IC_{50} de 28,21et la faible activité enregistrée chez l'extrait acétate d'éthyle des fruits par un IC_{50} de 359,82 et l'huile essentielle avec un IC_{50} de 272,75.

L'activité antibactérienne des extraits et d'huile essentielle a été évaluée par méthode de diffusion. Les souches bactériennestestées sont : *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus subsp*, *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginos*. Les résultats montrent que les extraits ont révélé des activités antimicrobiennes important et variables contre les différentes souches microbiennes testées surtout avec la souche ; *pseudomonas aeruginos* avec un diamètre 21mm.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques :

A

- Abdelfettah, S et Lettat, S. (2013).** Caractérisation de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles de *Camellia sineusis* et *Laurus nobilis* par chromatographie sur couche mine. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- Akhanovna, M. B. J., Benson, B. B., Christian, K. K., and Yves-Alain, B. (2012).** Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes antihypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire. *Nature & Technologie*, 8 : 2-12.
- Alignan, M.(2006).** Phoma du tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie. Thèse de doctorat. Université Toulouse. P297.
- Ayad, R. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 5

B

- Beloued. (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires Alger. p 124.
- Bercisse, H.(2015).** Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'*Ammi visnaga L.* Mémoire de Master université de Telemssan.
- Boudjouref, M.(2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbès, Sétif.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition, TEC et DOC. Paris, p : 484, 488, 784, 788, 790, 791.

C

- Chenni, M.(2016).** Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum* L" extraite par hydrodistillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat. Université d'Oran.
- Cowan, M.(1999).** Plants products as antimicrobial agent clinical . *Microbiologie, Review.* Val .12 :75-82 .

E

ELHaras, K., Daagare, A., Mesfioui, A., Ouhssine. (2013).Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus nobilis* et *Lavandula angustifolia*. 134 – 141.

F

Federico T. et Victoire, M.(2013). Huiles essentielles, l'encyclopédie. Ed. Judena P195.

G

Gérard ,D. (2008). L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices, Alimentaires et médicinales. 4^{ème} édition, France, P 194.

Goumni, Z et Salhi, A. (2013). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *Laurus nobilis*.Mémoire de master. Université KasdiMerbah Ouargla.

Guignard, J-L.(2000). Biochimie végétale. 2^{ème} édition. Dunod, Paris. P203,204.

Guedouari, R. (2012). Etude comparative de la pharmacogonie des différentes parties du *Laurus nobilis* L. Essais de formulations thérapeutiques. Mémoire de Magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes.

Guillouty, A.(2016). Plantes médicinales et antioxydant.Thèse de doctorat.Université Toulouse III Paul sabatier.

H

Heller W., Forkmann G. (1993.) Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall, London: 499-535.

Hopkins.(2003). Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris. P. 514,280.

I

Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, identification préparations soins. 2^{ème} Ed. Larousse. Londres. P. 226.

J

Jacob, B., Baba-Moussa, F., Noumavo, P. (2016). Composition Chimique Et Influence De Différents Tweens Sur Le Pouvoir Antimicrobien Des Huiles Essentielles De *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca Quinquenervia*. Université' Abomey-Calavi, Benin.

Jork, H., Funk, W., Fischer, W. and Wimmer, H. (1994). Thin-Layer Chromatography: reagents and detection methods. 1 : 448.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Steven, P. (2002). Botanique systématique perspective phylogénétique. Traduction et révision scientifique de la 1^{ère} édition américaine par Jules Bouharmont et Charles-Marie Evrard. De Boeck Université. p 84, 87, 226. 467 p.

K

Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.

Khorsi, K. (2015). Contribution à la valorisation de deux plantes médicinales de la région de Saida : *Marrubium vulgare* L (Marrioua) et *Laurus nobilis* L. (rand). Université de Dr Tahar Moulay de Saida.

M

Malecky, M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p5.

Marouf, A et Reynaud, J. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris, P.114.

Meyer, H., Reeb, C Bosdeveix, R. (2008). Botanique, biologie et physiologie végétales, 2^{ème} édition, Maloine, 27 rue de l'école de médecine. Paris, p.14.

Missaoui, R. (2018).Extraction verte et caractérisation des molécules bioactives dans les coproduits de la production d'asperge (*Asparagus officinalis*L.).Université Québec, Canada

N

Nicklin, J. Graeme-cook. Paget,T.et Killington, R.(2000). L'essentiel en microbiologie. BERTI Edition, Paris ,p.3,74.

Narishetty STK., Panchagnula R.(2004). Transdermal Delivery of Zidovudine: Effects of Terpenes and Their Mechanism of Action. *Journal of Controlled Release*. 95: 367-379.

O

Ouibrahim, A. (2015). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatique (*Laurusnobilis*L.,*Ocimum basilicum* L.et *Rosmarinusofficinalis*L.) de l'Est Algérien.Thèse de doctorat.UniversitéBadji Mokhtar-Annaba.95P.

P

Patrick B., Jean L., and Michel S. (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. UNOD. Paris. P: 100-175.

Paul, F. (1999). Plante médicinales, connaissance et mémoires européennes société nationale d'Horticulture de France.TomeII.Consoude à Mélon. P 395.

Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero,A; Flerlage N; Burillo J; Codina,C.(2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*. 50: 6882–90.

Paul, S.(2005). Bactériologie Pour la médecine, la biologie et les biotechnologie, traduit de l'anglais .6^{ème}edition, DUNOD, Paris.

Pire, M. (2011). Caoutchouc Naturel Epoxydé et Réticulation par les Acides Dicarboxyliques : Chimie, Cinétique et Propriétés Mécaniques. Thèse De Doctorat De L'université Pierre Et Marie Curie.P5

Phillippe, M. (2014). Les familles des plantes à fleurs d'europe. 2 edition revue et corrigée. Belgique, p. 235.

Q

Quezel, P et Santa, S. (1962). Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 1. Ed. CNRS. Paris. p376.

R

Rahmouni, s, Reghis, s. (2016). Etude phytochimique et évaluations des activités antioxydantes et anti-bactériennes des espèces : *Lavandulasteochas*, *Glycyrrhizzaglabra* L., *Crocus sativus* L. et *Linum usitatissimum* L. Mémoire de master université de frères mentouri Constantine.

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

Raven, H., Evert, R.F., Eichhorn, S. E. (2014). BIOLOGIE Végétale, 7^{ème} édition, boeck rue des minimes, paris. P.27

S

Société de médecins et de chirurgiens. (1818). Dictionnaire des sciences médicales. Tome vingt-septième. Ed. C.L.F. Panckoucke. Paris, P. 276.

Spichiger, R.E., Vincent, V., Daniel, J. (2004). Botanique systématique des plantes à fleur, une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3^{ème} édition revue et corrigée, presses polytechnique et universitaires Roman des Lausanne, P. 168.

Schauenberg, P., Paris, F. (2006). Guide des plantes médicinales, analyse, description et utilisation de 400 plantes. Paris, France. P8, 279.

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295.

V

Vardapetyan, H., Tiratsuyan, S., Hovhannisyan, A., Rukhkyan, M., and Hovhannisyan, D.(2013). Phytochemical composition and biological activity of *Laurusnobilisl*. Leaves collected from two regions of south caucasus. *Journal of ExperimentalBiology and Agricultural Sciences*, 1(2): 46-51.

Résumé

Au cours de ce mémoire, nous avons réalisé une étude phytochimique de *Laurus nobilis* L (rand), plante médicinale appartenant à la famille des lauracées, une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle algérienne pour ces vertus thérapeutiques et sa richesse en métabolites secondaires à activités biologiques potentielles. L'étude comparative des extraits a montré que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu dans l'extrait brut du fruit par 29,6%, L'huile essentielle extraite des feuilles par hydrodistillation a fourni un rendement de 0,95%. L'analyse des profils chromatographiques des extraits après séparation par CCM, a confirmé que *Laurus nobilis* serait riche en composés phénoliques. Par la suite, l'activité antioxydante a été évaluée à travers la méthode du piégeage du radical libre DPPH par l'huile et des extraits des feuilles et des fruits, a confirmé encore une fois leur richesse en divers composés doués d'une activité anti-radicalaire variable. La forte activité antioxydante dans l'extrait des alcaloïdes des feuilles par un $IC_{50} = 10,2 \mu\text{g/ml}$ Tandis que l'huile essentielle a une faible activité antioxydante. La capacité des extraits et d'huile essentielle à inhiber les microorganismes a été testée sur une gamme des souches bactériennes. L'activité antibactérienne s'est révélée variable selon la nature de la souche et de l'extrait, le meilleur résultat est marqué dans l'huile via la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 21mm.

Mots clés : *Laurus nobilis*L., Huile essentielle, polyphénols, plante médicinale, activité antimicrobienne, activité antioxydante, CCM.

Abstract

During this thesis, we carried out a phytochemical study of *Laurus nobilis* L (rand), a medicinal plant belonging to the Lauraceae family, a plant widely used in Algerian traditional pharmacopoeia for these therapeutic virtues and its richness in secondary metabolites with potential biological activities. The comparative study of the extracts showed that the highest extraction yield was obtained in the crude fruit extract by 29.6%. The essential oil extracted from the leaves by hydrodistillation provided a yield of 0.95%. Analysis of the chromatographic profiles of the extracts after separation by thin-layer chromatography confirmed that *Laurus nobilis* would be rich in phenolic compounds. Subsequently, the antioxidant activity was evaluated through the method of the trapping of the free radical DPPH by the oil and extracts of the leaves and fruits, once again confirmed their richness in various compounds endowed with an anti-activity. antiradical variable. The strong antioxidant activity in leaf alkaloid extract by an $IC_{50} = 10.2 \mu\text{g} / \text{ml}$ While the essential oil has low antioxidant activity. The ability of extracts and essential oil to inhibit microorganisms has been tested on a range of bacterial strains. The antibacterial activity was variable according to the nature of the strain and the extract, the best result is marked in the oil via the strain *Pseudomonas aeruginosa* with a diameter of 21mm

Keywords: *Laurus nobilis*L., essential oil, polyphenols, medicinal plant, antimicrobial activity, antioxidant activity, TLC.

المخلص

خلال هذه المذكرة أجرينا دراسة كيميائية نباتية لنبات الرند *Laurus nobilis* L وهو نبات طبي ينتمي الى عائلة Lauraceae وهو يستخدم على نطاق واسع في مجال الطب الشعبي الجزائري لكثرة فوائده العلاجية وكذا ثراءه بالمواد الأيضية وقد أوضح التحليل المقارن للمستخلصات أن أعلى نسبة تم الحصول عليها في مستخلص الثمار الخام بنسبة 29.6% وكذا تحصلنا على نسبة مهمة من الزيوت الطيارة المستخرجة من الأوراق قدرت بـ 0.95% كما أكد التحليل النوعي بالتقنية الكروماتوغرافية الطبقة الرقيقة ان النبتة جد غنية بالمركبات الفينولية وقد تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لكل من مستخلص الزيت العطري وكذا مستخلصات الأوراق والثمار باستخدام الجذر الحر DPPH ومن خلال النتائج المتحصل عليها يتضح بأن هذه المستخلصات تملك قدرة مضادة للأكسدة وسجلت أعلى نشاط بالنسبة لمستخلص القلويدات الأوراق في حين يمتلك الزيت العطري نشاط مضاد للأكسدة منخفض و تم اختبار قدرة المستخلصات والزيوت الأساسية على تثبيط الكائنات الحية الدقيقة مع مجموعة من السلالات البكتيرية. كان النشاط المضاد للبكتيريا متغيراً وفقاً لطبيعة السلالة والمستخلص وقد سجلت افضل نتيجة عند الزيت بقطر تثبيط قدر ب 21 ملم مع السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية: *Laurus nobilis*L الزيت العطري ، متعدد الفينولات، النباتات الطبية ، النشاط المضاد للميكروبات ، نشاط مضادات الأكسدة

TLC