

République Algérienne Démocratique et Populaire
ministre de L'enseignement Supérieure et de la recherche scientifique

Université Abderrahmane Mira de Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique



Mémoire de Master

Filière: Sciences Biologiques

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

**Etude de la toxicité et de l'activité antioxydants
des extraits de trois plantes médicinales**

Présenté par : ZERKAK Hichem
ZETOUT El-Hocine

Composition du jury

Présidente	M ^{elle} CHAHER N.	MCB U.A.M.B
Promotrice	M ^{me} BEDJOU F.	Professeur U.A.M.B
Examinatrice	M ^{me} OUKIL N.	MCB U.A.M.B

Année universitaire : **2015/2016**

Remerciement

On remercie, Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience qui nous a guidé jusqu'à la réalisation et l'aboutissement de ce projet.

On tient à remercier notre promotrice, Mme Pr F. Bedjou, pour le suivi qu'elle nous a accordé au déroulement de ce mémoire, son soutien et sa patience sans limite, nous a permis de mener à bien ce travail ainsi que pour la qualité de son enseignement.

On tient à remercier infiniment Melle L. Bourbaba, pour ses encouragements, son aide inestimable sa grande disponibilité surtout pour sa gentillesse et sa générosité. Aucune dédicace ne pourra exprimer nos remerciements et notre gratitude.

On remercie, Dr N. Chaïer, qui nous a fait honneur de présider ce jury et d'évaluer ce mémoire.

On remercie également, le Dr N. Oukil d'avoir pris le temps d'examiner notre travail et surtout de nous avoir accueillis au sein de son laboratoire de microbiologie.

On tient à remercier le Dr Cheboute de nous avoir accueillis au sein de son laboratoire d'anatomopathologie, et pour son aide précieuse.

On tient aussi à remercier les techniciennes du laboratoire de biologie moléculaire en particulier Mlle Belhadj, ainsi que celles du laboratoire de recherche d'anatomopathologie (Hakima, Louisa et Linda)

On tient à remercier le personnel du département BPC en particulier notre adorable secrétaire Melle Kherraz Djamilia et notre chef de département Mlle Ait Ali D.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A

Mes très chers parents pour leur amour, soutien et encouragements, vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.

Mes frères : Koussaila et Idir

Ma chère Mamie Tassadite

À la mémoire de mes grands-parents : Taher, Salem et Yamina

A Tout le reste de ma famille (tantes, oncles, cousins et cousines) en particulier : Fouzia, Ibtissem, Souhila, Karima, Chawki

A Mes ami(e)s : Assia, Djidji, Massicelia, Yassine, Samy, Mehdi, Karim, Ferhat, Sofiane, Celia, Meriama et Yanis, ainsi que tout les autres.

Je Remercie profondément Mon Cher ami Hocine pour le temps qu'on a passé ensemble.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment, et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Z.Hichem

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A ma très chère Mère et meilleure amie, qui a œuvré pour ma réussite, qui n'a pas cessé de m'encourager durant toutes mes années d'étude et pour tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils.

A mon cher Père pour ses précieux conseils et encouragements, et pour la bonne éducation qu'il m'a donné. Tout mon respect et mon affection lui sont destinés.

A mes chers frère et sœur, Yanis et Yasmine, pour leurs encouragements et leur aide ma vie n'aurait pas eu de goût sans eux,

A mes grands-parents, mes oncles, tantes, cousins et cousines en particulier à Salima, Maissa et Sidali.

A mes chères amis : Lamine, Bihmene, Walid et Massi ainsi que tout les autres.

A Meriama pour son aide et encouragements.

A mon ami Hichem pour les moments agréables qu'on a passé ensemble durant ce travail.

El-Hocine.

➤ Liste des abréviations

- **DL50** : Dose létale 50%.
- **DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle.
- **EAG** : Equivalent d'acide gallique.
- **EFSA** : Autorité européenne de sécurité des aliments.
- **EtOH** : Extrait éthanolique.
- **FIC50** : Concentration fractionnaire inhibitrice.
- ***H.albus*** : *Hyoscyamus albus*.
- **H.E** : Huile essentielle.
- **H₃PM₀₁₂O₄₀** : acide phosphomolybdique.
- **H₃PW₁₂O₄₀** : acide phosphotungstique.
- **IC50** : Concentration inhibitrice 50%.
- ***L.nobilis*** : *Laurus nobilis*
- ***L.stoechas*** : *Lavandula stoechas*.
- **PL** : peroxydation lipidique.
- **M₀₈O₃** : molybdène.
- **Na₂SO₄** : sulfate de sodium anhydre.
- **OCDE** : Organisation pour coopération et développement économique.
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- **W₈O₂₃** : bleu de tungstène.

➤ Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Photographie de <i>hyoscyamus albus</i> .	19
02	Photographie de <i>Lavandula stoechas</i>	19
03	Photographie de <i>Laurus nobilis</i>	19
04	Conditions d'élevage des souris BALB/c au sein de l'animalerie de l'université de Bejaia (Avril, 2016)	20
05	Montage utilisé pour l'hydrodistillation	21
06	Le DPPH' (radical libre) et l'hydrazine (non radical) correspondant	24
07	Illustration d'un isobogramme typique	26
08	Photographie de l'administration des extraits par voie orale	28
09	Photographie des étapes de prélèvement des différents organes	29
10	Les étapes d'inclusion par automate	30
11	Préparation des blocs d'inclusion	30
12	Réalisation des coupes par le microtome	31
13	Les étapes de coloration des lames	31
14	Photographie du Matériels utilisé lors de La visualisation microscopique	32
15	Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique	35
16	Taux de phénols totaux des extraits éthanoliques de <i>Lavandula stoechase</i> , <i>Laurus nobilis</i> et <i>Hyoscyamus albus</i> .	35
17	Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des composées phénolique	37
18	Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des huiles essentielles	38
19	Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des Standards	38
20	Isobogramme EtOH de Laurier combinée avec la Quercétine	41
21	Isobogramme HE de <i>L.nobilis</i> combinée avec EtOH de <i>H.albus</i>	41
22	Isobogramme EtOH de <i>L.nobilis</i> combinée avec EtOH de <i>H.albus</i>	41
23	Isobogramme EtOH <i>L.steochas</i> combinée avec EtOH de <i>H.albus</i>	42
24	Isobogramme EtOH <i>H.albus</i> combinée avec Quercétine	42
25	Isobogramme EtOH de <i>L.nobilis</i> combinée avec EtOH de <i>L.steochas</i>	42
26	Isobogramme EtOH de <i>L.steochas</i> combinée avec Acide Cafeique	42

LISTE DES FIGURES

27	Isobogramme EtOH de <i>H.albus</i> combinée avec Acide caféique	42
28	Isobogramme EtOH de <i>L.steochas</i> combinée avec H.E <i>L.nobilis</i>	42
29	Isobogramme EtOH de <i>L.steochas</i> combinée avec Quercétine	43
30	Isobogramme EtOH de <i>L.nobilis</i> combinée avec H.E <i>L.noobilis</i>	43
31	Isobogramme H.E de <i>L.nobilis</i> combinée avec Quercetine	43
32	Isobogramme H.E de <i>L.nobilis</i> combinée avec acide caféique	43
33	Isobogramme EtOH de <i>L.nobilis</i> combinée avec acide caféique	43
34	Isobogramme EtOH de <i>L.nobilis</i> combinée avec Tocophérol	43
35	Isobogramme EtOH de <i>H.albus</i> combinée avec tocophérol	44
36	Isobogramme H.E de <i>L.nobilis</i> combinée avec tocophérol	44
37	Isobogramme EtOH de <i>L.stoechas</i> combinée avec Tocophérol	44
38	Isobogramme EtOH de <i>L.nobilis</i> combinée avec EtOH de <i>L.stoechas</i>	44
39	Isobogramme H.E de <i>L.steochas</i> combinée avec Acide caféique	44
40	Isobogramme HE de <i>L.stoechas</i> combinée avec EtOH <i>L.nobilis</i>	44
41	Isobogramme EtOH de <i>H.albus</i> combinée avec HE <i>L.steochas</i>	45
42	Isobogramme HE de <i>L.steochas</i> combinée avec Tocophérol	45
43	Isobogramme HE de <i>L.steochas</i> combinée avec la Quercetine	45
44	Isobogramme H.E de <i>L.steochas</i> combinée avec EtOH <i>L.nobilis</i>	45
45	Isobogramme HE de <i>L.steochas</i> combinée avec EtOH <i>L.steochas</i>	45
46	Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigue	49
47	quantité de nourriture consommée par les souris durant le test de la toxicité aigue	50
48	Quantité d'eau consommée durant le test de toxicité aigue	51
49	Coupes histologique du parenchyme rénal (grossissement x100).	52 53
50	Coupes histologique du parenchyme hypatique (grossissement x100).	54 55 56

LISTE DES TABLEAUX

➤ Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
I	Composition de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique de <i>Lavandula steochas</i>	05
II	Composition phytochimique de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i>	09
III	échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs	17
IV	Rendement et aspect des huiles essentielles	33
V	Rendements en composés phénoliques	34
VI	Activité antioxydants des différents échantillons seuls	36-37
VII	FIC50 et FIC ₅₀ Index des différentes combinaisons	45-46-47
VIII	Mortalité après administration d'une dose unique des extraits éthanolique et huiles essentielles des trois plantes	48

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION	1
I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
I.1- <i>Lavandula Stoechase</i>	3
I.1.1- Généralités sur <i>Lavandula Stoechas</i>	3
I.1.2- Description Botanique	3
I.1.3- Classification Botanique	4
I.1.4- Composition Phytochimique	4
I.1.5- Utilisations traditionnelles de <i>Lavandula stoechas</i>	5
I.1.6- Activités biologiques de <i>Lavandula stoechas</i>	6
I.1.7- Toxicité de <i>Lavandula stoechas</i>	6
I.2- <i>Laurus nobilis</i>	7
I.2.1- Généralités sur <i>Laurus nobilis</i>	7
I.2.2- Description botanique :	7
I.2.3- Classification Botanique :	8
I.2.4- Composition Phytochimique	8
I.2.5- Utilisations traditionnelles de <i>Laurus nobilis</i>	9
I.2.6- Activités biologiques de <i>Laurus nobilis</i>	10
I.2.7- Toxicité de <i>Laurus nobilis</i>	10
I.3- <i>Hyoscyamus albus</i>	12
I.3.1- Généralités sur <i>Hyoscyamus albus</i>	12
I.3.2- Description botanique	12
I.3.3- Classification Botanique	12

I.3.4-	Composition chimique	13
I.3.5-	Propriétés thérapeutiques	13
I.3.6-	Toxicité de <i>Hyoscyamus albus</i>	13
I.4-	Le stress oxydatif.....	14
I.4.1-	Définition	14
I.4.2-	Origine du stress	14
I.4.3-	Les radicaux libres	14
I.4.3.1-	Définition	14
I.4.3.2-	origine des radicaux	15
I.4.4-	Les conséquences du stress oxydant	15
I.5-	Généralités sur la toxicité	16
I.5.1-	Définition de la toxicité.....	16
I.5.2-	Classification.....	16
I.5.3-	La dose létale 50 (DL50).....	17
I.5.4-	Organes cible des toxiques	18
II-	MATERIELS ET METHODES :	19
II.1-	Matériel.....	19
II.1.1-	Matériel végétal	19
II.1.2-	Matériel animal	20
II.2-	Méthodes	21
II.2.1-	Extraction et quantification des huiles essentielles	21
II.2.1.1-	Extraction	21
II.2.1.2-	Le Protocole	21
II.2.1.3-	Calcul de rendement en huile essentielle.....	22
II.2.2-	Préparation des extraits bruts par macération	22
II.2.3-	Calcul du rendement en extrait éthanolique	22

II.2.4-	Dosage des composés phénoliques	22
II.2.4.1-	Principe.....	23
II.2.4.2-	Mode opératoire	23
II.2.4.3-	Expression des résultats	23
II.3-	Évaluation de l'activité antioxydants des différents échantillons.....	23
II.3.	Principe.....	24
II.3.2-	Mode opératoire	24
II.3.3-	Expression des résultats	25
II.4-	Évaluation de l'activité antioxydants des échantillons en associations.....	25
II.4.1-	Protocole.....	26
II.5-	Evaluation in vivo de la toxicité aigüe de nos extraits	27
II.5.1-	Principe de la méthode	27
II.5.2-	Mode opératoire	27
II.5.2.1-	Répartition des souris et administration des extraits	27
II.5.2.2-	Suivi des animaux du test	28
II.5.2.3-	Réalisation des coupes histologiques	29
III-	RESULTATS ET DISCUSSION	33
III.1-	Rendement en huiles essentielles.....	33
III.2-	Dosage des composés phénoliques	33
III.2.1-	Rendement d'extraction.....	33
	Détermination du taux des phénols totaux.....	34
III.2.2-	Détermination du taux des phénols totaux	34
III.3-	Evaluation de l'activité antioxydants.....	36
III.3.1-	L'activité antioxydants des différents échantillons utilisés seuls.....	36
III.3.2-	Activité antioxydants des différentes combinaisons	41

III.4-	Evaluation de la toxicité aigue	47
III.4.1-	Evolution pondérale	49
III.4.2-	Evaluation de la quantité de nourriture consommée	50
III.4.3-	Evaluation de la consommation en eau	51
III.5-	Etude histopathologique.....	52
III.5.1-	Histologie rénale	52
III.5.2-	Histologie hépatique.....	54
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....		57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		58

Annexes

Introduction

Introduction

Ces dernières années les chercheurs portent un intérêt accru aux effets biologiques des antioxydants naturels. Ces molécules permettent la lutte contre le stress oxydatif, généré par les espèces réactives de l'oxygène, impliqué dans le vieillissement et le déclenchement et/ou la progression de plusieurs maladies, telles que le cancer, les accidents cardiovasculaires les maladies inflammatoires et neuro dégénératives (**Pietta et al., 2000**).

L'utilisation des plantes médicinales, pour le traitement des maladies, vient généralement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle.

Selon l'organisation mondiale de la santé, 80 % de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies (**OMS, 1976**).

Dans ce contexte de nombreuses recherches scientifiques se sont penchées sur l'étude de différentes propriétés de multiples plantes médicinales riches en métabolites secondaires. Ainsi les polyphénols et les huiles essentielles se sont avérés être doués de multiples vertus thérapeutiques, jouant un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les maladies provoquées par les espèces oxygénées réactives, comme les maladies; l'athérosclérose, l'hypertension artérielle, le diabète, la sclérose en plaques et autres (**Bruneton, 2009**).

Plusieurs travaux ont porté sur l'efficacité des plantes médicinales dans les maladies précitées (**Hennebelle et al., 2004 ; Favier , 2003**), cependant les nouveaux projets visent au développement d'une nouvelle génération de produits phytopharmaceutiques, basés sur l'utilisation des associations de substances issues de la phytothérapie (**Tallarida et al., 2003**).

Le but ultime de ces associations est la recherche d'effets synergiques ou, à défaut additifs, car ceux-ci ont certains avantages, comme l'élargissement du spectre d'activité biologique, l'amélioration de l'efficacité des substances utilisées en thérapeutique et la réduction de la toxicité liée à la dose. (**Breitinger, 2012**)

Les principaux objectifs de notre recherche sont d'évaluer Les effets antioxydants, des huiles essentielles et des extraits éthanoliques, de la partie aérienne de trois plantes aromatiques, à savoir *Lavandula stoechas*, *Laurus nobilis*, *Hyoscyamus albus*, seuls ou en association, grâce à l'utilisation d'un radical synthétique, le DPPH, et de tester la toxicité des

extraits précités sur des souris femelles. Ces tests ont pour objectifs d'évaluer la dose létale 50% et les effets des extraits sur les organes vitaux : le foie et les reins qui jouent un rôle crucial dans l'élimination des xénobiotiques.

Chapitre I

Revue Bibliographique

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1- *Lavandula Stoechase*

I.1.1- Généralité sur *Lavandula stoechas*

Le genre *Lavandula* se compose d'environ 28 espèces, dont la plupart sont originaire du bassin méditerranéen (**Barrett, 1996**), ce nom dérive du latin *Lavare* qui signifie laver, elle appartient à la famille des labiées (*Lamiaceae*) (**Chu et Kemper, 2001**).

La lavande était déjà utilisée par les Romains pour conserver le linge et parfumer les bains. En Provence, elle fut utilisée au Moyen Âge, pour la composition de parfums et de médicaments, mais ce n'est qu'à partir du XIX^e siècle que sa culture se développa. (**Upson et al., 2000**).

Lavandula stoechas est une espèce très florifère parfois appelée lavande papillon ou lavande stéchine. Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et c'est aussi la lavande la plus répandue.

En Algérie, *L.stoechas* est très connue sous le nom local "Helhal" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays de Tlemcen à Bejaia.

I.1.2- Description Botanique

L. stoechas se présente sous la forme d'un arbrisseau très aromatique et très ramifiée pouvant atteindre un mètre de haut avec une forte odeur semblable à celle du pin. Les feuilles sont opposées de 2 à 4 cm de long, sessiles, oblongues, lancéolées, velues, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent gris vert.

Les bractées sont fertiles et largement ovales à obovales-subtrilobées, brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. La Corolle est de couleur violet foncée ou mauve. Les fruits sont sans intérêt économique comme tous ceux de la famille. Ils permettent cependant la production de graines. (**Upson et Andrews, 2004**)

Contrairement à beaucoup d'autres lavandes, celle-ci préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle supporte la mi ombre et tolère le froid jusqu'à -5°C. La floraison se déroule d'avril à mai puis en automne. La couleur vive des bractées attire les insectes: elle

est entomophile. Cette plante velue et glanduleuse repousse les herbivores. Sa pollinisation est assurée par les insectes. (Chu et Kemper, 2001)

I.1.3- Classification Botanique

Classification botanique de *Lavandula stoechas* d'après (Quezel et Santa, 1963).

- **Règne :** *Plantae*
- **Division :** *Magnoliophyta*
- **Classe :** *Magnoliopsida*
- **Ordre :** *Lamiales*
- **Famille :** *Lamiaceae*
- **Sous-famille :** *Nepetoideae*
- **Genre :** *Lavandula*
- **Espèce :** *Lavandula Stoechase L*

I.1.4- Composition Phytochimique

La composition de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* est résumée dans le tableau I :

Tableau I: Composition de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas*.

Extraits éthanolique (Ez Zoubi Y et al., 2014).	Huile essentielle (Mohammedi Z, Atik F., 2011).
Tanins	Fenchone (27.6%)
Tanins catéchique	Cineole (18.9%)
Flavonoïdes	Camphre (18.1%)
Terpènes et stérols	acétate de Bornyl (1.3%)
Coumarins	Camphène (3.2%)
Leucoanthocyanes	Viridiflorol (1.1%)
Glycosides cardiaques	Borneol (0.6%)
Mucilages	α -pinène (0.5%)

I.1.5- Utilisations traditionnelles de *Lavandula stoechas*

L.stoechas est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toutes les régions méditerranéennes pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en H.E. Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruante, et carminative. Ils la prescrivait pour lutter contre des infections pulmonaires . (Said et Saeed, 1996).

En Crète, l'H.E et l'infusion des feuilles sont utilisées par des thérapeutes traditionnels comme spasmolytique, contre le diabète, les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'anthrax, l'otite, l'hypertension. La matière végétale brute est également utilisée comme insectifuge (Skoula et al., 1996). La plante est également utilisée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs coliques (Usmanghani et al., 1997), expectorant, stimulant, (Giray et al., 2008) et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine. Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner les sinusites. (Usmanghani et al., 1997)

I.1.6- Activités biologiques de *Lavandula Stoechase*

- **Pouvoir antifongique**

Les huiles essentielles de *L. stoechas* sont des antifongiques naturels très efficaces et pouvant être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections d'origine fongique. Les moisissures tel que *Rhizopus stolonifer* et *Fusarium spp* ont montré une sensibilité accrue à l'augmentation de la concentration de l'huile dans leur milieu de culture où le diamètre de la colonie se réduit à chaque fois qu'on augmente la dose jusqu'à une inhibition totale où aucune croissance n'est observée. (Mohammedi et Atik, 2011).

- **Pouvoir antioxydant**

Les extraits de *Lavandula stoechas* ont une efficacité dans l'élimination des radicaux libres tel que l'anion superoxyde et la chélation des métaux. En outre, des études ont démontré l'activité antioxydants de l'huile essentielle contre la dégradation oxydative du saindoux. (Gulcin *et al.*, 2004).

- **Effet antibactérien**

L'huile essentielle de *Lavandula stoechas* a été testée contre des souches bactériennes standards, les résultats obtenus ont montré une activité antibactérienne contre la plupart des souches testées à l'exception de *streptococcus epidermidis*, *entrococus faecalis* et *candida albicans* (Goren *et al.*, 2002).

I.1.7- Toxicité de *Lavandula stoechas*

A fortes doses l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* est considérée comme un poison narcotique (Aouadhi, 2010). Selon un rapport de l'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments) d'aout 2008, Le niveau de la toxicité tient uniquement à la présence du camphre qui est l'un de ses composés majoritaires. Ce phénol est connu pour provoquer des convulsions notamment à la suite d'ingestion par des enfants. Elle contient également de grandes quantités de fenchone, Cette cétone convulsivante est interdite en tant qu'additif alimentaire en France. L'huile peut également provoquer une dermatite (EFSA, 2008).

I.2- *Laurus nobilis*

I.2.1- Généralités sur *Laurus nobilis*

Le nom *Laurus* dérive du latin, qui signifie « toujours vert » faisant allusion au feuillage persistant de la plante (**Pariente, 2001**).

Laurus nobilis autrement appelé Laurier noble pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (**Iserin, 2001**). C'est un membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Originaire du bassin méditerranéen, ces feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecques et romaines (**Demir et al., 2004**).

I.2.2- Description botanique :

Laurus nobilis, est un arbuste ou arbre aromatique pouvant atteindre jusqu'à 15m de hauteur mais généralement taillé en arbrisseau pour en faciliter la récolte, son écorce est lisse et noir et au feuillage persistant (**Baba Aissa, 1991**).

Les feuilles sont alternes, allongées, d'environ 10cm de long et 3 à 5 cm de large et sont courtement pétiolées, leur limbe est coriace, glabre, souvent légèrement ondulé, épaissi sur les bords et recourbé vers l'intérieur, d'un vert foncé et luisant à leur partie extérieure (**anton et Lobstein, 2005**). Les fleurs sont dioïques, jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles. Le fruit est une petite baie ovoïde de 2cm de long sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité (**Demir et al., 2004**).

I.2.3- Classification botanique

Classification botanique de l'espèce *Laurus nobilis* (Quezel et santa, 1962).

➤ Règne :	Plante
➤ sous règne :	Plante vasculaire
➤ Embranchement :	Spermaphytes
➤ Sous embranchement :	Angiospermes
➤ Classe :	Dicotylédones
➤ Sous classe :	Dialypétales
➤ Ordre :	Lurales
➤ Famille :	Lauracées
➤ Genre :	Laurus
➤ Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L.

I.2.4- Composition Phytochimique

La composition de l'huile essentielle du laurier est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques (Flamini *et al*, 2007) (Tableau II) :

Tableau II : Composition phytochimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*.

Classe	Composés
Oxydes terpéniques :	1,8-cinéole (48.38%)
Monoterpénols :	linalol (3.50%), terpinén-4-ol (2.84%), alpha-terpinéol (2.46%)
Phénols :	méthyl-eugénol (2.22%), eugénol (0.08%)
Esters terpéniques :	acétate d'alpha-terpényle (8.52%), acétate de bornyle (0.16%)
Monoterpènes :	sabinène (9.46%), bêta-pinène (4.99%), alpha-pinène (5.77%), limonène (4.10%), para-cymène (2.38%), gamma-terpinène (2.12%), myrcène (0.64%), camphène (0.32%), alpha-phellandrène (0.24%), alpha-terpinène (0.28%).

De plus Demo *et al.*, (1998) ainsi que Gómez-Coronado *et al.*, (2004) ont montré la richesse de ses feuilles en vitamine E.

I.2.5- Utilisations traditionnelles de *Laurus nobilis*

Les feuilles de *Laurus nobilis* font partie des assaisonnements les plus connus dans tous les pays. Elles sont généralement utilisées comme plante aromatique en cuisine et en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine, le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que les ballonnements épigastriques, la lenteur de la digestion et les éructations et flatulences (**Iserin, 2001**).

L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote lors des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (**Kivçak et Mert, 2002**).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et la maladie du parkinson (**Aqili Khorasani, 1992**).

L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement des hémorroïdes et des douleurs rhumatismales (**Sayyah et al., 2002**). En outre, elle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons.

Elle compte parmi les meilleurs moyens pour éloigner les insectes gênants (Demir *et al.*, 2004).

I.2.6- Activités biologiques de *Laurus nobilis*

- **Effets antioxydants**

L'activité antioxydants des extraits méthanoliques (bruts et dégraissés) des feuilles, de l'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* a été étudiée par l'inhibition de la peroxydation lipidique (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺² / ascorbate. Les résultats ont montré que tous les extraits possédaient une activité antioxydants. L'extrait dégraissé des feuilles a également montré une inhibition plus élevée de la LP (Simie *et al.*, 2003).

Dans une autre étude, Demo *et al.*, (1998) ont démontré la présence des tocophérols, principalement l' α - tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction avec l'hexane. L'activité antioxydants de cet extrait était strictement corrélée avec la teneur en tocophérol. Ainsi, ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arôme plaisant, mais probablement aussi à des capacités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres parties de cette plante.

- **Effet anticonvulsif**

L'huile de *Laurus nobilis* a protégé des souris contre des convulsions toniques induites par électrochoc maximal et particulièrement par pentylènetétrazol. Aux doses d'anticonvulsivant, l'huile essentielle a produit la sédation et relâchement du coeur. Les composants responsables de cet effet peuvent être le cinéol, eugénol et le méthyle eugénol mais d'autres études sont exigées avant que toutes conclusions puissent être tirées (Sayyah *et al.*, 2002).

- **Effet cytotoxique**

Certains composés isolés à partir des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis* se sont avérés cytotoxiques, il s'agit essentiellement de ces deux sesquiterpènes; lactones et lauroxepines, qui selon ces expériences sont fortement cytotoxiques vis-à-vis d'une lignée cellulaire cancéreuse ovarienne; la A2780. (Barla *et al.*, 2007).

- **Effet gastroprotectif**

Une seule étude a été réalisée à ce sujet par Gürbüz *et al.*, (2002). Cinq plantes aromatiques dont *Laurus nobilis*, usuellement employées pour traiter le mal d'estomac. Une décoction et un extrait méthanolique ont été préparés  partir des fruits du Laurier pour déterminer leurs effets sur un modèle d'ulcère gastrique induit chez le rat. Les expériences pharmacologiques et les techniques histopathologiques ont clairement montré que ces extraits administrés oralement ont significativement protégé l'estomac contre les ulcérations.

- **Effet Cicatrisant**

L'effet cicatrisant de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a été examiné par Khalil *et al.*, (2007). Des lésions profondes induites dans le secteur dorsal de souris *Mus musculus* ont été traitées quatre fois avec l'huile essentielle pendant deux jours successifs. Cette opération fut répétée pendant plusieurs jours avec 12 h d'intervalle. Après 16 jours, les blessures ont été visuellement observées, et le secteur de la blessure a été mesuré. Les animaux ont été sacrifiés par la suite et l'histologie du secteur de blessure est examinée, ainsi L'huile essentielle de *Laurus nobilis* a montré une bonne activité cicatrisante.

1.2.7- Toxicité de *Laurus nobilis*

L'effet toxique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* est généralement attribué  la présence de certaines molécules tels que les monoterpènes retrouvés  des concentrations comprises entre 57,3 et 85,90 %. Plusieurs rapports indiquent que les monoterpnoides causent la mortalité des insectes en inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (**Houghton *et al.*, 2006**). Toutefois, d'autres travaux citée par Lee BH *et al.*, (2001) ont rapport que la toxicité de ces terpnoide n'est pas nécessairement corrélé avec l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase précédemment décrite. En outre, d'autres travaux ont suggéré que certains monoterpènes pouvait inhiber le cytochrome P450 dépendant mono – oxygénases (**De-Oliveira *et al.*, 1997**) .

Aussi, il a été rapport que l'eugénol et le méthyleugénol sont capable de causer la cytotoxicité et la génotoxicité chez les rongeurs (**Sayyah *et al.*, 2002**)

I.3- *Hyoscyamus Albus*

I.3.1- Généralités sur *Hyoscyamus albus*

Les jusquiames sont des plantes appartenant à la famille des Solanaceae, ce genre se compose de 15 espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces, vivant sur les talus, les falaises, les friches et les plages de galets en Europe, en Afrique du nord et en Asie. Ces plantes se caractérisent par leur richesse en alcaloïdes tropaniques (Guignard, 1998).

Hyoscyamus albus fut utilisé comme un poison violent et est considéré comme l'une des plantes hallucinogènes les plus importantes. Ceci est dû à leurs métabolites secondaires qui sont l'atropine et la scopolamine; qui sont des alcaloïdes qui furent utilisés comme « sérum de vérité » pendant la seconde guerre mondiale (Goullé *et al.*, 2004).

I.3.2- Description botanique

La jusquiame blanche est une plante herbacée, annuelle ou bisannuelle, qui mesure de 30 à 90 cm de hauteur, à port dressé, rameuse, visqueuse et velue. Les feuilles sont larges, ovales, et longues de 5 à 10 cm, irrégulièrement dentées, collantes et de couleur vert clair. Au printemps, la floraison, donne des fleurs de 1 à 3 cm de long, bilabées, disposées en cymes scorpioides. Le calice est très velu et divisé en 5 dents. La corolle est blanchâtre ou d'un jaune très pâle. Le fruit est une capsule contenant plusieurs graines blanches renfermées dans le calice (Shultes et Hofmann, 1993).

I.3.3- Classification Botanique

Classification botanique de l'espèce *Hyoscyamus albus* (Quezel et Santa, 1963).

➤ Règne	<i>Plantae</i>
➤ Division	<i>Magnoliophyta</i>
➤ Classe	<i>Magnoliopsida</i>
➤ Ordre	<i>Solanales</i>
➤ Famille	<i>Solanaceae</i>
➤ Genre	<i>Hyoscyamus</i>
➤ Espèce	<i>Hyoscyamus albus</i> L

I.3.4- Composition chimique :

La jusquiame blanche est très riche en alcaloïdes tropaniques, La proportion en alcaloïdes totaux dans la poudre sèche de *Hyoscyamus ablus* varie de 0,045 à 0,14%. Le principal constituant est la hyoscyamine et ses dérivés : (-)-6-béta-hydroxyhyoscyamine, N-oxydes hyoscyaminiques et hyoscine-N-oxydes. De plus petites quantités d'atropine et de scopolamine, d'apoptropine, de tropine, de cuscohygrine, de skimianine et d'alpha et beta belladonine sont présentes dans les extraits de la poudre de la plante (Goullé *et al.*, 2004) . En plus la plante synthétise également des alcaloïdes de la classe des calystégines (Tepfer *et al.*, 1988).

I.3.5- Propriétés thérapeutique

La composition phytochimique très variée de la Jusquiame blanche lui confère plusieurs effets thérapeutiques :

- elle est utilisée en médecine traditionnelle comme parasympholytique et sédatif du système nerveux (Benhouda et Yahia, 2014).
- Les flavonoides, les tanins condensés et les saponines jouent un rôle dans l'activité analgésique et antipyrétique (Benhouda et Yahia, 2014).
- L'hyoscyamine et la scopolamine sont utilisées en ophtalmologie, dans le traitement des spasmes gastro-intestinaux, dans le traitement d'empoisonnement par les organophosphorés et comme anesthésique (Romeike, 1956).
- La jusquiame blanche présente aussi une activité antibactérienne importante contre des espèces bactériennes tels que : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas stutzeri*, *Klebsiella pneumoniae* (Kadi *et al.*, 2013).

I.3.6- Toxicité de *Hyoscyamus albus*

Chez l'homme, les alcaloïdes de la jusquiame blanche conduisent en cas d'intoxication à un syndrome anti cholinergique. Les principaux signes cliniques sont : mydriase, sécheresse cutanée et muqueuse, vasodilatation, tachycardie, agitation, hallucinations, convulsions, coma et dépression respiratoire (Goullé *et al.*, 2004).

Les doses toxiques d'atropine produisent une stimulation centrale avec agitation, irritabilité, désorientation, hallucinations dilatation des vaisseaux cutanés, en particulier ceux du visage donnant un aspect rouge caractéristique ; tous ces symptômes sont due à l'inhibition de l'action de l'acétylcholine au niveau de ses récepteurs dans la synapse nerveuse, bloquant de ce fait la fonction physiologique du système nerveux parasymphatique (**Bloom et al., 2010**).

La scopolamine est fortement hallucinogène, c'est un dépresseur du SNC (**Schultes et Hofmann, 1993**).

I.4- Le stress oxydatif

I.4.1- Définition

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (**Morel et Barouki, 1999**).

I.4.2- Origine du stress

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants / prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant» (**Favier, 2003**).

I.4.3- Les radicaux libres

I.4.3.1- Définition

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (**Vansant, 2004**). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont souvent appelés *espèces réactives de l'oxygène* (**Favier, 2003**).

I.4.3.2- Origine des radicaux

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries par les cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle que la mort cellulaire programmée ou l'apoptose (**Favier, 2003**).

Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production des anions superoxydes se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale.

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées. Le monoxyde d'azote, est produit par les systèmes enzymatiques que sont les différentes NO synthases, les cellules endothéliales ou les macrophages (**Favier, 2003**).

I.4.4- Les conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides.

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, réaction appelée peroxydation lipidique. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, L'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**).

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt de la réplication de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations des bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (**Hadi, 2004**). Ils inhibent la sécrétion d'insuline (**Krippeit-Drews et al., 1994**), modifient les structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines (**Pincernail et al., 1999**).

Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes et OH^- , qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde. Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

Le stress oxydant représente ainsi la principale cause initiale de plusieurs maladies telles que : le cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**), maladie de Parkinson, les inflammations gastro-intestinales, ulcères (**Atawodi, 2005**), les oedèmes et le vieillissement prématuré de la peau (**Georgetti et al., 2003**).

I.5- Généralités sur la toxicité

I.5.1- Définition de la toxicité

Traditionnellement, on qualifie de toxique un composé pouvant nuire à la santé des organismes vivants, en particulier à celle de l'homme, l'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose. Selon leur origine, on distingue les toxiques synthétiques et les toxiques naturels (toxines) provenant des microorganismes, des plantes ou des animaux (**Reichi, 2004**).

I.5.2- Classification

Selon la fréquence et la durée de l'exposition ou l'administration du toxique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicité :

- **La toxicité aigüe**

La toxicité aigüe englobe tous les phénomènes spécifiques et les signes adverses, qui se manifestent juste après l'exposition de l'organisme à une prise unique ou plusieurs prises très rapprochées d'un agent chimique. L'effet toxique aigu est généralement considéré comme un effet qui se produit immédiatement ou dans les premiers jours après l'exposition (**Claverie et al., 2008**).

- **La toxicité sub-chronique**

Lors de la toxicité sub-chronique, le xénobiotique est administré plusieurs fois pendant une période plus longue, de 28 à 90 jours. Le but est de définir les organes et les fonctions touchées par ce toxique. Pour une dose déterminée l'effet attendu peut se manifester immédiatement ou avec retard (Claverie *et al.*, 2008).

- **La toxicité chronique**

La toxicité chronique est définie comme étant la mise en évidence d'effets toxiques après administration répétée d'une dose de la substance à tester, pendant une période de temps longue, supérieure à 90 jours (Claverie *et al.*, 2008).

I.5.3- La dose létale 50 (DL50)

La dose létale 50 est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance, Cet indicateur mesure la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée dans des conditions d'expérimentation précises, Elle s'exprime en milligrammes de matière active par kilogramme de poids corporel de l'animal, Plus ce chiffre est petit, plus la substance est toxique (Reichi, 2004).

Cependant, la DL50 a une valeur très limitée, car elle ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes en jeu et la nature des lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire qui peut être influencée par plusieurs facteurs tels que l'espèce animale, le sexe, l'âge, etc (Lapointe, 2004).

Tableau III : échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon (Hodge et Sterner, 1949)

DL50 Orale	Indice de toxicité
jusqu'à 1 mg/kg	Extrêmement toxique
1 à 50 mg/kg	Hautement toxique
50 à 500 mg/kg	Modérément toxique
500 à 5000 mg/kg	Légèrement toxique
5000 à 15000 mg/kg	Presque pas toxique
Plus de 15000 mg/kg	Relativement inoffensif

I.5.4- Organes cible des toxiques

Un toxique n'affecte pas tous les organes avec la même intensité. Il agit plus spécifiquement sur des organes cibles du fait d'une très grande sensibilité de ces organes ou d'une concentration plus élevée de la molécule inchangée et/ou de ses métabolites à leur niveau.

Le foie et les reins, qui assurent des fonctions métaboliques et excrétoires plus importantes et bénéficient d'une très large irrigation sanguine, sont particulièrement exposés aux toxiques.

Les substances capable de traverser la barrière hémato-encéphalique peuvent exercer leur toxicité au niveau du système nerveux. Le système respiratoire constitue un organe cible pour les toxiques gazeux ou volatiles (**Viala et Botta, 2005**).

Chapitre II

Matériels et méthodes

II- Matériels et méthodes

Notre étude rentre dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques à travers la détermination du potentiel d'activité antioxydants des huiles essentielles et des extraits éthanoliques ainsi que l'effet de leurs associations avec d'autres composés chimiques.

II.1- Matériel

II.1.1- Matériel végétal

Trois plantes aromatiques ont été utilisées, il s'agit de *Hyoscyamus albus* (figure 1), *Lavandula stoechas* (figure 2) et *Laurus nobilis* (figure 3).



Figure 1 : Photographie de *hyoscyamus albus*.



Figure 2 : Photographie de *Lavandula stoechas*



Figure 3 : Photographie de *Laurus nobilis*.

Les parties aériennes de *Laurus nobilis* et de *Lavandula stochas*, ont été récolté respectivement en Janvier 2016 sur les montagne de la commune de Djoua (Bejaia) , et de la commune d'Akbou (Bejaia). *Hyoscyamus albus* a quand a elle, a été récoltée en mai 2015 à Toudja (Bejaia). Et l'identification botanique de ces plantes a été réalisée en se référant à la flore algérienne de **Quézel et santa, (1962)**.

Les plantes fraîchement récoltés ont été séchées à l'ombre dans un endroit aéré afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs molécules. Une partie à ensuite été utilisé tel qu'elle pour l'extraction des huiles essentielles, et l'autre partie a été placé dans une étuve à 40°C pendant une semaine pour l'élimination des résidus d'humidité puis broyés à l'aide d'un broyeur électrique et tamisé en une poudre fine pour l'extraction des polyphénols.

II.1.2- Matériel animal

Pour évaluer la toxicité In vivo des différents extraits. Des souris femelles de l'espèce Balbe/c (Figure 4) ont été employées, leur poids moyen varie entre 26 à 34 g avec une moyenne d'âge de 6 semaines. Ces souris proviennent de l'institut Pasteur d'Alger.

Les animaux ont été logés dans des cages standards. Pendant la période d'expérimentation, ont été disposés d'eau potable et de nourriture, la litière a été renouvelée deux fois par semaine. Les animaux se sont acclimatés aux conditions de l'animalerie à température ambiante, pendant une quinzaine de jours avant le début de l'essai.



Figure 4 : Représentation d'une cage de souris standard.

II.2- Méthodes

II.2.1- Extraction et quantification des huiles essentielles

II.2.1.1- Extraction

Les huiles essentielles des deux plantes étudiées ont été extraites par hydrodistillation en utilisant un montage inspiré d'un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**) (figure 5).



Figure 5 : Montage utilisé pour l'hydrodistillation.

II.2.1.2- Le protocole

Nous avons effectué deux macérations : 100g et 50g respectivement de feuilles de *Laurus nobilis* et de partie aérienne de *Lavandula stoechas* dans un litre d'eau de source (source des aiguades Bejaia) pendant une nuit (16 à 20 heures). L'ensemble est ensuite porté à ébullition pendant 1h 30min. Les vapeurs chargées d'huile traversent un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

Après décantation des distillats, les HEs ont été récupérées et complètement déshydratées à l'aide du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis conservées à 4°C et à l'abri de la lumière dans un flacon ambré et fermé hermétiquement (**Sahin et al., 2004**).

II.2.1.3- Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement de l'HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal exprimé en pourcentage (AFNOR, 1986).

$$\text{Rendement} = \left(\frac{\text{poids de l'HE}}{\text{Poids de la plante}} \right) \times 100$$

II.2.2- Préparation des extraits brutes par macération

Pour extraire les polyphénols des parties aériennes des trois plantes, nous avons opté pour le protocole décrit par **Romani et al, (2006)**, en y apportant quelques modifications.

Une quantité de 30 g de poudre a été mise à macérer sous agitation et à l'abri de la lumière, dans 200 ml d'éthanol à 96% pendant 24h. L'opération a été répétée 3 fois à intervalle régulier.

Après décantation de la suspension, l'extrait éthanolique a été prélevé et a ensuite été filtré sur papier wattman. L'extrait ainsi obtenu a été séché à l'aide d'un rotavapor pour éliminer l'éthanol, l'extrait qui en a résulté a été séché à l'étuve à 40°C jusqu'à atteindre un poids constant.

II.2.3- Calcul du rendement en extrait éthanolique

Le rendement a été calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = \text{poids de l'extrait brut sec} / \text{poids de la poudre} \times 100$$

II.2.4- Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode citée **Singleton et Rossi, (1965)**. La teneur en phénols totaux est déterminée par une méthode colorimétrique avec le spectrophotomètre UV-Visible en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

II.2.4.1- Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 (Boizot et Charpentier, 2006). Les phénols oxydés ont une absorption maximale aux environs de 765 nm. Cette absorption est proportionnelle au taux de composés phénoliques. Le carbonate de sodium a été ajouté comme catalyseur.

II.2.4.2- Mode opératoire

0.2ml de solution d'extrait (1mg/ml) ont été mélangés avec 1ml du réactif de folin-Ciocalteu (10%, v/v), suivis de 0.8ml de solution de carbonate de sodium (7.5%, w/v). Après avoir bien agité, les tubes à essai ont été incubés pendant 2h à température ambiante et à l'obscurité, puis l'absorbance a été mesurée à 765nm.

Un témoin a été préparé dans les mêmes conditions en utilisant du méthanol à la place de l'extrait.

II.2.4.3- Expression des résultats

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits, ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol.

Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

II.3- Évaluation de l'activité antioxydants des différents échantillons

L'activité antioxydants des H.Es et des extraits éthanoliques ainsi que celle des trois standards : le DL- α -tocophérol (Vit. E), l'acide caféique et la quercétine a été évaluée par la mesure de la capacité de réduction d'un radical libre synthétique : le 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH^{*}).

II.3.1- Principe

C'est une technique basée sur la décoloration d'une solution alcoolique de DPPH[•] (méthanol ou éthanol), et donc la transformation de ce dernier, après l'addition d'un agent antioxydants. L'évaluation de la décroissance de l'absorbance à une longueur d'onde de 515-528 nm est proportionnelle à la concentration et au pouvoir antioxydants de cet agent, et au temps de réaction (Sánchez-Moreno, 2002 ; Deng, 2011).

La solution alcoolique du radical libre DPPH[•] présente une couleur mauve-foncée avec une absorbance maximale (pic d'absorption) à 517 nm, cette couleur disparaît en présence d'un capteur de radicaux dans le système réactionnel et quand l'électron impair de l'azote du DPPH[•] est apparié (Deng, 2011) (figure 6). Le DPPH[•], ainsi réduit par un donneur d'hydrogène donne l'hydrazine qui est un composé d'une couleur jaune-pâle (Molyneux, 2004).

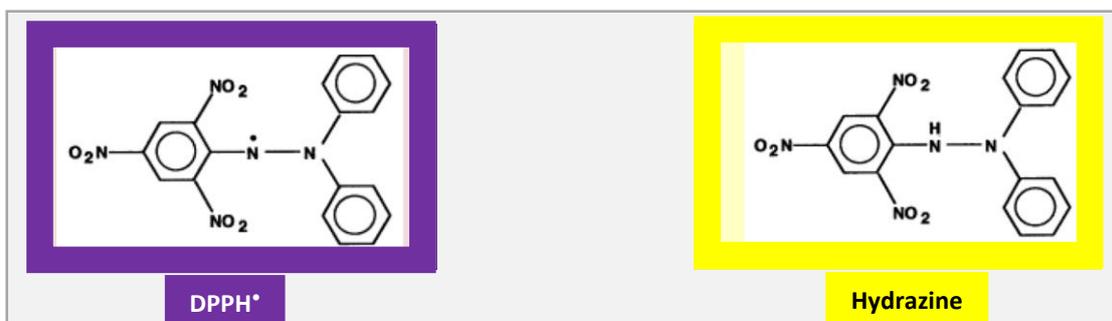


Figure 6 : Le DPPH[•] (radical libre) et l'hydrazine (non radical) correspondant (Molyneux, 2004).

II.3.2- Mode opératoire

L'activité anti-radicalaire a été évaluée suivant le protocole de Wu et Ng (2008).

1 ml d'une solution du radical DPPH à 0,1 mmol/L a été mélangé avec 3 ml des différentes concentrations de chaque HE, extrait éthanolique, et les standards. Le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Les absorbances ont été lues à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre.

Pour le blanc réactif, 3 ml de méthanol ont été mélangés avec 1 ml de la solution de DPPH.

Du méthanol (SIGMA-ALDRICH®, Allemagne) a été utilisé pour préparer la solution de DPPH ainsi que pour diluer les extraits. Le zéro du spectrophotomètre a été ajusté avec le méthanol.

II.3.3- Expression des résultats

Selon **Sharififar et al. (2007)**, l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{DO (control) - DO (échantillon)}{DO (control)} \times 100$$

Avec : **DO (blanc)** : Absorbance du control.

DO (échantillon) : Absorbance du DPPH non réduit (en présence de l'échantillon).

Chaque test a été réalisé en triplicata et les résultats ont été exprimés en tant que la moyenne des trois tests \pm l'écart type.

Les concentrations des échantillons donnant 50% d'inhibition (IC50) ont été calculées à partir des graphes présentant les pourcentages d'inhibition (I%) en fonction des concentrations en utilisant le logiciel « *Origin® Pro 9* ».

II.4- Évaluation de l'activité antioxydants des échantillons en associations

Vingt-cinq (25) différentes combinaisons ont été réalisées.

La méthode utilisée pour évaluer l'interaction entre les différents échantillons est celle de l'isobologramme.

Tallarida (2001) la décrit comme étant un graphique qui présente des paires de concentrations (une combinaison de deux échantillons) qui donnent la même efficacité qu'un échantillon seul, d'où leurs nom « *isoboles* », par exemple, l'efficacité 50% d'un maximum est prise comme effet (l'IC50 dans notre cas).

La figure 7 représente un exemple type d'un isobologramme dont la concentration de l'extrait (A) seul donnant l'effet recherché égale à 20 (unité) et celle de l'extrait (B) égale à 100 (unité). La ligne droite qui relie ces deux points doit théoriquement représenter toutes les combinaisons de concentrations des deux échantillons donnant un effet additif (le point A). Cette droite est tracée dans chaque isobologramme, elle est la référence pour détecter s'il y a une synergie (les points B), d'un antagonisme (le point C).

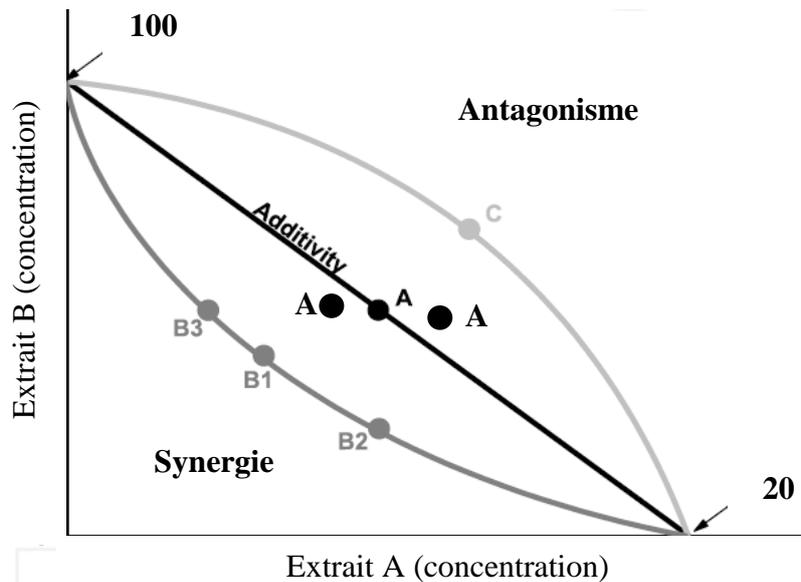


Figure 7 : illustration d'un isobogramme typique (Hans-Goerg 2012)

II.4.1- Protocole

Le protocole est le même que pour les échantillons seuls décrit par Wu et Ng (2008), sauf que l'échantillon à analyser se compose d'une des combinaisons précédentes.

Pour confirmer la conclusion portant sur l'effet des différentes combinaisons (tirée à partir des isobogrammes), des résultats chiffrés ont été exprimés en calculant les FIC₅₀ index (FIC₅₀I) :

$$FIC_{50}I = FIC_{50}(A) + FIC_{50}(B)$$

Avec: $FIC_{50}(A) = \frac{IC_{50}(A \text{ en présence de B})}{IC_{50}(A \text{ seule})}$

$$FIC_{50}(B) = \frac{IC_{50}(B \text{ en présence de A})}{IC_{50}(B \text{ seule})}$$

Les combinaisons sont considérées comme :

Synergique	Si $FIC_{50}I < 0,9$
Additif	Si $0,9 < FIC_{50}I < 1,1$
Antagoniste	Si la $FIC_{50}I > 1,1$

(Romano et al., 2009)

II.5- Evaluation in vivo de la toxicité aiguë de nos extraits

La toxicité orale aiguë des différents extraits a été testée selon la Méthode par classe de toxicité aiguë préconisée par l'OCDE, guide n°423 (2001).

II.5.1- Principe de la méthode

Les essais de la toxicité aiguë permettent de mettre en évidence les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 14 jours) après administration d'une dose unique de la substance à tester par voie orale. Le niveau de dose de la prise est choisi entre quatre niveaux fixés, soit 5, 50, 300 et 2000 mg/kg de poids corporel. Et un essai limite correspond à un niveau de dose d'au moins 2000 mg/kg de poids corporel (exceptionnellement 5000 mg/kg) peut être envisagé si la molécule est supposé être non toxique.

II.5.2- Mode opératoire

Le protocole consiste à suivre les étapes suivantes :

II.5.2.1- Répartition des souris et administration des extraits

Les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur poids sur 11 lots de 6 souris chacun. Elles ont été choisies au hasard et marquées pour permettre l'identification individuelle.

Les animaux de chaque lot ont été traités à jeun par gavage intra-gastrique (figure) avec deux différentes doses de chaque extrait préparées dans du tween 80 à 1% comme suite :

- **Lot I** (lot témoin): l'eau physiologique (0.9% solution de NaCl).
- **Lot II et III** : ont reçu l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus* à des doses de **300** et **2000** mg/kg respectivement
- **Lot IV et V** : ont reçu l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis* à des doses de **300** et **2000** mg/kg respectivement.
- **Lot VI et VII** : ont reçu l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à des doses de **300** et **2000** mg/kg respectivement.
- **Lot VIII et IX** : ont reçu l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* à des doses de **300** et **2000** mg/kg respectivement.

- **Lot X et XI** : ont reçu l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* à des doses de **300** et **2000** mg/kg respectivement.
- Notant que le volume de la solution administré pour chaque souris est constant (0.5ml)



Figure 8 : photographie de l'administration des extraits par voie orale.

II.5.2.2- Suivi des animaux du test

Chaque souris du test a été observé durant les quatre premières heures qui ont suivis l'administration pour la détermination d'éventuelles signes d'intoxications aiguës ; cette observation a par la suite été réitéré au moins deux fois par jours durant toute la durée de l'expérimentation.

Le premier signe d'intoxication recherché a été la mortalité des animaux traités ; puis la survenu de diarrhées, tremblements, convulsions, somnolence, gêne respiratoire ou encore léthargie ont également été surveillés.

L'évolution du poids corporel moyen de chaque lot, de la consommation en eau et en nourriture a également été montrée durant toute la durée de l'expérimentation.

A la fin du test (au 15^{ème} jour), tous les animaux ont été sacrifiés et disséqués, une observation de l'anatomie générale a ainsi été faite et les deux organes cible; foie et reins de trois souris choisis aléatoirement dans chaque lot ont été prélevés pour la réalisation d'une étude histopathologique (figure 9).



Figure 9 : Photographie de la dessiccation.

II.5.2.3- Réalisation des coupes histologiques

La réalisation des coupes histologiques a été effectuée au niveau du laboratoire d'histologie au centre de recherche médicale situé au niveau de l'université d'aboudaou.

- **Fixation**

Après le prélèvement des organes, le foie et les reins ont été lavé avec du liquide de ringer puis conservés dans une solution de formaldéhyde à 10%. Ce dernier est un fixateur, son principe repose sur le fait qu'il réagit avec les groupements aminés des protéines. Cette étape a pour objectif de conserver les structures dans un état morphologique aussi proche que possible de l'état vivant.

- **Déshydratation des tissus**

Les tissus ont été découpés en couches fines et ont été plongés dans un automate (Figure) qui est constitué de 12 cylindres, repartis en 08 bacs d'alcools (éthanol) de degrés croissant allant de 70° à 100°, pendant 45min chacun pour déshydrater les échantillons, 02 bains de xylène d'une durée de 1 heure chacun, ont servie à éliminer d'une part toute trace d'éthanol utilisé à la déshydratation et d'autre part, pour éclaircir les tissus. Une fois totalement imprégné, les tissus ont été placés successivement dans 02 autres bacs de paraffine fondue (portée à 56/58°C) pendant 1h30min chacun; la chaleur provoque l'évaporation du solvant, les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine.



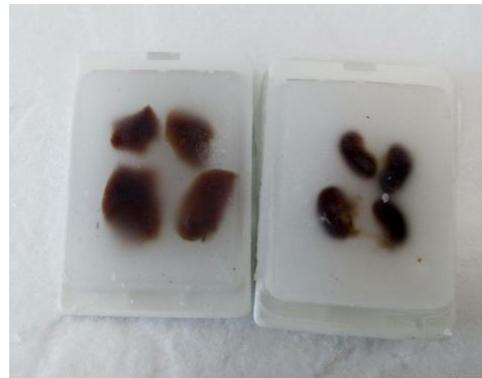
Figure 10 : Inclusion des organes par automate.

- **Enrobage à la paraffine et confection des blocs**

Les fragments d'organe déshydratés ont été placés dans des moules métalliques remplis préalablement par la paraffine fondu couvert avec des cassettes. Celles-ci ont été incubées par la suite à basse température dans une plaque réfrigérative jusqu'à refroidissement et durcissement de la paraffine. (Figure 11)



(A)



(B)

Figure 11 : Préparation des blocs d'inclusion

(A): Enrobage a la paraffine, **(B):** blocs de paraffine

- **Réalisation des coupes**

Des coupes fines d'environ 2 à 6 microns d'épaisseur de chaque bloc ont été réalisées à l'aide d'un microtome (Figure), elles ont ensuite été recueillies sur des lames de verre à l'aide d'une solution d'eau gélatinée.

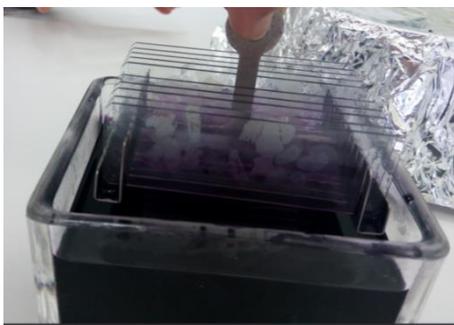


Figure 12 : Microtome utilisé pour la réalisation des coupes.

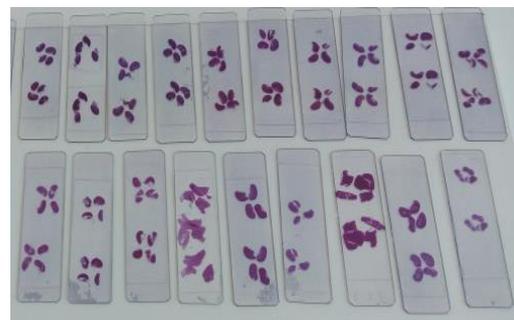
- **Déparaffinage et coloration**

Les lames ont été déparaffinées 1h dans une étuve à 70°C puis trempées dans un bain de xylène pendant 30min et dans de l'éthanol puis lavées à l'eau pendant 10min, cette étape assurant ainsi la réhydratation de la coupe pour la colorer.

Les lames ont été ensuite mises dans un bain d'hématoxyline pendant 05 à 10 minutes pour la coloration des noyaux, suivie d'un bain d'éosine pendant 01 à 03 min pour la coloration du cytoplasme. Les coupes ainsi colorées ont été à nouveau plongé dans trois bains respectifs d'éthanol, d'un mélange éthanol + xylène puis de xylène. Enfin, le montage des lames a été réalisé en ajoutant une goutte d'Eukit pour assurer la fixation des lamelles.



(A)



(B)

Figure 13 : Les étapes de coloration des lames.

(A) : coloration, (B): lames colorées

- **Observation microscopique**

La visualisation microscopique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique de type *Leica DM1000 LED* à un grossissement de x100 équipée d'un appareil de capture de type *Leica MC170 HD* pour la photomicrographies , cette dernière est connecté a ordinateur de type Hp.(figure 14)



Figure 14 : Photographie du Matériels utilisé lors de La visualisation microscopique.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III- RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1- Rendement en huiles essentielles

Le rendement d'extraction ainsi que l'aspect et l'odeur des huiles essentielles, des deux plantes étudiées, sont donnés dans le tableau N° IV.

Tableau IV : rendement et aspect des huiles essentielles.

Extraits	Rendement	Couleur	Odeur
<i>Laurus nobilis</i>	0,53%	Jaune très claire	Aromatique, épicée, avec un fond d'eucalyptus
<i>Lavandula stoechas</i>	0,6%	Jaune limpide	Odeur forte

Le rendement en huile essentielle des deux plantes se rapproche fortement. Le rendement en HE extraite à partir de *Laurus nobilis* est inférieur à celui obtenu à partir d'une étude réalisée par **Kahouli, (2010)** qui est de 0.95%.

Celui de l'huile essentielle extraite à partir de *Lavandulastoechase* est relativement proche à celui obtenu par une étude réalisée par **Zuzarte et al., (2013)** qui est de 0.7%.

De manière générale, la différence en rendement pourrait être due essentiellement à l'origine de l'espèce, la période et le lieu de récolte, le taux d'humidité et le stade de développement de la plante ainsi qu'aux conditions climatiques et de conservation (**Prieto et al., 2007**).

III.2- Dosage des composés phénoliques

III.2.1- Rendement d'extraction

Les résultats des rendements d'extraction des composés phénoliques sont présentés dans le tableau N° V.

Tableau V : rendements en composés phénoliques.

Extrait	Le rendement (%)
<i>Laurus nobilis</i>	20.77%
<i>Lavandula stoechas</i>	19.63%
<i>Hyoscyamus albus</i>	12.97%

D'après ces résultats nous constatons que les rendements de nos extraits se rapprochent plus au moins de ceux déjà rapportés dans la littérature avec le même solvant (**Kahlouli, 2010 ; Menaceur, 2015**).

Néanmoins, Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Telli et al.,2010**).

On constate que malgré l'utilisation du même solvant (Ethanol) ,on observe des différence significatives entre le rendements des trois plante et ceci pourrait etre expliqué par des différences dans leurs compositions phytochimique ,la solubilité de leur composants dans l'éthanol ,la granulométrie de la poudre qui a servi à l'extraction (**Telli et al.,2010**).

III.2.2- Détermination du taux des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des extraits des parties aériennes de *Hyoscyamus albus*, *Laurus nobilis*, *Lavandula stoechas*, ont été exprimées à partir d'une courbe standard utilisant l'acide gallique comme étalon de référence (figure 15).

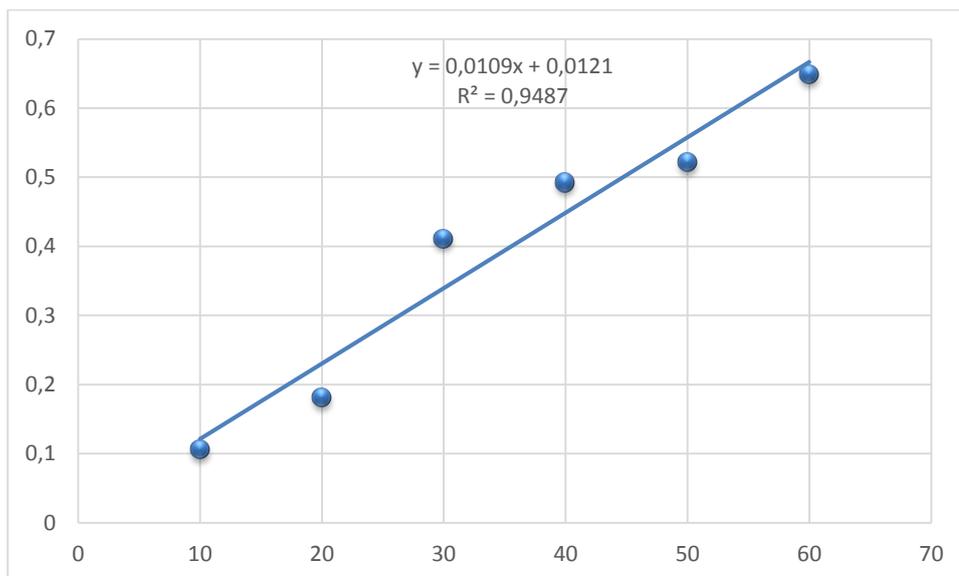


Figure 15: Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique

Les taux en composés phénoliques totaux sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique / g d'extrait ou d'huile essentiel et sont représentées dans la figure 16 :

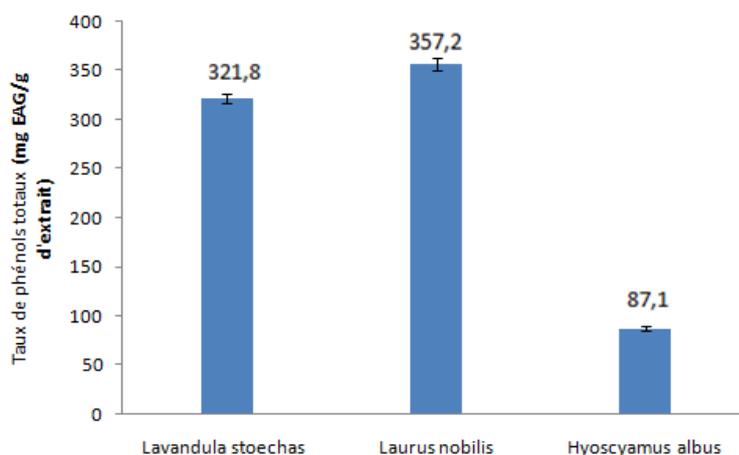


Figure 16 : Taux de phénols totaux des extraits éthanoliques de *Lavandula stoechase*, *Laurus nobilis* et *Hyoscyamus albus* exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

On peut remarquer, d'après les résultats des phénols totaux des différents types d'extraits (Figure 16), que l'extrait éthanolique de laurier est celui qui en contient le taux le plus élevé avec 357.2m mg EAG /g d'extrait .L'extrait de la lavande présente un taux de 321.8 mgEAG/g d'extrait .Enfin le taux le plus faible est l'extrait de la jusquiame qui contient 87.1 mg EAG/g d'extrait .

III.3- Evaluation de l'activité antioxydants

III.3.1- L'activité antioxydants des différents échantillons utilisés seuls

Les pourcentages d'inhibition de DPPH ainsi que les IC50 des différents échantillons utilisés seul sont présentés dans le tableau N° VI

Tableau VI : Activité antioxydants des différents échantillons seuls.

Echantillon	Concentration (µg/ml)	Inhibition (%)	IC50 (µg/ml)
Tocophérol	2	24,98 ± 3,96	5,77 ± 0,19
	4	36,9 ± 3,32	
	6	51,03 ± 4,62	
	8	71,33 ± 2,52	
	10	85,39 ± 0,76	
Acide Caféique	1	32,57 ± 1,75	2,36 ± 0,02
	2	41,5 ± 0,21	
	3	70,46 ± 0,54	
	4	88,65 ± 1,52	
	5	91,38 ± 0,1	
Quercétine	1	9,43 ± 0,1	2,81 ± 0,04
	2	30,76 ± 2,64	
	3	51,07 ± 0,64	
	4	82,31 ± 1,65	
	5	86,08 ± 1,44	
EtOH <i>Hyoscyamus albus</i>	20	27,95 ± 0,77	60,77 ± 0,97
	40	34,47 ± 2,32	
	60	49,82 ± 2,67	
	80	65,86 ± 3,41	
	100	76,24 ± 0,74	
EtOH <i>Laurus nobilis</i>	20	17,6 ± 0,67	50,2 ± 0,21
	40	38,58 ± 1,54	
	60	58,69 ± 0,37	
	80	65,1 ± 3,43	
	100	68,8 ± 0,18	
EtOH <i>Lavandula stoechas</i>	10	20,35 ± 1,48	22,64 ± 0,31
	20	45,49 ± 0,58	
	30	62,19 ± 1,13	
	40	84,33 ± 2,03	
	50	86,77 ± 0,28	

H.E <i>Laurus nobilis</i>	80	34,01 ± 3,47	122,58 ± 2,93
	100	42,2 ± 2,68	
	120	48,79 ± 1,31	
	140	56,09 ± 2,52	
	160	63,22 ± 0,55	
H.E <i>Lavandula stoechase</i>	1200	31,66 ± 4,81	1620,9 ± 65,34
	1400	45,54 ± 1,41	
	1600	48,94 ± 0,93	
	1800	50,19 ± 0,6	
	2000	54,28 ± 0,12	

Les figures 17,18 et 19 représentent les pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des différents échantillons.

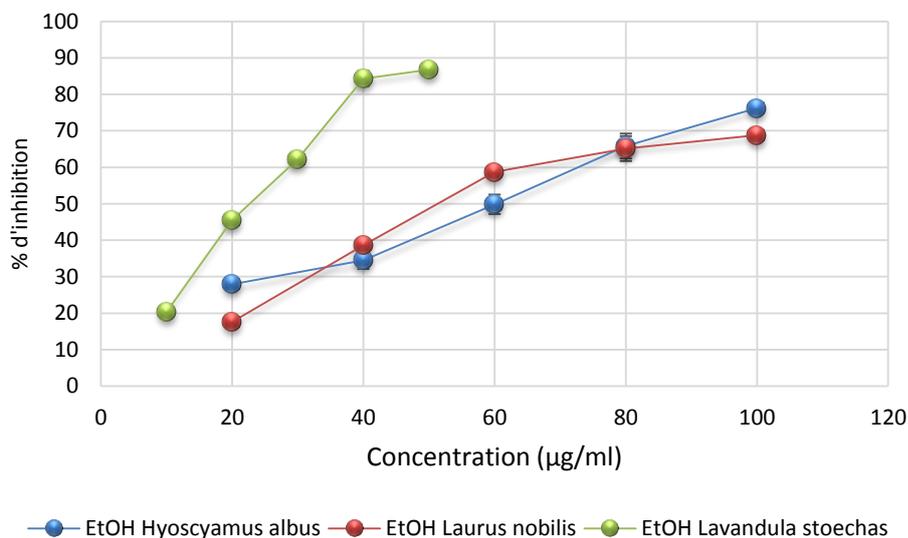


Figure 17: Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des composées phénolique

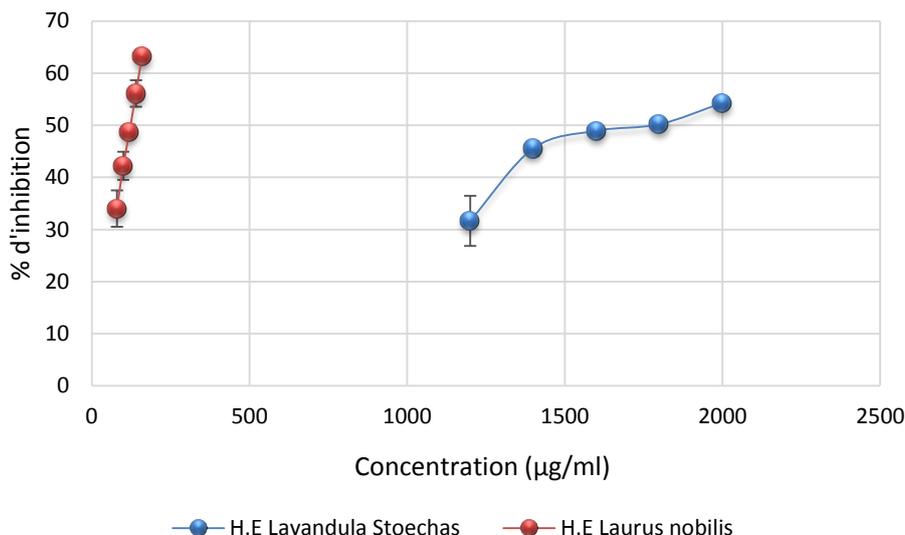


Figure 18: Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des huiles essentielles.

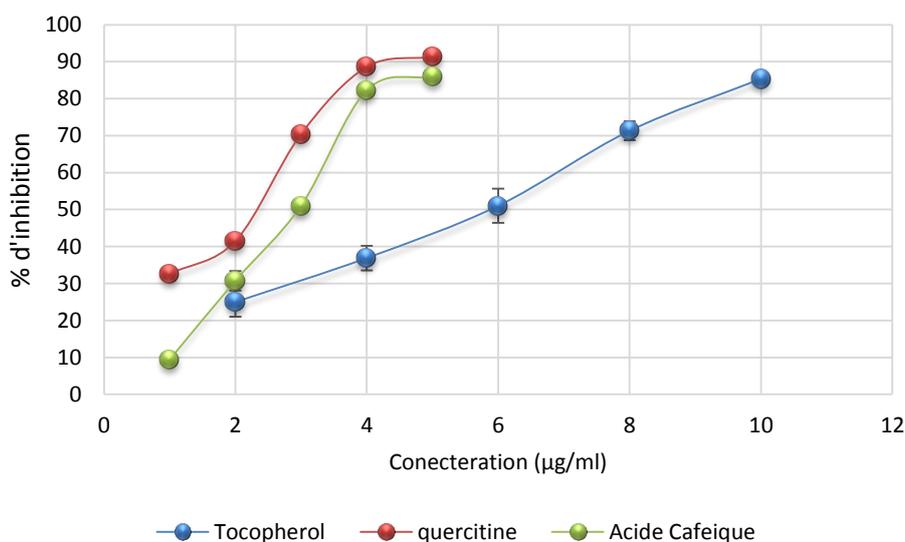


Figure 19: Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des Standards

Les résultats obtenus montrent que les standards utilisés, et les huiles essentielles ainsi que les extraits éthanolique ont une activité anti-radicalaire concentration dépendante.

Le pourcentage d'inhibition diffère entre les deux huiles essentielles (figure 19). L'effet scavenger de l'espèce *Laurus nobilis* varie de 34,01% à 63,22% pour des concentrations allant de 80 à 160 µg/ml. Quant à l'espèce *Lavandula stoechas* l'effet scavenger varie de 31,66 à

54,28 mais à des concentrations 10 fois plus que celle utilisées pour *Laurus nobilis* qui varie de 1200 à 2000 µg/ml.

Les extraits éthanoliques montrent un pourcentage d'inhibition élevé par rapport aux huiles essentielles. En effet, la capacité anti-radicalaire la plus élevée est trouvée pour l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* qui varie de 20,35 à 86,77 % pour des concentrations allant de 10 à 50 µg/ml. Une activité qui reste significativement inférieure à celle de *Laurus nobilis* et de *Hyoscyamus albus* avec 65.1 et 76,24% d'inhibition respectivement avec des concentrations identique allant de 20 à 100 µg/ml.

Les huiles essentielles et les extraits éthanoliques ont montré des activités plus faibles que celles des antioxydants de synthèse qui sont l'α tocophérol, la quercétine et l'acide caféique. Il a été rapporté par plusieurs auteurs que les antioxydants de synthèse possèdent plus d'aptitude à piéger le radical DPPH que les huiles essentielles et les polyphénols (**Tepe et al., 2006 ; kelen et al., 2008**).

L'HE de *Lavandula stoechas* a montré une très faible activité anti radicalaire, ceci a déjà été constaté par **Mohammedi et Atik, (2011)**. Cette faible activité étant probablement due à la présence du cinéole en tant que composé majoritaire. En effet l'étude du pouvoir anti radicalaire de ce composé, à des concentrations identiques à celle de l'huile, a démontré une activité anti radicalaire presque nulle : à 2000µg/ml le pourcentage d'inhibition était de 17% (**Ruberto et Baratta, 2000**). Ce composé a été considéré comme un faible antioxydant avec un IC50 assez élevé 9360 µg/ml. Cette huile est connue pour sa richesse en cétones dont l'activité antioxydants est relativement faible. En revanche l'activité antioxydants attribué à *Lavandula Stoechas* réside plutôt dans ces polyphénols.

Ce ne sont pas uniquement les composés majoritaires des HE qui sont responsables de l'activité antioxydants, d'autres composés dits minoritaires peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Sidi Boulouar et Ziane., 2003**). Ainsi La présence d'acétate de Bornyl même à faible concentration dans l'huile essentielle de *Lavandula Stoechas* (3.2%) et de carvacrol peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH (**Economou et al., 1991**).

L'HE de *Laurus nobilis*, quand à elle, a montré une bonne activité anti radicalaire, Car celle-ci contient des monoterpènes, à des taux assez élevés, connus pour leur efficacité antioxydants. Dans une étude antérieure, les huiles avec une prédominance mono terpénique ont montré une activité assez modeste (**Gachkar et al., 2007**).

Ferreira et ses collègues (2006) ont étudié l'activité antioxydants de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de *Laurus nobilis*, et ont enregistré une forte activité antioxydants pour chacun des trois extraits avec une prédominance des extraits polaires. La présence d'isoquercitrine, les glycosides flavonol et la vitamine E peuvent expliquer l'activité démontrée (**Demo et al. 1998 ; Kivçak et Mert, 2002; Simić et al., 2003**)

L'évaluation de l'activité antioxydants a montré que les extraits éthanoliques de *Laurus nobilis* et *Lavandula stoechas* possèdent un fort pouvoir antioxydant par rapport à celui des huiles essentielles. La teneur élevée en composés phénoliques serait à l'origine de cette capacité réductrice importante du radicale DPPH.

La valeur de l'IC50 de l'extrait éthanolique de *lavandula stoechas* se rapproche fortement de celle rapportée par **Menaceur, (2014)** qui est estimée à $19,69 \pm 1,29$ %.

L'inhibition du radical DPPH par les extraits de *Hyoscyamus albus* montre que l'extrait éthanolique a exhibé un pourcentage d'inhibition important ceci est dû au fait que l'extrait éthanolique est riche en polyphenols qui sont des composés riche en groupement OH (hydroxyle) donateurs d'électrons et d'hydrogènes (**Erol et al., 2010**).

D'autres travaux réalisés par **Alghazeer et al., (2012)** sur l'inhibition du radical DPPH ont montré une IC50 de 60.4 µg/ml pour l'extrait méthanolique de la Jausquiame blanche, valeur similaire à celle retrouvée dans la présente étude estimée à 60.77µg/ml. Les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (**Yang et al., 2012**)

III.3.2- Activité antioxydants des différentes combinaisons

Les figures 20 à 44 représentent les isobogrammes obtenus suite à l'utilisation de différentes combinaisons entre extrais ou extrais et substances synthétiques.

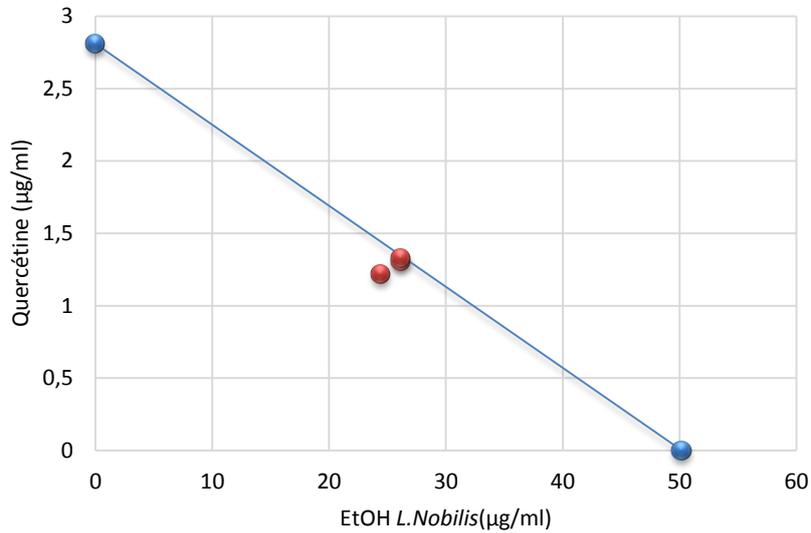


Figure 20: Isobogramme EtOH de *L.nobilis* combinée avec la Quercétine.

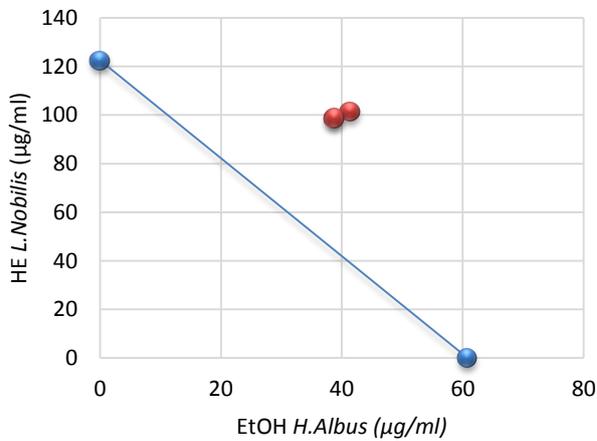


Figure 21: Isobogramme HE de *L.nobilis* combinée avec EtOH de *H.albus*.

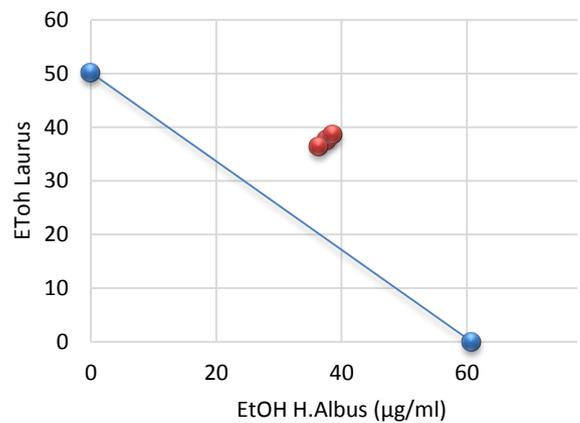


Figure 22: Isobogramme EtOH de *L.nobilis* combinée avec EtOH de *H.albus*

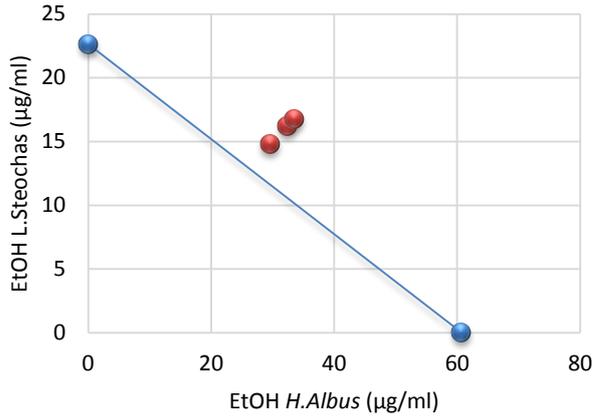


Figure 23: Isobogramme EtOH *L.steochas* combinée avec EtOH de *H.albus*

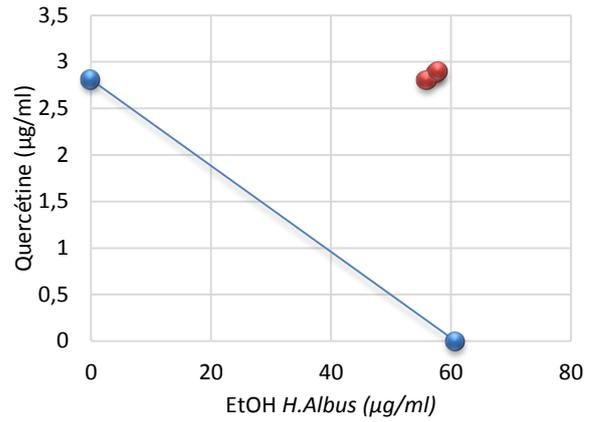


Figure 24: Isobogramme EtOH *H.albus* combinée avec Quercétine

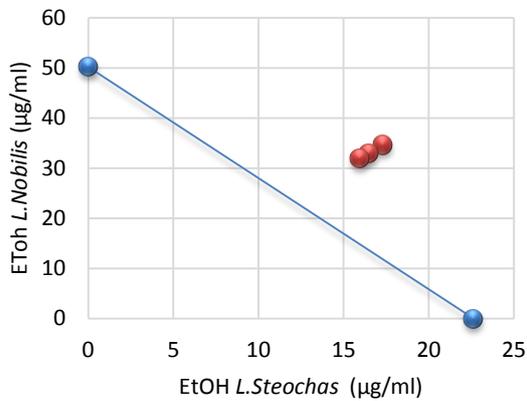


Figure 25 : Isobogramme EtOH de *L.Nobilis* combinée avec EtOH de *L.Stoechas*

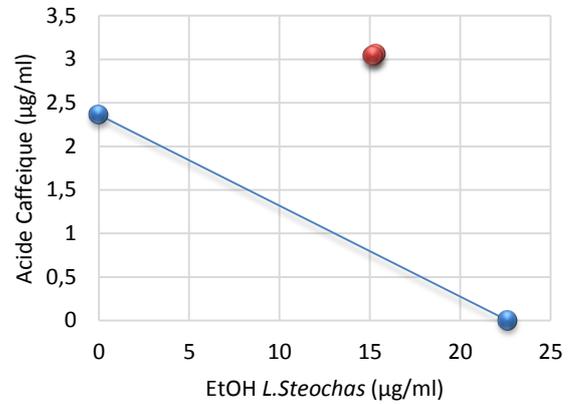


Figure 26 : Isobogramme EtOH de *L.Steochas* combinée avec Acide Cafeique.

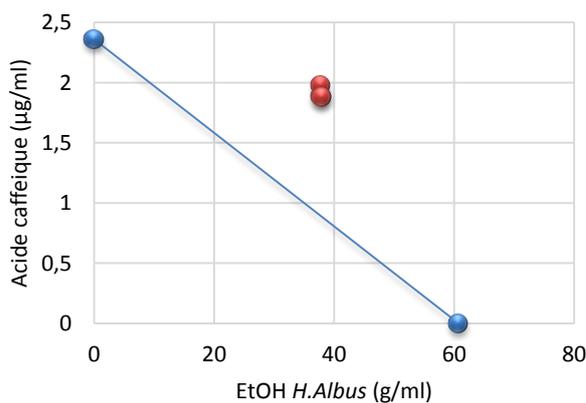


Figure 27 : Isobogramme EtOH de *H.albus* combinée avec Acide caféique

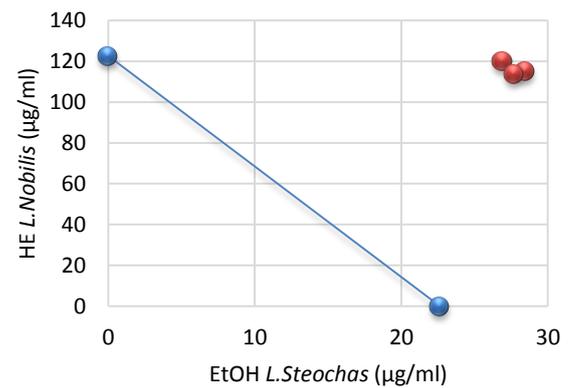


Figure 28 : Isobogramme EtOH de *L.stoechas* combinée avec H.E *L.nobilis*

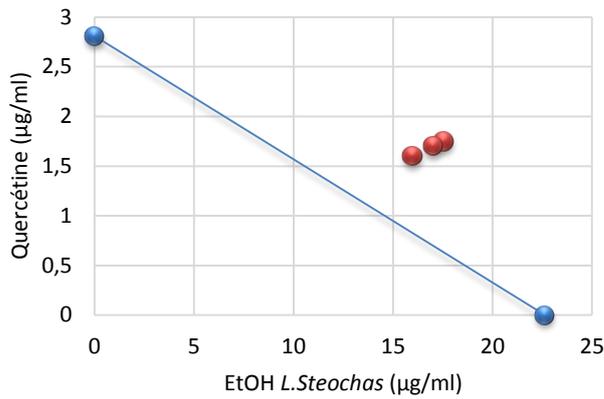


Figure 29: Isobologramme EtOH de *L.stoechas* combinée avec Quercétine .

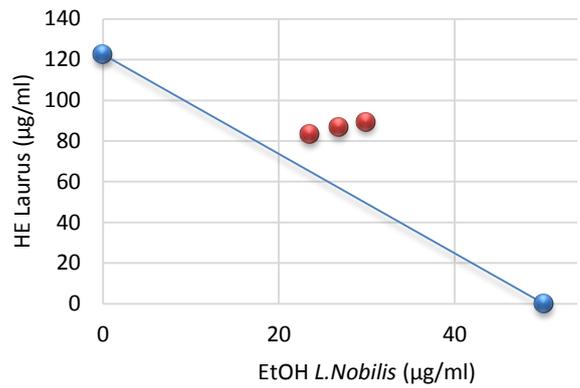


Figure 30: Isobologramme EtOH de *L.Nobilis* combinée avec H.E *L.nobilis*

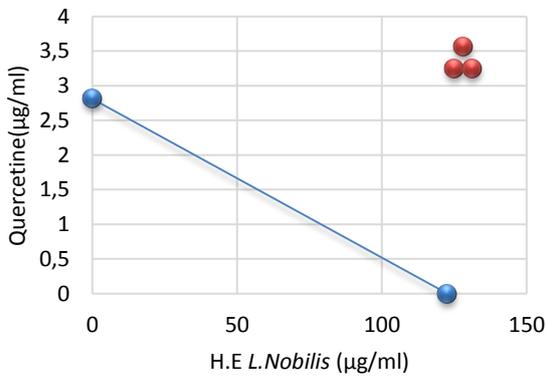


Figure 31: Isobologramme H.E de *L.nobilis* combinée avec Quercetine.

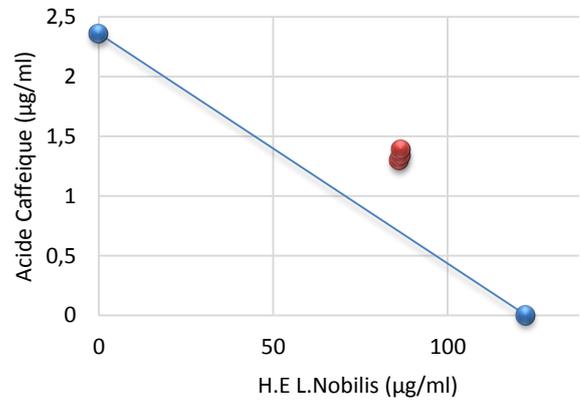


Figure 32: Isobologramme H.E de *L.nobilis* combinée avec acide caféique.

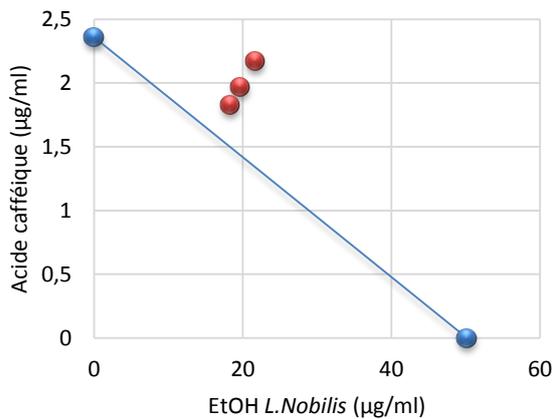


Figure 33 : Isobologramme EtOH de *L.nobilis* combinée avec acide caféique.

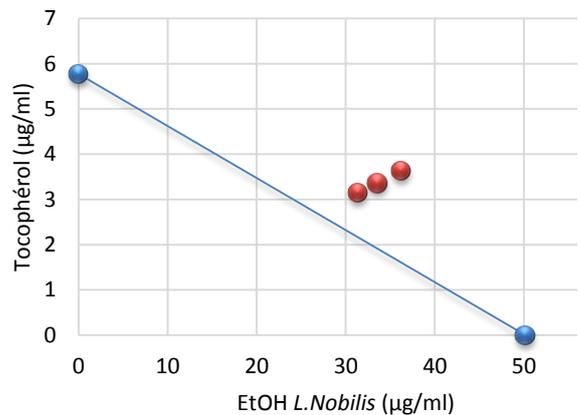


Figure 34: Isobologramme EtOH de *L.nobilis* combinée avec Tocophérol.

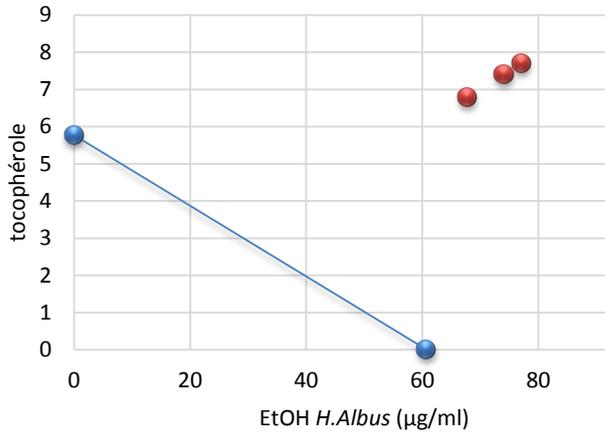


Figure 35 :Isobogramme EtOH de *H.albus* combinée avec tocophérol

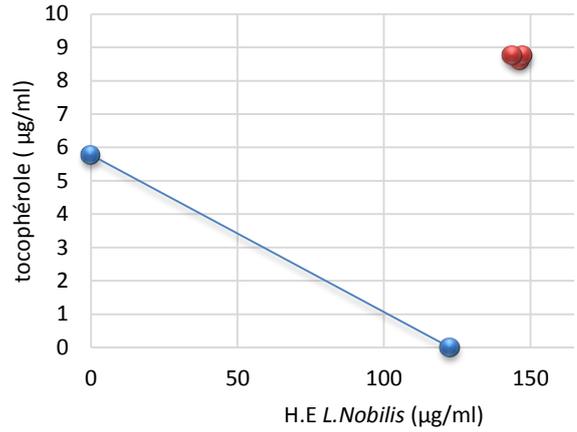


Figure 36 :Isobogramme H.E de *L.nobilis* combinée avec tocophérol

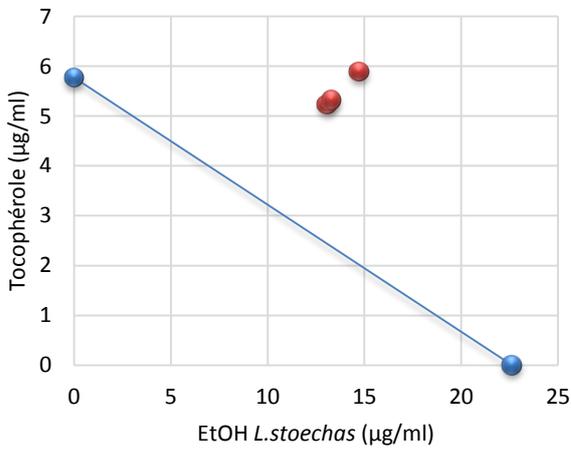


Figure 37 :Isobogramme EtOH de *L.stoechas* combinée avec Tocophérol.

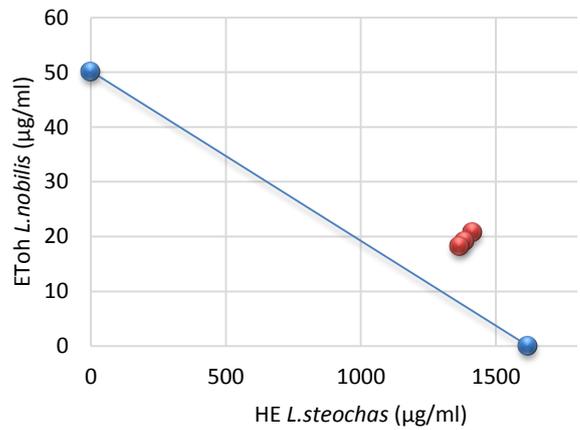


Figure 38 :Isobogramme EtOH de *L.nobilis* combinée avec EtOH de *L.stoechas*

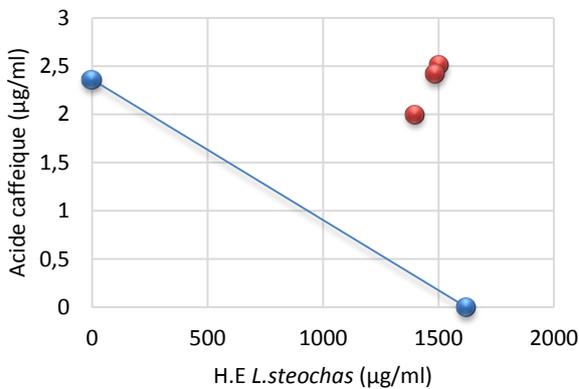


Figure 39 :Isobogramme H.E de *L.stoechas* combinée avec Acide caféique .

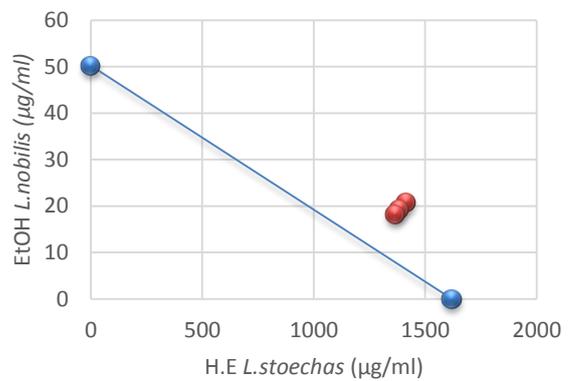


Figure 40 : Isobogramme HE de *L.stoechas* combinée avec EtOH *L.nobilis*

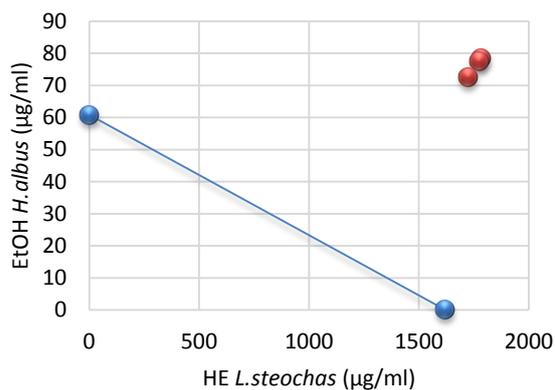


Figure 41 : Isobologramme EtOH de *H.albus* combinée avec HE *L.stoechas*

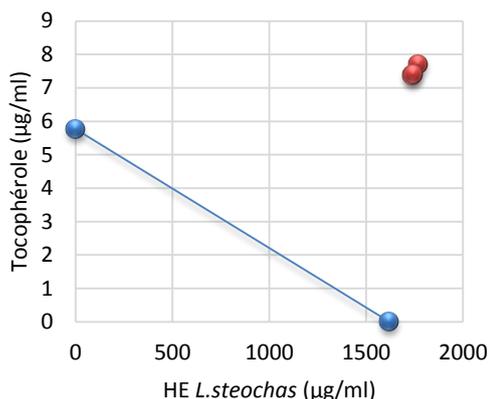


Figure 42: Isobologramme HE de *L.stoechas* combinée avec Tocophérol

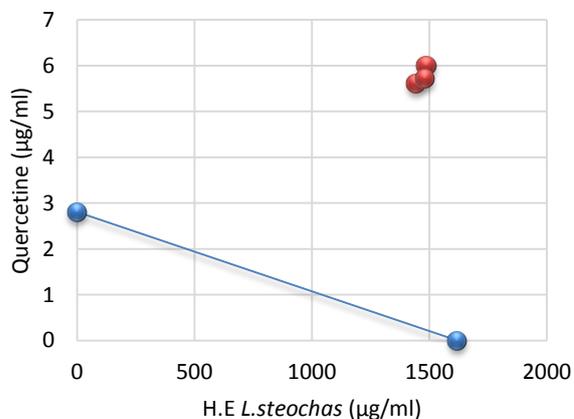


Figure 43 : Isobologramme HE de *L.stoechas* combinée avec la Quercetine

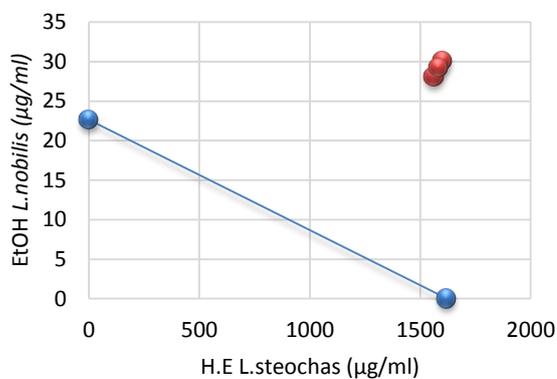


Figure 44: Isobologramme H.E de *L.stoechas* combinée avec EtOH *L.nobilis*

Tableau VII : FIC₅₀ et FIC_{50I} Index des différentes combinaisons.

Combinaison	IC ₅₀ µg/ml	IC _{50c} (µg/ml)	FIC ₅₀	FIC _{50I}
EtOH Jusquiame blanche	60.77	37.58	0.61	1.35
EtOH Laurier	50.2	37.58	0.74	
EtOH Jusquiame blanche	60.77	39.63	0.65	1.46
H.E Laurier	122.58	99.63	0.81	
EtOH Jusquiame blanche	60.77	31.84	0.52	1.22
EtOH Lavande	22.64	15.92	0.7	

EtOH Jusquiame blanche	60.77	76.11	1.25	2.33
H.E Lavande	1620.9	1761.15	1.08	
EtOH Jusquiame blanche	60.77	57.17	0.94	1.95
Quercétine	2.81	2.85	1.01	
EtOH Jusquiame blanche	60.77	73.02	1.2	2.46
Tocopherol	5.77	7.3	1.26	
EtOH Jusquiame blanche	60.77	37.85	0.62	1.42
Acide cafeique	2.36	1.89	0.8	
EtOH Laurier	50.2	26.68	0.53	1.23
H.E Laurier	122.58	86.68	0.7	
EtOH Laurier	50.2	33.18	0.66	1.39
EtOH Lavande	22.64	16.59	0.73	
EtOH Laurier	50.2	19.45	0.39	1.25
H.E Lavande	1620.9	1388.9	0.86	
EtOH Laurier	50.2	25.58	0.51	0.97
Quercétine	2.81	1.29	0.46	
EtOH Laurier	50.2	33.74	0.67	1.26
Tocophérol	5.77	3.38	0.58	
EtOH Laurier	50.2	19.91	0.4	1.24
Acide cafeique	2.36	1.99	0.84	
EtOH Lavande	22.64	29.14	1.29	2.27
H.E Lavande	1620.9	1583.05	0.98	
EtOH Lavande	22.64	27.69	1.22	2.16
H.E Laurier	122.58	115.36	0.94	
EtOH Lavande	22.64	16.86	0.74	1.34
Quercétine	2.81	1.68	0.6	
EtOH Lavande	22.64	13.71	0.6	1.55
Tocopherol	5.77	5.48	0.95	
EtOH Lavande	22.64	15.24	0.67	1.96
Acide Cafeique	2.36	3.05	1.29	
H.E Laurier	122.58	131.66	1.07	2
H.E Lavande	1620.9	1508.12	0.93	

H.E Laurier	122.58	128.13	1.04	2.25
Quercétine	2.81	3.40	1.21	
H.E Laurier	122.58	145.99	1.2	2.71
Tocopherol	5.77	8.72	1.51	
H.E Laurier	122.58	86.53	0.7	1.27
Acide cafeique	2.36	1.34	0.57	
H.E Lavande	1620.9	1471.99	0.91	1.75
Quercétine	2.81	2.36	0.84	
H.E Lavande	1620.9	1751.3	1.1	2.4
Tocopherol	5.77	7.5	1.3	
H.E Lavande	1620.9	1462.67	0.9	1.87
Acide Cafeique	2.36	2.31	0.97	

Les résultats obtenus avec les différentes combinaisons ne montrent aucun effet synergique. Cet effet est en général recherché pour potentialiser les effets des substances utilisées en thérapeutiques, avec des concentrations plus faibles que si elles étaient employées seules. Dans notre cas la plupart des associations ont donné des effets antagonistes et s'avèrent, donc non intéressantes pour une éventuelle utilisation en thérapeutique, car ce type de combinaison diminue l'effet des substances employées en combinaison (**Romano et al., 2009**).

III.4- Evaluation de la toxicité aigue

Les résultats de la mortalité observés chez les souris exposées à deux doses des substances testées, sont présentés dans le tableau N°VIII.

Tableau VIII : Mortalité après administration de deux doses différentes des extraits éthanolique et huiles essentielles des trois plantes étudiées.

L'extrait	Dose (mg/kg)	Mortalité	Latence de mortalité
Témoin		0/6	0
Huile essentielle <i>Laurus nobilis</i>	300 mg/kg	0/6	0
	2000 mg/kg	0/6	0
Extrait éthanolique <i>Laurus nobilis</i>	300 mg/kg	0/6	0
	2000 mg/kg	0/6	0
Huile essentielle <i>Lavandulastoechas</i>	300 mg/kg	0/6	0
	2000 mg/kg	1/6	1
Extrait éthanolique <i>Lavandulastoechas</i>	300 mg/kg	0/6	0
	2000 mg/kg	0/6	0
Extrait éthanolique <i>Hyoscyamus albus</i>	300 mg/kg	0/6	0
	2000 mg/kg	0/6	0

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les doses des différents extraits, administrées aux souris (300mg/kg et 2000mg/kg) sont bien tolérées, dans le sens où il n'y a aucun cas de mortalité ; de même qu'aucun signe d'intoxication dû aux substances n'est observé au cours des 14 jours du test.

Selon l'échelle de **Hodge et sterner, (1949)** pour les rats de laboratoire, une DL₅₀ orale ≥ 2000 mg/kg signifie que la substance est légèrement toxique. Les résultats du test de toxicité aigue n'ont pas permis de calculer la DL₅₀ des différents extraits, ces derniers pourraient donc être considérés comme étant légèrement ou encore non toxique.

III.4.1- Evolution pondérale

L'évolution pondérale des souris étudiées est l'un des paramètres qui est en relation directe avec la toxicité. En effet l'apparition d'une toxicité s'accompagne souvent d'un amaigrissement. Les variations du poids corporel, des souris traitées avec les différents extraits, sont illustrées dans la figure 46.

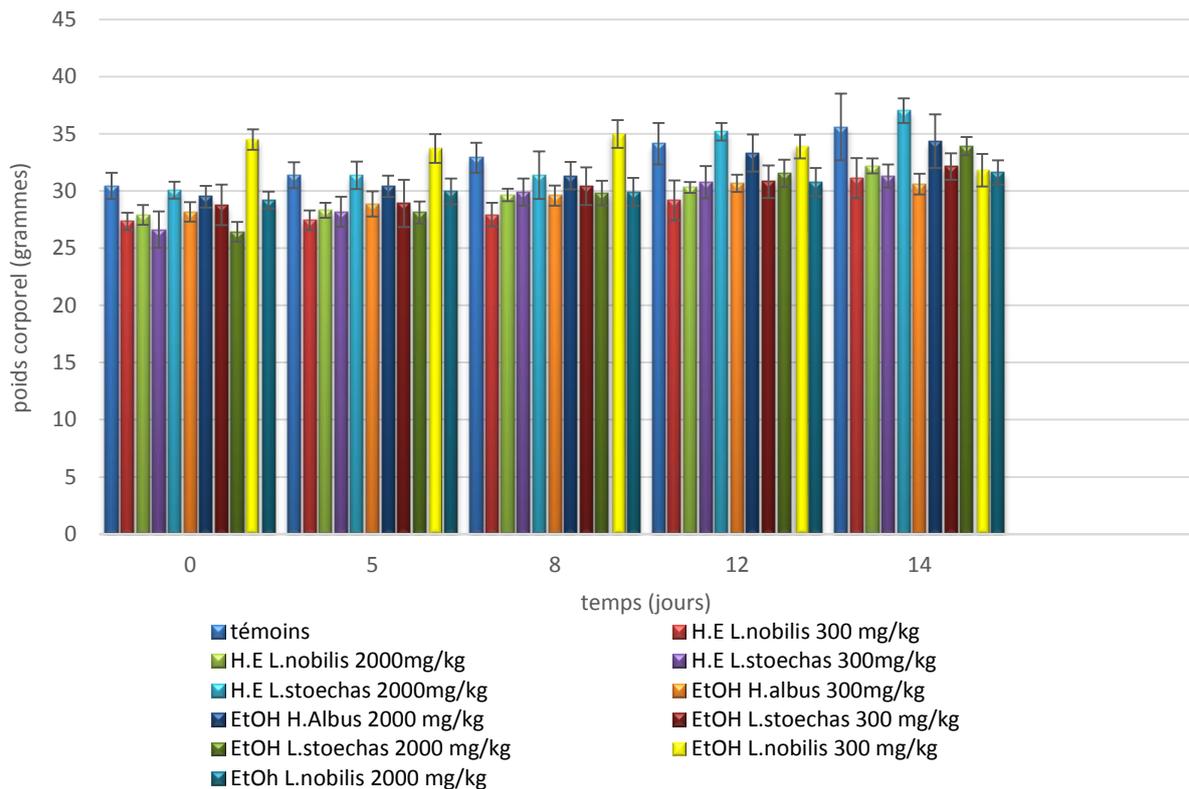


Figure 46 : Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigüe
(Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type).

D'après les résultats, on remarque une augmentation croissante du poids corporel des souris, au cours des 14 jours de l'étude à l'exception des lots traitées par les extraits éthanolique de *Hyoscyamus albus*, dont le poids corporel est resté relativement stable. Etant donné que ces fluctuations ont été observées même chez le lot contrôle, ayant reçu uniquement le véhicule, ce signe semble donc être indépendant d'un éventuel effet des échantillons testés, mais pourrait plutôt être attribué à un état de stress ou encore aux conditions climatiques.

III.4.2- Evolution de la quantité de nourriture consommée

La variation quotidienne de la quantité de nourriture consommée par les différents lots du test est représentée dans la figure 47.

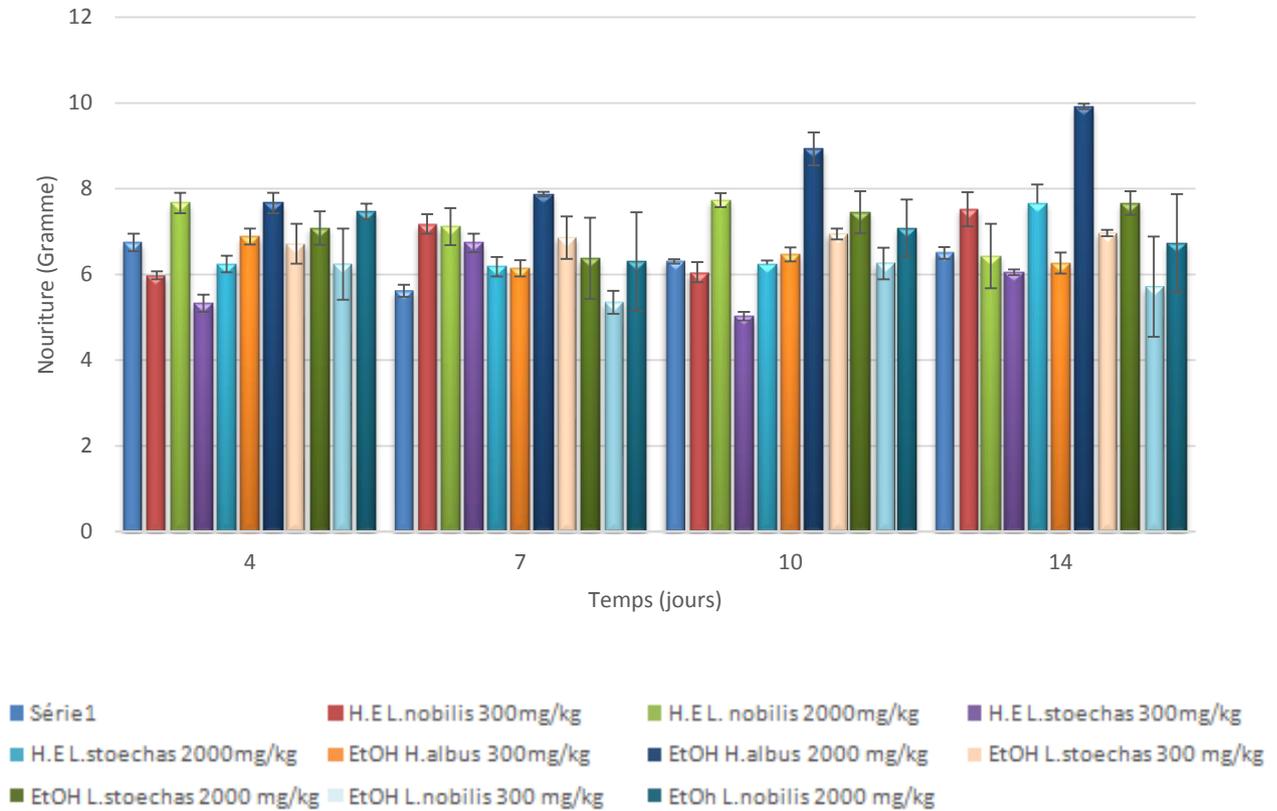


Figure 47 : quantité de nourriture consommée par les souris durant le test de la toxicité aigue

Les résultats ne montrent pas de différences dans la prise de nourriture, entre les groupes de souris traitées et le groupe contrôle, à l'exception du lot traité par l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus*, dont la consommation moyenne est estimée à une quantité de 11g par souris, quantité largement supérieure à celle consommée par le lot contrôle estimée en moyenne à 6g par souris.

III.4.3- Evolution de la consommation de l'eau

Le volume d'eau consommé durant la période de traitement est représenté dans la figure 48 .

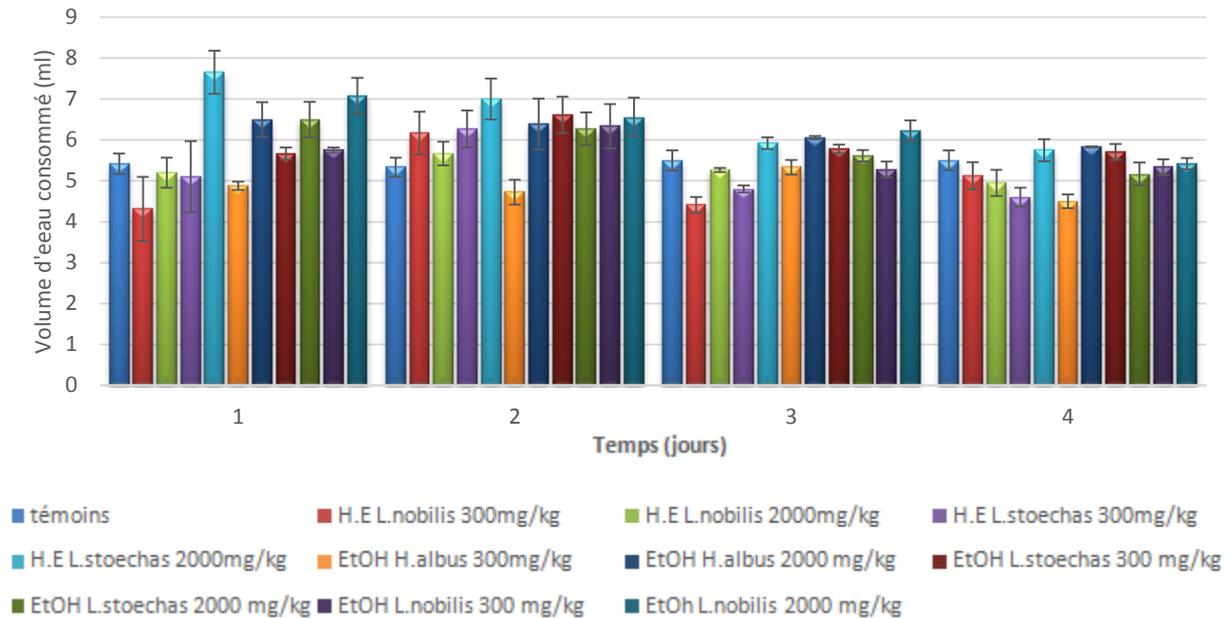


Figure 48: Quantité d'eau consommée durant le test de toxicité aigüe.

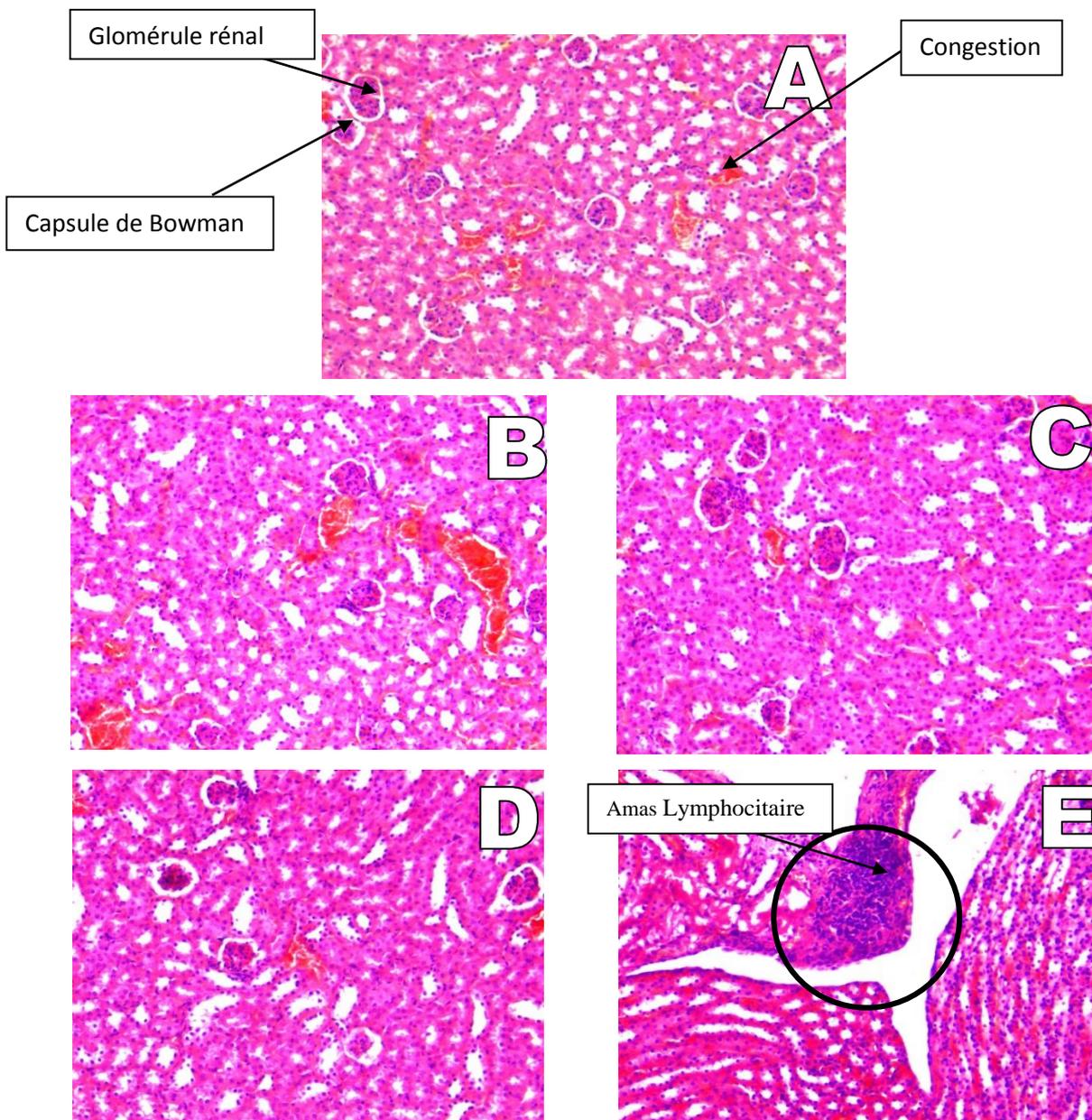
Le volume d'eau, consommé par les souris traitées par les différents extraits, montre que la variation est proportionnelle à la dose d'extrait utilisé, car une différence significative entre deux doses différentes de chaque extrait est observée ; le volume d'eau consommée par les souris traitées avec une dose de 2000mg/kg est supérieure à celui des souris traitées par une dose de 300mg/kg.

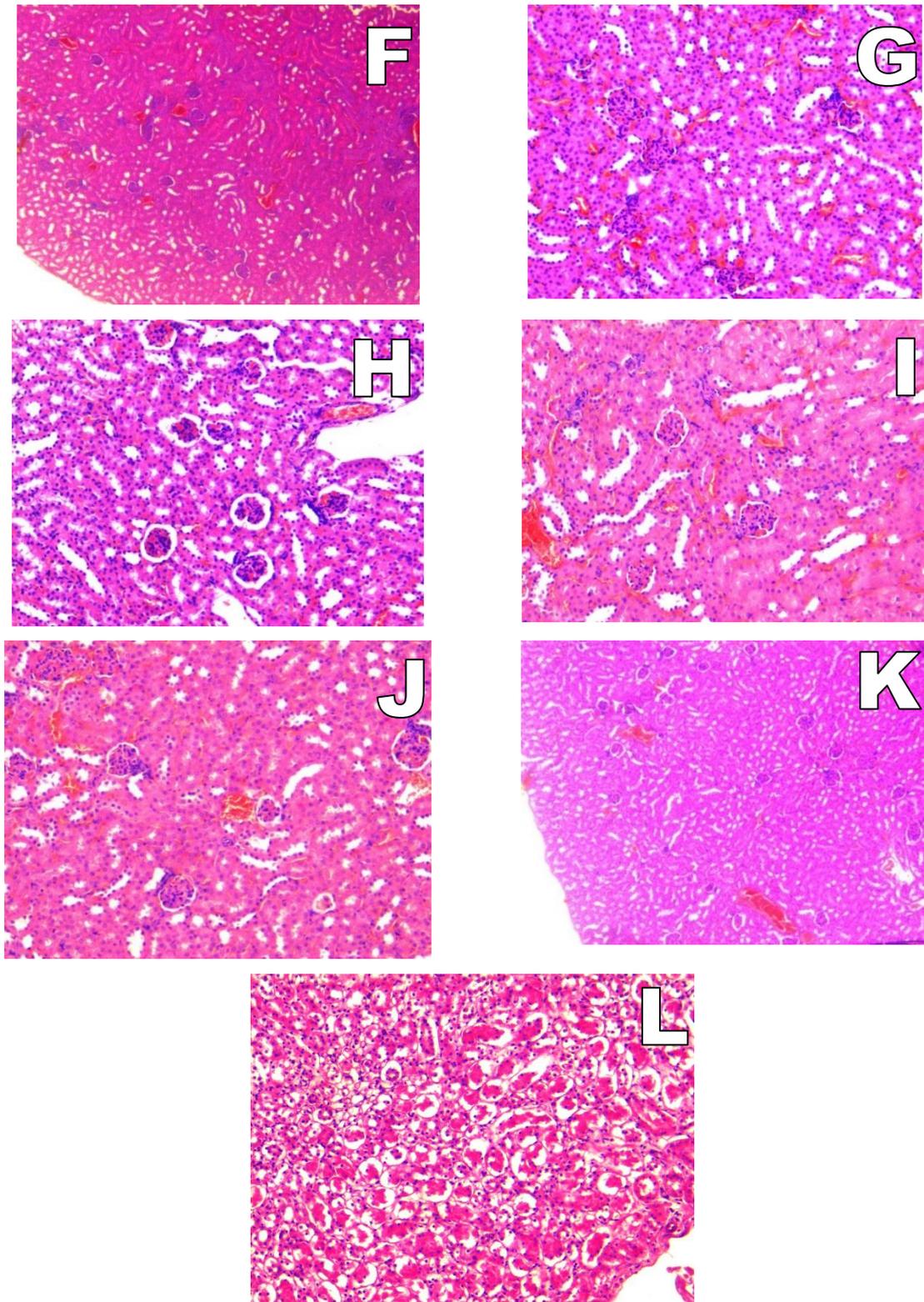
Néanmoins une diminution dans le temps, du volume d'eau chez tous les lots de souris, est observée, ceci pourrait être dû à des facteurs tels que les conditions climatiques (température).

III.5- Etude histopathologique

III.5.1- Histologie rénale

Les figures illustrent la structure du parenchyme rénal des différents groupes de souris. Nous constatons que les reins des souris témoin présentent un parenchyme normal avec une capsule conjonctivo-**adipeuse**. Dans le parenchyme cortical se trouvent de nombreux petits amas ronds dispersés qui sont des glomérules, ceux-ci sont entourés d'une capsule de Bowman. Des petites congestions vasculaires sont également observées. Leur présence est probablement liée au stress causé lors de la manipulation et le sacrifice des souris (Valla, 2003)





Figures 49: Coupes histologique du parenchyme rénal (grossissement x100). (A) contrôle ; (B) EtOH *Laurus nobilis* 2000 mg/kg. (C) EtOH *Laurus nobilis* 300mg/kg ; (D) EtOH *Lavandula stoechas* 300mg/kg ; (E) EtOH *Lavandula stoechas* 2000 mg/kg ; (F) EtOH *Hyoscyamus albus* 300mg/kg ; (G) EtOH *Hyoscyamus albus* 2000mg/kg ; (H) Huile essentiel *Lavandula stoechas* 300mg/kg ; (I)) Huile essentiel *Lavandula stoechas* 2000mg/kg ; (J) Huile essentiel *Laurus nobilis* 300mg/kg ; (K) Huile essentiel *Laurus nobilis* 2000mg/kg

Les reins des souris, traitées par les extraits des trois plantes (figure 49), ne présentent pas de modifications au niveau du parenchyme rénal par rapport au lot témoin. Néanmoins, une discrète inflammation chronique, avec présence de lymphocytes, à été observée pour certains lots (figure). Ceci n'est pas considéré comme une pathologie sa cause probable est une infection d'origine bactérienne (Louthrenoo, 2008).

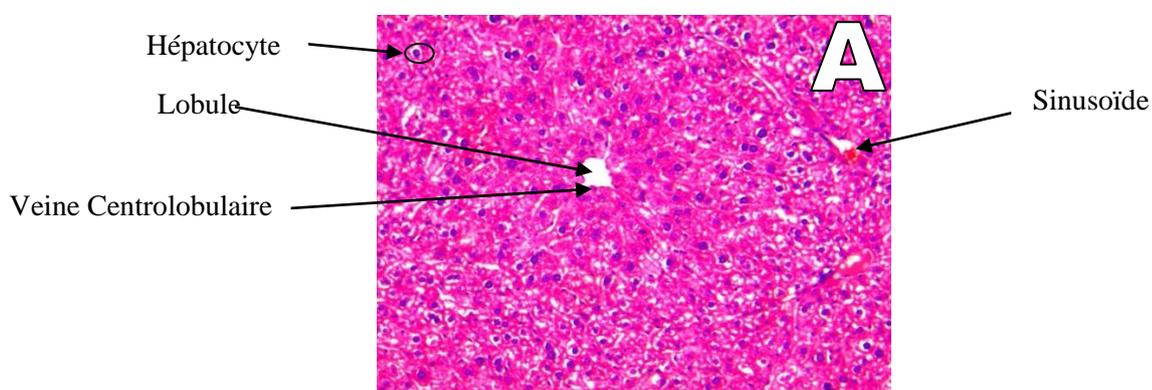
La figure (49-L) montre le parenchyme rénal de l'unique souris, morte au cours de l'étude et qui appartient au lot traité par l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, à une dose de 2000 mg/kg. Une souffrance cellulaire avec un début de nécrose à été observé. On remarque un noyau ratatiné et un cytoplasme très dense. Ce résultat ne dépend pas de la toxicité mais pourrait correspondre à une anomalie déjà préexistante.

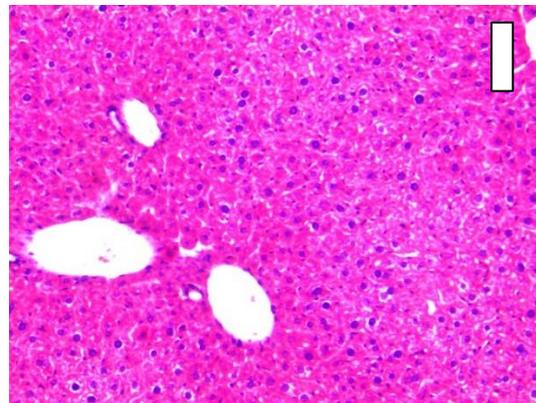
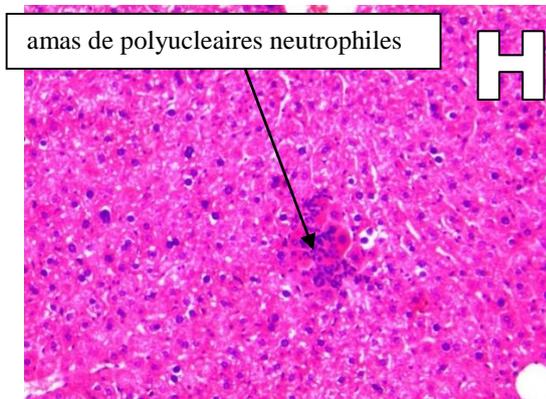
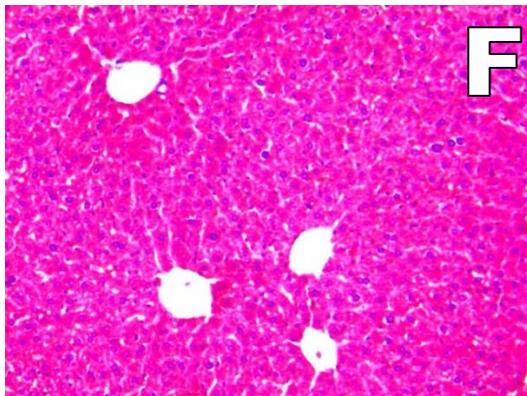
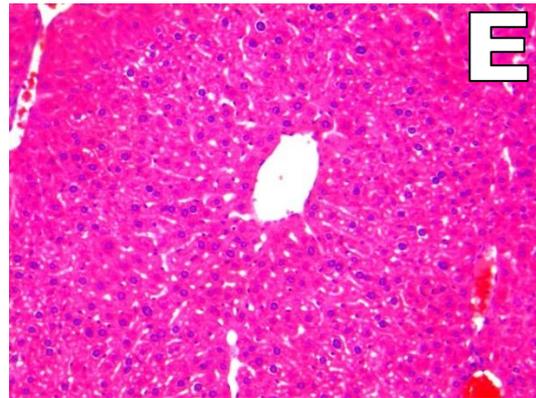
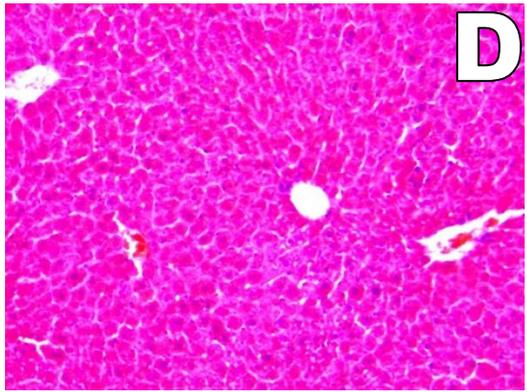
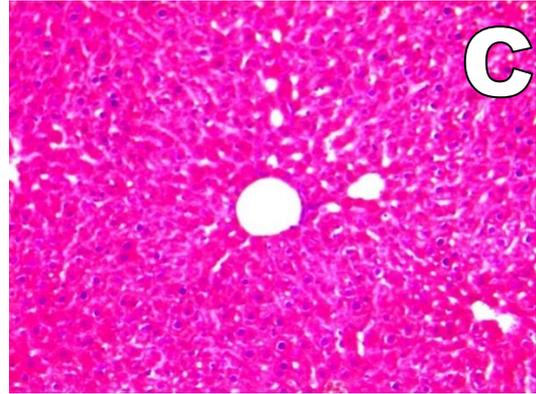
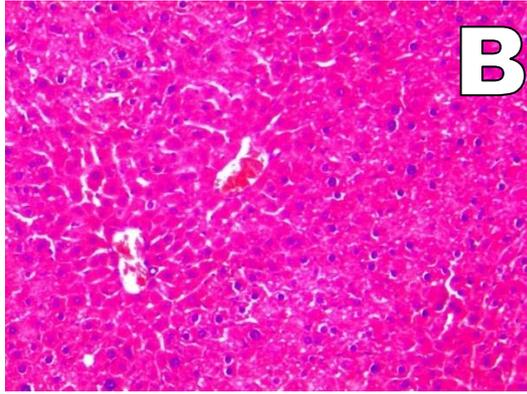
III.5.2- Histologie hépatique

Le foie des souris témoins présente un aspect normal sans modification hépatique, avec un parenchyme lobée. Chaque lobe est constitué d'hépatocytes agencés en travées de Remak disposé autour d'une veine centrale appelées veine centrolobulaire.

L'examin microscopique du foie des souris traitées par les extraits des 3 plantes ne montre aucune modification du parenchyme par rapport au lot témoin.

Néanmoins, des microabcés de petits amas de polynucléaires neutrophiles ont été observé au niveau du parenchyme rénal dans les espace porte et en peri-veine centrolobulaire pour tous les lots y compris le lot control.





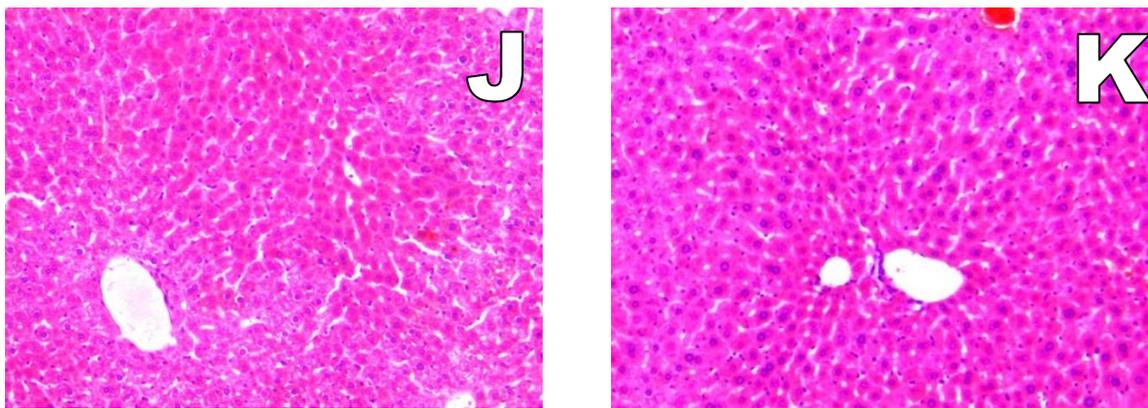


Figure 50 : Coupes histologique du parenchyme hépatique (grossissement x100). (A) contrôle ; (B) EtOH *Laurus nobilis* 300mg/kg. (C) EtOH *Laurus nobilis* 2000 mg/kg ; (D) EtOH *Lavandula stoechas* 300mg/kg ; (E) EtOH *Lavandula stoechas* 2000mg/kg ; (F) EtOH *Hyoscyamus albus* 300mg/kg ; (G) EtOH *Hyoscyamus albus* 2000mg/kg ; (H) Huile essentiel *Lavandula stoechas* 300mg/kg ; (I)) Huile essentiel *Lavandula stoechas* 2000mg/kg ; (J) Huile essentiel *Laurus nobilis* 300mg/kg ; (K) Huile essentiel *Laurus nobilis* 2000 mg/kg .

Une étude faite par **Benhouda A etYahia M., (2014)** sur la toxicité aiguë de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus albus* n'a démontré aucun signe visible de toxicité aiguë ou de mort chez les rats testés au cours de la période d'observation, et ceci concorde avec nos résultats.

Etant donné que les reins sont très sensibles aux substances toxiques, du fait de leurs fonctions de transport et de filtration de grandes quantités de toxines qui peuvent se concentrer dans les tubules, et qu'aucune altération liée aux extraits testés n'a été observée. Nous pouvons conclure que les extraits éthanoliques et huiles essentielles des trois plantes sont non toxiques aux doses testées.

Conclusion

Et perspectives

Conclusion et perspectives

L'effet pharmacologique des extraits de *Hyoscyamus albus*, *Laurus nobilis* et *Lavandula stoechas*, a été mis en évidence par une évaluation de leurs propriétés antioxydants.

Le rendement d'extraction des polyphénols, à partir des parties aériennes des trois plantes étudiées (*Hyoscyamus albus*, *Laurus nobilis* et *Lavandula stoechas*) sont respectivement de **12,97%**, **20,77%** et **19,63 %** ceux des huiles essentielles sont de **0,53%** et **0,6%** respectivement pour *Laurus nobilis* et *Lavandula stoechas*.

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, à partir des trois extraits obtenus, ont clairement montré que *Laurus nobilis* et *Lavandula stoechas* (**357,2 ± 6,22 mg EAG/g d'extrait**) et (**321,8 ± 4,24 mg EAG/g d'extrait**), possèdent une teneur élevée en composés phénoliques par rapport à *Hyoscyamus albus* (**87,1 ± 2,26 mg EAG/g d'extrait**).

Les extraits éthanoliques, des trois plantes, utilisés seuls ont montré une bonne activités anti radicalaires vis-à-vis du radical libre DPPH. Les valeurs d'IC50 de *Hyoscyamus albus*, *Laurus nobilis* et *Lavandula stoechas* sont respectivement de **60,77 ± 0,97 µg/ml** ; **50,2 ± 0,21 µg/ml** et **22,64 ± 0,31 µg/ml**). Cependant l'activité antioxydants des huiles essentielle est faible, elle est évaluée à **1620,9 ± 65,34 µg/ml** pour l'HE de *Lavandula stoechas* et à **122,58 ± 2,93 µg/ml** pour celle de *Laurus nobilis*. Le pouvoir antioxydants est en rapport avec la composition chimique des extraits, et le chémotype des huiles essentielles.

L'évaluation de l'activité antioxydants de plusieurs associations de composés naturels et synthétiques ont aboutit à un seul effet additif obtenu suite à la combinaison de l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis* avec la quercétine. Aucune combinaison n'a révélé un effet synergique.

L'étude de la toxicité aiguë des différents extraits, utilisés aux doses de 300 et 2000mg/kg de poids corporel, chez les souris, n'a montré aucune toxicité. Aucun changement histologique n'a été observé sur les coupes de tissus hépatique et rénal des souris traitées. Ceci suggère l'innocuité des extraits utilisés.

Cependant les recherches sur ces extraits doivent être poursuivies afin d'évaluer d'autres activités biologiques des extraits seuls ou en association, et d'élucider les mécanismes moléculaires responsables de ces activités.

Références

Bibliographiques

- **Afnor (1996)**. Huiles essentielles, recueil de normes française, paris la defense, France.
- **Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N., Al-Najjar, A. et Hebail F. (2012)**. Antioxidant and anti microbial properties of five medicinal libyan plants extracts. *Natural science*, 4 (5) : 325-333.
- **Anton, R. et Lobstein, A. (2005)**. Plantes aromatiques. *Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris*.
- **Aouadhi, S. (2010)**. Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. *A l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes*.
- **Aqili Khorasani, M. H. (1992)**. Makhzan al adviah. Safa Publication. Tehran. 583-584.
- **Atawodi, S. E. (2005)**. Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4 (2) : 128-133.
- **Baba Aissa, F. (1991)**. Les plantes médicinales en Algérie. Bouchène and Diwan: Alger.
- **Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G. et Kingston, D. G. (2007)**. Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*, 104(4): 1478-1484.
- **Barrett, P. (1996)**. *Growing and Using Lavender*. A Storey Country Wisdom Bulletin: US. 28p.
- **Benhouda, A. et Yahia, M. (2014)**. Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from *Hyoscyamus albus* leaves in albino rats.
- **Bloom, R. I., Friedman, I. B. et Chuck, R. S. (2010)**. Increasing rates of myopia: the long view. *Current opinion in ophthalmology*, 21(4) : 247-248.
- **Boizot, N. et Charpentier, J.P. (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques.
- **Breitinger, H.G. (2012)**. *Drug synergy-mechanisms and methods of analysis*. INTECH Open Access Publisher.
- **Boizot, N., et Charpentier, J.P. (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques.
- **Boyd, B., Ford, C., Koepke Michael, C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S. et McAnalley, B. (2003)**. Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4 (6) : 7.

- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Paris : Lavoisier. 1292 p.
- **Chu, C. J. et Kemper, K. J. (2001).** Lavender (*Lavandula* spp). *The Longwood Herbal Task Force*. 2-3p.
- **Claverie-Morin, I., Claverie, I., et Hedde, H. (2008).** Pharmacologie générale. *toxicologie: mécanismes fondamentaux*. Wolters Kluwer. France.
- **Clevenger, J. F. (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 17(4) : 345-349.
- **De-Oliveira, A. C., F Ribeiro-Pinto, L. et Paumgarten, F. J. (1997).** In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpenoid compounds. *Toxicology letters*, 92 (1) :39-46.
- **Demir, V., Guhan, T., Yagcioglu, A.K. et Ddegirmencioglu, A. (2004).** Mathematical modeling and the Determination of some Quality Parameters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*, 88 (3) : 325-335.
- **Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P. et Boskou, D. (1998).** Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. *Food research international*, 31 (5) : 351-354.
- **Deng, J., Cheng, W. et Yang, G. (2011).** A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4): 1430-1435.
- **Economou, K. D., Oreopoulou, V. et Thomopoulos, C. D. (1991).** Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68(2): 109-113.
- **Erol, A., Okur, S., Comba, B., Mermer, Ö. et Arıkan, M. C. (2010).** Humidity sensing properties of ZnO nanoparticles synthesized by sol-gel process. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(1) :174-180.
- **Ezzoubi, Y., Bousta D., Lachkar M. et Farah A. (2014).** "Antioxidant and anti-inflammatory properties of ethanolic extract of *Lavandula stoechas* L. from Taounate region in Morocco." *International Journal of Phytopharmacology*, 5(1): 21-26.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108p.
- **Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M. L. M. et Araujo, M. E. M. (2006).** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*, 108(1) : 31-37.

- **Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P. L., Ceccarini, L., Ricci, A. S. et Longo, I. (2007).** Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurusnobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *Journal of Chromatography A*, 1143(1) : 36-40.
- **Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A. et Rasooli, I. (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinusofficinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102 (3) :898-904.
- **Georgetti, S. R., Casagrande, R., Di Mambro, V. M., Azzolini Ana, E.C.S. et Fonseca Maria, J.V. (2003).** Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS PharmSci*, 5 (2) : 5.
- **Giray, E. S., Kırıcı, S., Kaya, D. A., Türk, M., Sönmez, Ö. Et Inan, M. (2008).** Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandulastoechas*. *Talanta*, 74(4): 930-935.
- **Goullé, J. P., Pépin, G., Dumestre-Toulet, V. et Lacroix, C. (2004).** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. In *Annales de toxicologie analytique*, 16 (1) : 22-35.
- **Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmuş, Z. et Pezzuto, J. M. (2002).** The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandulastoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(9-10) : 797-800.
- **Guignard J.L. (1998).** Abrégé de botanique. Masson Ed. Paris.
- **Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M. et Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004).** Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandulastoechas* L.). *Food Chemistry*, 87 (3) : 393-400.
- **Gürbüz, I., Üstün, O., Yeşilada, E., Sezik, E. et Akyürek, N. (2002).** In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions. *Journal of ethnopharmacology*, 83 (3) : 241-244.
- **Hadi, M. (2004).** *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques.* Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences, Domaine: Pharmacochimie, Université Louis Pasteur, p. 155.

- **Hennebelle, T., Sahpaz, S. et Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1) : 3-6.
- **Hodge, H. C. et Sterner, J. H. (1949).** Tabulation of toxicity classes. *American Industrial Hygiene Association Quarterly*, 10(4) : 93-96.
- **Houghton, P. J., Ren, Y. et Howes, M. J. (2006).** Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, 23 (2) : 181-199.
- **Iserin, P., Masson, M. et Restellini, J. P.**, préparations, soins, in encyclopédie des plantes médicinales, Paris, 2001.
- **Kadi, K., Yahia, A., Hamli, S., Auidane, L., Khabthane, H. et Ali, W. K. (2013).** In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of White Henbane treated by phytohormones. *Pakistan journal of biological sciences*, 16(19) : 984.
- **KAHOULI, I. (2010).** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis L.*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea L.*) dans l'huile de canola chauffée. (Doctoral dissertation, Université Laval).
- **Kelen, M. et Tepe, B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresourcetechnology*, 99(10) : 4096-4104.
- **Khalil, E. A., Afifi, F. U. et Al-Hussaini, M. (2007).** Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*, 109 (1) : 104-112.
- **Kivçak, B. et Mert, T. (2002).** Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, 73(3) : 242-243.
- **Krippeit-Drews, P., Lang, F., Häussinger, D. et Drews, G. (1994).** H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflügers Archiv*, 426 (6) : 552-554.
- **Lapointe, G. (2004).** Notion de toxicologie. 2nd éd. *Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail (CSST)* (Québec, Canada), 8-16.
- **Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E. et Park, B. S. (2001).** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, 20 (4) : 317-320.
- **Louthrenoo, W. (2008).** Rheumatic manifestations of human immunodeficiency virus infection. *Current opinion in rheumatology*, 20 (1) : 92-99.

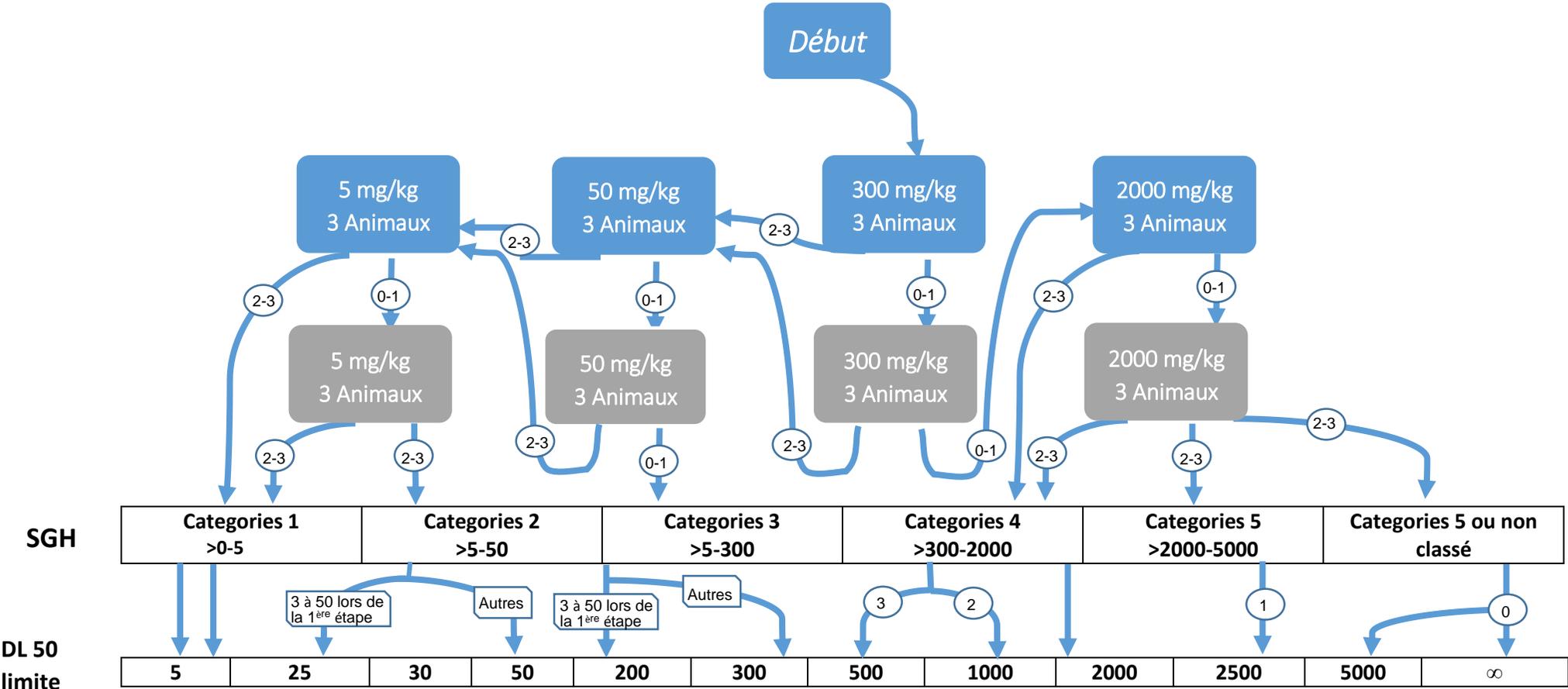
- **Menaceur, F. et Hazzit, M. (2014).** Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of ethanolic extracts from Algerian *Lavandulastoechas L.* and *Rosmarinustournefortii de Noé*. *International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)*, 4 (6) : 139-145.
- **Menaceur, F. (2015).** La Filiere Huile en Algérie :Statut Actuel et perspectives.
- **Mohammedi, Z. et Atik F. (2011).** "Antibacterial activity of essential oils from *Cistusladaniferus L.* and *Lavandulastoechas L.*".*International Journal of PharmTech Research*, 3: 484-487.
- **Mohammedi, Z. et Atik, F. (2012).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandulastoechas L.**Nature & Technologie*. 34-39p.
- **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J SciTechnol*, 26 (2) : 211-219.
- **Morel, Y. et Barouki R. (1999).** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*, 342 (3) : 481-496.
- **O.C.D.E. Organisation de Coopération et Développement Economique n° 423.** (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques toxicité orale aigue. Méthode de l'ajustement des doses.
- **O.M.S, "Médecine traditionnelle en Afrique"**, Série de Rapport technique N°1, OMS, Brazzaville, 1976, 21p.
- **Pariente, L. (2001).**Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed.Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- **Pietta, P. G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*,63(7) : 1035-1042.
- **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. et Defraigne, J. O. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4(5) : 12-23.
- **Prieto, J. M., Iacopini, P., Cioni, P. et Chericoni, S. (2007).**In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*,104 (3) : 889-895.

- **Quezel, P. et Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Ed C.N.R.S.* Tome I. 565 p.
- **Quézel, P., Santa, J. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : *Editions du Centre National de la recherche scientifique.* 142-143 p.
- **Reichi, F.X. (2004).** Toxicologie générale. *Guide pratique de toxicologie.* 2^{ème} édition De Boeck. 6P.
- **Romano, C. S., Abadi, K., Repetto, V., Vojnov, A. A. et Moreno, S. (2009).** Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food chemistry*, 115 (2) : 456-461.
- **Romeike, A. (1956).**Über die Mitwirkung des Sprosses bei der Ausbildung des Alkaloidspektrums. Epoxydbildung beim Hyoscyamin durch Datura ferox. *L. Flora*, 143 : 67-86.
- **Ruberto, G. et Baratta, M. T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2) : 167-174.
- **Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar G. et Özer, H. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15(7) : 549-557.
- **Said, H. M. et Saeed, A. (1996).** *Medicinal herbal: A textbook for medical students and doctors* (Vol. 1). Hamdard Foundation Pakistan.
- **Sánchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3) : 121-137.
- **Sayyah, M., Valizadeh, J. et Kamalinejad, M. (2002).** Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures. *Phytomedicine*, 9(3) : 212-216.
- **Schultes, R.E., Hofmann, A. (1993).** Les plantes des dieux: *Les plantes hallucinogènes, botanique et ethnologie.* Ed du Lézard. Paris.
- **Sharififar, F., Moshafi, M. H., Mansouri, S. H., Khodashenas, M. et Khoshnoodi, M. (2007).** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food control*, 18 (7) : 800-805.

- **Sidi Boulenouar, K. et Ziane, A. (2003).** *Etude phytochimique des huiles essentielles de Lavandulastoechas L. de la région de Tlemcen.* Mémoire de DES en Biochimie, Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, p. 54.
- **Simić, M., Kundaković, T. et Kovačević, N. (2003).** Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, 74 (6) : 613-616.
- **Singleton, V. L. et Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16 (3) : 144-158.
- **Skoula, M., Abidi C. et Kokkalou E. (1996).** "Essential oil variation of *Lavandulastoechas L. ssp. stoechas* growing wild in Crete (Greece)." *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(3): 255-260.
- **Tallarida, R. J. (2001).** Drug synergism: its detection and applications. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 298(3) : 865-872.
- **Tallarida, R. J., Cowan, A. et Raffa, R. B. (2003).** Antinociceptive synergy, additivity, and subadditivity with combinations of oral glucosamine plus nonopioid analgesics in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307 (2) : 699-704.
- **Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O. E. K. et Moulti-Mati, F. (2010).** Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera L.*) variété ghars. *Annales des Sciences et Technologie*, 2 (2) : 107-114.
- **Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A. et Sokmen, A. (2006).** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95 (2) : 200-204.
- **Tepfer, D., Goldmann, A., Pamboukdjian, N., Maille, M., Lepingle, A., Chevalier, D., Dénarié J. et Rosenberg, C. (1988).** A plasmid of *Rhizobium meliloti* 41 encodes catabolism of two compounds from root exudate of *Calystegium sepium*. *Journal of Bacteriology*, 170(3) : 1153-1161.
- **EFSA, G. (2008).** Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: the role of animal feeding trials. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 46, S2.

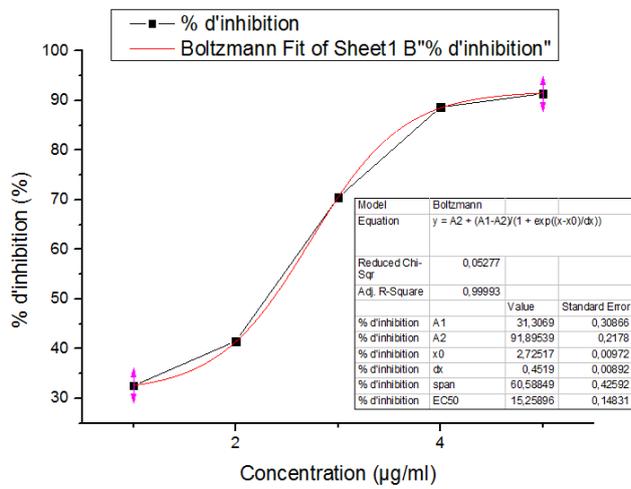
- **Upson, T. M., Grayer, R. J., Greenham, J. R., Williams, C. A., Al-Ghamdi, F. et Chen, F. (2000).** "Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*." *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(10): 991-1007.
- **Upson, T. and Andrews, S. (2004).** *The genus Lavandula*. Portland and Oregon, USA: TimberPress. 442p.
- **Usmanghani, K., Saeed, A. et Alam, M. T. (1997).** *Indusynicmedicine: traditional medicine of herbal, animal, and mineral origin in Pakistan*. Dept. of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Karachi.
- **Valla, D. C. (2003).** Hypoxie hépatique aiguë, foie cardiaque congestif. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 27 (5) : B33-B40.
- **Vansant, G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- **Vanu, M.R, Palanivelu S, Panchanatham S. (2006).** Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Semecarpus anacardium* Linn. Nut milk extract in experimental inflammatory conditions. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29: 693-700.
- **Viala, A. et Botta, A. (2005).** Toxicologie. 2^{ème} édition. Paris: *Tec a Doc Lavoisier*. 25-46.
- **Wu, S. J. et Ng, L. T. (2008).** Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT. Food Science and Technology*, 41(2) :323-330.
- **Yang, C., Chang, F., Chang, H., Wang, M., Chuang, M. (2012).** investigation of the antioxidant activity of *Illicium verum* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2): 314-324.
- **Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A. et Salgueiro, L. (2013).** Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44: 97-103.

Annexe 1: Schéma d'essai avec une dose initiale de 300 mg/kg

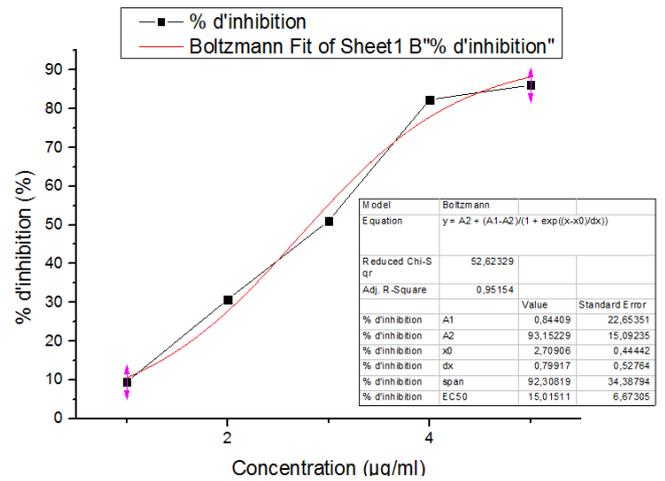


- Par étape 3 animaux d'un même sexe (normalement des femelles)
- 0, 1, 2, 3: animaux morts ou moribonds à chaque étape
- SGH: Système de classification globalement harmonisé (mg/kg)

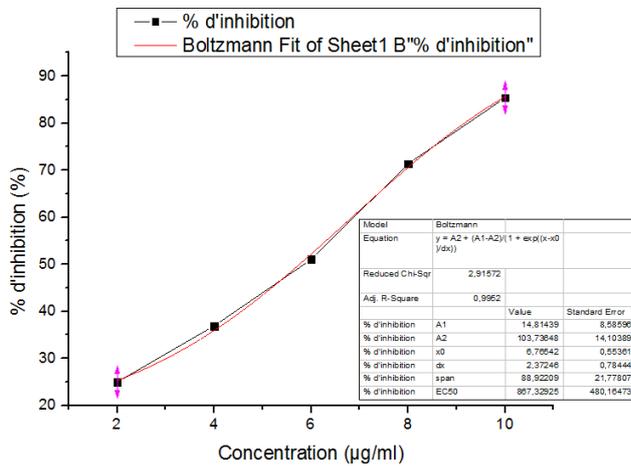
Annexes 2 :



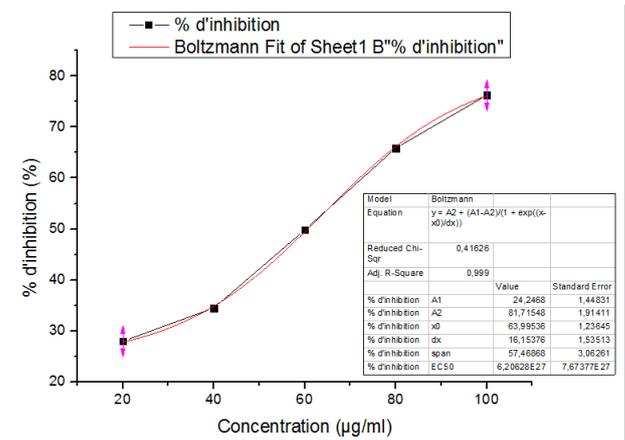
IC50 Acide caféique = 2.36 µg/ml



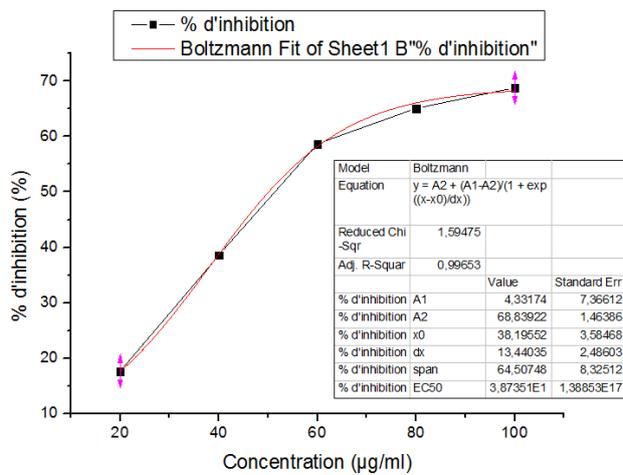
IC50 Quercétine = 2,81 µg/ml



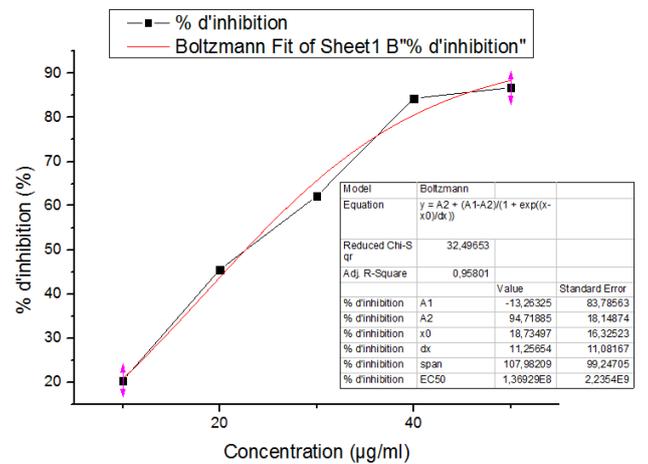
IC50 Tocophérol = 5.77 µg/ml



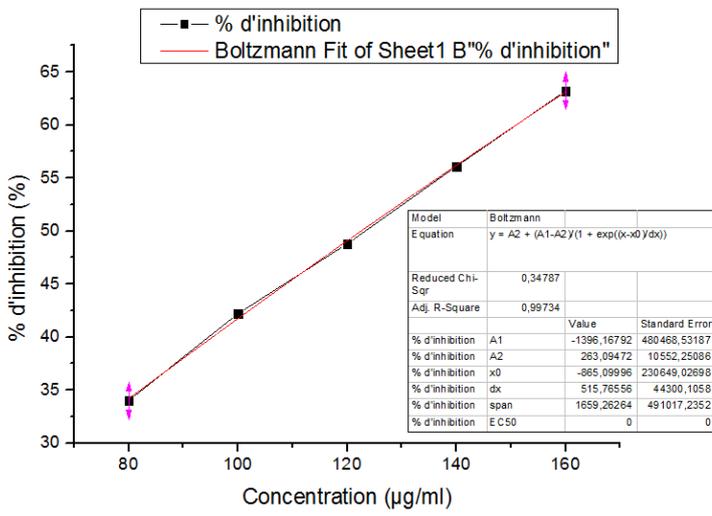
IC50 EtOH *Hyoscyamus albus* = 60,77 µg/ml



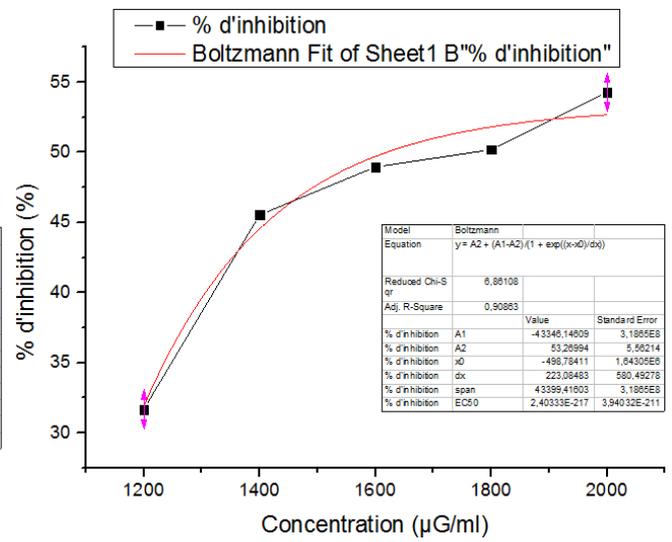
IC50 EtOH *Laurus nobilis* = 50,2 µg/ml



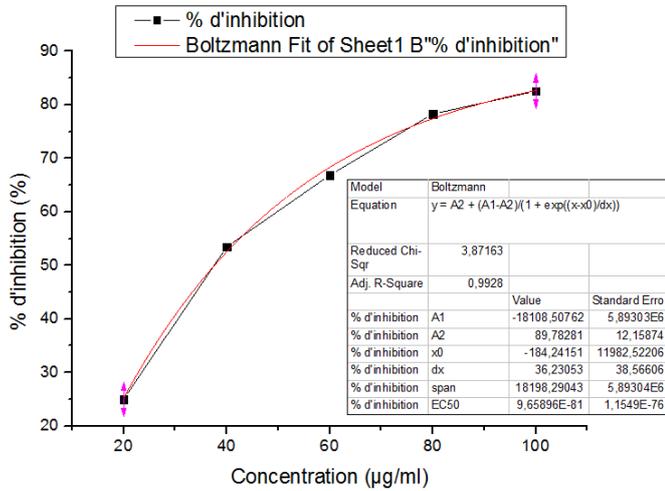
IC50 EtOH *Lavandula stoechas* = 22,64 µg/ml



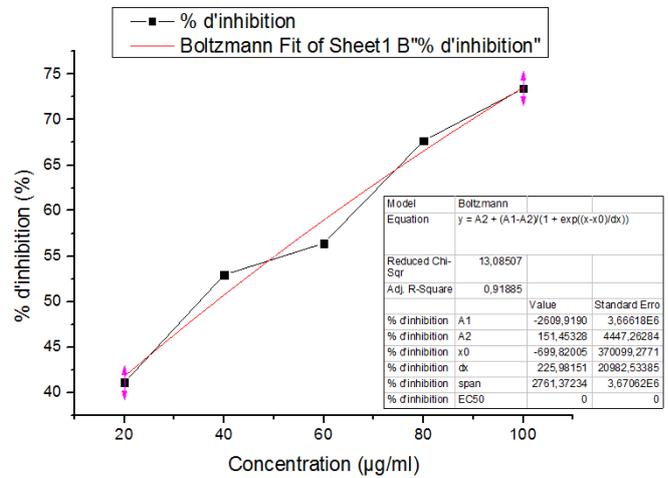
IC50 H.E *Laurus nobilis* = 122,58 µg/ml



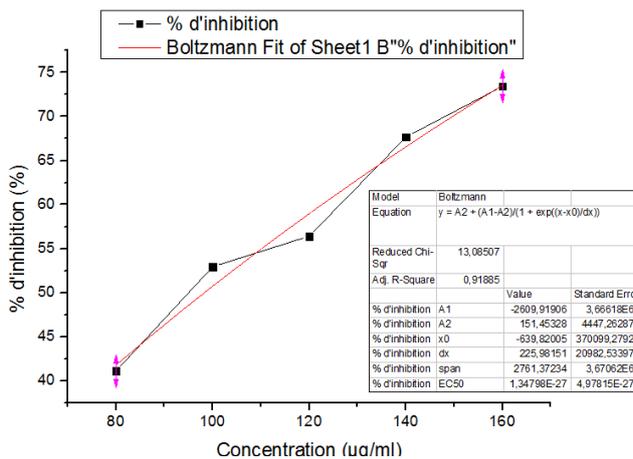
IC50 H.E *Lavandula stoechas* = 122,58 µg/ml



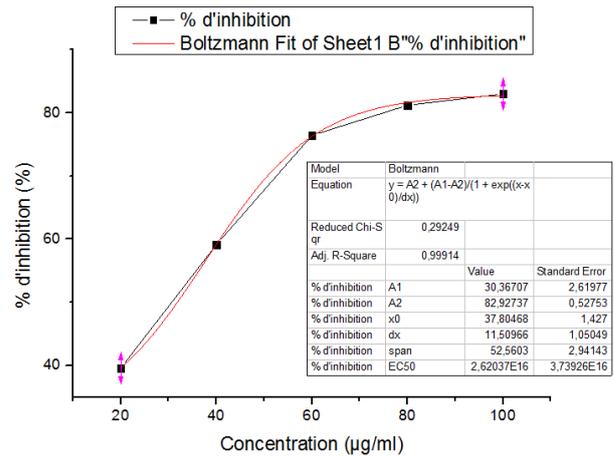
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + EtOH *Laurus nobilis* = 37,58 µg/ml



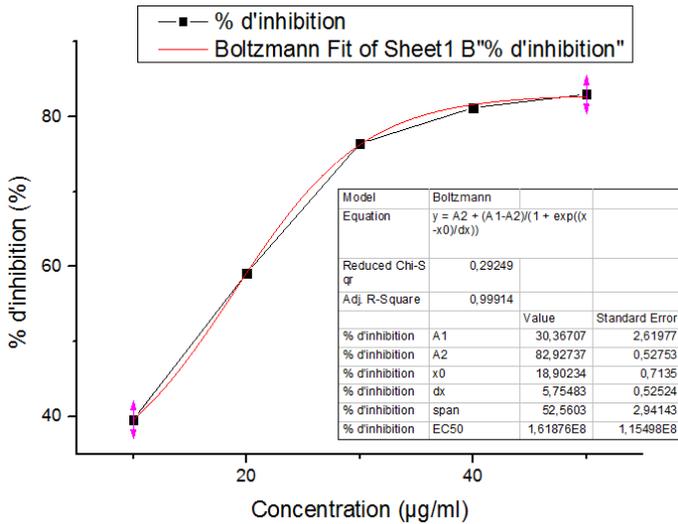
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + H.E *Laurus nobilis* = 39,63 µg/ml



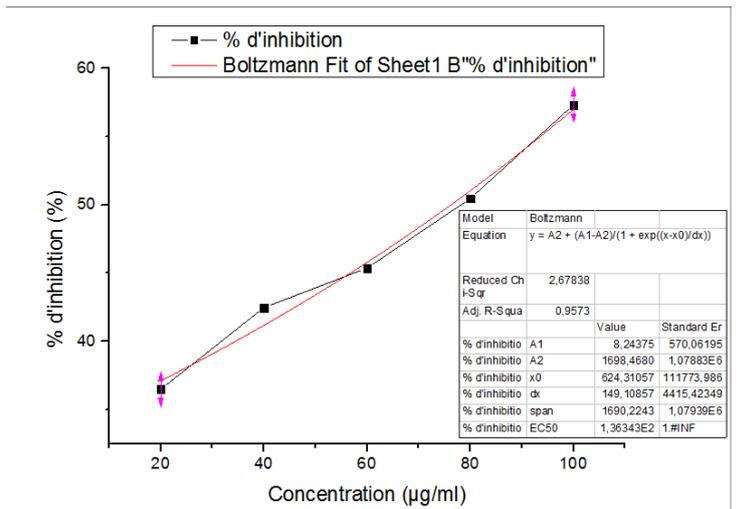
IC50c H.E *Laurus Nobilis* + EtOH *Hyoscyamus albus* = 99.63µg/ml



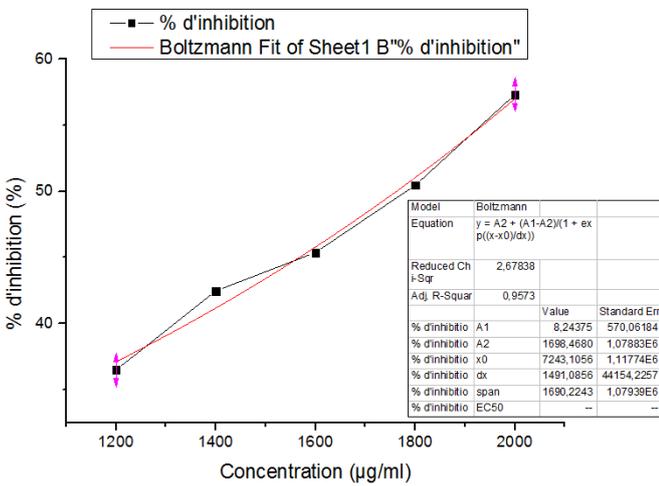
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + EtOH *Lavandula Stoechas* = 31,84 µg/ml



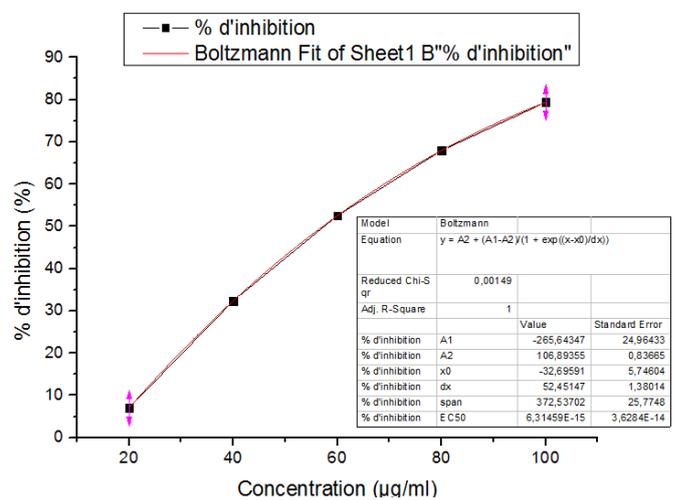
IC50c EtOH *Lavandula Stoechas* + EtOH *Hyoscyamus albus* = 15.92 µg/ml



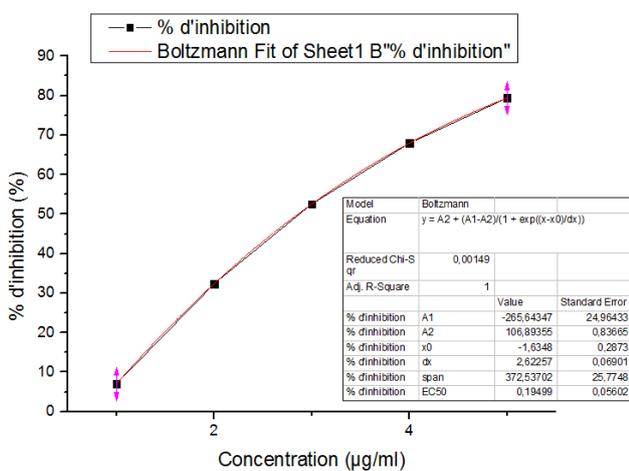
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + H.E *Lavandula Stoechas* = 76.11 µg/ml



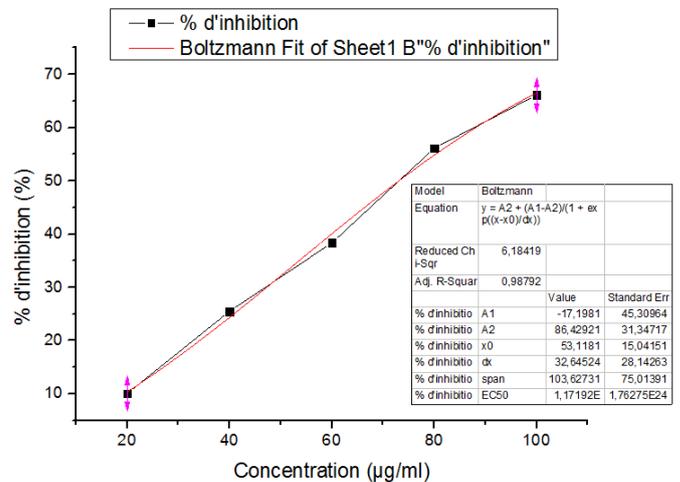
IC50c H.E *Lavandula Stoechas* + EtOH *Hyoscyamus albus* = 1761,15 µg/ml



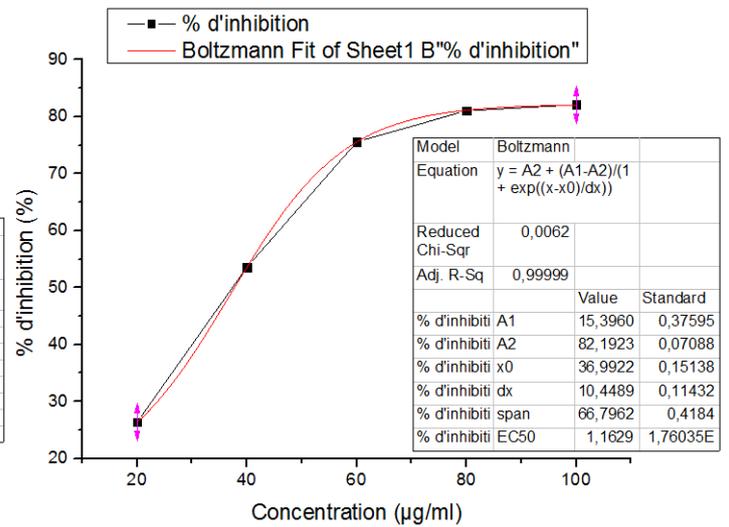
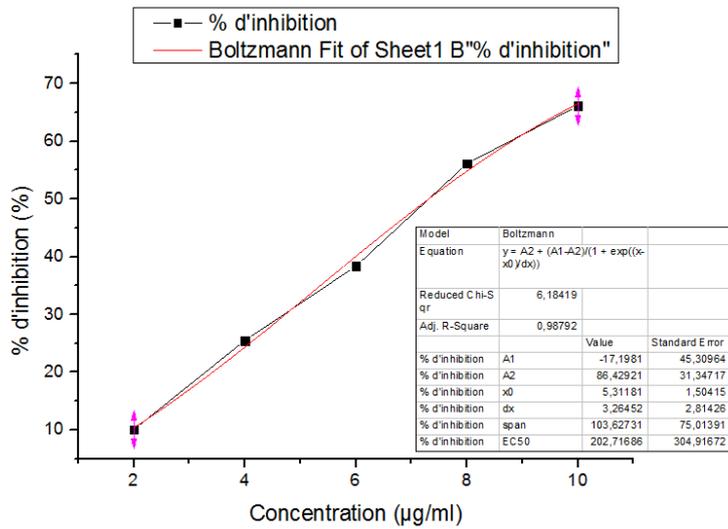
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + Quercétine = 57,17 µg/ml



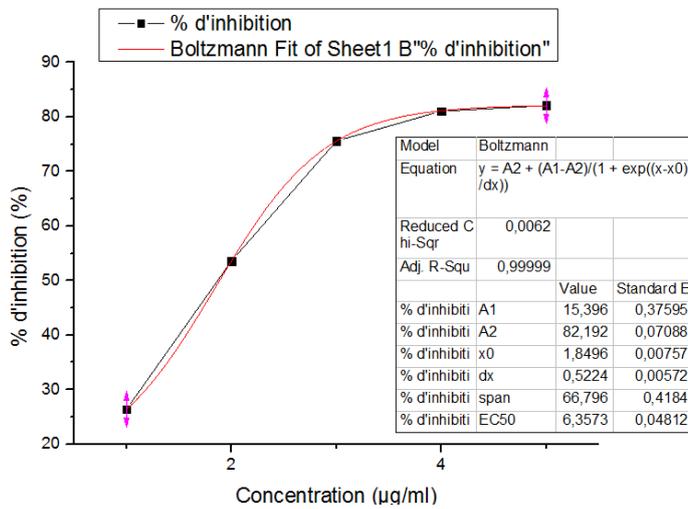
IC50c Quercétine + EtOH *Hyoscyamus albus* = 2.85 µg/ml



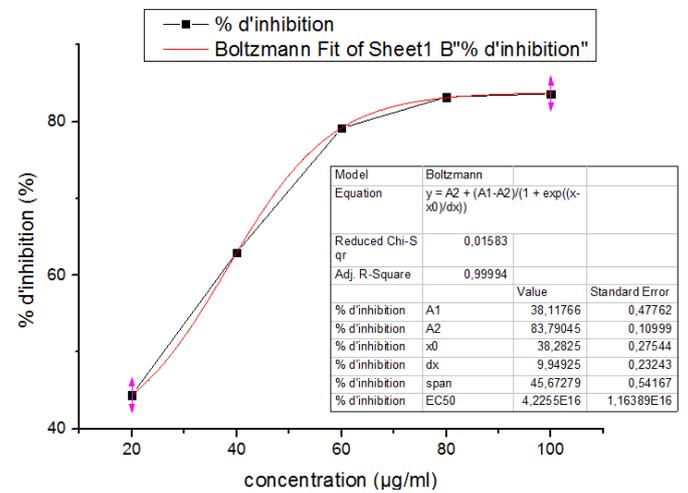
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + Tocophérol = 73.2 µg/ml



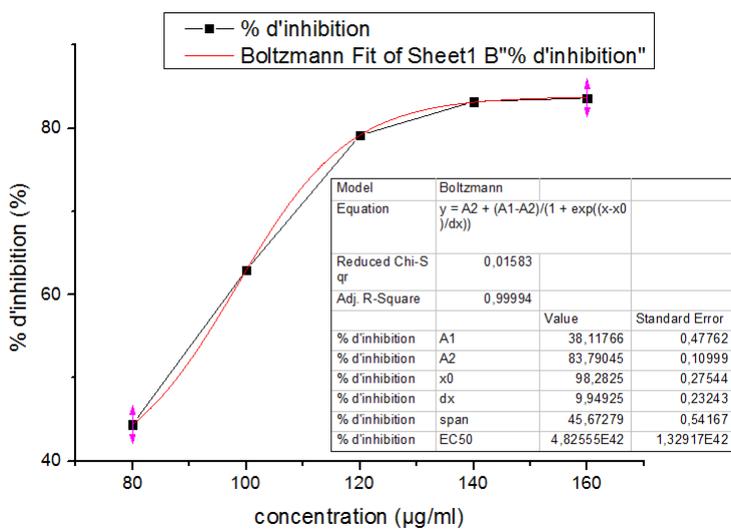
IC50c Tocophérol + EtOH *Hyoscyamus albus*
= 7.3 µg/ml



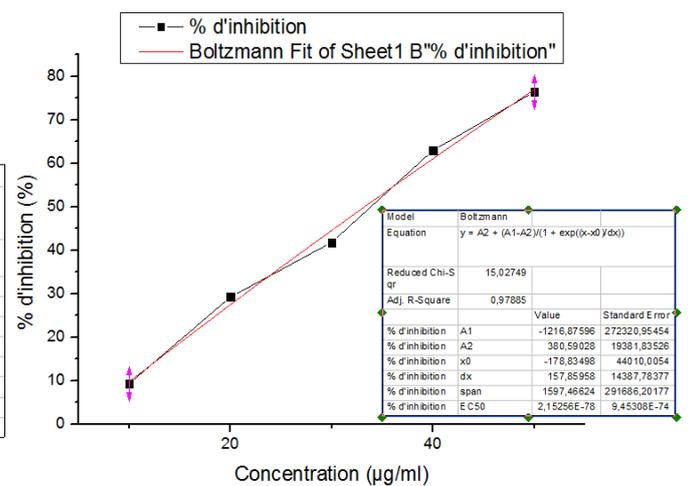
IC50c EtOH *Hyoscyamus albus* + Acide
caféique = 37,85 µg/ml



IC50c Acide caféique + EtOH *Hyoscyamus albus*
= 1.89 µg/ml

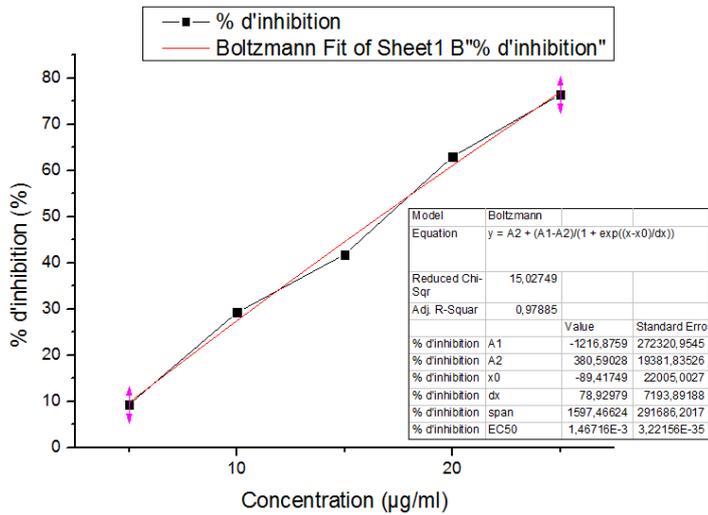


IC50c EtOH *Laurus nobilis* + H.E *Laurus nobilis* = 26.68 µg/ml

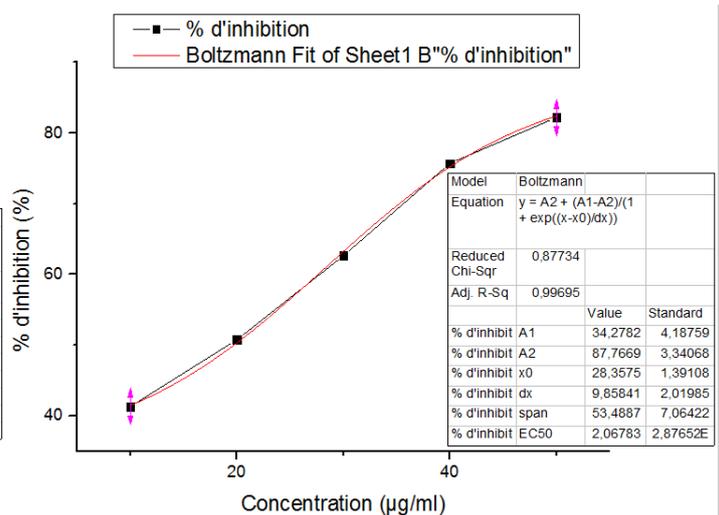


IC50c H.E *Laurus nobilis* + EtOH *Laurus nobilis* = 86.68 µg/ml

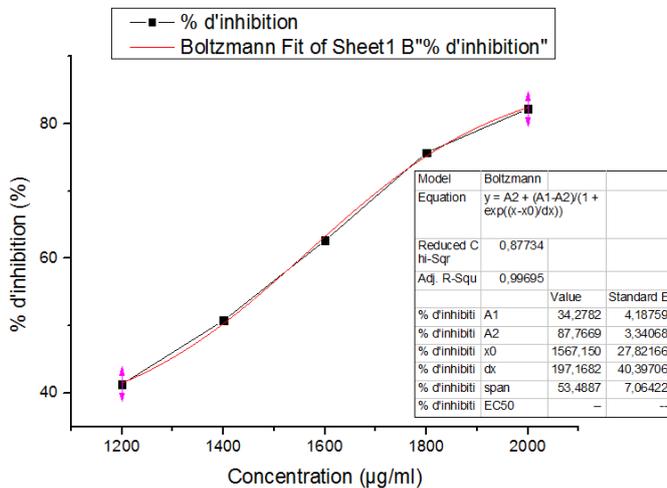
IC50c EtOH *Laurus nobilis* + EtOH *Lavandula Stoechas* = 33,18 µg/ml



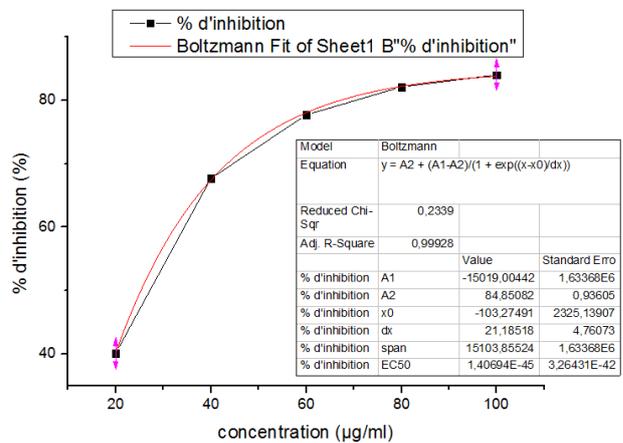
IC50c EtOH *Lavandula stoechas*+ EtOH *Laurus nobilis* = 16.59 µg/ml



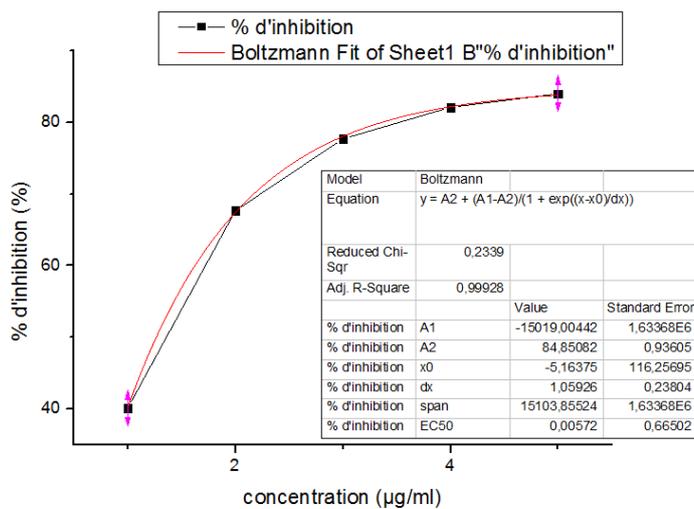
IC50c EtOH *Laurus nobilis* + H.E *Lavandula Stoechas* = 19.45 µg/ml



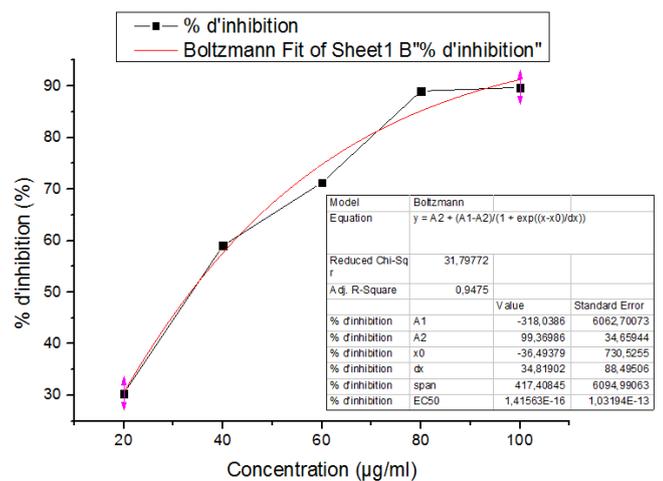
IC50c H.E *Lavandula stoechas*+ EtOH *Laurus nobilis* = 1388.9 µg/ml



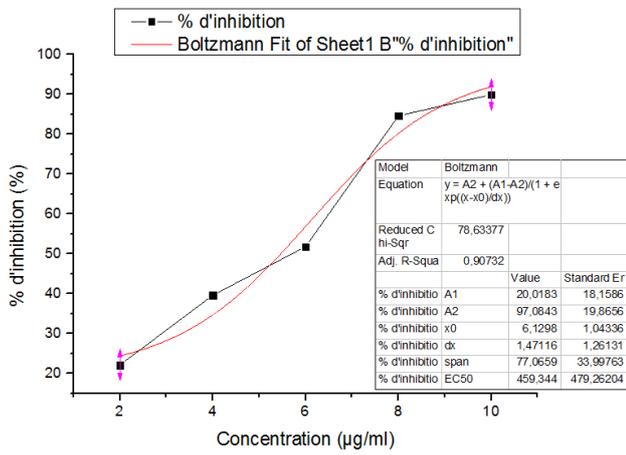
IC50c EtOH *Laurus nobilis* + Quercétine = 25.58 µg/ml



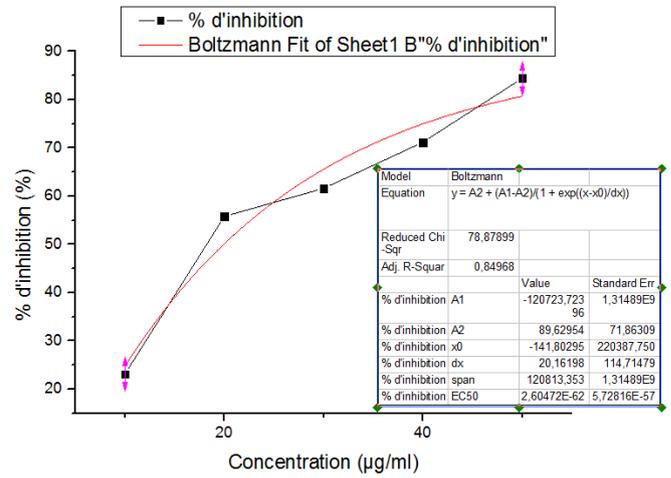
IC50c Quercétine + EtOH *Laurus nobilis* = 1.29 µg/ml



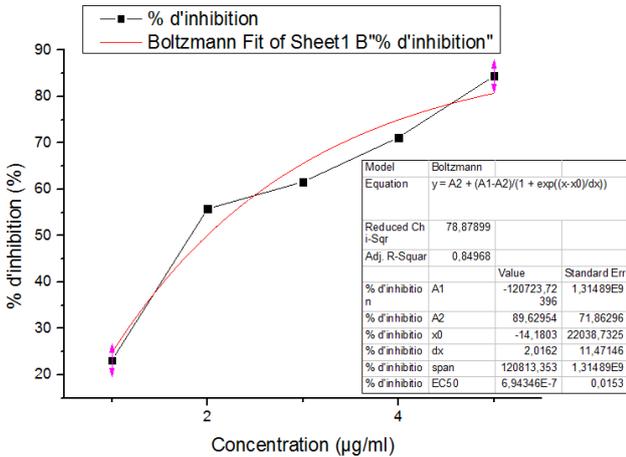
IC50c EtOH *Laurus nobilis* + Tocophérol = 33.74 µg/ml



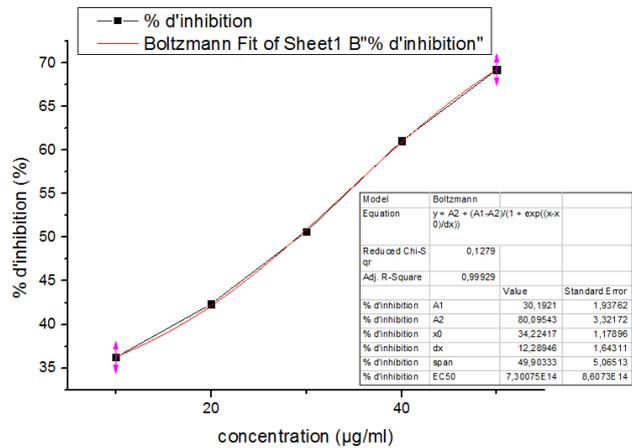
IC50c Tocophérol + EtOH *Laurus nobilis*
= 3.38 µg/ml



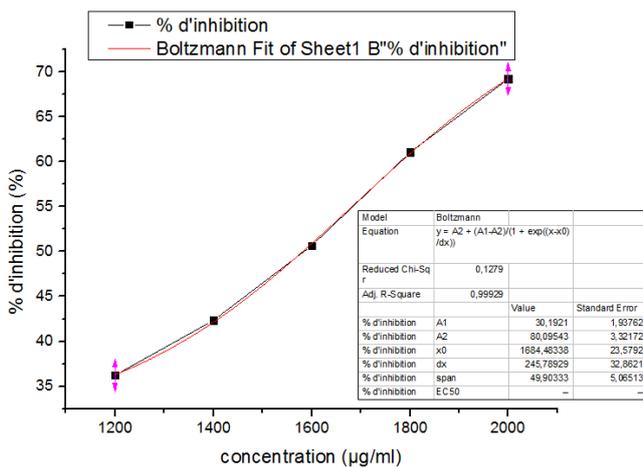
IC50c EtOH *Laurus nobilis* + Acide Caféique =
19.91 µg/ml



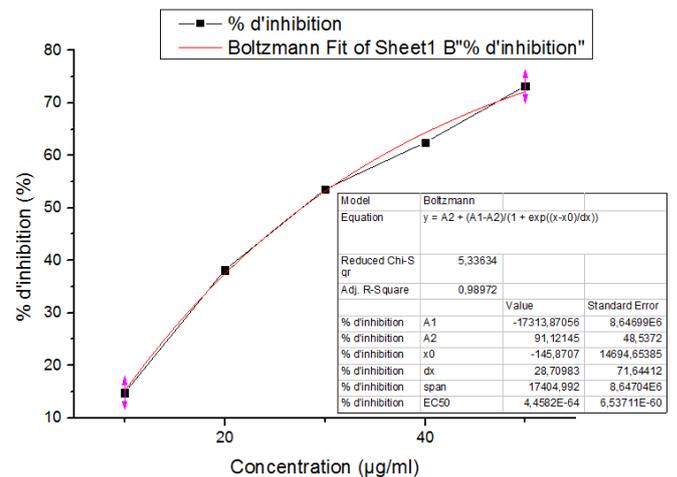
IC50c Acide Caféique + EtOH *Laurus nobilis*
= 1.99 µg/ml



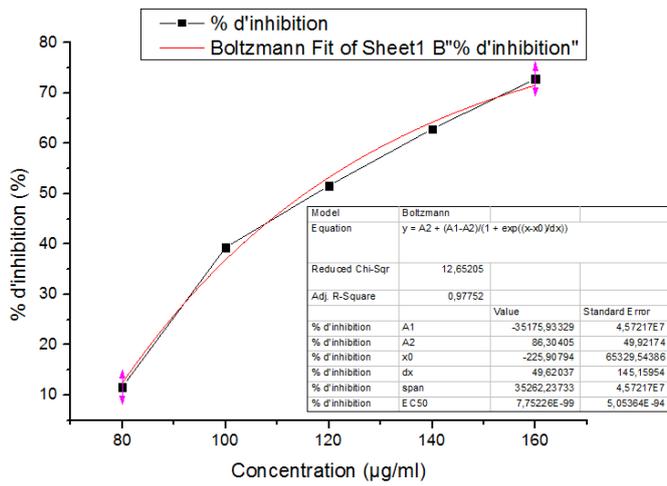
IC50c EtOH *Lavandula stoechas* + H.E
Lavandula stoechas = 29.14 µg/ml



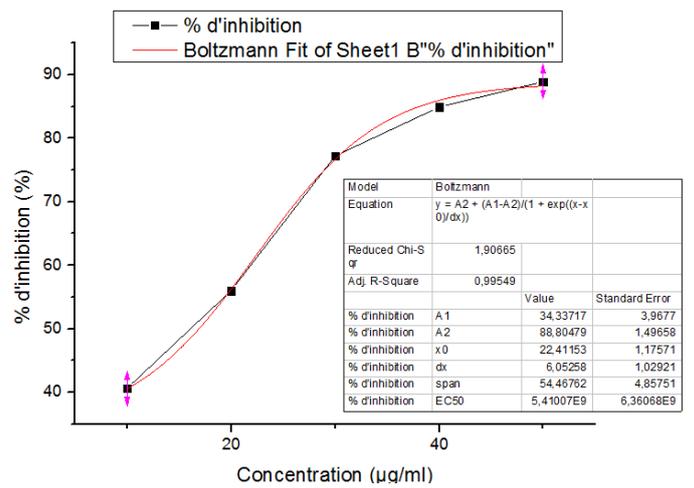
IC50c H.E *Lavandula stoechas* + EtOH
Lavandula stoechas = 1583.05 µg/ml



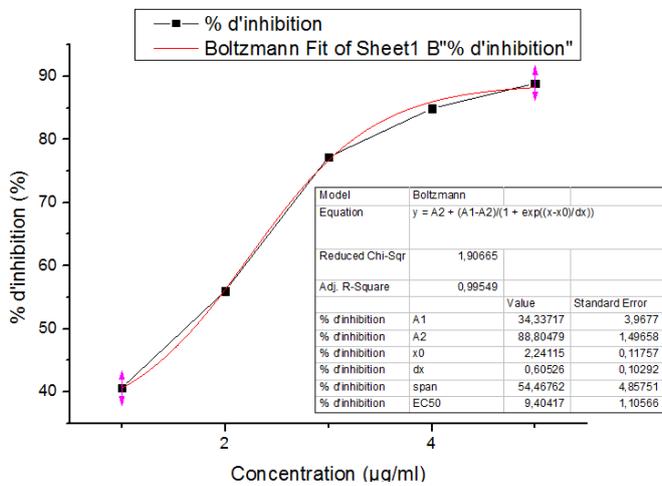
IC50c EtOH *Lavandula stoechas* + H.E *Laurus nobilis* = 27.69 µg/ml



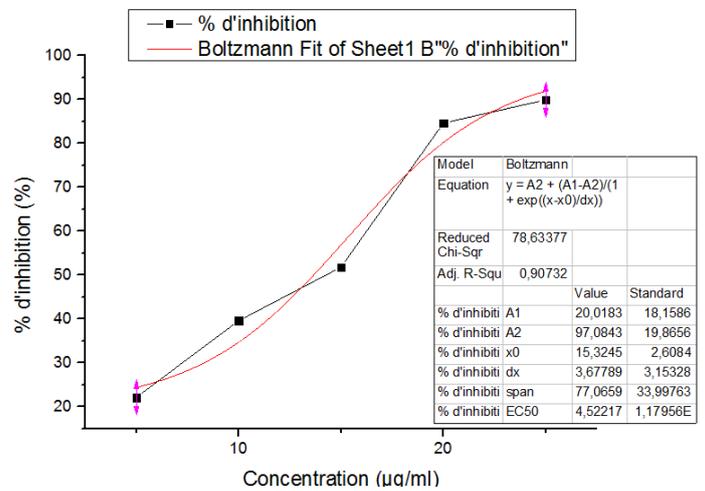
IC50c H.E *Laurus nobilis*+ EtOH *Lavandula stoechas*= 115.36 µg/ml



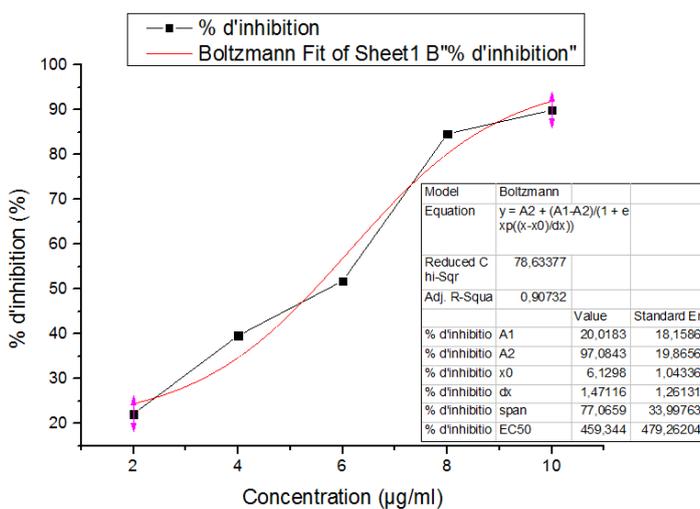
IC50c EtOH *Lavandula stoechas* + Quercétine = 16.86 µg/ml



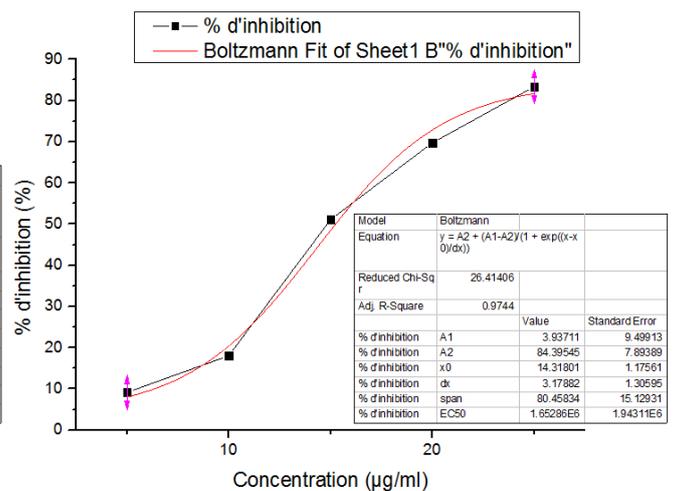
IC50c Quercétine + EtOH *Lavandula stoechas* = 1.68 µg/ml



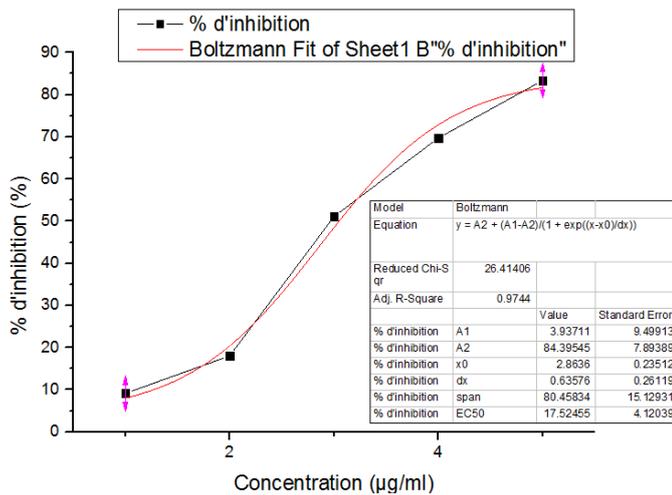
IC50c EtOH *Lavandula stoechas* + Tocophérol = 13.71 µg/ml



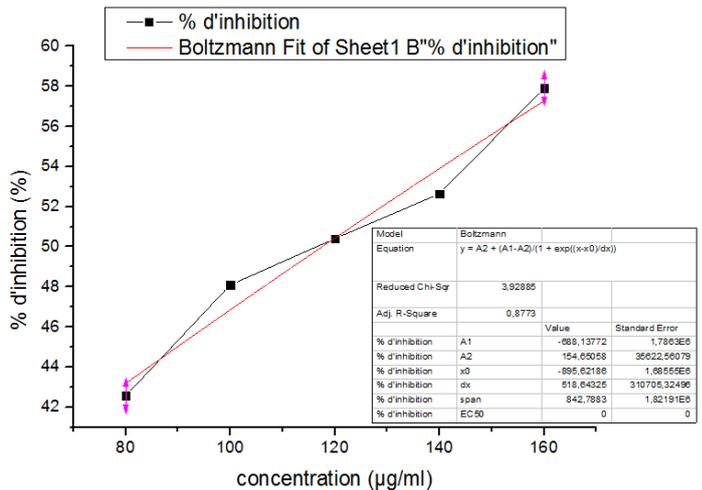
IC50c Tocophérol+ EtOH *Lavandula stoechas* = 5.48 µg/ml



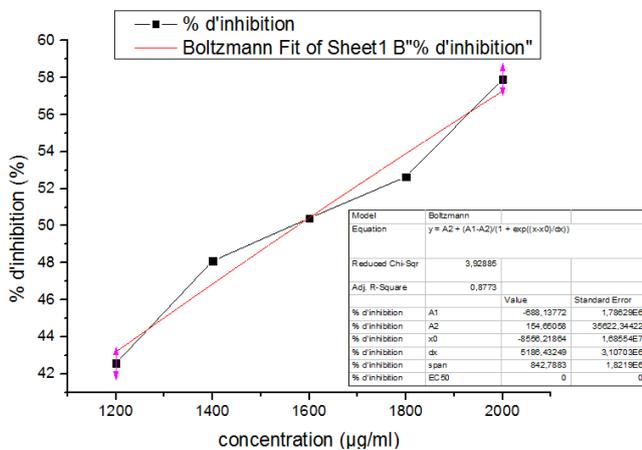
IC50c EtOH *Lavandula stoechas* + acide Caféique = 15.24 µg/ml



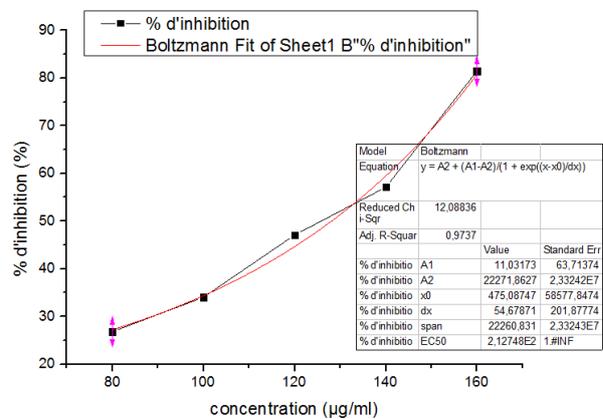
IC50c acide Caféique + EtOH *Lavandula stoechas* = 3.05 µg/ml



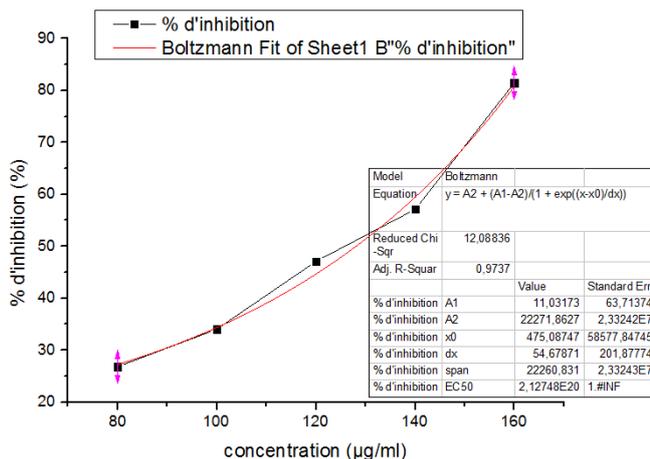
IC50c H.E *Laurus nobilis*+ H.E *Lavandula stoechas*= 131.66 µg/ml



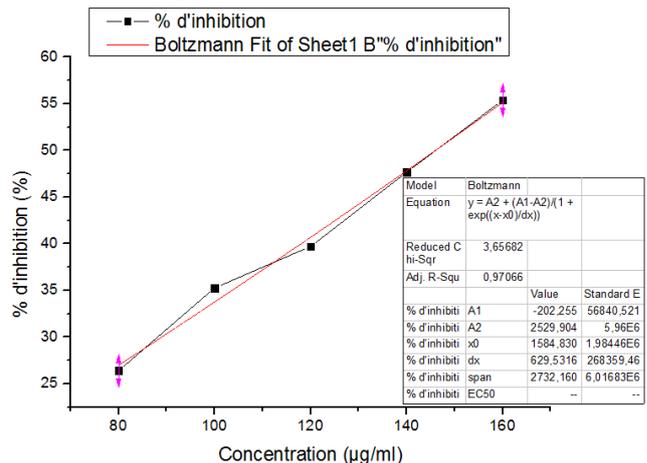
IC50c H.E *Lavandula stoechas* + H.E *Laurus nobilis*= 1508.12 µg/ml



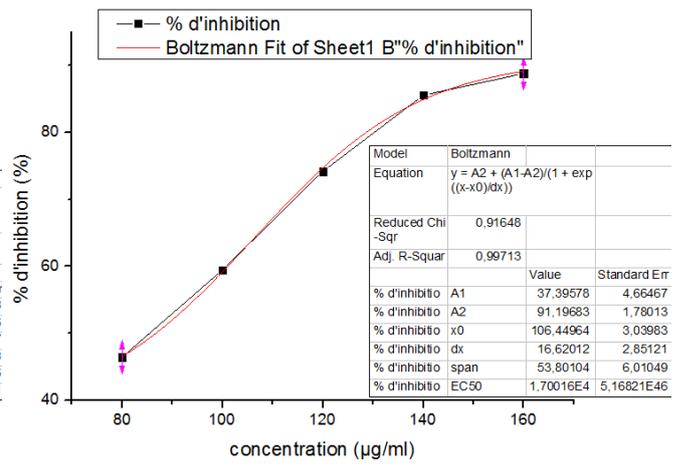
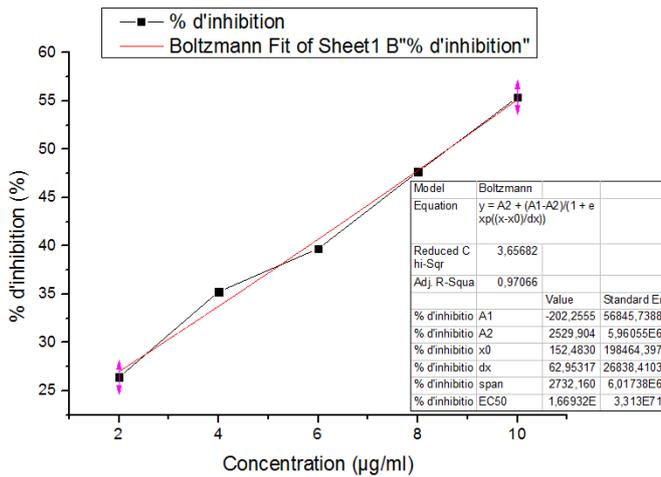
IC50c H.E *Laurus nobilis*+ Quercétine = 128.13 µg/ml



IC50c Quercétine + H.E *Laurus nobilis* = 3.4 µg/ml

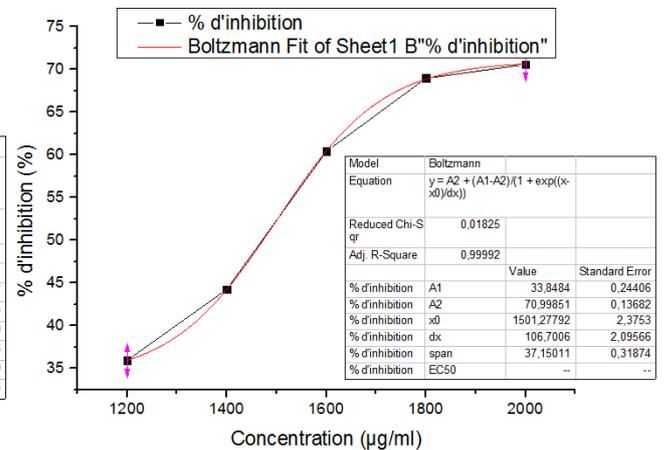
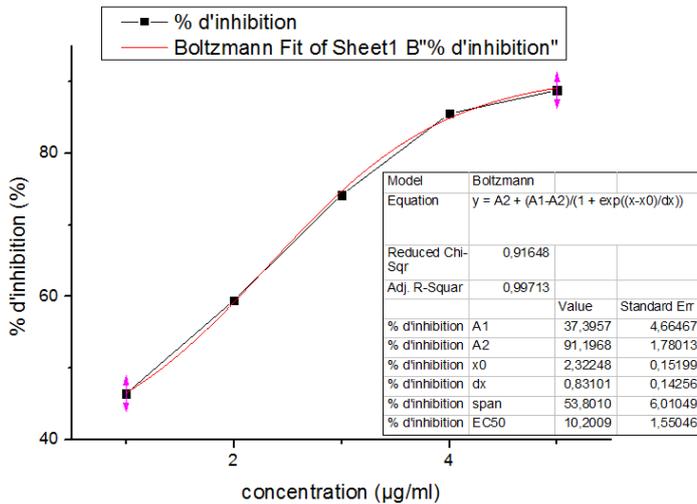


IC50c H.E *Laurus nobilis*+ Tocophérol = 145.99 µg/ml



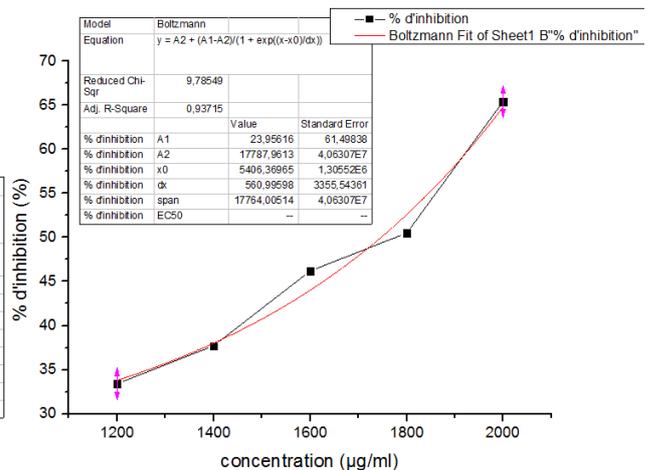
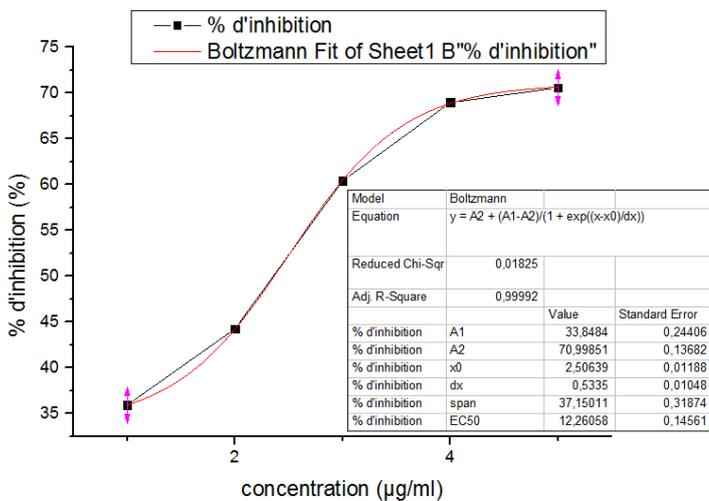
IC50c Tocophérol+ H.E *Laurus nobilis*
= 145.99 µg/ml

IC50c H.E *Laurus nobilis*+ Acide Caféique
= 86.35 µg/ml



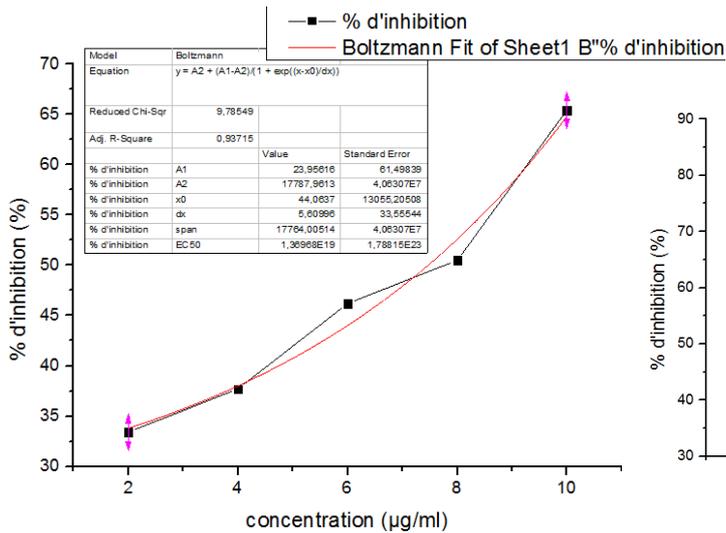
IC50c Acide Caféique +H.E *Laurus nobilis*= 1.34 µg/ml

IC50c H.E *Lavandula stoechas* +
Quercetine= 1471.99 µg/ml

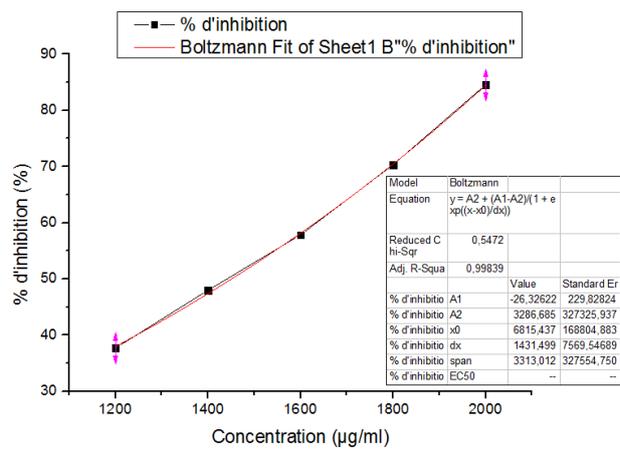


IC50c Quercétine + H.E *Lavandula stoechas* = 2.36 µg/ml

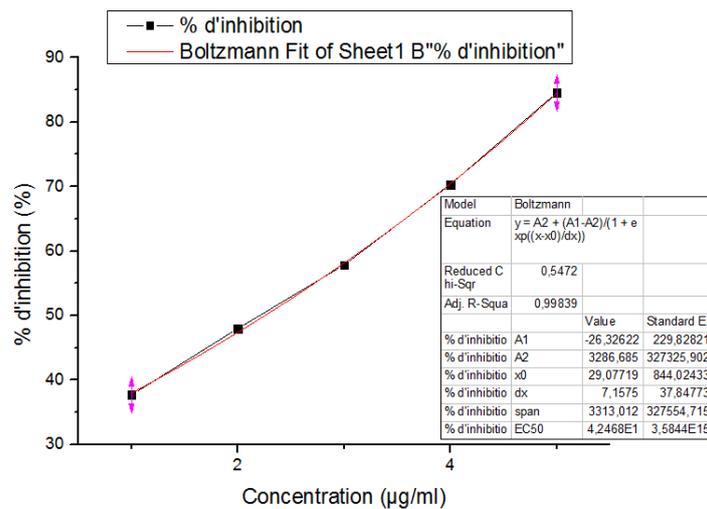
IC50c H.E *Lavandula stoechas* +
Tocophérol = 1551.3 µg/ml



IC50c Tocophérol + H.E *Lavandula stoechas* = 7.5 µg/ml



IC50c H.E *Lavandula stoechas* + Acide caféique = 1462.67 µg/ml



IC50c Acide caféique + H.E *Lavandula stoechas* = 2.31 µg/ml

Résumé: L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydants des l'huiles essentielles (H.Es) et des extraits éthanoliques (EtOH), seuls ou en associations avec certains composés synthétiques, et d'évaluer la toxicité aigue de ces extraits.

Les H.Es extraites des parties aériennes de *Laurus nobilis* et *lavandula stoechas* on présenté un rendement allant de **0,53 à 0,6 %**.

La teneur en polyphénols totaux de *Laurus nobilis*, *Lavandula stoechas* et *Hyoscyamus albus* ont enregistré des rendements variables, avec des valeurs de **357,2± 6,22 µg EAG/mg d'extrait**, **321,8 ± 4,24 µg EAG/mg d'extrait** et **87,1 ± 2,26 µg EAG/mg d'extrait** respectivement.

L'activité antioxydants a été évaluée en utilisant le test de DPPH. Les extraits éthanoliques possèdent un fort pouvoir antioxydants par rapport à celui des huiles essentielles. La teneur élevée en composés phénoliques serait à l'origine de cette capacité réductrice importante.

Aucune synergie n'a été observée pour toutes les combinaisons réalisées, seul un effet additif a été observé entre l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis* et la quercétine.

L'évaluation de la toxicité aigue des extraits n'a révélé aucun signe de toxicité et ceci à été confirmé par l'étude histologique qui à révélé une « architecture » normale du foie et des reins des souris traitées.

Mots clés: Huiles essentielles, Extraits éthanoliques, Antioxydants, DPPH, Isobologramme, Toxicité, LD50.

Abstract: The aim of this study is to evaluate the antioxidant activity of essential oils (H.Es) and ethanol extracts (EtOH), alone or in combination with some synthetic compounds, and to assess the acute toxicity of these extracts.

E.Os extracted from the aerial parts of *Laurus nobilis* and *Lavandula stoechas* presented yields ranging from 0.53 to 0.6%.

The total polyphenol content of *Laurus nobilis*, *Lavandula stoechas* and *Hyoscyamus albus* showed variable yields, with values of 357.2 ± 6.22 mcg EAG / mg extract, 321.8 ± 4.24 mcg EAG / mg extract and 87.1 ± 2.26 mcg EAG / mg extract, respectively.

The antioxidant activity was evaluated using DPPH test. The ethanol extracts have a strong antioxidant power compared to that of essential oils. The high content of phenolic compounds is the cause of this important reducing capacity.

No synergy was observed for all combinations carried out. Only an additive effect was observed between the ethanol extract *Laurus nobilis* and quercetin.

The assessment of the acute toxicity of the extracts showed no evidence of toxicity, and this has been confirmed by histological study that revealed a normal "architecture" of liver and kidneys of the treated mice.

Keywords: essential oils, ethanol extracts, antioxidant, DPPH, isobologram, toxicity, LD50.

خلاصة: إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة ل الزيوت الأساسية (H.Es) ومقتطفات الإيثانول (EtOH) وحدها أو بالإشتراك مع بعضها البعض و مع بعض المضادات الطبيعية, وتقييم السمية الحادة لهذه المقتطفات. الزيوت الأساسية المستخرجة من الأجزاء الهوائية ل *Laurus nobilis* و *Lavandula stoechas* قدمو عوائد تتراوح بين 0,53% إلى 0,6%.

أظهر محتوى البوليفينول الكلي ل *Laurus nobilis*, *Lavandula stoechas*, *Hyoscyamus albus* عوائد متغيرة, مع قيم تتراوح بين **357,2± 6,22 µg EAG/mg d'extrait**, **321,8 ± 4,24 µg EAG/mg d'extrait** et **87,1 ± 2,26 µg EAG/mg d'extrait** على التوالي.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH. مقتطفات الإيثانول لديها القدرة المضادة للأكسدة قوية مقارنة بما كان عليه من الزيوت الأساسية. نسبة عالية من مركبات الفينول هو سبب هذه القدرة الحد الهامة.

لم يتم كشف أي تآزر لكافة التركيبات. تم ملاحظة سوى تأثير واحد بين *Laurus nobilis* EtOH و *Quercétine*. وأظهر تقييم السمية الحادة لمستخلصات أي دليل على السمية, وهذا قد أكدته الدراسة النسيجية التي لم تكشف أي تغير غير طبيعي ل الكبد والكلى للفئران المعالجة.

الكلمات الأساسية: الزيوت العطرية, Extrait éthanolique, مضادات الأكسدة, DPPH, isobologram, سمية, LD50