

## EFFET ANTIOXYDANT DE *LAURUS NOBILIS* L.

Miliani A.<sup>1</sup>, Saadi L.<sup>1</sup>,  
Chaouia C.<sup>2</sup>, Saidi F.<sup>1</sup>,  
Snoussi S.a., Cherif H.s.<sup>1</sup>,  
Rouibi A.<sup>1</sup>, Hamaidi M.s.<sup>1</sup>  
et Hamaidi F.<sup>1</sup>  
saidifairouz@yahoo.fr

1 : Faculté des Sciences  
Agronomiques Vétérinaires  
et Biologiques :

Département de Biologie

2 : Faculté des Sciences  
Agronomiques Vétérinaires  
et Biologiques :

Département d'agronomie

### RESUME

Le travail a porté sur *Laurus nobilis* L., plante dont les feuilles ont été récoltées dans la région montagneuse de Chréa (Blida). L'identification des métabolites secondaires de l'huile essentielle a mis en évidence des composés majoritaires qui sont le 1.8 cineol avec 20,66% et le linalool avec 15,56% (Saidi et al., 2012). L'huile essentielle des feuilles a été extraite par hydro-distillation.

L'utilisation des molécules anti oxydantes de synthèse est actuellement remise en cause, en raison des risques toxicologiques potentiels de ces molécules. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. *Laurus nobilis* est une plante à intérêts médicaux multiples. Les résultats obtenus montrent que Les extraits polaires de *Laurus nobilis* L. (extrait méthanolique) possèdent des capacités de neutralisation du radical libre DPPH puissantes.

### I. INTRODUCTION

L'Algérie, renferme une flore très riche en plantes médicinales et aromatiques. Toutefois, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement de leur utilisation dans le domaine thérapeutique. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à étudier Une plante très largement utilisée en Algérie et dans tout le pourtour méditerranéen comme condiment, il s'agit de *Laurus nobilis* L.

*Laurus nobilis* L. est une plante appartenant à la famille des Lauracées. Elle évolue dans la région montagneuse de Blida (Chréa).

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement, cancers, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinetert et al., 2005).

Dans l'organisme, les métabolites de

l'oxygène sont formés de façon permanente au cours de la vie par des réactions biochimiques physiologiques, mais aussi par un grand nombre de facteurs externes comme par exemple les ultraviolets (UV), la pollution, la fumée du tabac, les herbicides, les pesticides et beaucoup d'autres substances (René Revuz, 2009).

Pour réaliser ce travail, nous avons fait une extraction par hydro distillation sur des feuilles fraîches ensuite la caractérisation et l'identification de certains composés. Nous avons aussi fait une étude de l'effet antioxydant de cette plante.



## I. MATERIEL ET METHODES

### II.1. Matériel

Les feuilles de *Laurus nobilis* L. ont été cueillies dans la région montagneuse de Chréa.

### II.2. Méthodes

#### II.2.1. Extraction des huiles essentielles

Nous avons utilisé un extracteur pilote (hydro distillation et extraction) « Alambic semi industriel ». Il est constitué de quatre parties : l'alambic contenant le végétal, l'alambic contenant le réfrigérant, la corbeille, et l'essencier.

L'extrait méthanolique a été réalisé sur la poudre des feuilles séchées, l'appareil utilisé est le soxhlet.

#### II.2.2. Analyse chromatographique de l'huile essentielle

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle a été effectuée par CG-MS. Le type d'appareil utilisé est Hewlett Packard 6890N couplé

à un spectromètre de masse 5973N. Une quantité de 1µl d'huile essentielle diluée dans le dichlorométhane est prélevée et injectée dans l'appareillage pour déclencher les procédures d'analyse.

La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m × 0.25 mm). La température de la colonne est programmée de 50°C à 250°C à raison de 4°C/min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1ml/min. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse NIST 98 et piloté par un logiciel «HP ChemStation». Ceci permettra l'identification des constituants aromatiques de l'huile essentielle.

#### II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Mesure de l'activité anti radicalaire (DPPH) : L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par la méthode de piégeage du radical DPPH. Le

pouvoir antioxydant des produits testés a été comparé à un ou plusieurs antioxydants de synthèse (Quercétine et Rutine) et un antioxydant naturel : le tocophérol.

Principe : La capacité de céder des hydrogènes par les huiles essentielles ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution éthanolique contenant le radical libre DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl).

Mode opératoire : Le test utilisant le DPPH a été réalisé en suivant la méthode décrite par (Bruits et Bucar, 2000) où 25 µl de chacune des dilutions des produits testés sont mélangés dans la cellule placée dans la cuvette du spectrophotomètre avec 975 µl d'une solution éthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes, à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 517nm. Les expériences sont réalisées en 3 répétitions. Le pourcentage de l'activité (A%) est donné par la formule suivante :

$$A\% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{blanc}}] \cdot 100$$

Où :

$A_{\text{blanc}}$  : Absorbance du témoin (DPPH) au temps zéro avant addition de l'échantillon à tester

$A_{\text{éch}}$  : Absorbance de l'échantillon testé.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures ± écart - type. Le paramètre  $IC_{50}$  (concentration équivalente à 50 % de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité de DPPH (couleur).

Ces  $IC_{50}$  sont déterminés graphiquement pour les deux testes

séparés. L'abscisse représente la concentration de l'extrait et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. La valeur de chaque  $IC_{50}$  exprime la concentration de l'extrait exigée pour réduire 50 % de DPPH en solution.

## III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. L'analyse chromatographique de l'huile essentielle : Elle a montré une grande diversité de constituants chimiques appartenant à différentes familles de composés chimiques.

Le profil chromatographique des

analyses qualitatives et quantitatives de l'huile essentielle (Figure 1) nous a permis de mettre en évidence que les composés majoritaires sont le 1.8 cineol et linalool avec un pourcentage respectivement de 20.66% et 15.56% (Saidi *et al.*, 2012).

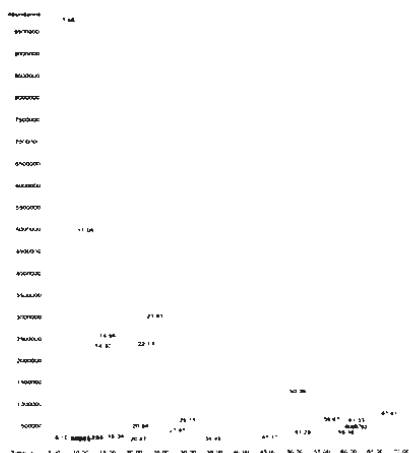
La teneur en 1.8 cinéol de l'huile essentielle est inférieure à celle observée dans l'huile essentielle de plantes originaires d'Egypte (54.9%), de Turquie (28%) et d'Italie (45%) (Paolini *et al.*, 2008).

### III.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat

Les résultats de l'activité antioxydante (DPPH) de l'huile

essentielle et de l'hydrolat du *Laurus nobilis* L. ainsi que ceux de la rutine, la quercétine, et du tocophérol sont donnés dans le tableau I.

Figure 1 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. (Originale)



Il apparait que l'Huile essentielle et l'Hydrolat de *Laurus nobilis* L. présentent une capacité de réduction relativement inférieure à celle de la rutine, le tocophérol et la quercétine.

Pour une concentration maximale de 1000 mg/l l'activité de réduction du DPPH par huile essentielle ne dépasse pas 41%. Ainsi, il nous a été impossible de déterminer la concentration inhibitrice de 50% des radicaux.

Nos observations sur l'activité de piégeage des radicaux libres par

l'huile essentielle viennent s'opposer à ceux observées par Ferreira et al., (2006) où ils ont montré que l'huile essentielle de *laurus nobilis* L. présente une activité antioxydante intéressante avec un pouvoir d'inhibition de DPPH de 53% pour 0.1 mg/ml. Ce résultat semble être du à la différence de la composition chimique de nos huiles essentielles avec celle testée par Ferreira et al., (2006).

Nos résultats montrent aussi que pour des concentrations élevées 800

mg/l et 1000 mg/l en hydrolat, l'activité anti-radicalaire est inférieure non seulement à celle de l'huile essentielle mais aussi aux antioxydants de référence tels que la rutine, le tocophérol et la quercétine.

### III.3. Activité antioxydante de l'extrait méthanolique

Les résultats du test antiradicalaire (DPPH) par l'extrait méthanolique et l'antioxydant de référence sont inscrits dans le tableau III.

**Tableau III : Activité antioxydante de l'extrait méthanolique et de la quercitrine (moyenne de trois mesures  $\pm$  écart-type).**

Concentration en mg/l	Activité antioxydante en %	
	Extrait méthanolique	Quercétine
2,5	3,14 $\pm$ 0,95	8,80 $\pm$ 0,38
5	12,58 $\pm$ 0,54	20,02 $\pm$ 0,88
10	33,30 $\pm$ 0,58	30,66 $\pm$ 0,66
25	51,93 $\pm$ 0,56	42,20 $\pm$ 0,65
50	64,13 $\pm$ 0,41	57,21 $\pm$ 0,55
100	81,30 $\pm$ 0,37	73,99 $\pm$ 0,53

Les résultats observés (tableau III), montrent que l'extrait méthanolique est un excellent antioxydant. Il présente une capacité de neutralisation du radical libre DPPH puissante puisqu'il agit à de faibles concentrations.

Nous notons une faible activité pour les concentrations 2.5 mg/l et 5 mg/l, au-delà de ces concentrations l'activité antioxydante de l'extrait est supérieure à celle de la quercétine.

Nous remarquons aussi que pour une concentration de 100 mg/ml de l'extrait méthanolique nous obtenons une activité supérieure à celle observée pour une concentration de 1000 mg/l avec l'huile essentielle.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Simić et al., (2003)

L'étude menée par Ferreira et al., (2006) a montré que l'isoquercitrine, les glycosides flavonols et la

vitamine E présents dans le *Laurus nobilis* L. peuvent expliquer l'activité antioxydante démontrée par l'extrait méthanolique (Ferreira et al., 2006).

Les valeurs des concentrations inhibitrices IC<sub>50</sub> (mg/l) montrent une activité importante pour l'extrait méthanolique par rapport à celui de la quercétine, sachant qu'une faible concentration entraîne une forte activité anti-radicalaire (Tableau IV).

Echantillons	IC <sub>50</sub> (mg/l)
Extrait méthanolique	23.45 $\pm$ 0,45
Quercétine	37,99 $\pm$ 0,32

**Tableau IV : Concentration inhibitrice de l'extrait méthanolique et de la quercétine (moyenne de trois mesures  $\pm$  écart-type)**

## CONCLUSION

L'activité antioxydante *in vitro* est étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). Les extraits polaires (extrait méthanolique) possèdent des capacités de neutralisation du radical libre DPPH puissantes, puisqu'ils agissent à de faibles doses.

Nous remarquons que pour des concentrations élevées 800 et 1000mg/l, l'huile essentielle et l'hydrolat présentent une activité antioxydante inférieure à celle des antioxydants de référence.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à réduire les radicaux libres.

D'après nos résultats nous pouvons éventuellement avancer que les huiles essentielles ont plutôt un pouvoir antimicrobien (SAIDI *et al.*, 2012) alors que les extraits méthanoliques sont des agents antioxydants.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bruits M. et Bucar F., 2000.- Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.*, 14, 323-328.

Ferreira A., Proença C., Serralheiro M. L. M. et Araújo M. E. M., 2006.- The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of the medicinal plant from Portugal. *J. Ethnopharmacology*, 108, 31-37.

Fuhrman B., Lavy A. et Aviram M., 1995.- Consumption of red wine with meals reduces the

susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61, 549-554.

Guinetert E., Durant P., Post M., Grinand R. et Bernigault R., 2005.- Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixième Journées de la Recherche Avicole, 554-558.

Jovanovic S.V., Steenken S., Simic M.G. et ghara Y., 1998.- Antioxidant properties of flavonoid. *AHDIEQ Journal*, 7, 137-161.

Paolini J., Leandri C. Desjobert J.M., Barboni T. et Costa J., 2008.- Comparaison of liquid-liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species, *Journal of chromatography A.*, 1193, 37-49.

René Revuz J.E., 2009.- *Traité EMC : Cosmétologie et Dermatologie esthétique.* Eds. Elsevier Masson, Paris, 432p.

Rice-Evans C.A., Miller N.J. et Paganga G., 1996.- Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20, 933-956.

Saidi F., Miliari A., Chaouia C., Feknous S., Rouibi A., Cherif H.S., Hamaidi M.S. et Hamaidi F., 2012.- Identification de quelques métabolites secondaires de *Laurus nobilis* L. et effet antimicrobien. Société des Sciences Naturelles de Tunisie, XXIIèmes Journées Nationales de Biologie, 15 – 18 Décembre 2012, Hammamet, Tunisie, p53.

Simić M., Kundaković T. et Kovačević N., 2003.- Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, 74, 613 - 616.