



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche scientifique

جامعة ابو بكر - بلقايد تلمسان

Université ABOU BAKR BELKAID-TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض و الكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

Mémoire présenté par

**LABDI Chaimaa**

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en sciences biologiques

Spécialité: Biochimie

**Thème**

## **Evaluation de l'activité biologique de *Laurus nobilis* de la région de Tlemcen**

Soutenu le 20/06/2026 devant le jury composé de :

|           |                        |            |                       |
|-----------|------------------------|------------|-----------------------|
| Président | BOUCHERIT OTMANI Zahia | Professeur | Université de Tlemcen |
| Encadrant | BOUALI Waffa           | Professeur | Université de Tlemcen |
| Examineur | BELKACEM Nacéra        | MCA        | Université de Tlemcen |

Année universitaire : 2025/2026

# Remerciements

Je remercie avant tout الله, qui m'a accordé le courage, la volonté, la santé et la patience nécessaires pour mener ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements à mon encadrante, Mme BOUALI Waffa, professeur à l'Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen, pour sa direction, sa gentillesse, ses précieux conseils et sa bienveillance tout au long de la réalisation de ce mémoire.

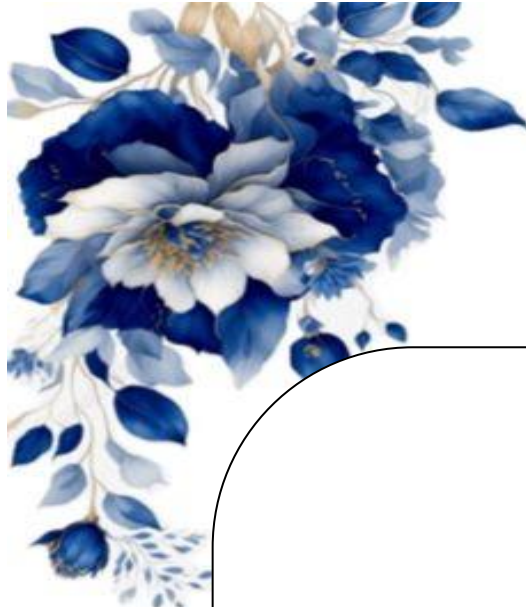
Mes sincères remerciements et ma plus profonde gratitude à Madame BOUCHERIT OTMANI Zahia, professeur à l'Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

J'adresse ma plus profonde gratitude à Madame BELKACEM Nacéra, maître de conférences classe « A », à l'Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en examinant ce mémoire.

Je tiens à exprimer une reconnaissance particulière à Mme SAADI Fatima et Mme ZERHOUNI Khadija pour leur aide précieuse, leur soutien technique durant la réalisation de ma partie pratique au laboratoire.

Enfin, on remercie toute l'équipe pédagogique de l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen qui ont assuré notre formation le long de ces années et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin par leur soutien pour la réalisation de ce modeste travail.

Chaimaa



# Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit de longues années d'études, à  
mes chers et adorables parents pour leur amour inconditionnel, leurs prières,  
leurs sacrifices, leur soutien et leur confiance en moi. Que ce travail soit le reflet  
de tous leurs efforts et de leur dévouement.

Mes chers frères Ismail, Abdelkader, Rachid  
pour leur encouragement et leur présence rassurante.

Mes chers neveux Ibrahim et Anes qui apportent tant de joie dans  
nos vies.

Mes belles-sœurs, Fatima et Malika, pour leur soutien et leur bienveillance.

A toute ma famille oncles et tantes, la famille Labdi et Khelladi, ainsi mes  
cousins et mes cousines notamment, Fatima et Meriem pour leur affection et leur  
soutien morale.

*Chaimaa*



## ملخص

في ظل الاهتمام المتزايد بالعلاج بالنباتات، تعد النباتات الطبية والعطرية مصدراً مهماً للمركبات الحيوية النشطة.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص الكيميائية النباتية والبيولوجية، بالإضافة إلى السمية الخلوية للزيت العطري لنبات الرند الذي تم جمعه من منطقة منصورة (تلمسان، الجزائر).

تم استخراج الزيت العطري بطريقة التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger، حيث سجل مردود قدره 0.35%. أظهرت التحاليل الطيفية سيادة المركبات الفينولية الكلية و العفص ، تليها الفلافونويدات. بين اختبار DPPH أن الزيت العطري يمتلك قدرة جيدة على تثبيط الجذور الحرة بقيمة  $IC_{50}$  مقدارها 540,7 ميكروغرام/مل. كما أظهرت الاختبارات المضادة للبكتيريا، باستخدام طريقة الانتشار على أوساط الزرع بواسطة الأقراص وطريقة التخفيف التسلسلي في الصفائح الدقيقة فعالية واسعة ضد البكتيريا موجبة وسالبة الغرام. وأخيراً، أظهر اختبار تحليل الدم على كريات الدم الحمراء البشرية أن الزيت العطري غير سام عند التراكيز الأقل أو تساوي 100 ملغ/مل. تؤكد هذه النتائج الإمكانيات البيولوجية لزيت *Laurus nobilis* وإمكانية استخدامه في المجالات الصيدلانية والبيوطبية والغذائية.

## الكلمات المفتاحية

الرند، الزيت الأساسي، اختبار مضادات الأكسدة، الاختبارات المضادة للبكتيريا، اختبار تحليل الدم.

## Résumé

Face à l'intérêt croissant porté à la phytothérapie, les plantes aromatiques et médicinales représentent une source prometteuse de molécules bioactives.

La présente étude a pour objectif d'évaluer les propriétés phytochimiques et biologiques ainsi que la cytotoxicité de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* récoltée dans la région de Mansourah (Tlemcen, Algérie).

L'huile essentielle qui a été obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger a présenté un rendement de 0,35%. Les dosages spectrophotométriques ont révélé une prédominance des polyphénols totaux et des tanins condensés, suivis des flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a mis en évidence une capacité importante de piégeage des radicaux libres avec une  $IC_{50}$  de 540,7  $\mu\text{g/ml}$ . L'activité antibactérienne qui a été déterminée par deux méthodes: diffusion sur gélose et méthode de microdilution sur microplaque a montré une action à large spectre contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Enfin, le test d'hémolyse réalisé sur des érythrocytes humains a montré que l'huile essentielle est non hémolytique aux concentrations inférieures ou égales à 100 mg/ml. Ces résultats soulignent le potentiel biologique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* et son intérêt pour de futures applications pharmaceutiques, biomédicales et agroalimentaires.

## Mots clés

*Laurus nobilis*, huile essentielle, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité hémolytique.

## Abstract

In the context of the growing interest in phytotherapy, medicinal and aromatic plants represent a promising source of bioactive compounds.

This study aims to evaluate the phytochemical and biological properties, as well as the cytotoxicity, of the essential oil of *Laurus nobilis* collected from the Mansourah region (Tlemcen, Algeria).

The essential oil was obtained by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus and showed an extraction yield of 0.35%. Spectrophotometric analyses revealed a predominance of total polyphenols and condensed tannins, followed by flavonoids. The antioxidant activity evaluated by the DPPH assay showed a strong radical scavenging capacity with an IC<sub>50</sub> value of 540,7 µg/mL. The antibacterial activity, assessed by disk diffusion and microdilution methods on a microplate, demonstrated a broad-spectrum effect against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Finally, the hemolytic assay performed on human erythrocytes showed that the essential oil being non-hemolytic at concentrations  $\leq 100$  mg/ml. These results highlight the biological potential of *Laurus nobilis* essential oil and its possible applications in pharmaceutical, biomedical, and agro-food fields.

## Keywords

*Laurus nobilis*, Essential oil, antioxidant activity, antibacterial activity, hemolytic activity.

## **Table des matières**

|                                                                                    |      |
|------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Liste des abréviations .....                                                       | VIII |
| Liste des figures .....                                                            | IX   |
| Liste des tableaux .....                                                           | XI   |
| Introduction générale .....                                                        | 1    |
| Matériel et méthodes .....                                                         | 9    |
| 1. Matériel végétal .....                                                          | 10   |
| 2. Extraction d'huile essentielle de la plante .....                               | 10   |
| 3. Dosage des composés phénoliques .....                                           | 11   |
| 3.1. Préparation de l'extrait .....                                                | 11   |
| 3.2. Dosage des polyphénols totaux .....                                           | 12   |
| 3.3. Dosage des Flavonoïdes .....                                                  | 12   |
| 3.4. Dosage des tanins .....                                                       | 13   |
| 4. Evaluation de l'activité antioxydante .....                                     | 14   |
| 5. Activité antibactérienne .....                                                  | 15   |
| 5.1. Application de la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques) ..... | 17   |
| 5.2. Méthode de micro dilution en milieu liquide .....                             | 18   |
| 6. Activité hémolytique (cytotoxicité) .....                                       | 19   |
| Résultats et discussion .....                                                      | 22   |
| 1. Rendement d'extraction d'huile .....                                            | 23   |
| 2. Dosage des composés phénoliques .....                                           | 24   |
| 3. Activité antioxydante .....                                                     | 26   |
| 4. Activité antibactérienne .....                                                  | 28   |
| 5. Evaluation de l'activité hémolytique (cytotoxicité) .....                       | 33   |
| Conclusion générale .....                                                          | 35   |
| Références bibliographiques .....                                                  | 37   |

## **Liste des abréviations**

- AFNOR : Association Française de Normalisation.
- al. : collaborateur.
- % : pourcentage.
- DO : densité optique.
- g : gramme.
- h : heure.
- HE : huile essentielle.
- mg : milligramme.
- ml : millilitre.
- mm : millimètre.
- µg : microgramme.
- µl : microlitre.
- AlCl<sub>3</sub> : Trichlorure d'aluminium ou chlorure d'aluminium.
- DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
- EAG: Équivalent à l'acide gallique.
- EQ: Équivalent quatéchine.
- nm: nano mètre.
- OMS : organisation mondiale de santé.
- GC-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- CMI :concentration minimale inhibitrice.
- AChE : acétylcholinestérase.

## Liste des figures

| N° de figure     | Titre de la figure                                                                                                                      | Page |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Figure 1</b>  | l'arbre de Laurier noble                                                                                                                | 4    |
| <b>Figure 2</b>  | Apparence morphologique des différents organes de <i>L. nobilis</i> :<br>branche (A), fleurs (B), fruit (C).                            | 4    |
| <b>Figure 3</b>  | distribution de <i>L.nobilis</i> dans le monde.                                                                                         | 5    |
| <b>Figure 4</b>  | plante fraîche.                                                                                                                         | 10   |
| <b>Figure 5</b>  | Les différentes étapes d'extraction d'huile dans l'appareil de type<br>Clevenger (photo prise au laboratoire).                          | 11   |
| <b>Figure 6</b>  | Dosage des composés phénoliques avant la lecture (photo prise au<br>laboratoire)                                                        | 14   |
| <b>Figure 7</b>  | Préparation d'une série de dilution.                                                                                                    | 14   |
| <b>Figure 8</b>  | Illustration de la méthode d'aromatogramme.                                                                                             | 17   |
| <b>Figure 9</b>  | La méthode de micro dilution en milieu liquide CMI                                                                                      | 18   |
| <b>Figure 10</b> | Microplaque                                                                                                                             | 19   |
| <b>Figure 11</b> | Prélèvement sanguin frais (photo prise au laboratoire).                                                                                 | 20   |
| <b>Figure 12</b> | suspension érythrocytaire à 2 % (photo prise au laboratoire).                                                                           | 20   |
| <b>Figure 13</b> | Les trois séries d'essais du test de l'activité hémolytique<br>(photo prise au laboratoire).                                            | 21   |
| <b>Figure 14</b> | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des<br>polyphénols totaux)                                                              | 25   |
| <b>Figure 15</b> | Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des flavonoïdes)                                                                            | 25   |
| <b>Figure 16</b> | Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des tanins<br>condensés)                                                                    | 25   |
| <b>Figure 17</b> | Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des<br>différentes concentrations d'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> . | 27   |
| <b>Figure 18</b> | Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des<br>différentes concentrations de BHA                                          | 27   |

|                  |                                                                                                        |    |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 19</b> | Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur gélose (test d'aromatogramme) | 30 |
| <b>Figure 20</b> | Pourcentage d'hémolyse de différentes concentrations d'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> .    | 34 |

## Liste des tableaux

| N° de tableau    | Titre de tableau                                                                                                                            | Page |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Tableau 1</b> | Position systématique de <i>Laurus nobilis</i> .                                                                                            | 3    |
| <b>Tableau 2</b> | Différentes dénominations en fonction des langues.                                                                                          | 3    |
| <b>Tableau 3</b> | composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. nobilis</i> .                                                                          | 6    |
| <b>Tableau 4</b> | les différentes souches microbiennes testées.                                                                                               | 16   |
| <b>Tableau 5</b> | propriétés organoleptiques et rendement d'huile de laurier noble.                                                                           | 24   |
| <b>Tableau 6</b> | Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans HE de <i>Laurus nobilis</i> .                                     | 26   |
| <b>Tableau 7</b> | Valeurs des IC <sub>50</sub> de l'huile essentielle et du BHA.                                                                              | 28   |
| <b>Tableau 8</b> | Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> et la Gentamicine.                               | 29   |
| <b>Tableau 9</b> | Evaluation des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> par la méthode de microdilution. | 32   |

# Introduction générale

Depuis l'Antiquité, les grandes civilisations telles que les civilisations chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque ou encore romaine ont largement eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, et culinaires comme agent aromatisant en cuisine, agro-alimentaires et industrielles. Au fil de leur développement, ces sociétés ont progressivement enrichi leur savoir-faire en matière d'utilisation des plantes, grâce à l'observation, à l'expérimentation et à la transmission de leurs connaissances (Anzano *et al.*, 2022; Lahsissene *et al.*, 2009).

De nos jours, la phytothérapie l'approche médicale qui utilise les plantes et leurs extraits pour élaborer des remèdes visant à améliorer le bien-être et traiter diverses affections (Zimmermann-Klemd *et al.*, 2022), connaît un regain d'intérêt considérable, notamment pour traiter les maladies chroniques. De plus, les effets secondaires des médicaments chimiques poussent de plus en plus de patients vers des alternatives plus douces (Ebadi, 2025). Selon l'OMS (2013), plus de 80 % de la population mondiale, particulièrement dans les pays en développement, recourt à la phytothérapie pour leurs besoins en soins de santé primaires.

L'Algérie est caractérisée par une biodiversité remarquable et une diversité climatique considérable, constitue une zone géographique d'intérêt stratégique pour l'exploration et l'identification de molécules bioactives. Sa flore particulièrement riche, comprenant près de 4000 taxons répartis en 917 genres et 131 familles, offre un vaste potentiel pour la recherche scientifique et la valorisation des espèces d'intérêt médicinal (Belhouala et Benarba, 2021).

*Laurus nobilis* est une espèce méditerranéenne connue depuis l'Antiquité. Les premières traces d'utilisation remontent aux civilisations grecque et romaine, qui considéraient le laurier comme un symbole de victoire, sagesse et de protection divine (Paparella *et al.*, 2022).

*Laurus nobilis* est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lauraceae, qui comprend environ 2500 à 3500 espèces (Dobroslavić *et al.*, 2022). Le genre *Laurus* comprend trois espèces principales: *Laurus azorica* et *Laurus nobilis*, *Laurus novocanariensis* (Ballabio et Goetz., 2010). Les tableaux ci-dessous présentent la taxonomie et la nomenclature de *Laurus nobilis*.

**Tableau 1:** Position systématique de *Laurus nobilis* (Quezel et Santa, 1962).

|                     |                       |
|---------------------|-----------------------|
| Règne               | Plantes               |
| Sous règne          | Plantes vasculaires   |
| Embranchement       | Spermaphytes          |
| Sous –embranchement | Angiospermes          |
| Classe              | Dicotylédones         |
| Sous classe         | Dialypétales          |
| Ordre               | Laurales              |
| Famille             | Lauracées             |
| Genre               | <i>Laurus</i>         |
| Espèce              | <i>Laurus nobilis</i> |

**Tableau 2:** Différentes dénominations en fonction des langues (Vikou *et al.*, 2023)

| Langue   | Nom commun                                                      |
|----------|-----------------------------------------------------------------|
| Arabe    | ورق الغار, وق سيدنا موسى, الرند                                 |
| Français | Laurier noble, laurier sauce, laurier d'apollon, Laurier vrai.  |
| Anglais  | Bay laurel, Sweet bay, True laurel, Roman laurel, noble laurel. |

Le laurier est un arbre à feuilles persistantes pouvant atteindre 12 m de haut à l'état sauvage. En culture, il est généralement taillé à une hauteur de 2 à 3 m (figure1), l'espèce possède naturellement plusieurs troncs, l'écorce du tronc et des branches est de couleur brun foncé à presque noire (Elzebroek *et Wind*, 2008). Cette arbre portent des feuilles alternées, longues et étroites, de forme oblongue à lancéolée de couleur vert foncé sur le dessus et plus clair en dessous avec des extrémités pointues et un pétiole court, le limbe présente un bord légèrement épaissi et ondulé qui s'incurve vers l'intérieur, les feuilles mesurent environ 3 à 5 cm de large et 10 cm de long (Geerts *et al.*, 2002) (figure 2.A).

Ses fleurs, petites et à quatre lobes, présentent 8 à 12 étamines chez les fleurs mâles et 2 à 4 staminodes chez les fleurs femelles (figure 2.B). Le fruit, noir à maturité, est ovoïde et mesure entre 10 et 15 mm (figure 2.C). L'écorce, généralement lisse, varie du vert olive au bleu rougeâtre, la plante est peu ramifiée et atteint en moyenne 6 à 9 mètres dans les régions chaudes (Said *et Hussein*, 2014).

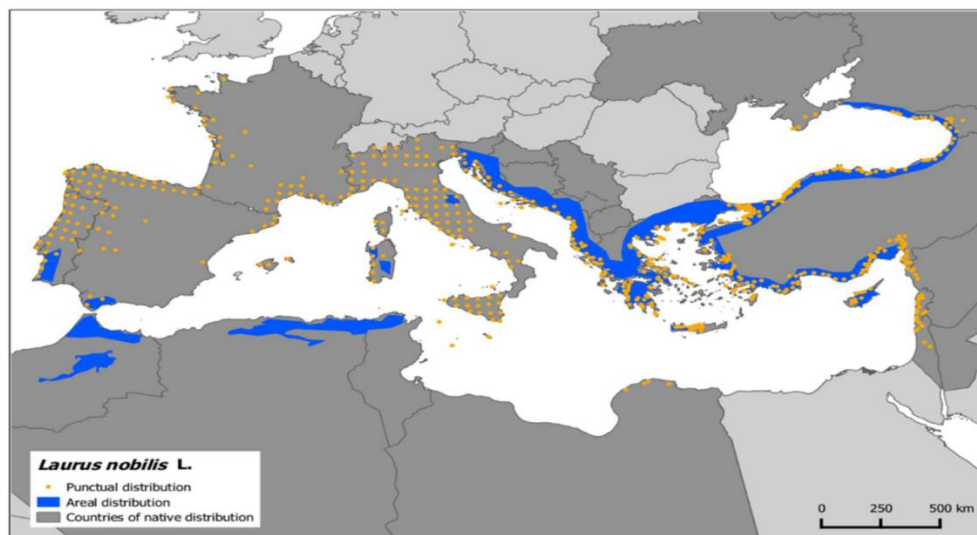


**Figure 1:** l'arbre de Laurier noble (<https://1000-arbres.com/>)



**Figure 2:** Apparence morphologique des différents organes de *L. nobilis*: branche (A), fleurs (B), fruit (C). (Chaaben *et al.*, 2015; Elzebroek et Wind, 2008)

Cette plante est répandue dans les pays méditerranéens tels que l'Algérie, la Turquie, l'Espagne, le Maroc, l'Italie, la Grèce et le Portugal, on la trouve également en Asie tropicale et subtropicale, en Australie, dans le Pacifique et en Asie du Sud, et dans d'autres régions tempérées et chaudes du monde (Anzano *et al.*, 2022) (Figure 3) .



**Figure 3:** distribution de *L.nobilis* dans le monde (Paparella *et al.*, 2022)

Cette large distribution géographique a favorisé l'émergence de multiples usages traditionnels, d'une part, sur le plans médicinal, les feuilles et l'huile essentielle de *L. nobilis* sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle pour soulager les troubles gastro-intestinaux tels que les ballonnements et les flatulences, aussi pour le traitement de la diarrhée (Mansour *et al.*, 2018; Qnais *et al.*, 2012). Par ailleurs, les feuilles de la plante sont également utilisées en médecine populaire iranienne pour soulager les symptômes associés à l'épilepsie, à la névralgie et à la maladie de Parkinson (Caputo *et al.*, 2017). De plus, en médecine populaire turque l'extrait aqueux des feuilles est traditionnellement utilisé comme remède contre les hémorroïdes, comme antirhumatismal et diurétique, ainsi que comme remède contre les morsures de serpent et pour soulager les maux d'estomac (Awada *et al.*, 2023). D'autre part, *L. nobilis* occupe également une place importante dans le domaine culinaire et industriel, ses feuilles séchées est couramment utilisée pour l'assaisonnement des viandes, des soupes et du poisson, tandis que son huile essentielle est largement exploitée dans l'industrie alimentaire comme épice et agent aromatisant ainsi que pour la conservation des aliments en raison de ses propriétés antimicrobiennes et insecticides (Mansour *et al.*, 2018). En outre, il présente un intérêt notable en cosmétique, l'huile essentielle des feuilles dotée d'activités antipelliculaire, antioxydante et antifongique, est utilisée comme agent auto-conservateur dans les formulations cosmétiques (Awada *et al.*, 2023; Morcia *et al.*, 2012), et en raison de son activité antipelliculaire, l'huile volatile des feuilles de *L. nobilis* est utilisée dans la préparation de lotions capillaires et le traitement du psoriasis (Hafizoğlu *et* Reunanen, 1993). Par ailleurs, l'huile extraite des fruits riche en composés fixes et volatiles, est

traditionnellement exploitée dans la fabrication de savons et dans diverses préparations dermatologiques en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antioxydantes et antibactériennes (Brás *et al.*, 2015; Kilic *et al.*, 2004 ).

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* (Laurier noble) est un mélange complexe de composés volatils aromatiques obtenu principalement par hydrodistillation (distillation à la vapeur d'eau) d'une partie de la plante. Elle est caractérisée par une forte concentration de monoterpènes, sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés, qui confèrent à l'huile ses propriétés biologiques et aromatiques (Caputo *et al.*, 2017). Le tableau ci-dessous présente l'analyse chimique des composants de l'huile essentielle de *L. nobilis*, ainsi que la teneur en pourcentage de chaque composé selon l'étude de Al-Mijalli *et al.* (2022).

**Tableau 3:** Composition chimique de l'huile essentielle de *L. nobilis* (Al-Mijalli *et al.*, 2022)

| Composants                       | Pourcentage % |
|----------------------------------|---------------|
| Eucalyptol                       | 36.40         |
| $\alpha$ -terpineol              | 13.05         |
| $\alpha$ -Terpinyl acetate       | 10.61         |
| Linalool                         | 10.34         |
| $\beta$ -Thujene                 | 5.74          |
| Méthyleugénol                    | 3.74          |
| $\alpha$ -Pinene                 | 3.34          |
| Eugénol                          | 1.58          |
| 4-Thujen-2- $\alpha$ -yl acetate | 0.91          |
| Bornyl acetate                   | 0.87          |
| Naphtalène                       | 0.64          |
| $\beta$ -Neoclovene              | 0.50          |
| Camphene                         | 0.47          |
| $\alpha$ -Thujene                | 0.43          |
| Isoelemicin                      | 0.38          |

Selon l'étude comparative de Jemâa *et al.* (2012) menée sur l'huile essentielle de *Laurus nobilis* provenant de Tunisie, Algérie et Maroc, l'analyse par GC-MS a montré que les trois huiles présentent une composition chimique qualitativement similaire avec une

dominance des monoterpènes oxygénés, en particulier du 1,8-cinéole (eucalyptol) qui constitue le composé majeur dans les trois pays, le linalol et l'isovaléraldéhyde. Les différences concernent surtout les proportions, certaines molécules apparaissent uniquement dans l'huile marocaine (comme le 2-carène), d'autre surtout dans l'huile algérienne (comme le pentane), et l'huile tunisienne se distingue par la présence de camphre et de quelques composés spécifiques. Ses proportions varient généralement selon l'origine géographique et les conditions environnementales locales.

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* et ses trois composants principaux (le 1,8-cinéole, l'alpha-pinène et le limonène) agissent contre le diabète et l'oxydation des cellules, une étude montre que ces derniers présentent un double effet thérapeutique pour la gestion du diabète. D'une part, ils freinent l'absorption des sucres en bloquant l'enzyme alpha-glucosidase selon différents mécanismes d'inhibition. D'autre part, ils agissent comme un puissant antioxydant capable de neutraliser les radicaux libres et de protéger les cellules contre les dommages liés au stress oxydatif. Cette action combinée suggère que le laurier pourrait devenir un traitement naturel complémentaire efficace (Basak et Candan, 2013).

De plus, l'huile essentielle de *Laurus nobilis* présente une activité antibactérienne et antibiofilm significative contre les souches buccales de *Staphylococcus aureus*. Ces propriétés suggèrent un potentiel thérapeutique prometteur pour les maladies bucco-dentaires (Merghni et al., 2016). D'autres travaux ont également confirmé l'activité antimicrobienne notable de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* contre plusieurs souches par exemple, l'étude de Derwich et al. (2009) a testé l'activité antibactérienne sur trois souches bactériennes, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Klebsiella pneumoniae*, l'ensemble des souches testées s'est révélé sensible aux huiles essentielles étudiées, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) compris entre 0,01 et 1 mg/ml. De même l'étude de Mamoucha et al. (2023) a évaluée l'huile essentielle de *Laurus nobilis* contre deux souches phytopathogènes de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, ainsi que contre plusieurs bactéries pathogènes pour l'homme, à savoir *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Les résultats ont montré que l'huile essentielle inhibe toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition variant de 7,5 à 20,8 mm.

Chibani et al. (2024) ont prouvé que l'HE de *L. nobilis* possèdent en plus des activités antifongiques et antioxydantes une activité anticholinestérasique pour le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer, Le mécanisme d'action repose sur l'inhibition de

l'enzyme acétylcholinestérase (AChE), responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques.

Enfin les propriétés biologiques d'HE de *Laurus nobilis* ne se limitent pas à ses activités antioxydantes et antimicrobiennes. En effet, une étude iranienne a montré qu'à la dose de 0,2 ml/kg, elle aurait *in vivo*, une action anti-inflammatoire comparable à celle du piroxicam, retardée mais plus prolongée que la molécule allopathique (Sayyah *et al.*, 2003).

Afin de valoriser les ressources végétales nationales, notre étude porte sur l'évaluation des activités biologiques ainsi la cytotoxicité de la plante de *Laurus nobilis*, espèce largement répandue dans le bassin méditerranéen et dotée d'usages traditionnels bien établis.

# Matériel et méthodes

L'ensemble des manipulations a été réalisé au niveau de laboratoire de recherche antibiotiques, antifongiques: physico-chimie, synthèse et activité biologique (LAPSAB), Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

L'objectif de cette étude était de quantifier les composés phénoliques de cette huile essentielle, d'évaluer ses activités biologiques et sa cytotoxicité.

### 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie aérienne de la plante *Laurus nobilis* (figure 4), fraîchement collectée dans la wilaya de Tlemcen région de Mansourah.



**Figure 4:** plante fraîche (Krireche et Mekacher, 2022)

### 2. Extraction d'huile essentielle de la plante

L'extraction d'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger, 400g de plante *Laurus nobilis* fraîche est introduite dans un ballon contenant trois litres d'eau distillée puis chauffée à l'aide d'un chauffe-ballon (figure 5), l'ensemble est porté à l'ébullition pendant trois heures. Les vapeurs chargées d'huile qui se dégagent passent à travers le serpentín de refroidissement en verre où aura lieu la condensation. L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début de l'ébullition. L'huile ainsi obtenue est récupérée et conservée dans des flacons opaques bien scellés à une température basse (4 °C) (Snuossi *et al.*, 2016).



**Figure 5:** Les différentes étapes d'extraction d'huile dans l'appareil de type Clevenger (photo prise au laboratoire).

### ➤ **Calcul du rendement**

Le rendement d'HE est déterminé en rapportant la masse d'huile obtenue à celle de la matière végétale sèche utilisée (Carré, 1953), le rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

R : Rendement de l'huile en %.

PA : Poids de l'huile en g.

PB : Poids de la plante en g

$$R = [PA/PB] \times 100$$

## **3. Dosage des composés phénoliques**

### **3.1. Préparation de l'extrait**

Une solution a été préparée à une concentration de 1 mg/ml d'huile diluée dans le Tween 80 avec de l'eau distillée.

### **3.2. Dosage des polyphénols totaux**

#### **3.2.1. Principe**

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par Vermerius *et* Nicholson en 2006. Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acides phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune.

Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif précédent. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 725 nm.

### 3.2.2. Mode opératoire

- 0,1 ml de notre extrait (1 mg/ml) est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 2%.
- Les tubes sont agités puis incubés pendant 5 min.
- 100  $\mu\text{l}$  de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange.
- Les tubes sont incubés pendant 30 min à température ambiante.
- La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05; 0,1; 0,2; 0,3 ; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1 mg/ml).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'huile essentiel (mg EAG/g HE).

### 3.3. Dosage des Flavonoïdes

#### 3.3.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode décrite par Ardestani *et* Yazdanparast en 2007. C'est une méthode spectrophotométrique utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la soude ( $\text{NaOH}$ ) qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

#### 3.3.2 Mode opératoire

- 500  $\mu\text{l}$  de notre extrait (1 mg/ml) est mélangé avec 2 ml d'eau distillée.
- 150  $\mu\text{l}$  d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 15 % sont ajoutés au mélange.
- Les tubes sont incubés pendant 6 min à température ambiante.
- 150  $\mu\text{l}$  de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10% sont ajoutés.
- Les tubes sont incubés pendant 6 min à température ambiante.
- 2 ml d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4% sont ajoutés immédiatement.
- Le volume total est ajusté à 5 ml avec l'eau distillée.
- Les tubes sont agités, puis incubés pendant 15 min.
- La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05; 0,1; 0,2 : 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1 mg/ml).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'HE (mg EQC/g HE).

### 3.4. Dosage des tanins

#### 3.4.1. Principe

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode utilisant la vanilline. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (Sun *et al.*, 1998).

#### 3.4.2. Mode opératoire

- 50 µl de notre extrait (1mg/ml) est mélangé avec 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v).
- Les tubes sont agités, ensuite 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné.
- Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.
- La lecture de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 mg/ml).

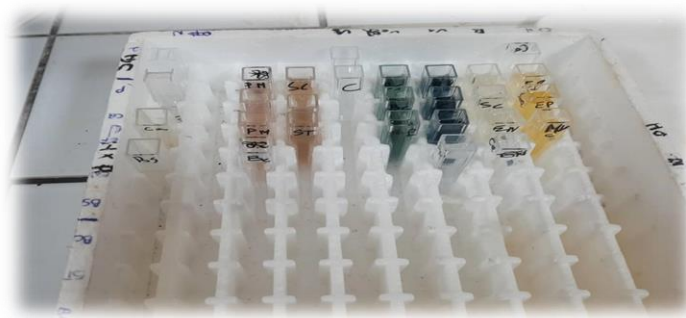
Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'HE (mg EQC/g HE).

### 3.5. Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, sont calculées selon la formule suivant :

$$T = a * f / b$$

- T: Teneur en composés phénoliques
- a: Concentration à partir de la courbe d'étalonnage respective
- f: Facteur de dilution
- b: Concentration initiale de l'extrait



**Figure 6:** Dosage des composés phénoliques avant la lecture (photo prise au laboratoire)

#### 4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits repose généralement sur diverses techniques. Cette étude vise à évaluer *in vitro* l'activité antioxydante d'huile essentielle de *Laurus nobilis* selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

##### 4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl)

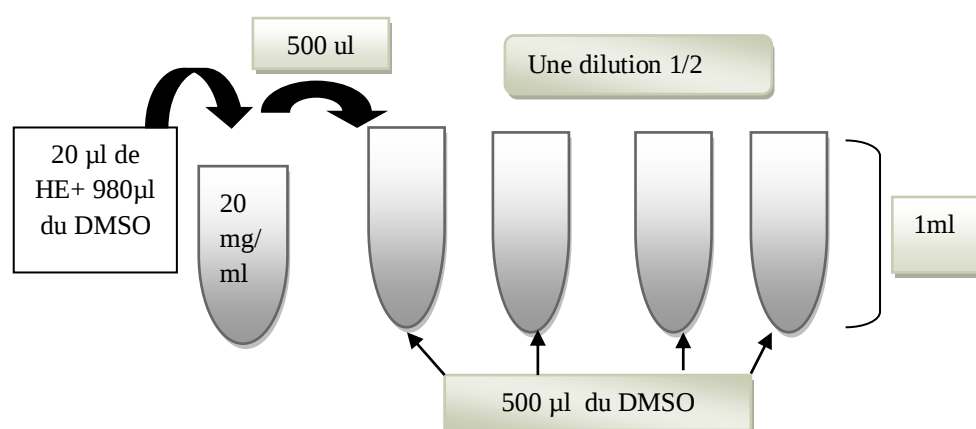
###### ✓ principe

L'existence de ce radical confère à la solution une teinte violacée qui absorbe autour de 517 nm. L'agent antioxydant réduit les radicaux DPPH, provoquant une décoloration de la solution qui passe au jaune et par là même, une diminution de l'absorbance (Atoui *et al.*, 2005; Mensor *et al.*, 2001).

###### ✓ Mode d'opération

Le test de DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par Bektas *et al.* (2005).

- Préparer une série de concentration de l'extrait étudié: HE de *Laurus nobilis* solubilisés dans le DMSO à 1% à différentes concentration (20; 10; 5; 2,5; 1,25 ; 0,625; 0,31 mg/ml).



**Figure 7:** Préparation d'une série de dilution.

- Préparer trois séries des milieux réactionnelles contenant 50µl d'extrait à différentes concentrations.
- Ajouter à chaque 50 µl de concentrations préparées, 1950µl d'une solution de DPPH.
- Préparer pour chaque concentration d'extraits étudiés un tube blanc en mélangeant 50µl d'extraits préparés avec 1950µl de l'éthanol.
- Préparer un témoin négatif en ajoutant 50µl de l'éthanol à 1950µl d'une solution de DPPH + son blanc éthanol seul.
- Incuber l'ensemble des tubes 20 min à l'obscurité et à température ambiante.
- Lire l'absorbance à 517 nm.
- le BHA a été également préparés à différentes concentrations comme contrôle positif dans les mêmes conditions expérimentales.

### ✓ Expression des résultats

Les résultats du piégeage du radical libre DPPH sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) calculé selon la formule suivante:

$$I \% = [(Absorbance \text{ Témoin négatif} - Absorbance \text{ échantillon}) / Absorbance \text{ Témoin négatif}] \times 100$$

Les résultats sont aussi exprimés sous forme d'une courbe % = f (C) les pourcentages en fonction des concentrations avec une valeur de IC<sub>50</sub> qui représente la concentration de l'extrait responsable de la réduction de 50% du DPPH.

## 5. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait d'huile essentielle de *L.nobilis* vis-à-vis la souche testée a été évaluée par différentes méthodes :

- Méthode de diffusion sur gélose: méthode des disques.
- Méthode de micro dilution en milieu liquide (concentration minimal inhibitrice «CMI»).

### ✓ Souches testées

Sept souches bactériennes de référence ont été utilisées pour déterminer l'activité antibactérienne de notre huile essentielle de *Laurus nobilis*, Les souches proviennent du laboratoire antibiotique, antifongique: physico-chimie, synthèse et activité biologique de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université d'Abou Bekr-Belkaid Tlemcen. Les souches sont représentées dans le tableau suivant.

**Tableau 4:** les différentes souches bactériennes testées

| Souches bactériennes testées |                                          |
|------------------------------|------------------------------------------|
| Bactérie à Gram négatif      | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       |
|                              | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603  |
|                              | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 |
| Bactérie à Gram positif      | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923  |
|                              | <i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778        |
|                              | <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633       |
|                              | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212  |

#### ✓ Préparation des milieux de cultures

Les milieux de cultures dont le bouillon Muller Hinton (BMH), la gélose Muller Hinton (GMH) ont été préparés à partir de poudre déshydratées on ajoutant la quantité nécessaire en poudre dans un erlenmeyer contenant de l'eau distillée convenable à la quantité du milieu, puis déposer le tout sur une plaque chauffante jusqu'à l'ébullition. Les milieux de cultures ont été coulés dans des boîtes de Pétri stériles ou conservés dans des flacons stériles avant leur emploi.

#### ✓ Stérilisation du matériel

Les milieux de culture, l'eau distillée, l'eau physiologique, le DMSO, les tubes eppendorf, les tubes à hémolyse, les disques en papier, les tubes à essai utilisés pour la préparation des solutions bactériennes, les embouts ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

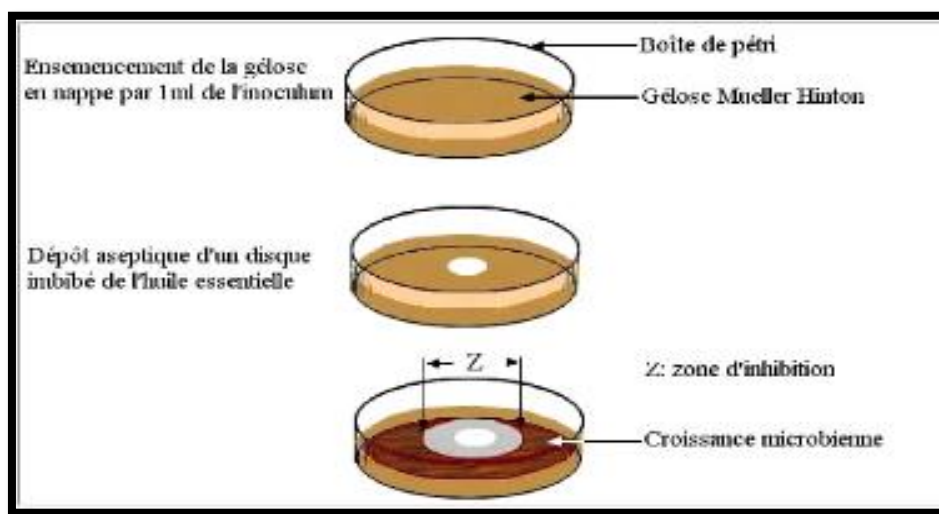
#### ✓ Préparation de l'inoculum

Les souches de références ont été ensemencées dans des tubes à visse contenant le bouillon MH et incubées à 37°C pendant 24h. Afin d'obtenir une bonne activité, une standardisation de l'inoculum des bactéries testées doit être réalisée. Après l'incubation la turbidité est ajustée selon le standard 0,5 Mac Farland à l'aide d'un colorimètre, ce qui est

équivalent à  $10^8$  UFC/ml pour les bactéries (DO= 0.08 à 0.1 / 625 nm), selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024).

### 5.1. Application de la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques)

La gélose Muller-Hinton a été coulé dans les boîtes de Pétri stériles. Les suspensions bactériennes standardisées sont ensemencées par la suite par écouvillonnage. Ensuite, des disques en papier stériles sont déposés sur la gélose déjà ensemencée puis imbibés de 20  $\mu$ l d'huile essentielle de *Laurus nobilis*, plus un témoin positif (la gentamicine) et un témoin pour assurer la stérilité d'huile. Les boîtes sont laissées pendant une heure à température ambiante afin de permettre une bonne diffusion de l'extrait avant qu'elles soient incubées à 37°C pendant 24 h (Burt *et* Reinders, 2003).



**Figure 8:** Illustration de la méthode d'aromatogramme (Boukhatem *et al.*, 2014).

### 5.2. Méthode de micro dilution en milieu liquide (Détermination de la concentration minimal inhibitrice «CMI»)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles a été réalisée par la méthode de microdilution en milieu liquide sur microplaques de 96 puits, selon une méthode adaptée de celle décrite par Benaissa *et al.* (2024). La CMI a été définie comme étant la plus faible concentration d'huile essentielle ne présentant aucune croissance bactérienne visible après incubation.

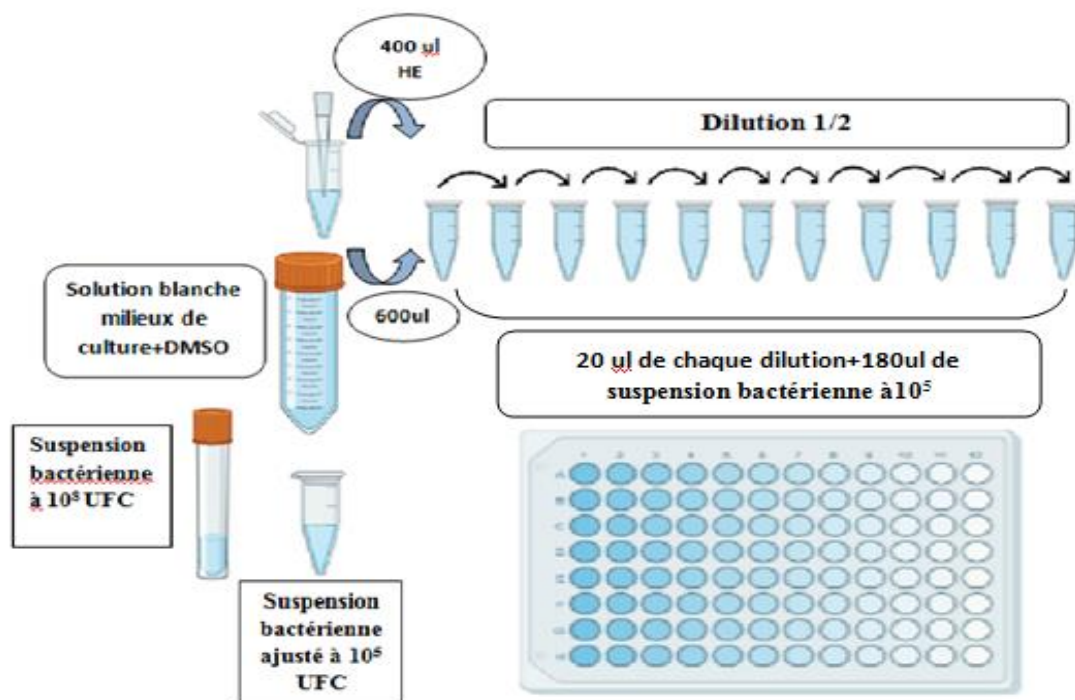
### 5.2.1. Préparation des solutions et réalisation des dilutions

Une solution mère d'huile essentielle a été préparée à une concentration de 40 % (v/v). Les différentes concentrations utilisées au cours de l'essai ont été obtenues par dilutions successives dans du bouillon Mueller-Hinton (MH) additionné de 1 % (v/v) de DMSO, utilisé comme agent dispersant afin de favoriser la solubilisation de l'huile essentielle dans le milieu de culture.

Afin de maintenir une concentration homogène en DMSO dans l'ensemble des puits, une solution complémentaire composée de bouillon MH et de DMSO à 1 % a également été préparée. Les suspensions bactériennes, préalablement ajustées à une concentration de  $10^8$  UFC/ml, ont ensuite été diluées pour obtenir une inoculation finale de  $10^5$  UFC/ml.

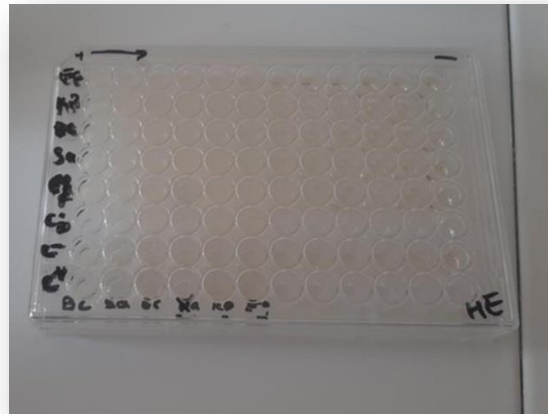
Pour chaque puits de la microplaque, 180  $\mu$ l de suspension bactérienne ont été distribués, puis 20  $\mu$ l de la dilution correspondante d'huile essentielle ont été ajoutés. La concentration finale de DMSO dans chaque puits a été maintenue à 0,1 % (v/v). Les concentrations finales d'huile essentielle testées variaient de 4 % à 0,0019 % (v/v).

Après incubation, la lecture des résultats a été effectuée visuellement afin d'identifier la plus faible concentration inhibant totalement la croissance bactérienne.



**Figure 9:** La méthode de micro dilution en milieu liquide CMI (Benaissa *et al.*, 2024).

Afin de valider rigoureusement la manipulation, trois types de témoins ont été systématiquement inclus sur les microplaques (Figure 10).



**Figure 10** : microplaque (photo prise au laboratoire)

- Un contrôle positif (Témoin de croissance): Puits contenant de la suspension bactérienne et de bouillon MH.
- Un contrôle négatif (Témoin de stérilité): Puits contenant uniquement le milieu de culture. Il garantit la stérilité parfaite des milieux.
- Plus un contrôle D: milieux de culture + DMSO+ souches.

L'ensemble de l'expérimentation a été répété trois fois pour chaque souche bactérienne testée. Après incubation, la lecture des résultats a été effectuée visuellement afin d'identifier la plus faible concentration inhibant totalement la croissance bactérienne.

### **6. Activité hémolytique (cytotoxicité)**

L'activité hémolytique repose sur la capacité d'un composé à lyser les globules rouges, provoquant la libération de l'hémoglobine dans le milieu réactionnel, après incubation du mélange érythrocytes + extrait, l'absorbance du surnageant est mesurée à 548 nm elle est proportionnelle au degré d'hémolyse. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hémolyse par comparaison avec un contrôle positif et un contrôle négatif (Guo-Xiang *et* Zai-Qun, 2008).

### 6.1. Matériel et réactifs utilisés

- ✓ Sang humain (un prélèvement frais d'un donneur sain) figure 11.
- ✓ Tampon PBS préalablement préparé (pH 7,4).
- ✓ Huile essentielle diluée dans DMSO ( $\leq 1\%$  final).
- ✓ Eau distillée.
- ✓ L'eau physiologique préparée.
- ✓ Tubes eppendorf, tubes à hémolyse, des cuves.
- ✓ Centrifugeuse.
- ✓ Spectrophotomètre réglé à 548 nm.



**Figure 11:** Prélèvement sanguin frais.

### 6.2. Préparation de la suspension érythrocytaire à 2 %

- ✓ Prélever du sang frais.
- ✓ Centrifuger 5 minutes à 4000 rpm.
- ✓ Retirer le plasma et laver le culot globulaire 3 fois avec l'eau physiologique (solution isotonique à 0.9% NaCl).
- ✓ Retirer l'eau physiologique le surnageant.
- ✓ Prélever 2 ml du culot et compléter dans une fiole jaugée de 100 ml avec PBS (10 mM, pH 7.4) (figure12).



**Figure 12 :** suspension érythrocytaire à 2 %.

### 6.3. Préparation d'une série de dilution de l'extrait

Préparer une gamme de concentrations: 200; 100; 50; 25; 12,5 mg/ml.

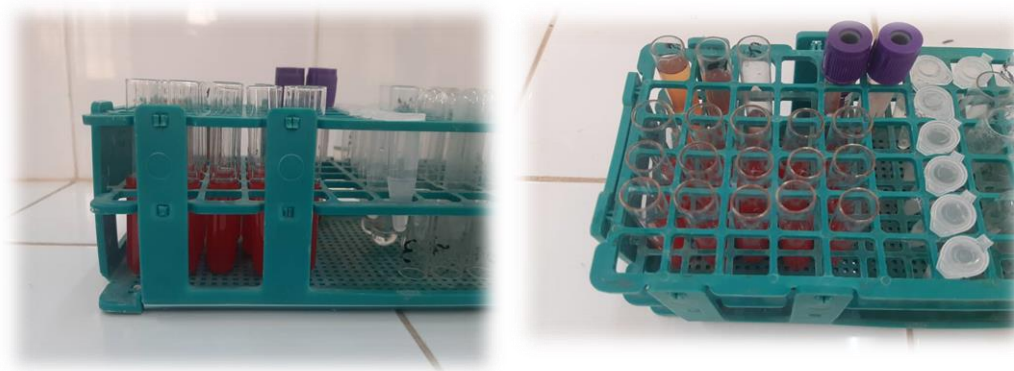
Remarque: l'huile essentielle a été diluée dans du DMSO avec le PBS.

#### • Mode opératoire

- Préparer 3 séries d'essais (figure13).

Dans chaque tube, mettre :

- 2970  $\mu$ L de suspension d'hématies (2 %).
- 30  $\mu$ L de la concentration d'huile essentielle pour chaque dilution.
- Préparer les contrôles
  - Contrôle positif (C+) : 2970  $\mu$ L hématies + 30  $\mu$ L eau distillée.
  - Contrôle négatif (C-) : 2970  $\mu$ L hématies + 30  $\mu$ L PBS.
- Incuber 1 h à température ambiante.
- Transférer 100  $\mu$ L de chaque tube avec 1900  $\mu$ L du PBS.
- Centrifuger 5 min à 4000 rpm.
- Transférer le surnageant dans des cuves et mesurée à 548 nm.



**Figure 13:** Trois séries d'essais du test de l'activité hémolytique  
(photo prise au laboratoire).

Les taux d'hémolyse induite par différentes concentration des extraits a été calculés en pourcentage par rapport l'hémolyse totale :

**Taux d'hémolyse (%)**

$$= \frac{\text{Abs (extrait)} - \text{Abs (contrôle négatif)}}{\text{Abs ( control positif) - Abs (control négatif )} * 100}$$

# Résultats et discussion

### 1. Rendement d'extraction d'huile

L'extraction par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger menée sur une biomasse de la partie aérienne de *Laurus nobilis* fraîche, récoltée dans la région de Mansourah Tlemcen (Algérie) au mois d'avril a permis d'obtenir après un temps maximal d'extraction de trois heures, un rendement en huile essentielle de 0,35 %.

Sur le plan quantitatif, ce résultat s'écarte des exigences de la norme AFNOR, qui indique généralement un rendement minimal supérieur ou égal à 0,8 % pour des feuilles mondées de qualité commerciale de Laurier noble (AFNOR, 2000).

D'une part cette différence pourrait être expliquée par le génotype des espèces récoltées, la saison de la récolte ainsi que les conditions géographiques et climatiques, où nos résultats sont comparables avec l'étude de Saidi et Tobji (2015) réalisée avec une espèce récoltée dans la wilaya de Bejaïa avec un rendement de 0,53 %.

D'autre part, l'explication majeure de notre baisse de taux de 0,35 % réside principalement dans l'hétérogénéité du matériel végétal distillé. En effet, notre échantillon comporte une forte proportion de tiges mélangées à des feuilles. Sur le plan anatomique, les structures tissulaires spécialisées (cellules aromatiques à essence) sont localisées de façon quasi-exclusive dans les feuilles, tandis que les tiges sont principalement constituées de tissus de soutien pauvres en métabolites volatils. Cette observation est confirmée par l'étude menée par Ghedouari (2012) qui a évalué séparément la capacité sécrétoire des organes de *Laurus nobilis* en matière de production d'huile essentielle. Elle a ainsi constaté que les feuilles de laurier en Algérie enregistraient un rendement moyen optimal de 0,79 %, tandis que les tiges ne dépassaient pas un seuil critique de 0,10 %. En conséquence, l'addition d'une masse importante de tiges a provoqué une augmentation de la biomasse totale (PB: poids de la plante en g) sans apport d'essence, conduisant mathématiquement à une dilution du rendement global à 0,35 %.

Malgré cette limitation quantitative, l'évaluation qualitative a révélé des propriétés organoleptiques conformes aux standards montrés dans le tableau 5.

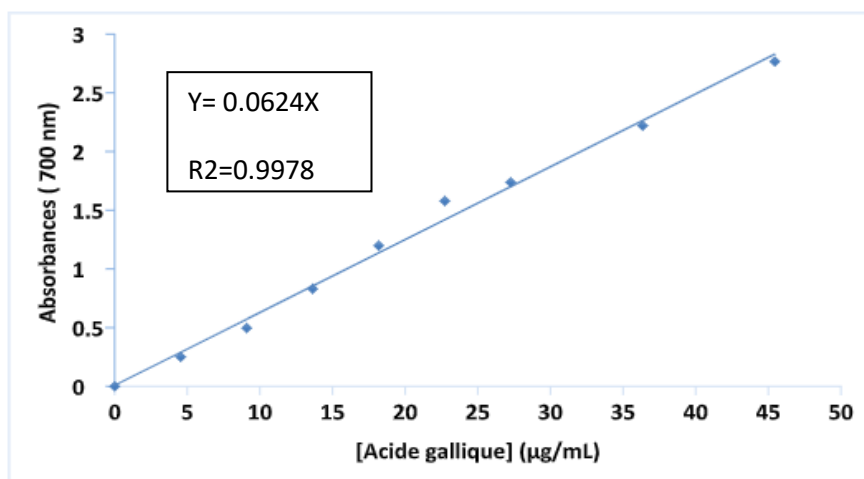
**Tableau 5:** propriétés organoleptiques et rendement d'huile de laurier noble.

|                   | HE de la partie aérienne du<br><i>Laurus nobilis</i>                                |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Rendement %       | 0.35                                                                                |
| Couleur           | Jaune pale                                                                          |
| Aspect            | Liquide, limpide                                                                    |
| Odeur             | Odeur fraîche Aromatique, épicée, camphrée, un peu âcre                             |
| Saveur            | Piquante                                                                            |
| Huile essentielle |  |

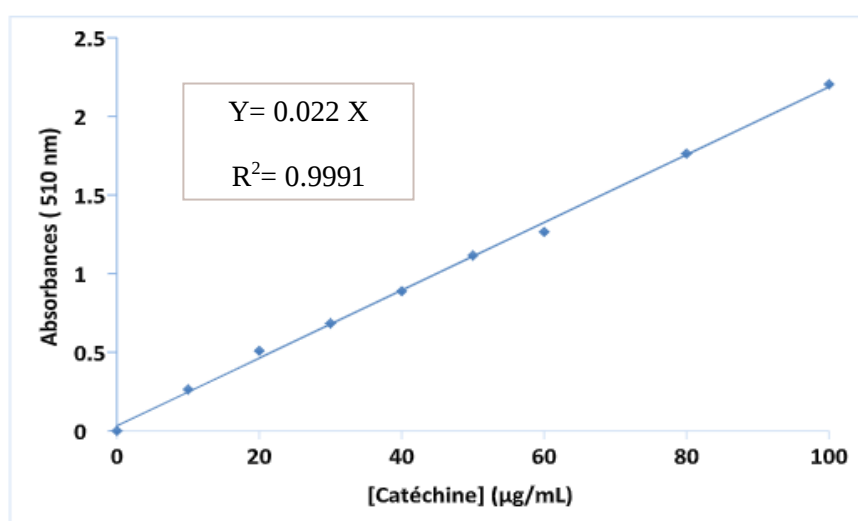
## 2. Dosage des composés phénoliques

Notre HE étudiée a été soumise à un dosage quantitatif par des méthodes spectrophotométriques, afin de déterminer les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés. Les teneurs en composés précédents ont été calculées en se référant à des courbes d'étalonnage, de l'acide gallique (Figure 14) pour les polyphénols totaux, et de la catéchine (Figures 15, 16) pour les flavonoïdes et les tanins condensés respectivement.

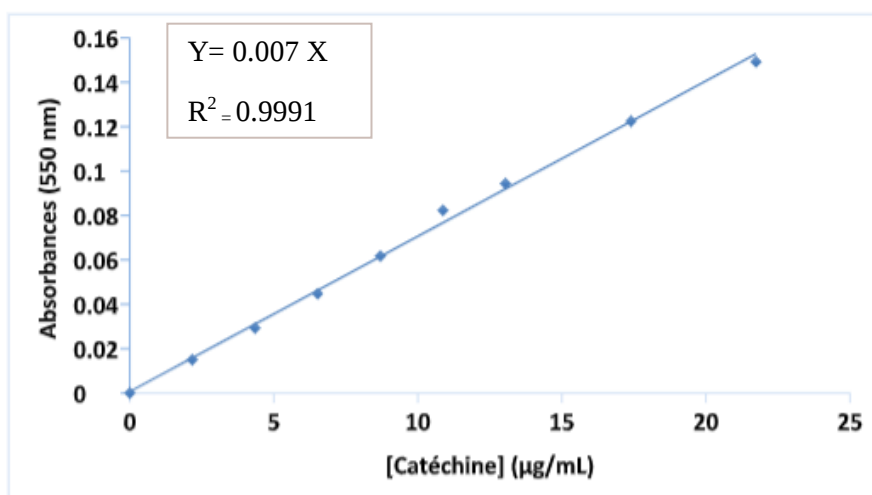
Les teneurs en composés phénoliques sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'HE (mg EAG/g HE) pour les polyphénols totaux, et en milligramme équivalent catéchine par gramme d'HE (mg EQC/g HE) pour les flavonoïdes et les tanins condensés. Les résultats sont représentés dans le tableau 06.



**Figure 14:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des polyphénols totaux)



**Figure 15:** Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des flavonoïdes)



**Figure 16:** Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des tanins condensés)

**Tableau 6:** Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans HE de *Laurus nobilis*

|         | composés phénoliques       |                            |                       |
|---------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Extrait | Polyphénols<br>mg EAG/g HE | Flavonoïdes<br>mg EQC/g HE | Tanins<br>mg EQC/g HE |
| HE      | 71,81 ± 2,13               | 18,18 ± 10,15              | 71,21 ± 5,96          |

L'analyse quantitative révèle que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* de la région de Mansourah Tlemcen est particulièrement riche en composés phénoliques, avec une prédominance marquée des polyphénols totaux (71,81 ± 2,13 mg EAG/g HE), les tanins condensés représentent également une fraction majeure de ces métabolites secondaires avec une teneur de 71,21 ± 5,96 mg EQC/g HE, suivis par les flavonoïdes avec une faible teneur de 18,18 ± 10,15 mg EQC/g HE.

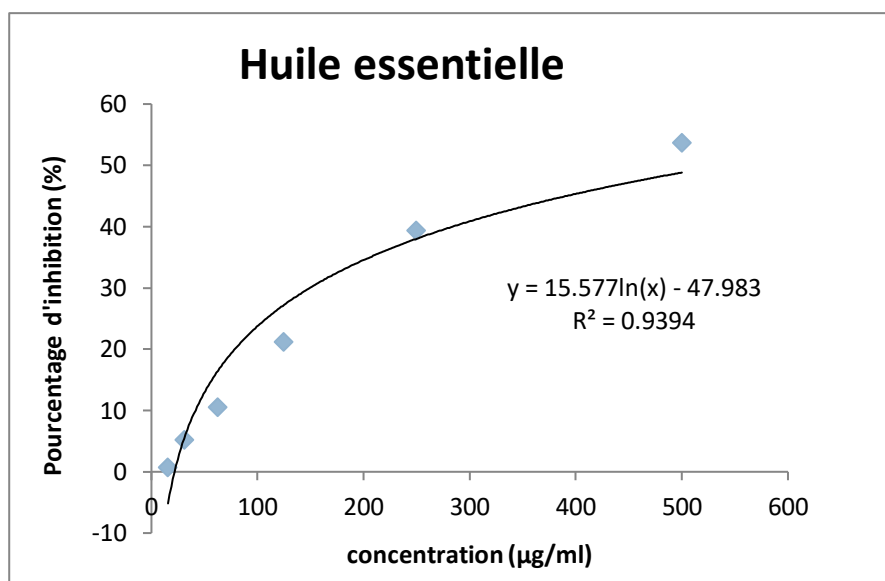
Bien que les huiles essentielles soient théoriquement pauvres en composés phénoliques (polaires), notre extrait se distingue par des teneurs notables en polyphénols et tanins. A titre de comparaison, l'étude de Fantasma *et al.* (2024) réalisée sur des feuilles de *Laurus nobilis* récoltées dans plusieurs régions d'Italie rapporte des valeurs comprises entre 6,60 ± 0,29 et 11,36 ± 0,23 mg EAG/g HE. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique de la plante, les conditions climatiques, la nature de la matière végétales. En particulier, l'utilisation de la plante fraîche permet de mieux préserver les composés phénoliques et d'éviter les pertes liées au séchage, contribuant ainsi à des teneurs plus élevées en composés phénoliques.

### 3. Activité antioxydante

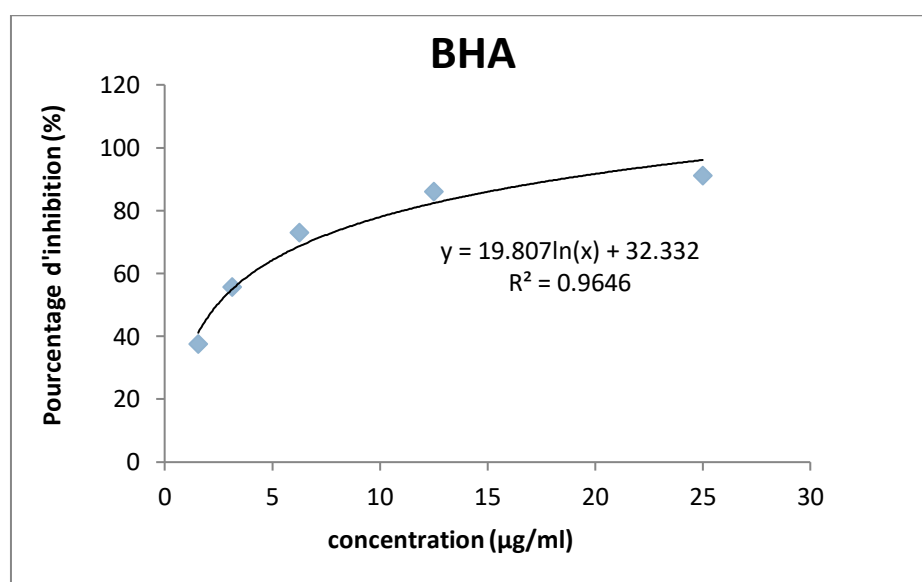
Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* dans cette étude a été évalué par la méthode DPPH, les résultats obtenus ont été comparés avec une molécule de référence qui est le BHA.

#### 3.1. Piégeage du radical DPPH par l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Les variations du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'huile essentielle de *Laurus nobilis* et du standard BHA sont représentées par les figures 17 et 18, respectivement.



**Figure 17:** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de *Laurus nobilis*.



**Figure18:** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de BHA

Selon la figure 17, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle avec une régression logarithmique bien corrélée ( $R^2 = 0,939$ ). A faible concentration (31,25 µg/ml) le pourcentage d'inhibition est relativement faible, atteignant 5,28 %, mais il augmente régulièrement avec l'augmentation de la concentration de l'huile, à une concentration intermédiaire de 250µg/ml on observe une augmentation de l'activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de 39,39 %. La concentration la plus élevée 500µg/ml, donne un pourcentage d'inhibition de 53,75%, ce qui

indique que l'huile essentielle a une activité antioxydante considérable à cette concentration, parvenant à franchir le seuil des 50 %.

D'après la figure 18, la courbe établie entre les pourcentages d'inhibition de DPPH et les concentrations du BHA montre des pourcentages d'inhibition corrélés de manière significative à des concentrations croissantes de ce composé. En effet, à sa concentration maximale de 25 µg/ml, il atteint un pourcentage d'inhibition de 91,1 %.

En comparaison entre l'HE et le témoin, on note que le standard BHA présente des pourcentages d'inhibition nettement plus importants que l'huile essentielle de *Laurus nobilis*.

### 3.2. Calcul des IC<sub>50</sub>

Les résultats des IC<sub>50</sub> de l'huile essentielle et de la molécule de référence sont représentés dans le tableau suivant.

**Tableau 7 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> de l'huile essentielle et du BHA

| Échantillons                                | IC <sub>50</sub> (µg/ml) |
|---------------------------------------------|--------------------------|
| Huile essentielle ( <i>Laurus nobilis</i> ) | 540,7                    |
| BHA                                         | 2,44                     |

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que le BHA possède l'activité antioxydante la plus puissante, avec une IC<sub>50</sub> très faible de 2,44 µg/ml tandis que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* présente une IC<sub>50</sub> de 540,7 µg/ml indiquant une activité antioxydante notable, bien que toujours inférieure à la molécule de référence.

Notre huile essentielle de *Laurus nobilis* a présenté une activité antioxydante importante caractérisée par une IC<sub>50</sub> de 540.7 µg/ml. Cette valeur est inférieure à celle rapportée par Ouibrahim *et al.* (2015) pour une huile essentielle de *Laurus nobilis* provenant de la région d'El Kala (nord-est algérien) avec une IC<sub>50</sub> = 1,75 ± 0,02 mg/ml ≈ 1750 ± 20 µg/ml, indiquant une meilleure capacité de piégeage du radical DPPH dans notre étude.

### Activité antibactérienne

L'étude de cette activité a été réalisée par deux techniques. La technique qualitative de diffusion sur gélose: méthode des disques, basée sur la mesure des diamètres d'inhibition en mm. Pour évaluer l'activité antibactérienne de notre huile essentielle, nous avons utilisé la transcription de Biyiti *et al.* (2004).

Zone d'inhibition(D) :  $D < 8 \rightarrow$  transcription ( - )  $\rightarrow$  sensibilité: résistante.

Zone d'inhibition(D) :  $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm} \rightarrow (+) \rightarrow$  sensible.

Zone d'inhibition(D) :  $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm} \rightarrow (+ +) \rightarrow$  assez sensible.

Zone d'inhibition(D) :  $D \geq 20\text{mm} \rightarrow (+ + +) \rightarrow$  très sensible.

\*diamètre du disque inclus.

La deuxième technique utilisée, c'est la micro dilution en milieu liquide (concentration minimal inhibitrice «CMI»), est une approche quantitative visant à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance microbienne.

#### 4.1. Méthode de diffusion sur gélose: méthode des disques.

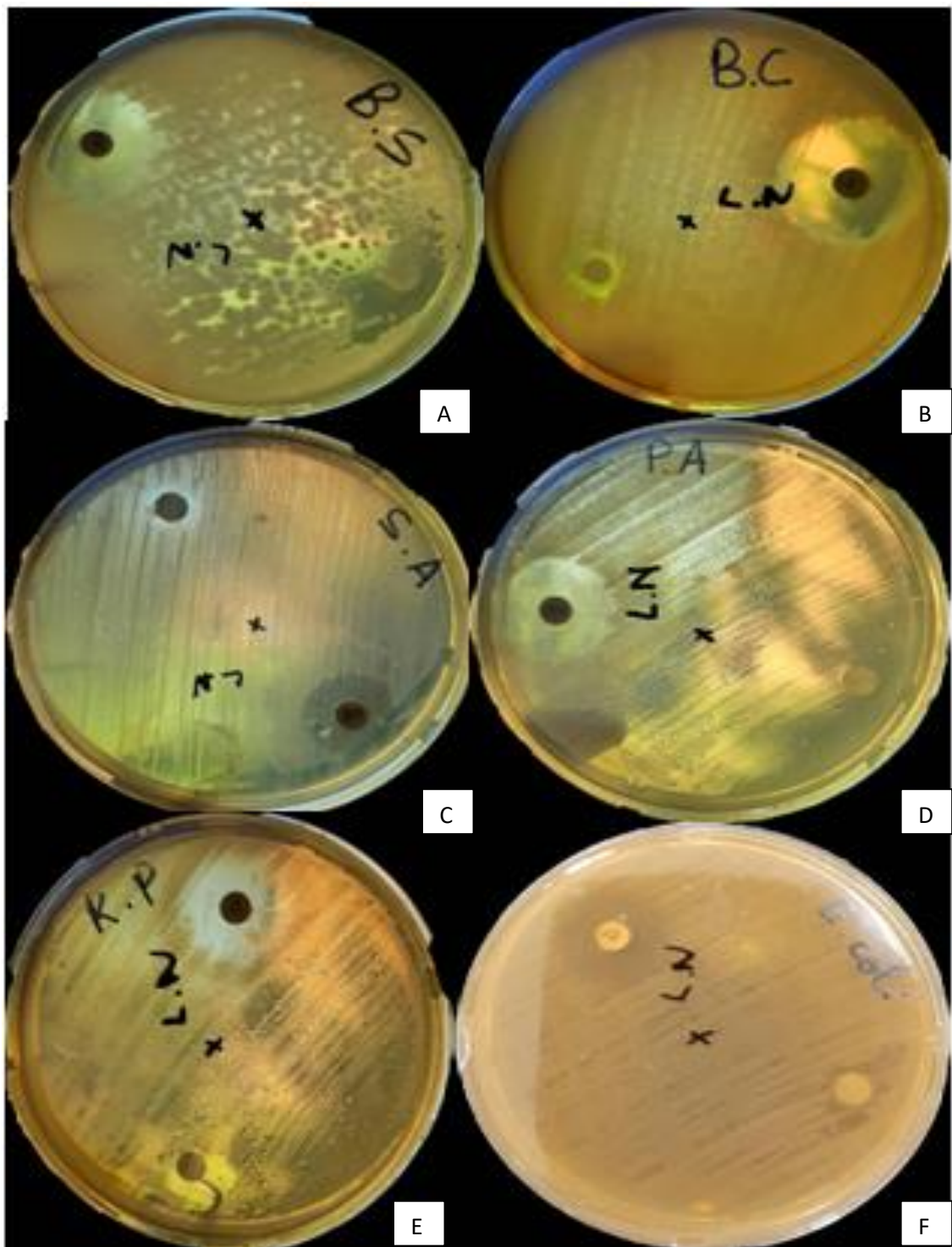
Les diamètres d'inhibition ainsi que leur transcription en termes de sensibilité sont représentés dans le Tableau 8.

**Tableau 8 :** Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour l'huile essentielle de *Laurus nobilis* et la gentamicine.

| Souches                                     | Diamètre d'inhibition HE | Diamètre d'inhibition gentamicine | Transcription |
|---------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------|
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 25922       | 20±0.5                   | 23                                | + + +         |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i><br>ATCC 70603  | 18±1                     | 25                                | + +           |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853 | 9±1.8                    | 21                                | +             |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 25923  | 12±2                     | 19                                | +             |
| <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | 25±2                     | 25                                | + + +         |
| <i>Bacillus cereus</i><br>ATCC 6633         | 14±0.8                   | 23                                | +             |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC29212   | 6±0.6                    | 18                                | -             |

(+ :sensible ; + + :assez sensible ; + + + : très sensible ; - : résistante )

Le contrôle de stérilité de l'huile essentielle n'a révélé aucune croissance microbienne après incubation, indiquant l'absence de contamination de l'échantillon.



**Figure 19 :** Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur gélose (test d'aromatogramme) ( A : *Bacillus subtilis* ; B : *Bacillus cereus* ; C : *Staphylococcus aureus* ; D : *Pseudomonas aeruginosa* ; E : *Klebsiella pneumoniae* ;

F : *Escherichia coli*).

Les souches *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* ont montré une sensibilité notable à l'huile essentielle testée, avec des diamètres d'inhibition respectivement de 25 mm (très sensible) et 20 mm (très sensible).

*Klebsiella pneumoniae* présente une sensibilité modérée, avec une zone d'inhibition de 18 mm (assez sensible).

*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, présentent une faible sensibilité, avec des zones d'inhibition respectivement de 14 mm, 12 mm et 9 mm,. Les résultats obtenus révèlent une efficacité antibactérienne à large spectre de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, qui parvient à inhiber de manière significative aussi bien des souches à Gram positif que des souches à Gram négatif.

Tandis que, *Enterococcus faecalis* a présenter aucune sensibilité avec un diamètre d'inhibition  $\approx$  6 mm.

Ces observations sont en accord avec plusieurs travaux réalisés en Algérie. Ainsi, l'étude de Kheyar *et al.* (2014), qui ont analysé l'huile essentielle de *Laurus nobilis* de la région de Béjaïa, ont rapporté que *Pseudomonas aeruginosa* était la souche la plus résistante parmi les microorganismes testés, tandis que d'autres bactéries présentaient des sensibilités plus marquées. De même, les résultats obtenus dans notre étude sont comparables à ceux rapportés par Bouchaale *et al.* (2015) lors d'une étude comparative portant sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* d'origine algérienne et tunisienne. Les auteurs ont montré que les deux huiles exerçaient une activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec une sensibilité plus marquée pour *S. aureus*, suivie d' *E. coli* puis de *P. aeruginosa*.

#### **4.2. Méthode de micro dilution en milieu liquide (concentration minimal inhibitrice «CMI»).**

Les résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de notre huile essentielle brute vis-à-vis des sept souches bactériennes testées sont consignés dans le tableau 9.

**Tableau 9 :** Evaluation des concentrations minimales Inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle

| HE<br>Bactéries<br>/<br>contrôles     | CMI (%) |    |     |      |       |        |        |        |         |         |         |         |
|---------------------------------------|---------|----|-----|------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
|                                       | 4%      | 2% | 1%  | 0,5% | 0.25% | 0.125% | 0.062% | 0.031% | 0.0155% | 0.0077% | 0.0038% | 0.0019% |
| <i>E. coli</i><br>ATCC<br>25922       | -       | -  | -   | -    | -     | -      | -      | -      | -       | -       | -       | CMI<    |
| <i>K. pneumoniae</i><br>ATCC<br>70603 | -       | -  | -   | -    | -     | -      | -      | -      | CMI     | +       | +       | +       |
| <i>B.cereus</i><br>ATCC<br>11778      | -       | -  | -   | -    | -     | -      | -      | -      | -       | CMI     | +       | +       |
| <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>25923     | -       | -  | -   | -    | -     | -      | CMI    | +      | +       | +       | +       | +       |
| <i>E. faecalis</i><br>ATCC<br>29212   | -       | -  | CMI | +    | +     | +      | +      | +      | +       | +       | +       | +       |
| <i>B.subtilis</i><br>ATCC 6633        | -       | -  | -   | -    | -     | -      | -      | -      | CMI     | +       | +       | +       |
| <i>p. aeruginosa</i><br>ATCC<br>27853 | -       | -  | -   | CMI  | +     | +      | +      | +      | +       | +       | +       | +       |
| Contrôle +                            | +       | +  | +   | +    | +     | +      | +      | +      | +       | +       | +       | +       |
| Contrôle -                            | -       | -  | -   | -    | -     | -      | -      | -      | -       | -       | -       | -       |
| Contrôle du DMSO                      | +       | +  | +   | +    | +     | +      | +      | +      | +       | +       | +       | +       |

de *Laurus nobilis* par la méthode de microdilution

(-) : aucune croissance bactérienne visible.

(+) : Croissance bactérienne observée

CMI < : CMI au-delà de la plus forte dilution réalisée.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de microdilution a été validée en premier lieu par les résultats des contrôles réalisés: absence de croissance dans le contrôle

négatif, croissance dans le contrôle positif et dans le contrôle du DMSO, indiquant que l'activité observée est uniquement attribuée à l'huile essentielle.

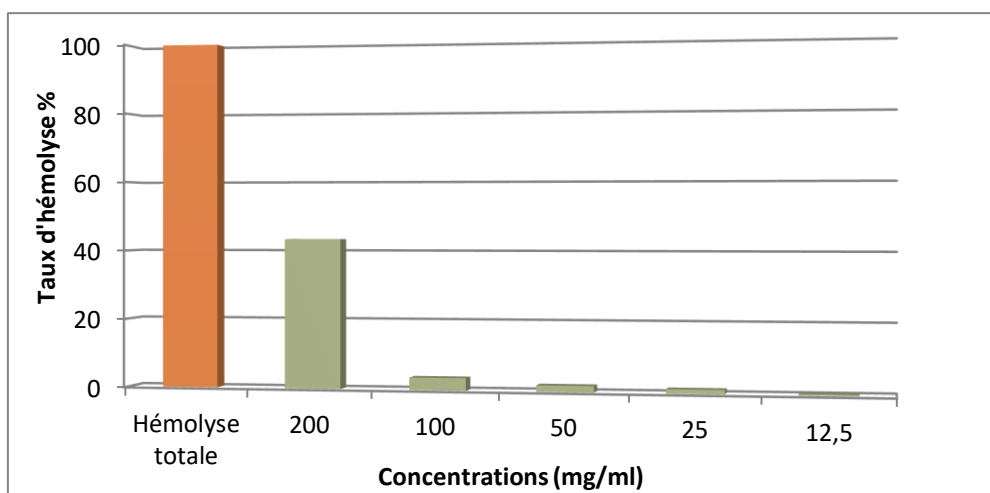
Concernant l'action de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, les résultats révèlent une efficacité remarquable, avec une variabilité d'action selon les souches bactériennes testées. *Escherichia coli* apparaît comme la souche la plus sensible, présentant une concentration minimale inhibitrice très faible (CMI  $\leq 0,0019$  %). Une forte activité est également enregistrée vis-à-vis de *Bacillus cereus* (CMI = 0,0077 %), suivis par *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus subtilis* qui affichent tous deux une CMI de 0,0155 %, tandis que *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité intermédiaire avec une CMI de 0,062 %. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* (CMI = 0,5 %) et *Enterococcus faecalis* (CMI = 1 %) se révèlent être les souches les moins sensibles.

D'une part, les résultats obtenus sont globalement en accord avec ceux de Goudjil *et al.* (2015), qui ont mis en évidence une activité antibactérienne de *Laurus nobilis* variable selon les souches, avec une sensibilité plus marquée pour *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et une moindre sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa*.

D'autre part, notre huile essentielle étudiée a montré une activité antibactérienne à large spectre, parvenant à inhiber efficacement aussi bien le développement de bactéries à Gram positif que celui des bactéries à Gram négatif. Nos résultats obtenus se sont révélés comparables à ceux rapportés par Caputo *et al.* (2017). En effet, notre huile essentielle a présenté des CMI pour *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*, inférieures à celles rapportées par l'étude de Caputo (0,8  $\mu\text{l/ml}$  et 0,2  $\mu\text{l/ml}$  respectivement), indiquant une activité plus marquée dans notre étude pour ces deux souches. En revanche, une activité moins importante a été observée contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* dans cette étude (0,4  $\mu\text{l/ml}$  pour les deux), confirmant ainsi une sensibilité variable selon les microorganismes.

### 5. Evaluation de l'activité hémolytique (cytotoxicité)

L'évaluation de l'effet hémolytique *in vitro* sur des érythrocytes humains est une étape biologique cruciale pour déterminer la sécurité d'emploi d'un extrait végétal. Les résultats du pourcentage d'hémolyse induit par l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à différentes concentrations sont illustrés par la Figure 20.



**Figure20:** Pourcentage d'hémolyse de différentes concentrations d'huile essentielle de *Laurus nobilis*.

D'après les résultats, il est observé que le taux d'hémolyse varie en fonction de la concentration d'huile essentielle, à sa concentration maximale testée de 200 mg/ml, l'huile essentielle provoque un taux d'hémolyse relativement important atteignant environ 43 %. Cependant, dès que l'extrait est dilué à 100 mg/ml, ce pouvoir cytotoxique chute pour atteindre une valeur très faible (inférieure à 5 %). Pour les concentrations plus faibles (50 ; 25; 12,5 mg/ml), le pourcentage de lyse cellulaire devient quasiment nul et totalement négligeable.

En comparant ces données au contrôle positif (représentant l'hémolyse totale à 100 % obtenue par choc osmotique induit par l'eau distillée), on constate que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* s'avère non toxique pour les membranes érythrocytaires aux concentrations inférieures ou égales à 100 mg/ml. Ces résultats confirment la sécurité de cet extrait végétal, renforçant ainsi l'intérêt de son exploitation dans le domaine biomédical et pharmacologique.

Les données relatives à l'activité hémolytique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* demeurent limitées dans la littérature. Toutefois, les résultats obtenus sont en accord avec l'étude de Caputo *et al.* (2017), qui a montré que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* présente une cytotoxicité dose-dépendante contre une lignée cellulaire humaine de type neuroblastome, avec une faible toxicité aux faibles concentrations et une augmentation des effets cytotoxiques à fortes doses.

# Conclusion générale

*Laurus nobilis* est une plante médicinale reconnue pour ses propriétés biologiques. Ce travail vise à caractériser et à évaluer les activités biologiques de l'huile essentielle de cette plante, fraîchement récoltée dans la région de Mansourah, au sein de la wilaya de Tlemcen.

Sur le plan quantitatif, l'extraction par hydrodistillation a révélé un rendement faible de 0,35 %. Notre analyse a permis de relier cette caractéristique à des facteurs anatomiques précis, notamment la présence d'une proportion importante de tiges au sein du matériel végétal distillé, qui a provoqué un effet de dilution du rendement.

Sur le plan phytochimique, les analyses ont mis en évidence une richesse remarquable en composés phénoliques, avec une présence dominante de polyphénols totaux et de tanins condensés, suivi par les flavonoïdes.

Les évaluations biologiques ont pleinement validé le potentiel thérapeutique de cet extrait :

- Le pouvoir antioxydant: L'huile essentielle a démontré une capacité significative à piéger les radicaux libres, confirmant son intérêt pour lutter contre le stress oxydatif.
- L'efficacité antibactérienne: les tests ont mis en évidence une action à large spectre, l'huile parvenant à inhiber efficacement aussi bien le développement de bactéries à Gram positif que celui des bactéries à Gram négatif.
- L'évaluation de la cytotoxicité: les essais menés sur des érythrocytes humains ont confirmé la sécurité de l'extrait. L'huile essentielle ne présente pas de toxicité vis-à-vis des érythrocytes aux doses  $\leq 100\text{mg/ml}$ .

En conclusion, ces résultats prometteurs confirment la valeur scientifique et le potentiel de la flore de la région de Tlemcen. Ils encouragent la poursuite des recherches sur l'huile essentielle de *Laurus nobilis*. Des études futures pourraient porter sur l'identification des molécules bioactives responsables des activités observées, l'évaluation de leur effet synergique avec les antibiotiques conventionnels, ainsi que l'étude de leur mécanisme d'action. Il serait également pertinent d'étendre les essais biologiques à d'autres modèles cellulaires et à des études *in vivo*.

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* pourrait constituer une alternative naturelle ou un agent complémentaire prometteur dans les secteurs biomédical, pharmaceutique et agroalimentaire.

# Références bibliographiques

## A

- Al-Mijalli, S. H., Mrabti, H. N., Ouassou, H., Flouchi, R., Abdallah, E. M., Sheikh, R. A., ... & Faouzi, M. E. A. (2022). Chemical composition, antioxidant, anti-diabetic, anti-acetylcholinesterase, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of *Arbutus unedo* L. and *Laurus nobilis* L. essential oils. *Life*, 12(11), 1876.
- Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food chemistry*, 104(1), 21-29.
- Anzano, A., de Falco, B., Grauso, L., Motti, R., & Lanzotti, V. (2022). Laurel, *Laurus nobilis* L.: a review of its botany, traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Phytochemistry Reviews*, 21(2), 565-615.
- Association française de normalisation (afnor). (2000).
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89(1), 27-36.
- Awada, F., Hamade, K., Kassir, M., Hammoud, Z., Mesnard, F., Rammal, H., & Fliniaux, O. (2023). *Laurus nobilis* leaves and fruits: A review of metabolite composition and interest in human health. *Applied Sciences*, 13(7), 4606.

## B

- Ballabio, R., & Goetz, P. (2010). Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, JC Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie*, 8(2), 141-144.
- Biyiti, L. F., Meko'o, D. J. L., Tamzc, V., & Amvam Zollo, P. H. (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm. Med. Trad. Afr*, 13, 11-20.
- Basak, S. S., & Candan, F. (2013). Effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and its main components on  $\alpha$ -glucosidase and reactive oxygen species scavenging activity. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(2), 367.
- Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, 90, 333-340.
- Benaissa, A., Bouali, W., Ngege Tamfu, A., Ammara, B., Kucukaydin, S., Latti, N., ... & Ceylan, O. (2025). Inhibition of Clinical Multidrug-Resistant *Pseudomonas*

aeruginosa Biofilms by Cinnamaldehyde and Eugenol From Essential Oils: In Vitro and In Silico Analysis. *Chemistry & Biodiversity*, 22(5), e202402693.

- Bouchaale Ikram Kahalerras Amira, Z. S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie).
- Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal plants used by traditional healers in Algeria: A multiregional ethnobotanical study. *Frontiers in pharmacology*, 12, 760492.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., & Djamel, T. (2014). Potential application of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy.
- Brás, S., Mendes-Bastos, P., Amaro, C., & Cardoso, J. (2015). Allergic contact dermatitis caused by laurel leaf oil. *Contact dermatitis*, 72(6), 417-419.
- Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7. *Letters in applied microbiology*, 36(3), 162-167.

## C

- Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L. F., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F., ... & De Feo, V. (2017). *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. *Molecules*, 22(6), 930.
- Carrée p. (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome ii. Ed. Ballière j. B. Et fils. 432 pages.
- Chaaben, H., Motri, S., & Ben Selma, M. Z. (2015). Etude des Propriétés Physico-chimiques de l'Huile de Fruit de *Laurus nobilis* et Effet de la Macération par les Fruits et les Feuilles de *Laurus nobilis* sur les Propriétés Physico-Chimiques et la Stabilité Oxydative de l'Huile d'Olive. *J. New Sci. Agric. Biotechnol. JS-INAT*, 8, 873-880.
- Chibani, s., boukabache, m., nouichi, a., küçükaydın, m. T., küçükaydın, s., & duru, m. E. (2024). Chemical composition, anticholinesterase, antioxidant, and antifungal activities of the essential oil from *Laurus nobilis* leaves growing in algeria. *African journal of biological sciences*, 6(10), 7639-7664.
- Clinical and laboratory standards institute. (2024). *Title of the document in italics*. Clsi.

## D

- Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A., Mohamed, S., & Abdellah, B. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian journal of basic and applied sciences*, 3(4), 3818-3824.
- Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., & Elez Garofulić, I. (2022). Isolation of *Laurus nobilis* leaf polyphenols: A review on current techniques and future perspectives. *Foods*, 11(2), 235.

## E

- Ebadi, A. G. (2025). Exploring the role of herbal medicines in modern pharmacology and drug development. *Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense)*.
- Elzebroek, T., & Wind, K. (2008). Edible fruits and nuts. In *Guide to cultivated plants* (pp. 25-131). Wallingford UK: CABI.

## F

- Fantasma, F., Samukha, V., Aliberti, M., Colarusso, E., Chini, M. G., Saviano, G., ... & Iorizzi, M. (2024). Essential oils of *Laurus nobilis* L.: From chemical analysis to in silico investigation of anti-inflammatory activity by soluble epoxide hydrolase (sEH) inhibition. *Foods*, 13(14), 2282.

## G

- Geerts, P., Rammeloo, J., & Van Cauteren, G. (2002). *Laurus nobilis*: le livre du laurier [*Laurus nobilis*: the book of the laurel].
- Guedouari, r. (2012). *Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du laurus nobilis l.: essais de formulations thérapeutiques* (doctoral dissertation, université de boumerdès-m'hamed bougara).
- Goudjil, m. B., ladjel, s., bencheikh, s. E., zighmi, s., & hamada, d. (2015). Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of algerian *Laurus nobilis* lauraceae. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 7(1), 379-385.
- Li, G. X., & Liu, Z. Q. (2008). The protective effects of ginsenosides on human erythrocytes against hemin-induced hemolysis. *Food and chemical toxicology*, 46(3), 886-892.

## H

- Hafizoğlu, H., & Reunanen, M. (1993). Studies on the components of *Laurus nobilis* from Turkey with special reference to Laurel berry fat. *Lipid/Fett*, 95(8), 304-308.
- <https://1000-arbres.com/>.

## J

- Jemâa, J. M. B., Tersim, N., Toudert, K. T., & Khouja, M. L. (2012). Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, 48, 97-104.

## K

- Kheyyar, N., Belhamel, K., & Meridja, D. (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(1), 18-26.
- Kilic, A., Hafizoglu, H., Kollmannsberger, H., & Nitz, S. (2004). Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers, and fruits of *Laurus nobilis* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(6), 1601-1606.
- Krireche, T., & Mekacher, A. (2022). *Etude de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de Laurus nobilis L* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

## L

- Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., & Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.

## M

- Mamoucha, S., prombona, A., & galeou, A. (2023). Evaluation of the antibacterial activity of essential oil of *laurus nobilis* against *pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* and potential biocidal action. *Hellenic plant protection journal*, 16(1), 29-39.
- Mansour, O., Darwish, M., Ismail, G., Douba, Z., Ismaeel, A., & Eldair, K. S. (2018). Review study on the physiological properties and chemical composition of the *Laurus nobilis*. *Pharm. Chem. J*, 5, 225-231.

- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C. S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for.
- Merghni, A., Marzouki, H., Hentati, H., Aouni, M., & Mastouri, M. (2016). Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Current Research in Translational Medicine*, 64(1), 29-34.
- Morcia, C., Malnati, M., & Terzi, V. (2012). In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1, 8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(3), 415-422.

### N

- Nicholson, R., & Vermeris, W. (2006). Phenolic compound biochemistry. *Netherlands: Springer*.

### O

- Ouibrahim, A., Tlili Ait Kaki, Y., Bennadja, S., Mansouri, R., Ait Kaki, S., Khbizi, S., & Djebar, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian journal of natural products*, 3(3), 209-2016.
- Organisation mondiale de la santé (2013). Stratégie de l'oms pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Organisation mondiale de la santé. <https://iris.who.int/handle/10665/95009>

### P

- Paparella, A., Nawade, B., Shaltiel-Harpaz, L., & Ibdah, M. (2022). A review of the botany, volatile composition, biochemical and molecular aspects, and traditional uses of *Laurus nobilis*. *Plants*, 11(9), 1209.

### Q

- Qnais, E. Y., Abdulla, F. A., Kaddumi, E. G., & Abdalla, S. S. (2012). Antidiarrheal activity of *Laurus nobilis* L. leaf extract in rats. *Journal of medicinal food*, 15(1), 51-57.
- Quezel, p., & santa, s. (1962). New flora of algeria and southern desert regions.

### S

- Said, C. M., & Hussein, K. (2014). Determination of the chemical and genetic differences of *Laurus* collected from three different geographic and climatic areas in Lebanon. *European Scientific Journal*.
- Saidi, M., & Tobji, N. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne de combinaisons d'huiles essentielles et d'antibiotiques.
- Sayyah, M., saroukhani, G., peirovi, A., & kamalinejad, M. (2003). Analgesic and antiinflammatory activity of the leaf essential oil of *laurus nobilis* linn. *Phytotherapy research*, 17(7), 733-736. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ptr.1197>
- Snuossi, M., trabelsi, N., ben taleb, S., dehmeni, A., flaminio, G., & de feo, v. (2016). *Laurus nobilis*, *zingiber officinale* and *anethum graveolens* essential oils: composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, 21(10), 1414.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4267-4274.

### V

- Vermerris, W., & nicholson, R. (2007). *Phenolic compound biochemistry*. Springer scienceetbusiness media.
- Vikou, C., semassa, J., diaconeasa, Z., roko, G., tohoyessou, M., dah-nouvlessounon, D., ...& baba-moussa, L. (2023). Diversity, chemical compositions and beneficial effects of some spices and aromatic leaves consumed in benin and in the world: critical review. *Am. J. Plant sci*, 14(5), 569-598.

### Z

- Zimmermann-Klemd, A. M., Reinhardt, J. K., Winker, M., & Gründemann, C. (2022). Phytotherapy in integrative oncology—an update of promising treatment options. *Molecules*, 27(10), 3209.