



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Intitulé :

**Etude de l'activité antioxydante et enzymatique des extraits de la plante médicinale *Pistacia lentiscus*.**

Présenté et soutenu publiquement

Le : 13/09/2020

Par

Mlle LASMAR Meriem & Mlle LARIBI Amina

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : <sup>Mme</sup> Guendouze A. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

Encadreur : <sup>Mme</sup> Moussaoui S. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

Examinatrice : <sup>Mme</sup> Medoukali I. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

Année universitaire

2019 – 2020

## TABLE DES MATIERES

### LISTE DES ABREVIATIONS

### LISTE DES TABLEAUX

### LISTE DES FIGURES

### INTRODUCTION .....01

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### **I. Étude botanique, phytochimique et biologique de *Pistacia lentiscus* .....03**

##### I.1. Description botanique... 03

##### I.1.1. Feuilles..... 04

##### I.1.2. Fruits ..... 05

##### I.1.3. Fleurs ..... 05

##### I.1.4. Mastic ..... 06

##### I.2. Répartition géographique et exigences écologiques du *Pistacia lentiscus* .....06

##### I.2.1. Dans le monde ..... 06

##### I.2.2. En Algérie .....07

##### I.3. Étude phytochimique des différents produits de *Pistacia lentiscus*.....07

##### I.3.1. Composition chimique des feuilles.....08

##### I.3.2. Composition chimique des fruits..... 08

##### I.3.3. Composition chimique de l'huile des fruits du *Pistacia lentiscus*..... 08

##### I.4. Études scientifiques des effets biologiques et pharmacologiques de *P. Lentiscus*.....09

##### I.4.1. Activité antioxydante..... 09

##### I.4.2. Activité anti inflammatoire.....10

##### I.4.3. Activité neuroprotectrice.....10

##### I.4.4. Activité de cicatrisation des plaies.....10

##### I.4.5. Activité antiathérogénique.....11

##### I.4.5. Activité anticancéreuse... .....11

#### **II. Stress oxydatif, les antioxydants et les métabolites secondaires.....12**

##### II.1 Stress oxydatif..... 12

##### II.1.1 Définition.....12

##### II.1.2 Les radicaux libres.....12

##### II.1.3 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS).....13

##### II.2 Antioxydants.....14

##### II.2.1. Définition.....14

##### II.2.2. Classes d'antioxydants .....14

II 2.3 Mécanismes d'action des antioxydants.....	15
II. 3. Métabolites secondaires des plantes (polyphénols).....	16
II. 3.1. Définition.....	16
II. 3.2. Classification des polyphénols.....	16
II. 3.3. Rôle des polyphénols .....	17

## **MATERIEL ET METHODES**

<b>I. Matériel et méthodes .....</b>	<b>20</b>
I.1. Matériel végétal (biologique).....	21
I.2. Matériel non biologique.....	22
<b>II. Méthodologie.....</b>	<b>22</b>
II.1Extraction d'huile végétale.....	22
II.2. Extraction assistée par macération des polyphénols.....	22
II.2.1. Feuilles du pistachier.....	23
II.2.2. Tourteaux des fruits.....	23
II.2.3. Huile végétale.....	24
<b>III. Dosage des antioxydants .....</b>	<b>25</b>
III.1. Dosage des polyphénols totaux.....	25
III.2. Dosage des flavonoïdes .....	27
<b>IV. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits .....</b>	<b>29</b>
IV.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH.....	29
IV.2. Test de l'activité ABTS.....	31
IV.3. Radical galvinoxyl (GOR).....	33
IV.4. La réduction du complexe Cuivre-Neocuproïne (CUPRAC méthode).....	33
IV.5. Pouvoir réducteur.....	35
IV.6. Activité Phénanthroline.....	36
IV.7. Activité Silver nanoparticule (SNP).....	37
<b>V. Evaluation de l'activité enzymatique .....</b>	<b>38</b>
V.1. Activité anti cholinestérase.....	38
V.2. Activité inhibitrice de l'alpha amylase (anti diabétique).....	41

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I. Extraction et quantification des antioxydants.....</b>	<b>42</b>
I.1. Extraction des composés phénoliques.....	42
<b>II. Analyse quantitative des composés phénoliques.....</b>	<b>42</b>

II.1. Quantification des polyphénols totaux (TPC).....	42
II.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC).....	45
<b>III. Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>47</b>
III.1. Test DPPH radical libre.....	47
III.2. Test par piégeage du radical ABTS+•.....	50
III.3. Radical galvinoxyl (GOR).....	52
III.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	53
III.5. Pouvoir réducteur.....	55
III.6. Test de l'activité phénanthroline.....	57
III.7. Test du silver nanoparticule (SNP).....	59
<b>IV. Evaluation des activités inhibitrices des enzymes.....</b>	<b>62</b>
IV.1. Activité anti-acétylcholinestérase .....	62
IV.2. Activité alpha amylase.....	64
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>RESUME</b>	



*Remerciements  
et  
dédicaces*

## **Remerciements**

*C'est avec une grande joie qu'ai débuté ce mémoire et un léger pincement au cœur que nous en arrive aujourd'hui à écrire ces remerciements car ils sont la conclusion finale de toutes ces mois de travail.*

*Nous remercions notre bon Dieu qui nous a donné le courage et la volenté de poursuivre nos études, ainsi que nos parents, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite.*

*Nous tenons à remercier notre directrice de mémoire **Madame Moussaoui Samira** maître de conférence (B) à l'université frères Mentouri Constantine 1, pour son précieux conseils, la direction, la confiance et son aide durant toute la période de travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner et évaluer notre travail et de l'enrichir par leur propositions, la présidente de jury Madame **Guendouz A**, maître de conférence (B) à l'université frères Mentouri Constantine1, et Madame **Medoukali I** maître de conférence (B) à l'université frères Mentouri Constantine1.*

*Ce travail a été réalisé au Centre de Recherche en biotechnologie (CRBT, Constantine). Nous tenons à remercier Dr. **Azioune Ammar**, Directeur de CRBT qui nous a offert l'occasion de réaliser nos travaux de mémoire au niveau de son établissement.*

*Nous remercions vivement Dr **Bensouici Chawki** responsable de laboratoire de biochimie au centre de Recherche en Biotechnologie, de nous avoir accueilli et aussi les facilités et les aides qu'il nous a accordées durant la période de notre travail et pour son enthousiasme et son art de simplicité.*

*Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à tout le personnel du Centre de recherche en Biotechnologie (CRBT), Constantine, qui nous a procuré une bonne formation.*

# Dédicaces



*À l'aide d'Allah tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur : **ma mère Hayet.***

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi **mon père lezzize OMAR.***

*À mes chers frères, pour leur amour, soutien et encouragements, qui m'ont soutenue et sur tout m'ont supporté au moment difficile. Que Dieu les protège : **Abderrazak, Hamza et Oussama.***

*Sans oublier mon petit bout de sucre **Mohammed.***

*À tata **Razika,** pour ses conseils précieux, son aide et support dans les moments difficiles*

*À la mémoire de ma chère grande mère **Fatma.** Que Dieu tout puissant l'accueille dans son vaste paradis.*

## Meriem



*A celui qui a sacrifié sa vie pour moi  
mon chère papa Nouar , à celle qui n'a  
jamais cessé de m'encourager pour  
aller toujours en avant lorsqu'elle était  
en vie, Ma chère Maman Zouzane,  
dieu lui donnera une place dans son  
paradis. Mon cher frère ; Sami et  
Amar Mes adorables soeurs ;Hanan,  
Karima, Naoual et Assya. Mon binôme  
meriouma et toute sa famille.*

*Je remercie mes fideles amis Fatima ;  
Zahra ; Dheyae et les autres et qui ont  
toujours été présents dans les moments  
importants de ma vie. Je vous souhaite,  
à tous bonne continuation et beaucoup  
de réussite.*

*Laribi Amina*



## Liste des abréviations

<b>A controle</b>	l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs
<b>A extrait</b>	l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait
<b>A,ascorbique</b>	acide ascorbique
<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>Ac</b>	absorbance du contrôle
<b>AChE</b>	acétylthiocholinestérase
<b>ACNH<sub>4</sub></b>	Acétate d'ammonium
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>Ae</b>	absorbance de l'extrait
<b>AGMI</b>	acides gras monoinsaturés
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	nitrate d'argent
<b>AGPI</b>	acides gras polyinsaturés
<b>AGS</b>	acides gras saturés
<b>Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O</b>	nitrate d'aluminium
<b>Al<sup>3+</sup></b>	ion aluminium
<b>AR</b>	récepteur des androgènes
<b>BHA</b>	Butyl hydroxyanisole
<b>BHT</b>	Butyl hydroxytoluène
<b>CH<sub>3</sub>COOK</b>	acétate de potassium
<b>COOH</b>	fonction carboxylique
<b>CRBt</b>	centre de recherche en biotechnologies
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	ion de cuivre
<b>CUPRAC</b>	complexe Cuivre-Neocuproïne
<b>DHA</b>	l'acide docosahexaénoïque
<b>DMSO</b>	diméthylsulfoxyde
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>DTNB</b>	5,5'-dithiobisnitrobenzoate
<b>E</b>	enzyme
<b>EF</b>	extraits des feuillettes
<b>EH</b>	extraits d'huile

<b>ET</b>	Extrait des tourteaux
<b>FCR</b>	first call resolution
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	ions ferreux
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	chlorure de fer
<b>g</b>	gramme
<b>GOR</b>	Galvinoxyl radical
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Molécule d'eau
<b>ACNH<sub>4</sub></b>	peroxyde d'hydrogène
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Acide désoxyribonucléique
<b>H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b>	acide phosphomolybdique
<b>H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b>	acide phosphotungstique
<b>HCl</b>	acide chlorhydrique
<b>HO<sub>2</sub>•</b>	radical perhydroxyle
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration Inhibitrice à 50%
<b>ICAM-1</b>	molécule d'adhésion intercellulaire-1
<b>IKI</b>	Iodure de potassium
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>	persulfate de potassium
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	ferricyanide de potassium
<b>LDL</b>	low density lipoprotein
<b>LNCaP</b>	lignée cellulaire de cancer de la prostate humaine sensible aux androgènes
<b>LOST</b>	laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>ml</b>	millilitre
<b>MnO<sub>2</sub></b>	manganese oxide
<b>Mo8O23</b>	molybdène
<b>NA</b>	non absorbance
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	carbonate de sodium
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adénosine dinucléotide phosphate (sous sa forme réduite)
<b>NC</b>	neocuproïne
<b>O<sub>2</sub></b>	oxygène
<b>O<sub>2</sub>•<sup>-</sup></b>	radical superoxyde

<b>OH</b>	fonction alcoolique
<b>PEA</b>	palmytoyléthanolamide
<b>PG</b>	gallate propylée
<b>PKC</b>	proteine kinase C
<b>PT</b>	phénanthroline
<b>RDC</b>	laboratoire de biochimie
<b>RO•</b>	radical alkoxyde
<b>RO<sub>2</sub>•</b>	radical peroxyde
<b>ROS</b>	espèces réactives de l'oxygène
<b>RP</b>	pouvoir réducteur
<b>S</b>	l'activité de l'enzyme avec l'extrait
<b>SNP</b>	Silver nanoparticule
<b>SOD</b>	superoxyde dismutase
<b>TBHQ</b>	tétra-butylhydroquinone
<b>TCA</b>	tri-chloroaceticacide
<b>TFC</b>	Quantification des flavonoïdes totaux
<b>TNF-alpha</b>	facteur de nécrose tumorale a
<b>TPC</b>	Quantification des polyphénols totaux
<b>W8023</b>	oxydes de tungstène
<b>µg</b>	microgramme
<b>•OH</b>	radicale hydroxyle

## Liste des Tableaux

Tableaux	Titre des Tableaux	Page
1	Taxonomie de <i>Pistacia lentiscus</i>	3
2	composition en acides gras de l'huile des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i>	9
3	Radicaux libres centrés sur l'oxygène	13
4	classification des antioxydants	14
5	Gamme d'étalon de l'acide gallique	25
6	Gamme d'étalon de la quercétine	27
7	Série des dilutions de ½ pour 4mg des extraits de feuilles, tourteaux et huile	29
8	Série des dilutions de ½ pour 0.5mg des extraits de feuilles et tourteaux	29
9	Polyphénols totaux des extraits	42
10	Résultats du dosage des Flavonoïdes	44
11	Activité de pouvoir réducteur de DPPH des extraits exprimée en IC <sub>50</sub>	47
12	CI <sub>50</sub> des extraits et standards obtenus par le test ABTS	50
13	Activité de pouvoir réducteur du radicale GOR des extraits exprimée en IC <sub>50</sub>	52
14	A <sub>0,5</sub> des extraits et standards obtenues avec le test CUPRAC	54
15	Activité de pouvoir réducteur de Fe <sup>3+</sup> des extraits exprimée en A <sub>0,5</sub>	56
16	Différentes valeurs des A <sub>0,50</sub> de l'activité Phenanthroline.	58
17	Activité SNP des extraits et standards exprimée en IC <sub>50</sub>	60
18	Comparaison de la puissance antioxydant des extraits	61
19	CI <sub>50</sub> des extraits et standards obtenus par le test de l'activité anti-acétylcholinestérase	63
20	Activité d'inhibition de l'enzyme alpha amylase des extraits exprimée en IC <sub>50</sub> .	64

## Liste des figures

Figure	Titre des figures	Page
1	Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i>	4
2	Feuilles de <i>Pistacia Lentiscus</i>	4
3	Fruits de <i>pistacia lentiscus</i> à différents stades de maturité	5
4	Fleurs de <i>Pistacia Lentiscus</i>	5
5	« Larmes » de résine qui s'écoulent du tronc de <i>Pistacia lentiscus</i>	6
6	Aire de répartition du genre <i>Pistacia</i>	7
7	Aire de répartition du <i>Pistacia lentiscus</i> en Algérie	8
8	Espèces bien connues du genre <i>Pistacia</i> , parties utilisées et rôles biologiques	10
9	Mécanisme anti-inflammatoire du genre <i>Pistacia</i>	11
10	Stress oxydant: déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants	12
11	carte géographique de la Daïra de Tamalous (Skikda)	20
12	Extraction d'huile végétale à l'aide d'une presse à huile.	21
13	Principales étapes d'extraction des polyphénols	23
14	décantation des deux phases	24
15	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	26
16	Courbe d'étalonnage de la quercétine	28
17	Mécanisme d'action du DPPH	29
18	Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de l'ABTS+•.	31
19	Réduction du complexe chromogène de Cu <sup>+2</sup> -Nc	33
20	Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants	35
21	Réduction d'Ag <sup>+</sup> par les polyphénols	37
22	Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman	39
23	microplaque représente les instructions respectant	20
24	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	41

25	Profil de la microplaque du dosage des polyphénols totaux	41
26	Courbe d'étalonnage de la quercétine	43
27	Profil de la microplaque de dosage des flavonoïdes totaux	43
28	Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti radicalaire DPPH	45
29	Histogramme représentant pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits et standard.	47
30	Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).	49
31	Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS par les extraits et standards.	50
32	Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition du radicale GOR par les extraits et standards	51
33	profile de microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (CUPRAC).	53
34	Histogramme représentant la capacité d'inhibition du CUPRAC par les extraits et standards	53
35	profil micoplaque du test pouvoir reducteur	55
36	Histogramme représentant le pouvoir réducteur $Fe^{3+}$ des extraits et standards	55
37	Profil de la microplaque de dosage de l'activité phenanthroline.	57
38	Histogramme d'absorbance en fonction des concentrations des standards et les extraits du test Phenanthroline	57
39	Profil de la microplaque de dosage de l'activité SNP	59
40	Histogramme représentant le pouvoir réducteur des ions $Ag^+$ des extraits et standards	60
41	Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-acétylcholinestérase	62

42	histogramme du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et standard pour l'activité anti-acétylcholinestérase	62
43	profil microplaque de dosage de l'activité anti alpha-amylase	64



# *Introduction*

Il y'a environ 500 000 plantes sur terre, 100 000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales qui peuvent contribuer par leur principe actif à agir directement sur l'organisme (**Haciniet Djelloul., 2017**).

Dans les dernières décennies, l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde connaissent un regain d'intérêt. Cette utilisation demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé, non seulement du fait qu'elles constituent un élément important du patrimoine culturel, mais aussi pour les raisons de moyens financiers limités (**El Yahiaoui et al., 2015**).

En Afrique, selon les estimations de l'OMS (2002), plus de 80% de la population utilise les plantes médicinales pour assurer leurs soins de santé. Ceci est lié à la toxicité des produits chimiques, au coût élevé des médicaments chimiques, à l'éloignement et/ou l'insuffisance des centres de santé surtout en milieu rural, qui limitent une prise en charge véritable des problèmes de santé publique (**Zitouni A., en 2017**).

La découverte des espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes, et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (**Favier., 2003**). Récemment, il a été montré qu'il existe une association étroite entre l'altération des systèmes antioxydants de défense et le développement de plus de 200 pathologies différentes (**Zitouni A., en 2017**).

Les composés phénoliques sont des substances biologiques qui prennent une importance croissante, grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Récemment, de nombreuses études ont montré que ces composés sont des antioxydants naturels qui protègent contre les réactions des radicaux libres (**Duenas et al., 2009**). Ces derniers sont en mesure de donner des protons aux radicaux libres, et sont encore capables d'empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène. Ils présentent également un large éventail d'activités biologiques, qui peuvent être attribuées à leurs propriétés antioxydantes (**Osamuyimen et al., 2011**). Ainsi, leurs principes actifs sont utilisés comme matière première pour les modifications en phytothérapie (**Jones et al., 2006**).

Notre présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante médicinale, dans notre pays très riche en flore. Il s'intéresse principalement à la recherche des antioxydants

naturels en étudiant la phytochimie et les propriétés antioxydantes d'une plante médicinale : cette plante est *Pistacia lentiscus* de la famille des anacardiées, communément connue comme le lentisque, et est un arbuste méditerranéen largement utilisé en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs pathologies telles que les troubles gastrointestinaux, les infections de l'eczéma et des érythèmes, et les inflammations de la gorge. En outre, d'autres propriétés sont actuellement attribuées aux différentes parties de *P. lentiscus* (feuilles, tourteaux et huiles gras), tels que la capacité antioxydante, anti-Alzheimer, et les effets antidiabétiques.

Dans la première partie de notre mémoire, nous avons présenté en revue des données de littérature : le premier chapitre a abordé une description des espèces étudiées, les caractères botaniques, la systématique, les propriétés thérapeutiques et l'intérêt biologique. Le deuxième chapitre a porté sur l'étude de stress oxydative, les antioxydants, leur classification et leur mécanisme d'action aussi une définition des composés phénoliques, leurs classifications et leurs effets biologiques.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous présentons une étude expérimentale par des techniques *in vitro* passant par la mesure des composés phénoliques, l'évaluation du pouvoir antioxydant par sept différentes techniques, et enfin la mesure de la capacité d'inhiber l'enzyme acétylcholinestérase (effet anti-Alzheimer), et l'enzyme alpha-amylase (effet antidiabétique)

Dans la troisième partie, nous avons rapporté les différents résultats obtenus, leurs interprétations et une discussion relative aux résultats obtenus.

Une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats issus de cette étude, et présentera les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir proche, afin de confirmer l'intérêt de cette étude.



*Etude  
bibliographique*

## I. Étude botanique, phytochimique et biologique de *Pistacia lentiscus*

Cette partie constitue une revue bibliographique sur la plante médicinale *Pistacia lentiscus*, ainsi que ses molécules bioactives, suivi par les aspects botaniques, biologiques et pharmacologiques de l'espèce *Pistacia lentiscus*.

### I.1. Description botanique

Le nom *Pistacia lentiscus* donné à cette plante lui vient du mot latin " pistakia" constitué une altération du mot "foustak", nom arabe de l'espèce principale, et *Lentiscus*, vient du mot latin "lentiscus" nom de l'arbre au mastic (**Garnier et al., 1961**).

*Pistacia lentiscus* est un arbuste qui appartient à la famille des Anacardiaceae. Il est très largement représenté dans le pourtour méditerranéen. C'est une espèce très connue et employée par la population locale pour ses nombreuses vertus thérapeutiques notamment antiulcéreuses, anti inflammatoires et antibactériennes (**Aiche-Iratni., 2016**).

La classification taxonomique de *P. lentiscus* est résumée au tableau ci-dessous (Tableau 1).

**Tableau1** : Taxonomie de *Pistacia lentiscus* (**Linné., 1753**).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

Le lentisque (*Pistacia lentiscus*) est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille cosmopolite des Anacardiaceae qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces (**Bozorgi et al., 2013**). En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (**Ghalem et Benhassaini., 2007**).

Cette espèce couramment appelée «Dhro» en arabe est un arbuste ramifié de trois mètres de hauteur, avec une odeur aromatique forte (**Bammou et al., 2015**). Il est largement repartie dans les écosystèmes du bassin méditerranéen où elle pousse à l'état sauvage (Figure 1) (**Remila et al., 2015**).



**Figure 1 :** Arbuste de *Pistacia lentiscus* (Abdeldjelil., 2016).

### 1.1.1. Feuilles

Sont persistantes, composées, et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte (Figure 2). On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses au mois de Mai (Mekious., 1997).



**Figure 2 :** Feuilles de *Pistacia Lentiscus*

(<https://webapps.fundp.ac.be/umdb/biodiveg/index.php?go=photo/4998>)

### 1.1.2. Fruits

Les fruits de l'arbre de lentisque sont des drupes de petite taille d'environ cinq millimètres, globuleux qui renferment un seul noyau à une seule graine contenant une pulpe de bon goût et d'une odeur embaumée (Ait Youssef., 2006). Les fruits présentent plusieurs couleurs aux différents stades de maturité, en effet ils sont de couleur verte, au début, puis se transforment en rouge à mi- maturité et à la maturité ils sont noirâtres (Figure 3) (Djedaia., 2017).



**Figure 3** : Fruits de *pistacia lentiscus* à différents stades de maturité (<https://www.fond-ecran-image.com/galerie-membre/photo-arbre-pistachier-lentisque.html>).

### 1.1.3. Fleurs

Unisexuées d'environ trois mm de large apparaissent au printemps (Mars à Mai). Elles sont très aromatiques et se présentent sous forme de racèmes (grappe) de petite taille. Les fleurs femelles sont, vert jaunâtre, alors qu'elles sont de couleur rouge foncé pour les fleurs mâles (Figure 4) (More et White., 2005).



**Figure 4** : Fleurs de *Pistacia Lentiscus* ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Pistachier\\_t%C3%A9r%C3%A9binthe](https://fr.wikipedia.org/wiki/Pistachier_t%C3%A9r%C3%A9binthe)).

#### 1.1.4. Mastic

L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (Figure 5) (Belfadel., 2009).

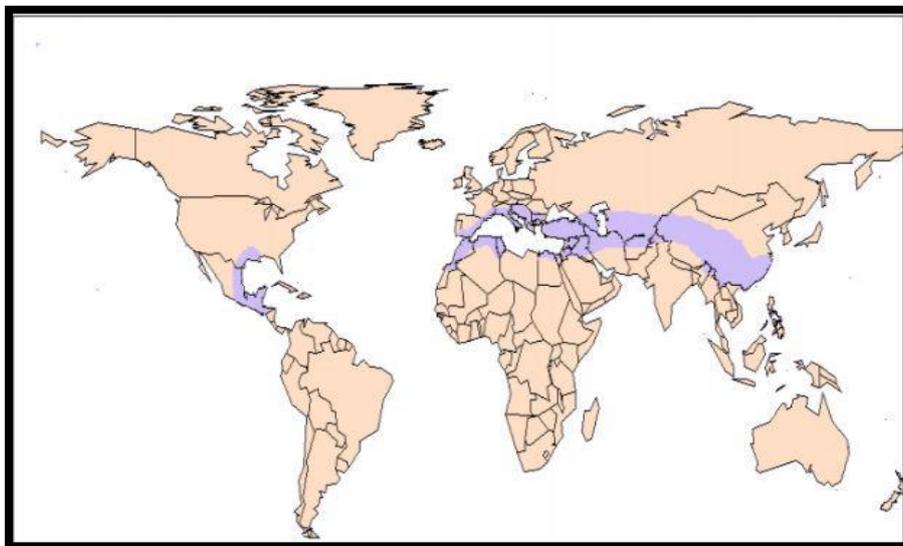


**Figure 5** : « Larmes » de résine qui s'écoulent du tronc de *Pistacia lentiscus* (Paraschos *et al.*, 2012).

### 1.2. Répartition géographique et exigences écologiques du *Pistacia lentiscus*

#### 1.2.1. Dans le monde

*Pistacia lentiscus* est distribué à travers l'Afrique, l'Europe du Sud, l'Asie et l'Amérique du Nord (Figure 6) (Abdur *et al.*, 2017).



**Figure 6** : Aire de répartition du genre *Pistacia* (Belfadel., 2009).

Elle est largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, (**Trabelsi et al., 2012**) et est caractérisée par la rareté des éléments nutritifs et de l'eau, avec une exposition prolongée au rayonnement solaire et aux hautes températures (**Baratto et al., 2003**).

Le pistachier est un arbrisseau qui préfère les sols siliceux et secs, il se développe aussi sur des sols calcaires. Ce genre paraît s'être étendu à l'origine aux régions forestières subtropicales de la zone méditerranéenne (**Seigue A., 1985**).

Dans les zones humides, cette espèce est plus abondante dans les plaines que sur les hauteurs, contrairement aux zones semi-arides où elle pousse plutôt sur les hauteurs. Le lentisque assure la protection du sol contre l'érosion et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques (**Correia et Diaz Barradas., 2000**).

### I.2.2. En Algérie

En Algérie *P. lentiscus* est généralement dispersée sur tout le littoral (**Charef et al., 2008**), on le retrouve sur tous types de sols, subhumide et semi-aride (**Smail-Saadoun., 2005**), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alépe, le chêne vert et le chêne liège (**Belhadj., 2001**).

Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée (Figure 7) (**Ait Said., 2011**).

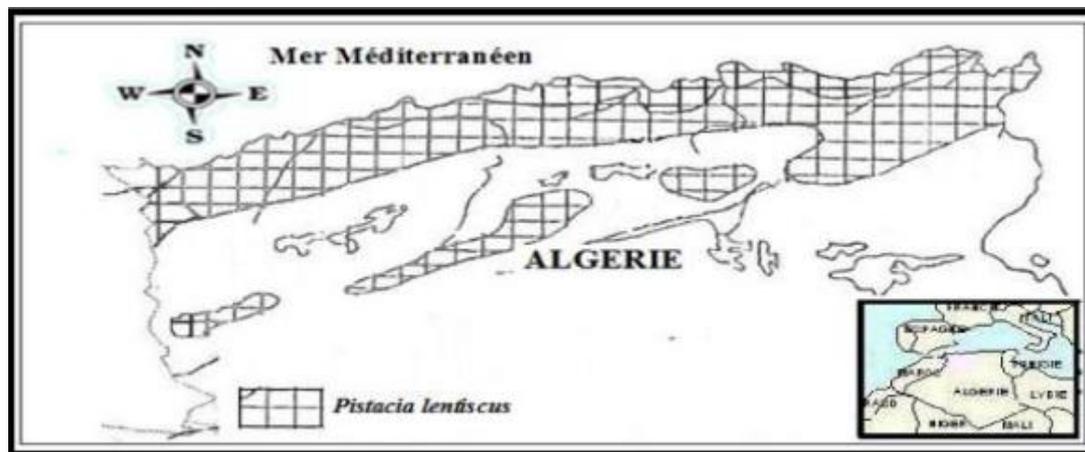


Figure 7 : Aire de répartition du *Pistacia lentiscus* en Algérie (**Quezel et Santa., 1963**).

### I.3. Étude phytochimique des différents produits de *Pistacia lentiscus*

En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties de *Pistacia lentiscus* font l'objet de plusieurs études phytochimiques afin d'identifier leurs principes actifs.

Les différentes parties de *Pistacia lentiscus* contiennent une variété de constituants chimiques importants sur le plan médical, tels que : l'huile essentielle, la résine, les anthocyanes, les flavonols glycosides, l'acide gallique et autre composés (**Ansari et al., 2012**).

### I.3.1. Composition chimique des feuilles

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence des glycosides de flavanols comme la myricétine et la quercétine, l'acide gallique, les dérivés galloyls et les anthocyanines (Romani *et al.*, 2002; Vaya et Mahmood., 2006). Elles contiennent aussi des stérols, et des saponosides (Bammou *et al.*, 2015).

Lors d'une étude menée en 2014 ; Arab *et al.* ont prouvé que les feuilles ont une très forte teneur en leucoanthocyanes, en saponosides, en sénosides, en alcaloïdes et en tannins totaux avec une forte teneur en tannins galliques et flavonoïdes et une teneur moyenne en glucosides.

Les jeunes feuilles de cette plante sont plus riches en azote et en tanins, mais moins riches en hydrates de carbone que les feuilles matures (Dogan *et al.*, 2003).

### I.3.2. Composition chimique des fruits

Les études phytochimiques montrent que les fruits du *Pistacia lentiscus* présentent une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon (Arab *et al.*, 2014), et une teneur de 4,5 mg/ml d'anthocyanins (Luigia *et al.*, 2007).

La teneur en matières grasses brutes des fruits de *Pistacia lentiscus* L. varie de 32,8% pour les fruits noirs (mûrs) à 11,70% pour les fruits rouges. Ainsi, le fruit noir peut être considéré comme une graine oléagineuse ayant des teneurs élevées en matière grasse (Charef *et al.*, 2008).

### I.3.3. Composition chimique de l'huile des fruits du *Pistacia lentiscus*

L'huile de lentisque est constituée majoritairement par des acides gras insaturés (mono et polyinsaturés) et acides gras saturés, accompagnés de substances lipidiques auxiliaires dites constituants mineurs, tels que les tocophérols, les phytostérols et des composés phénoliques (Dhifi *et al.*, 2013).

Dans toutes les étapes de maturation seulement quatre stérols ont été identifiés et quantifiés  $\beta$ -sitostérol a été le principal, suivi par le campestérol. Le cholestérol et stigmastérol ont été détectés en quantités infimes (Maameri –Habibatni., 2014).

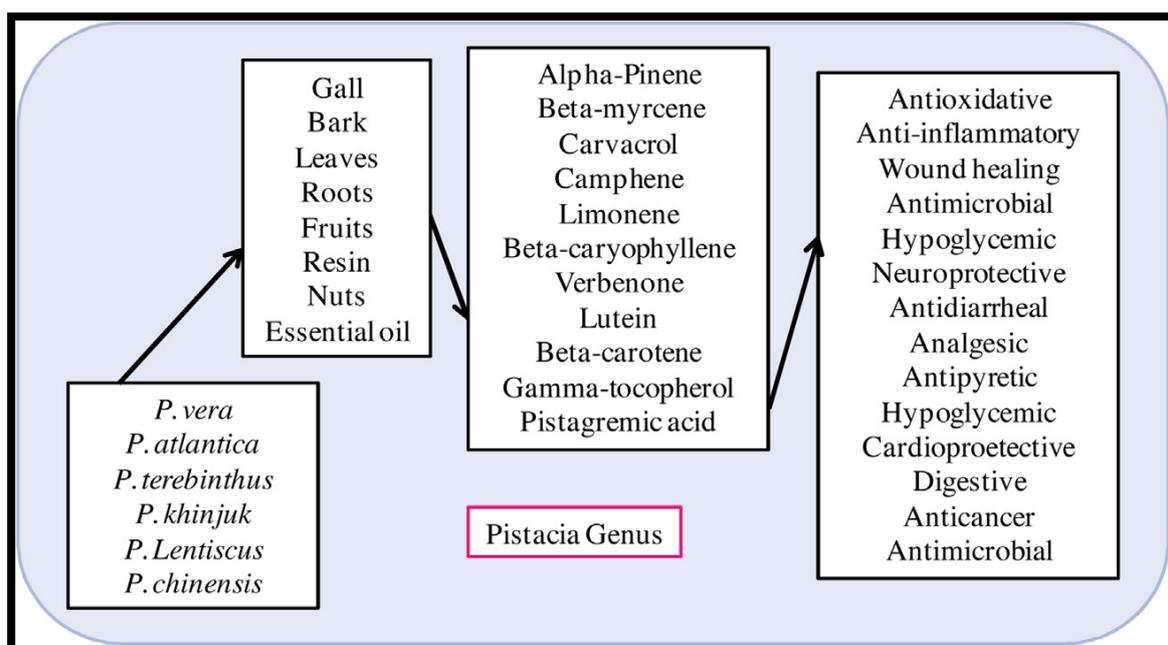
La classe la plus importante des acides gras dans l'huile du *Pistacia lentiscus* est représentée par les acides gras monoinsaturés (AGMI), suivie par les AG saturée (AGS) et polyinsaturés (AGPI) (Bougherara., 2015) (Tableau 2).

**Tableau 02** : composition en acides gras de l'huile des fruits de *Pistacia lentiscus*.

Acides gras	(%) d'acides gras Selon (Charef et al., 2008)	(%) d'acides gras Selon (Mezni et al., 2012)
Acide palmitique	16.3	25
Oléique	55.3	56
Linoléique	17.6	15

#### I.4. Études scientifiques des effets biologiques et pharmacologiques de *P. Lentiscus*

Les activités biologiques et pharmacologiques des produits issus de *Pistacia lentiscus* ont été décrites à travers plusieurs études scientifiques (Figure 8).



**Figure 8** : Espèces bien connues du genre *Pistacia*, parties utilisées et rôles biologiques (Abdur et al., 2017).

##### I.4.1. Activité antioxydante

L'abondance phénolique est directement liée à un effet antioxydant élevé. Les polyphénols du fruit de *P. lentiscus* ont des activités antioxydantes et antimutagènes. L'acide gallique présent dans l'extrait induit l'expression de gènes antioxydants et de réparation de l'ADN, ce qui explique l'effet antioxydant des polyphénols (Abdur et al., 2017).

De même, l'huile essentielle collectée au stade de la floraison contient une fraction d'hydrocarbures monoterpéniques élevée (45-68,35%), a montré une activité de piégeage des radicaux libres la plus élevée avec une capacité antioxydante. La résine naturelle et les triterpènes

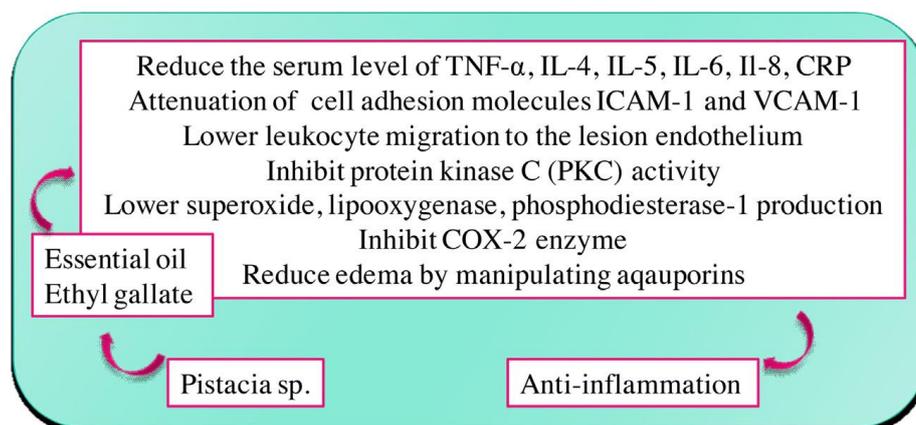
bioactifs de l'huile essentielle ont également montré une propriété antioxydante, ils sont donc utilisés dans les aliments fonctionnels en raison de cette propriété (Nahida *et al.*, 2012).

#### 1.4.2 Activité anti inflammatoire

Il a été montré que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* retarde la migration des leucocytes vers les tissus endommagés et présente une activité anti-inflammatoire chez le rat.

L'administration quotidienne de 100 mg / kg de poudre de gomme de *P. lentiscus* pourrait éventuellement diminuer la production de toutes les cytokines inflammatoires (facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1), IL-6, IL-8,....) chez le rat (Abdur *et al.*, 2017).

Aussi la gomme de mastic du *lentiscus* (0,1 à 10 mg / ml) pourrait inhiber l'activité de la protéine kinase C (PKC), ce qui réduisait la production de superoxyde. (Figure 9).



**Figure 9** : Mécanisme anti-inflammatoire du genre *Pistacia* (Abdur *et al.*, 2017).

#### 1.4.3. Activité neuroprotectrice

Le traitement par voie orale avec l'huile essentielle de *P. lentiscus* augmente le niveau de palmytoyléthanolamide (PEA) et d'oléoyléthanolamide, qui induit la biosynthèse de l'acide docosahexaénoïque (DHA), ce dernier est doté d'un pouvoir neuroprotecteur (Abdur *et al.*, 2017).

#### 1.4.4. Activité de cicatrisation des plaies

L'huile grasse des fruits et sa fraction insaponifiable est utile dans le traitement des plaies (Nahida *et al.*, 2012).

L'huile de *P. lentiscus* à une dose de 1 ml appliquée pendant quatre jours a favorisé la contraction de la plaie et réduit la période d'épithélisation dans le modèle de brûlure chez le lapin (Abdur *et al.*, 2017).

#### 1.4.5. Activité antiathérogénique

Lors d'une étude réalisée par **Abdur et al., en 2017** ; les auteurs ont prouvé que la résine de *P. lentiscus* var. chia a été évaluée chez des sujets humains pour d'éventuels avantages cardiaques. L'ingestion de la poudre de résine à 5 g / jour pendant 18 mois a entraîné une amélioration des paramètres sériques et une baisse du taux de cholestérol total et de LDL.

#### 1.4.5. Activité anticancéreuse

L'extrait éthanolique à 50% de la gomme de mastic du *Pistacia lentiscus* inhibe la prolifération et induit la mort des cellules cancéreuses du côlon humain *in vitro*. La gomme de mastic exerce une apoptose dépendante de la concentration en induisant directement ou indirectement un arrêt cellulaire à la phase G1 suivi par des dommages à l'ADN. *In vitro*, la CMG provoque une cascade d'événements cellulaires entraînant finalement l'interruption de l'adhésion à la matrice et déclenche une mort cellulaire irréversible.

L'extrait d'hexane de la gomme de mastic est également utilisé dans le traitement des tumeurs colorectales, il inhibe la prolifération des cellules LNCaP (lignée cellulaire de cancer de la prostate humaine sensible aux androgènes) par les androgènes via l'AR (récepteur des androgènes) qui était utilisé pour traiter le cancer de la prostate. La gomme inhibe à la fois le niveau transcriptionnel et la fonction de l'AR dans les cellules LNCaP (**Nahida et al., 2012**).

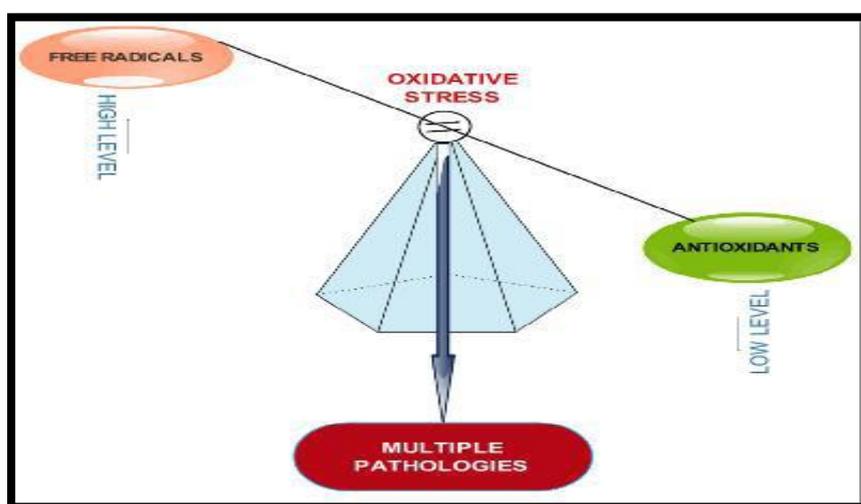
## II. Stress oxydatif, les antioxydants et les métabolites secondaires

Cette partie constitue revue bibliographique sur le stress oxydatif, les antioxydants et les métabolites secondaires, suivi par des définitions, classifications, mode d'action et des propriétés biologiques.

### II.1 Stress oxydatif

#### II.1.1 Définition

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le potentiel antioxydant de l'organisme (Figure10) (**Kandouli C., 2018**), conduisant à une perturbation de la signalisation redox et du contrôle et / ou des dommages moléculaires (**Montezano et al., 2015**).



**Figure 10** : Stress oxydant: déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (**Ighodaro et Akinloye., 2017**)

#### II.1.2 Les radicaux libres

Les radicaux libres, se réfèrent à un atome ou une molécule très réactive, qui contient un nombre impair d'électrons dans sa dernière couche électronique. C'est la présence de cet électron «célibataire» qui confère une grande réactivité à ces espèces, généralement nommées «**espèces réactives de l'oxygène**» (Tableau 5) (**Delattre et al., 2005**).

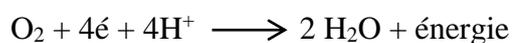
**Tableau 3** : Radicaux libres centrés sur l'oxygène (**François N.M., 2010**).

$O_2^{\bullet-}$	radical superoxyde
$HO_2^{\bullet}$	radical perhydroxyle
$\bullet OH$	radical hydroxyle
$RO_2^{\bullet}$	radical peroxyde
$RO^{\bullet}$	radical alkoxyde

La production excessive de radicaux libres associée au développement de nombreuses maladies peut induire et/ou entretenir un déséquilibre entre la formation des composés oxydants et le niveau des molécules ou enzymes ayant une fonction antioxydante dans la cellule, ceci entraîne la dégradation des molécules assurant la structure et les fonctions cellulaires. Un état dit de stress oxydant est alors généré (**Rasilainen et al., 2002**).

### II.1.3 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS)

Le métabolisme de l'oxygène dans l'organisme se passe, dans des situations normales, par sa réduction quasi-totale en eau, utilisant quatre électrons dans la chaîne respiratoire. L'oxygène ( $O_2$ ) que nous respirons est métabolisé dans notre corps comme suit : environ 85 à 90% sont utilisés par les mitochondries, à travers la chaîne respiratoire, et les 10 à 15% restants sont utilisés par divers enzymes oxydases et oxygénases et aussi par réactions chimiques d'oxydation directe.



L'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. La dismutation de cet  $O_2^{\bullet-}$  entraîne la formation d'oxygène fondamental et de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). L'  $H_2O_2$  n'est pas un radical libre au sens propre mais il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production. Selon la réaction de Fenton,  $H_2O_2$  se décompose, en présence d'ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ), en un ion  $OH^-$  et un radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ) (**Delattre et al., 2005**)



Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) qui régénère  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  selon la réaction d'Haber-Weiss.



Ainsi, la présence simultanée de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et de fer permet la production de radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ).

L' $\bullet OH$  avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, est la plus instable et la plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. La diffusion limitée de ce radical lui permet de réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à proximité (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires. L' $\bullet OH$  apparaît comme l'espèce radicalaire ayant un rôle majeur dans la cytotoxicité des ROS (**Gutteridge & Halliwell., 1992**).

## **II.2 Antioxydants**

### **II.2.1. Définition**

La production des radicaux libres est régulée par notre organisme qui développe des moyens de défense antioxydant pour la protection contre les effets potentiellement destructeurs des radicaux libres. Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Rahal et al., 2014**). Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé et éteindre des radicaux libres, et chélate les métaux aux niveaux physiologique appropriés. Quelques antioxydants peuvent agir l'un sur l'autre avec d'autres antioxydants régénérant leurs propriétés originales (**Qusti et al., 2010**).

### **II.2.2. Classes d'antioxydants**

Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions, leurs localisations cellulaires et leurs origines (Tableau 4).

**Tableau 4** : classification des antioxydants

	<b>Antioxydant</b>	<b>Références</b>
<b>Antioxydant Synthétique</b>	-butylhydroxyanisole (BHA). -butylhydroxytoluene(BHT) -le gallate propylée (PG) -tétrabutylhydroquinone (TBHQ)	<b>(Wang <i>et al.</i>, 2003)</b>
<b>Antioxydant d'origine végétale</b>	-tocophérol : $\alpha$ , $\beta$ , $\delta$ et $\gamma$ . -caroténoïde : la lutéine, $\beta$ carotènes, xanthophylles -polyphénol	<b>(Silva <i>et al.</i>, 2006)</b> <b>(Sebei <i>et al.</i>, 2007)</b>
<b>Antioxydants Enzymatiques</b>	<b>Enzymes primaires</b> SOD, Catalase, Glutathion Peroxydase <b>Enzymes secondaires</b> Glutathion réductase, déshydrogénase glucose-6-phosphate	<b>(Ratnam <i>et al.</i>, 2006)</b>

### II .2.3 Mécanismes d'action des antioxydants

L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants. Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (**Bubonja-Sonje *et al.*, 2011**). Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif, l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Favier., 2003**).

Ces antioxydants exécutent leurs activités par de nombreux mécanismes, d'une manière générale un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus vite que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol (**Berset et Cuvelier., 1996**).

De plus, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqués par l'oxygène moléculaire prévenant ainsi l'initiation de la formation des radicaux libres, diminuant la concentration d'oxygène contenu dans l'huiles et décomposant les peroxydes (**Dais et Boskou., 2009**).

## **II. 3. Métabolites secondaires des plantes (polyphénols)**

### **II. 3.1. Définition**

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, constituent environ 8 000 composés, les plus connus sont : les flavonoïdes, acides phénoliques et les tanins (**Edeas., 2007**).

Les polyphénols caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique auquel est directement lié un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelleet al., 2004**).

En effet les composés phénoliques sont présents dans les différentes parties de la plante : les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles (**Edeas., 2007**).

### **II. 3.2. Classification des polyphénols**

Les polyphénols possèdent plusieurs groupement phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (Alcoolique (OH), carboxylique (COOH),...). Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale. Ces composés présentent une grande diversité de structures, divisées en non flavonoïdes et flavonoïdes. ). (**François N.M., 2010**)

- ❖ **La première** classe est représentée par les acides phénoliques, qui comprennent les acides benzoïques (acide gallique).
- ❖ **La seconde** classe est constituée d'un noyau phénolique porteur d'une chaîne latérale insaturée en C3 (acide caféique).
- ❖ **La dernière** classe est basée sur un squelette en C6-C3-C6 (catéchine), elle comprend plusieurs groupes qui se distinguent par le degré d'oxydation de l'hétérocycle central en C3. (**François N.M., 2010**) ; Par exemple on a les flavonoïdes.

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans

la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques (Stöckigt J *et al.*, 2002).

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (Gàbor M *et al* 1988). On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan -3-oles, les flavylum. (François N.M., 2010)

### II. 3.3. Rôle des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet A *et al.*, 2005). Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères) (François N.M., 2010).

Des exemples des certains mécanisme d'activités biologiques :

#### ❖ Activités des polyphénols sur le métabolisme glucidique

Différentes études ont montré que le diabète sucré est associé à une augmentation de la production des radicaux libres d'une part, et d'une diminution du potentiel antioxydant d'une autre part (Kandouli C., 2018), Les polyphénols pourraient moduler le métabolisme glucidique et présenter des activités antidiabétiques en faisant intervenir différents mécanismes (Solayman *et al.*, 2016) par exemple : inhibition de la dégradation et de l'absorption intestinale des sucres : inhibition *in vitro* l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase (deux enzymes clés de la digestion des carbohydrates) (Tadera *et al.*, 2006). Il a été prouvé aussi que la quercétine glucoside et des acides phénoliques inhiberaient la captation et le transport du glucose au niveau intestinal (Johnston *et al.*, 2005).

### ❖ **Activités des polyphénols sur les radicaux libres (stress oxydatif)**

Ces composés peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'action : soit par capture des radicaux hydroxyles (**Bakchiche B et al., 2014**) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires (**Yang et al., 2012**) ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (**Van Acker et al.1996**)

Les flavonoïdes ont une activité antioxydante. En effet, ils peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition et par inhibition de certaines enzymes responsables de la production des ROS comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (**Bartosikova et al., 2003**).

### ❖ **Activités des polyphénols sur la maladie d'Alzheimer**

Les polyphénols puissent agir en protégeant les neurones vulnérables, en stimulant le fonctionnement neuronal et le flux sanguin ainsi qu'en favorisant la neurogénèse (**Lenoir L., 2011**).

L'apport alimentaire régulier d'aliments riches en flavonoïdes et / ou de boissons a été associée à une réduction de 50% du risque de démence, une préservation des performances cognitives avec l'âge, un retard dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer (**Vauzour D., et al 2010**).

### ❖ **Activités des polyphénols sur les inflammations**

Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (**Lenoir L., 2011**).

Certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 (**Manthey et al., 2000**).

### ❖ **Activités des polyphénols sur les maladies cardiovasculaires**

Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde (**Akroum S., 2010**).

### ❖ **Activités des polyphénols sur les maladies cancérogènes**

Les composés phénoliques peuvent interagir avec la cascade inflammatoire via leur action antioxydante. Cette interaction est principalement liée à leur capacité à éliminer les radicaux libres, prévenant ainsi les dommages cellulaires et rend la cellule moins susceptible à l'oxydation en

réduisant la formation de molécules pro-inflammatoires, et ainsi le développement du cancer (Pauwels., 2011).

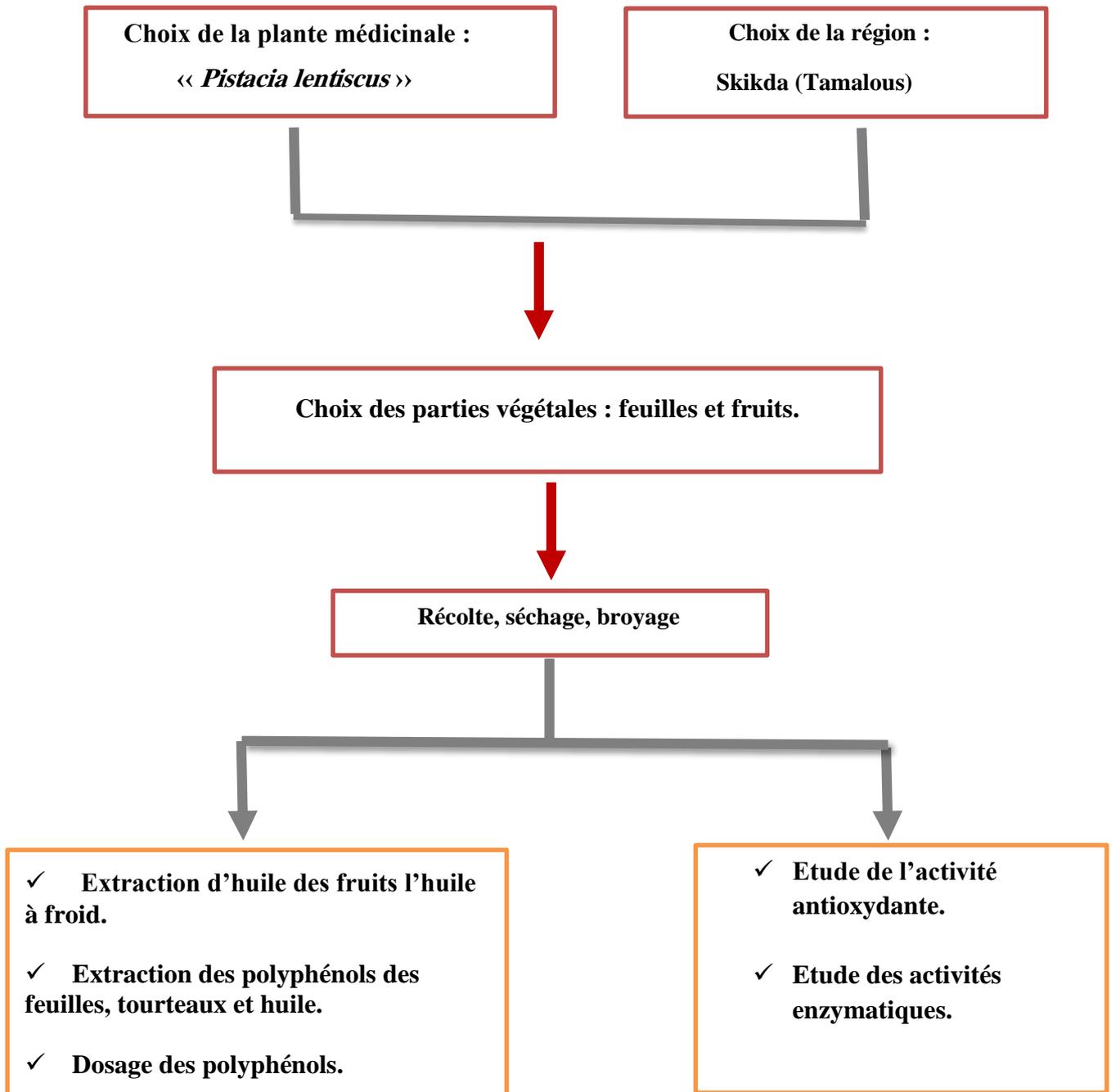


*Matériel*  
*et*  
*méthodes*

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de biochimie (RDC), laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) à l'université Frères Mentouri (Constantine1) et laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologies (CRBt) au cours des deux mois Janvier et Février.

Notre travail a pour objectif l'étude des deux activités antioxydante et enzymatique des extraits des feuilles, fruits et huile végétale de la plante étudié *Pistacia lentiscus*.

Les différentes étapes de ce travail sont résumées au diagramme suivant :



*Pistacia lentiscus* est la plante qui a fait l'objet de la présente étude, le choix a été justifié par le fait que cette espèce soit parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, aussi par le fait qu'il s'agit d'une espèce très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie.

### I.1. Matériel végétal (biologique)

Les feuilles et les fruits du *Pistacia lentiscus* ont été récoltés au mois de Décembre 2019 de la Daïra de Tamalouss, Wilaya de Skikda (Figure 11).



**Figure 11** : Carte géographique de la Daïra de Tamalouss (Skikda). (Google maps)

**Les feuilles** : le séchage a été réalisé en deux étapes, d'abord un pré-séchage à l'air libre afin d'éliminer l'excès d'eau, puis un séchage à l'étuve à 60°C pendant 2 jours. Une fois la plante séchée, les feuilles sont broyées à l'aide d'un moulin à café ensuite tamisées afin d'obtenir une poudre fine. Enfin, cette dernière est conservée dans des bocaux en verre, fermés, étiquetés et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

**Les fruits** : Le choix des fruits a été porté sur des arbustes dont le stade de pigmentation des fruits était semi-noire ou noire tout en évitant le stade vert ou rouge. Ce dernier stade de maturité dite précoce, pourrait influencer le rendement de production d'huile ainsi que sa conservation.

Les fruits ont été lavés à l'eau courante pour éviter d'éventuelles contaminations (en éliminant les fruits moisissus qui flottent sur l'eau), ensuite ils ont été égouttés et séchés dans un endroit aéré à l'abri de la lumière.

## I.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé pour réaliser cette étude est composé de verrerie, d'équipements et d'appareils. Il comprend aussi un ensemble de réactifs et produits chimiques.

## II. Méthodologie

### II.1 Extraction d'huile végétale

Les fruits séchés de *Pistacia lentiscus* ont subi une extraction à froid à l'aide d'une presse à huile (Figure 12) au sein du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) à l'université Frères Mentouri (Constantine 1), afin d'obtenir une huile végétale pure et des tourteaux comme déchets.



**Figure 12 :** Extraction d'huile végétale à l'aide d'une presse à huile.

L'huile obtenue a été stockée dans des bouteilles en verre bien remplies (95% de leur capacité), hermétiquement fermées et gardées à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation. Les tourteaux sont ensuite broyés à l'aide d'un broyeur électrique, tamisés afin d'obtenir une poudre fine et conservés dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

### II.2. Extraction assistée par macération des polyphénols

Des méthodes d'extraction classiques ont été utilisées durant plusieurs années telles que la macération dont l'objectif est de libérer les composés phénoliques et les flavonoïdes de la structure vacuolaire où ils sont trouvés, en rompant le tissu végétal par un processus de diffusion (Wang & Weller., 2008).

La macération consiste à mettre en contact un solide et un liquide et de séparer grâce au liquide un ou plusieurs composés solubles «les solutés» (Boizot et Charpentier., 2006).

La préparation des extraits a été faite au laboratoire de biochimie de l'université Frères Mentouri Constantine1.

### II.2.1. Feuilles du pistachier

L'extraction a été réalisée selon le protocole décrit par (**Diallo *et al.*, 2004**).

50g de la poudre des feuilles ont été mises à macérer dans 250 ml du solvant (méthanol) sous agitation magnétique pendant 24 h à l'abri de lumière pour extraire les principes actifs, ensuite filtré sous vide. Le filtrat est récupéré alors que le précipité subi une deuxième et troisième macération dans les mêmes conditions pour extraire le maximum des principes actifs (polyphénols).

Les trois filtras sont regroupés et évaporées à l'aide du rotavapor à une température de 40°C. L'extrait obtenu est récupéré sous forme d'une pâte dans une boîte de pétri en verre, qui sera placée sous la hotte à l'air libre et à l'abri de lumière pour bien s'assurer que les résidus du solvant vont s'évaporer.

### II.2.2. Tourteaux des fruits

#### ➤ Délipidation

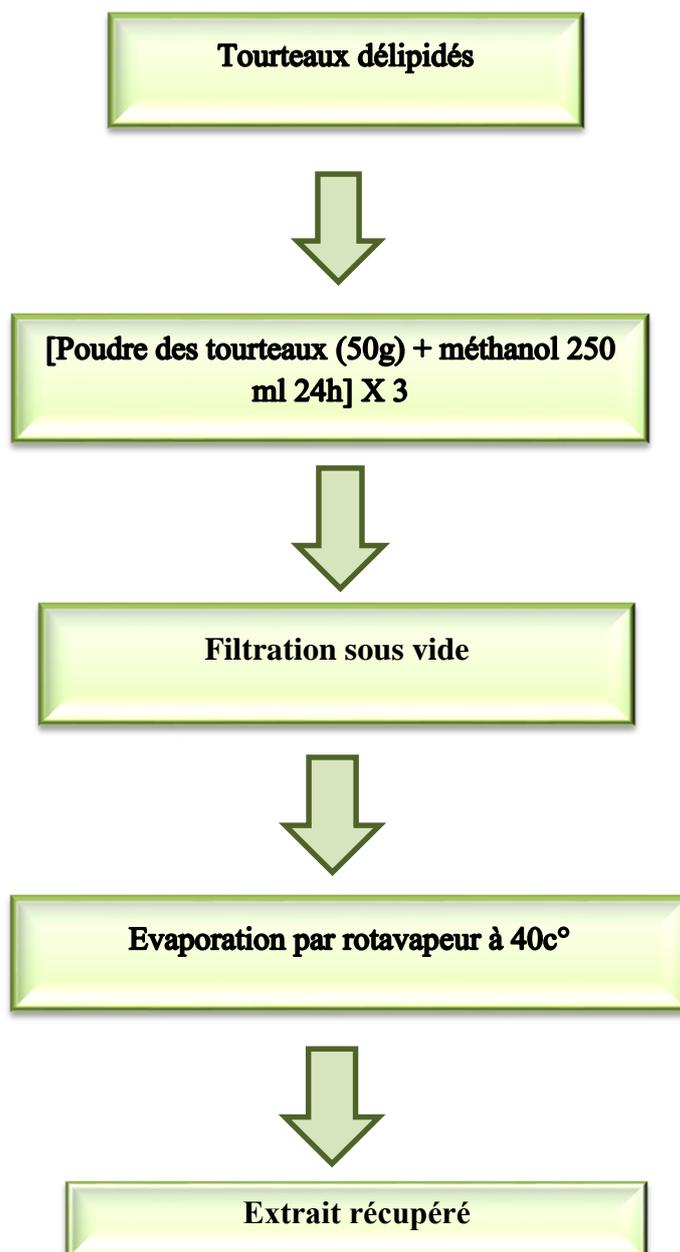
Le but de cette étape est d'éliminer le maximum des lipides contenus dans les tourteaux pour une meilleure extraction des polyphénols.

50g de la poudre des tourteaux a été mise dans 50 ml d'hexane pour un premier lavage, avec une agitation vigoureuse pendant 5min. Le mélange est laissé décanter pendant 10 minutes à l'abri de la lumière, le surnageant est alors débarrassé.

Le culot récupéré subit un deuxième voire un troisième lavage passant par les mêmes étapes. Ensuite le mélange hexane-tourteaux subit une centrifugation de 3000 tours pendant 5 min et le culot est récupérée.

#### ➤ Extraction

La méthode d'extraction des polyphénols des tourteaux est celle décrite par (**Diallo *et al.*, 2004**). Les étapes d'extraction sont résumées à la figure 13.



**Figure 13** : Principales étapes d'extraction des polyphénols.

### II.2.3. Huile végétale

L'extraction des composés phénoliques est réalisée suivant le protocole de **Tsamidou *et al.*, (1992)**.

50g d'huile sont dissout dans 50 ml d'hexane, le mélange est introduit dans une ampoule à décanter ou 30 ml du mélange méthanol-eau (80/20) sont ajoutés. Le tout est agité vigoureusement durant 5 min puis laissé décanter (Figure 14), la phase polaire (phase méthanolique) contenant les composés phénoliques est récupérée et subit un lavage avec 50

ml d'hexane, puis évaporé à l'aide d'un rotavapor, à une température 40C° jusqu'à l'obtention d'un poids d'extrait constant.



**Figure 14** : Décantation des deux phases.

### III. Dosage des antioxydants

Toutes ces étapes du travail ont été réalisées au niveau du laboratoire de biochimie au centre de recherche en biotechnologies de Constantine (CRBt). Toutes ces méthodes ont été effectuées sur une microplaque et leur lecture spectrophotométrique était faite à l'aide d'un lecteur de microplaque.

#### III.1. Dosage des polyphénols totaux

##### a) Principe

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximale aux environs de 750 -765 nm (Muller *et al.*, 2010).

##### b) Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé en suivant la méthode décrite par Muller *et al.*, (2010).

##### ➤ Préparation des extraits de la plante

4mg de chaque extrait (feuilles-tourteaux-huile) sont dissous dans 1ml du solvant (méthanol pour les extraits des feuilles et tourteaux, et le DMSO pour l'huile).

➤ **Procédure**

Dans une microplaque à 96 puits : 20 µl de chaque extrait est déposé + 100 µl de FCR dilué (1/10) + 75µl de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (7.5%). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante puis l'absorbance est mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol).

➤ **Préparation de la gamme d'étalon d'acide gallique**

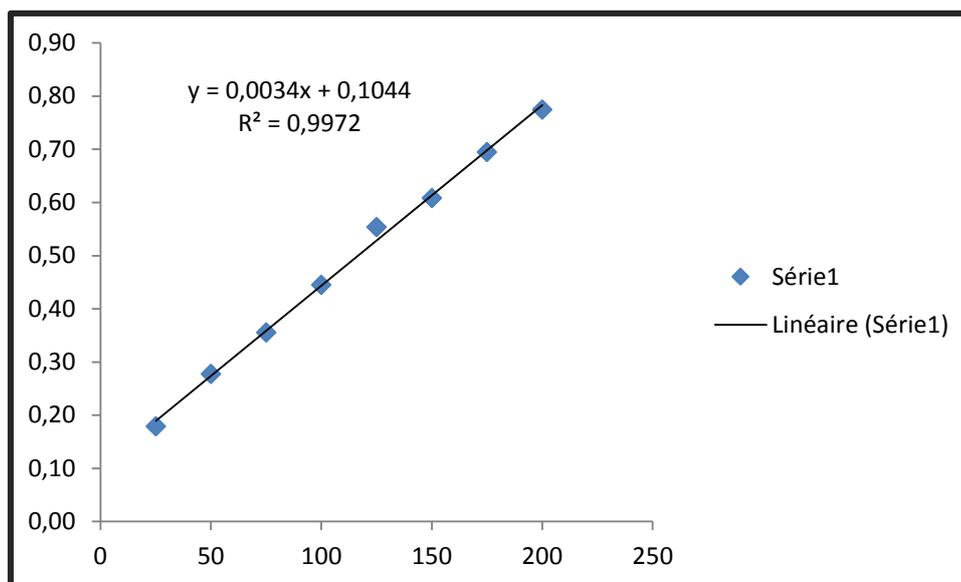
Pour la préparation d'étalon, Une gamme des concentrations est préparée dans le méthanol par la dilution de la solution mère S1, cette dernière est préparée à partir de la dissolution de 0,5 mg d'acide gallique dans 5 ml du méthanol (MeOH), pour obtenir une concentration égale à 200 µg/ml (Tableau 7).

**Tableau 5** : Gamme d'étalon de l'acide gallique.

Concentrations de la solution étalon (l'acide gallique)	Dilutions de la solution S1
25µg/ml	25µl de S1+ 175µl de MeOH
50µg /ml	50µl de S1+ 150µl de MeOH
75µg/ml	75µl de S1+ 125µl de MeOH
100µg/ml	100µl de S1+ 100µlde MeOH
125µg /ml	125µl de S1+ 75µl de MeOH
150µg /ml	150µl de S1+ 50µl de MeOH
175 µg /Ml	175µl de S1+ 25µl de MeOH
200µg /ml	200µl de S1

Dans une microplaque : un volume de 20 µl de chaque dilution est déposés +100 µl du FCR (1/10) + 75µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5%). Suivi par une incubation de la plaque pendant 2 heures. Enfin, la lecture est faite à 765nm.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Figure 15).



**Figure 15** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### III.2. Dosage des flavonoïdes

#### a) Principe

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre l' $Al^{+3}$  et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al., (2007)** est utilisée avec quelques modifications.

#### b) Mode opératoire

##### ➤ Préparation des extraits de la plante

1mg d'extrait (feuilles-tourteaux-huile) est dissous dans 1ml du solvant (méthanol pour les extraits des feuilles et tourteaux, et le DMSO pour l'huile).

##### ➤ Procédure

Dans une microplaque à 96 puits : un volume de 50  $\mu$ l d'extrait est déposé dans chaque puits + 130  $\mu$ l de méthanol (MeOH) + 10  $\mu$ l d'acétate de potassium ( $CH_3COOK$ ) + 10  $\mu$ l de nitrate d'aluminium ( $Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O$ ). L'incubation de la plaque dure 40 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, la lecture est faite à 415nm.

Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 $\mu$ l extrait + 150 $\mu$ l méthanol).

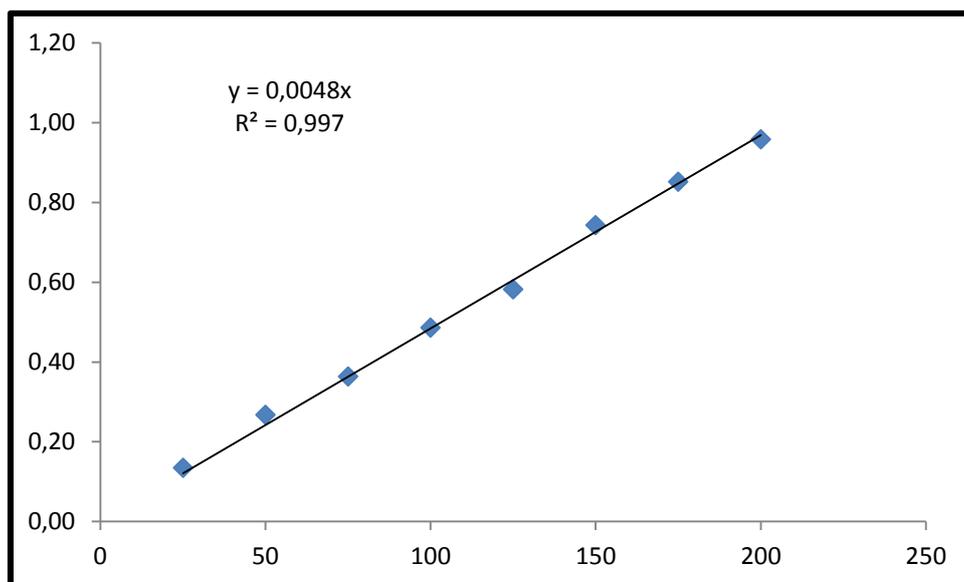
➤ **Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine**

Dans un eppendorf, 1 mg de la quercétine a été dissous dans 5 ml de méthanol pour obtenir une solution mère (S1) d'une concentration égale à 0,2 mg/ml. À partir de cette solution, des dilutions ont été préparées comme indiqué au Tableau 6.

**Tableau 6** : Gamme d'étalon de la quercétine.

Concentrations de la solution étalon (Quercétine)	Dilutions de la solution (S1)
25µg/ml	25µl de S1+ 175µl de MeOH
50µg /ml	50µl de S1+ 150µl de MeOH
75µg/ml	75µl de S1+ 125µl de MeOH
100µg/ml	100µl de S1+ 100µl de MeOH
125µg /ml	125µl de S1+ 75µl de MeOH
150µg /ml	150µl de S1+ 50µl de MeOH
175 µg /ml	175µl de S1+ 25µl de MeOH
200µg /ml	200µl de S1

Après la préparation des dilutions : 50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 µl (MeOH) +10 µl d'acétate de potassium ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) + 10 µl de nitrate d'aluminium ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ). Après une durée de 40 mn la lecture est réalisée à 415 nm. Enfin, une courbe d'étalonnage de la quercétine a été réalisée (Figure 16).



**Figure 16 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

#### **IV. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits**

L'évaluation de l'activité antioxydante d'un produit peut se réaliser selon plusieurs méthodes. Au cours de cette étude nous avons effectué les tests suivants :

##### **IV.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH**

###### **a) Principe**

La DPPH est un radical stable en solution et apparaît de couleur pourpre absorbant à 515 nm dans le méthanol. Ce test est basé sur le principe selon lequel la DPPH accepte un atome d'hydrogène (H) de la molécule piègeuse (antioxydant), entraînant une réduction de la DPPH en DPPH<sub>2</sub> (Figure 17), la couleur pourpre passe au jaune avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515 nm. Le changement de couleur est contrôlé par spectrophotométrie et utilisé pour la détermination des paramètres des propriétés antioxydantes (**Krishnanand *et al.*, 2012**).



### ➤ Préparation du DPPH

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20 C° à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) au spectrophotomètre.

### ➤ Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, 40µl des différentes concentrations des échantillons sont ajoutés à 160 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé par le mélange de 40 µl du méthanol et 160 µl de la solution méthanique de DPPH, après une période d'incubation de 30 min à température ambiante, l'absorbance a été lue à 517 nm. L'α-Tocophérol, BHA et le BHT sont utilisés comme standards antioxydants.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{inhibition (DPPH)} = [(A \text{ Contrôle} - A \text{ Extrait}) / A \text{ Contrôle}] \times 100$$

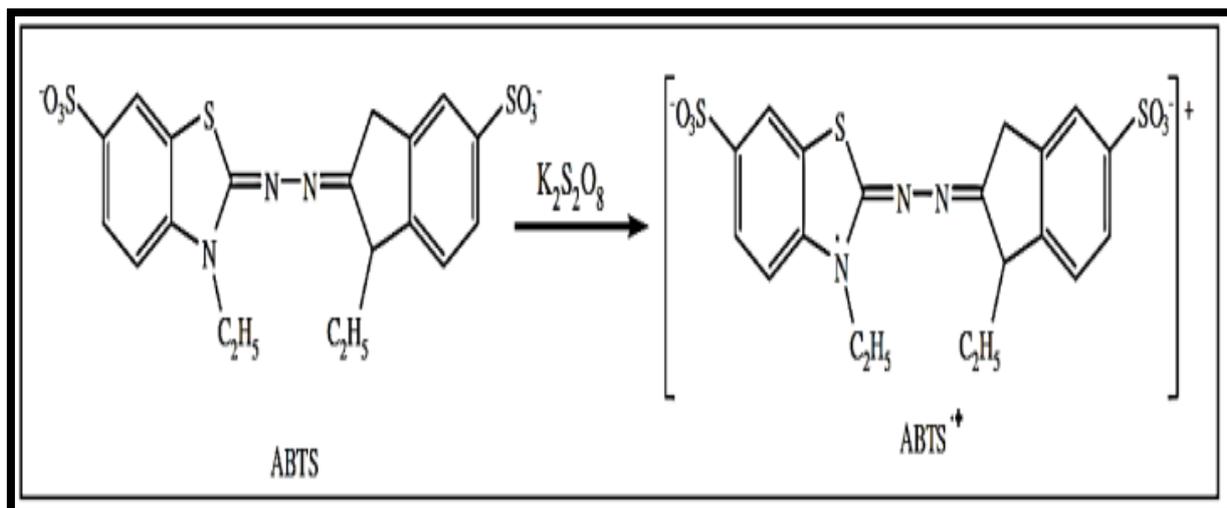
**A contrôle** : l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs / **A extrait** : l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

## IV.2. Test de l'activité ABTS

### a) Principe

Une molécule incolore ABTS réduite, est oxydée en un ABTS•+ de couleur bleu-vert caractéristique. Quand l'ABTS•+ est mélangé avec toute substance qui peut être oxydée, il est à nouveau réduit à sa forme ABTS incolore d'origine, en revanche la substance ayant réagi est oxydée (Figure 18).

Dans certaines études, divers oxydants ont été utilisés pour oxyder les molécules ABTS telles que le persulfate de potassium, MnO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Ozcan., 2004**).



**Figure 18** : Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de l'ABTS+•.

### b) Mode opératoire

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al., (1999)**.

#### ➤ Préparation des échantillons

Les mêmes concentrations et dilutions que le test précédent.

#### ➤ Préparation de la solution d'ABTS

Le radical cation ABTS+ est produit en faisant réagir l'ABTS [19,2 mg (7 mM) de l'ABTS + 5 ml H<sub>2</sub>O] avec du persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) [3,3 mg (2.45 mM)+ 5 ml H<sub>2</sub>O], le mélange est laissé à l'obscurité à température ambiante pendant 12-16h. L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 7.00±0.020 par l'éthanol ou l'H<sub>2</sub>O à 734 nm avant l'usage.

#### ➤ Procédure

160 µl de la solution d'ABTS+ est mélangée avec 40 µl d'extrait à différentes concentrations. Après 10 mn d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm.

Pour le blanc un volume de 40µl de méthanol et 160 µl d'ABTS+ a été mis dans les derniers puits de la plaque. Après 10 minutes à température ambiante ; la microplaque est lue à 734 nm.

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle / Ae : absorbance de l'extrait

### IV.3. Radical galvinoxyl (GOR)

#### a) Principe

Galvinoxyl est un radical stable ayant un pic d'absorption élevé à 428 nm. En présence des composés phénoliques ou d'autres antioxydants, il est réduit par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène en phénol incolore à la place de la couleur jaune (Shi H *et al.*, 2001).

#### b) Mode opératoire

L'activité Galvinoxyl radical (GOR) est déterminée par la méthode décrite par Shi H *et al.*, (2001).

##### ➤ Préparation des échantillons

Les mêmes concentrations et dilutions que le test précédent.

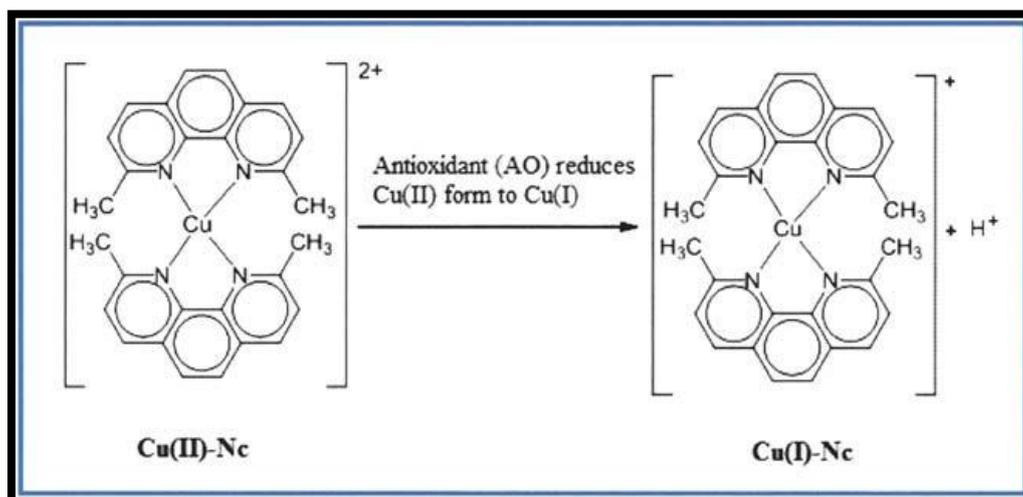
##### ➤ Procédure

Un volume de 40 µl des différentes concentrations de chaque extrait est déposé dans les puits de la microplaque avec 160 µl de la solution de galvinoxyle (4 mg galvinoxyle dans 100ml méthanol), parallèlement un contrôle négatif a été préparé en remplaçant l'extrait par le MeOH. Après l'incubation à température ambiante pendant 120 min, la lecture est réalisée à 428 nm.

### IV.4. La réduction du complexe Cuivre-Neocuproïne (CUPRAC méthode)

#### a) Principe

Le réactif oxydant chromogène utilisé pour le test CUPRAC est le cation bis (néocuproïne) cuivre (II) (Cu (II) -Nc) agissant en tant qu'agent de transfert électronique, et le chromophore CUPRAC, formé par réduction de ce réactif avec des antioxydants, est le cation bis (néocuproïne) cuivre (I) (Cu (I) -Nc) (Figure 19). Ce réactif est utile à pH=7, et l'absorbance du chélate de Cu (I) formé suite à la réaction redox avec des polyphénols réducteurs, des vitamines C et E est mesurée à 450 nm (özyürek *et al.*, 2011).



**Figure 19** : Réduction du complexe chromogène de Cu<sup>2+</sup>-Nc (özyürek *et al.*, 2011).

### b) Mode opératoire

Le Cupric reducing antioxidant capacity est déterminé par la méthode CUPRAC (Apak *et al.*, 2004).

#### ➤ Préparation des échantillons

Les mêmes concentrations et dilutions que le test précédent.

#### ➤ Préparation des solutions

**S1** = 1,927 g Acétate d'ammonium (ACNH<sub>4</sub>) + 25 ml (H<sub>2</sub>O) → transparent (pH=7.0).

**S2** = 0,042625 g (Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O) + 25 ml (H<sub>2</sub>O) → bleu.

**S3** = 0,039 g (Neocupronin) + 25 ml (MeOH).

#### ➤ Procédure

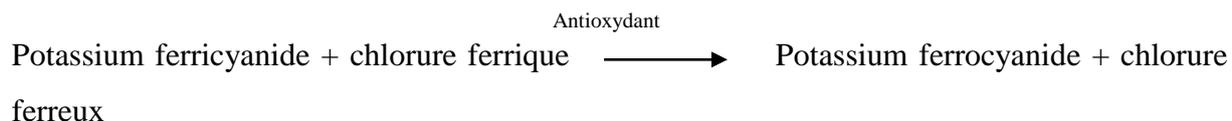
Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 40 µl des extraits à différentes concentrations a été déposé dans les puits, suivi par l'addition de 60 µl d'acétate d'ammonium (S1) + 50 µl de néocuproïne (S3) + 50 µl de (Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O) (S2). Un blanc a été préparé en parallèle, en remplaçant les extraits par le MeOH. Les mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant une heure, l'absorbance a été mesurée à 450 nanomètres.

Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards.

## IV.5. Pouvoir réducteur

### Principe

Les substances qui ont un potentiel de réduction réagissent avec le ferricyanure de potassium ( $\text{Fe}^{3+}$ ) pour former du ferrocyanure de potassium ( $\text{Fe}^{2+}$ ), qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe ferrique-ferreux qui a un maximum d'absorption à 700 nm (Singhal *et al.*, 2011). Selon la réaction suivante :



### Mode opératoire

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode d'Oyaizu., (1986) avec une légère modification.

#### ➤ Préparation des échantillons

4mg des extraits ont été dissous dans 1 ml de méthanol (ou DMSO avec l'extrait d'huile), Une gamme des concentrations est préparée par des dilutions au 1/2 de la solution mère (Tableau 9).

#### ➤ Procédure

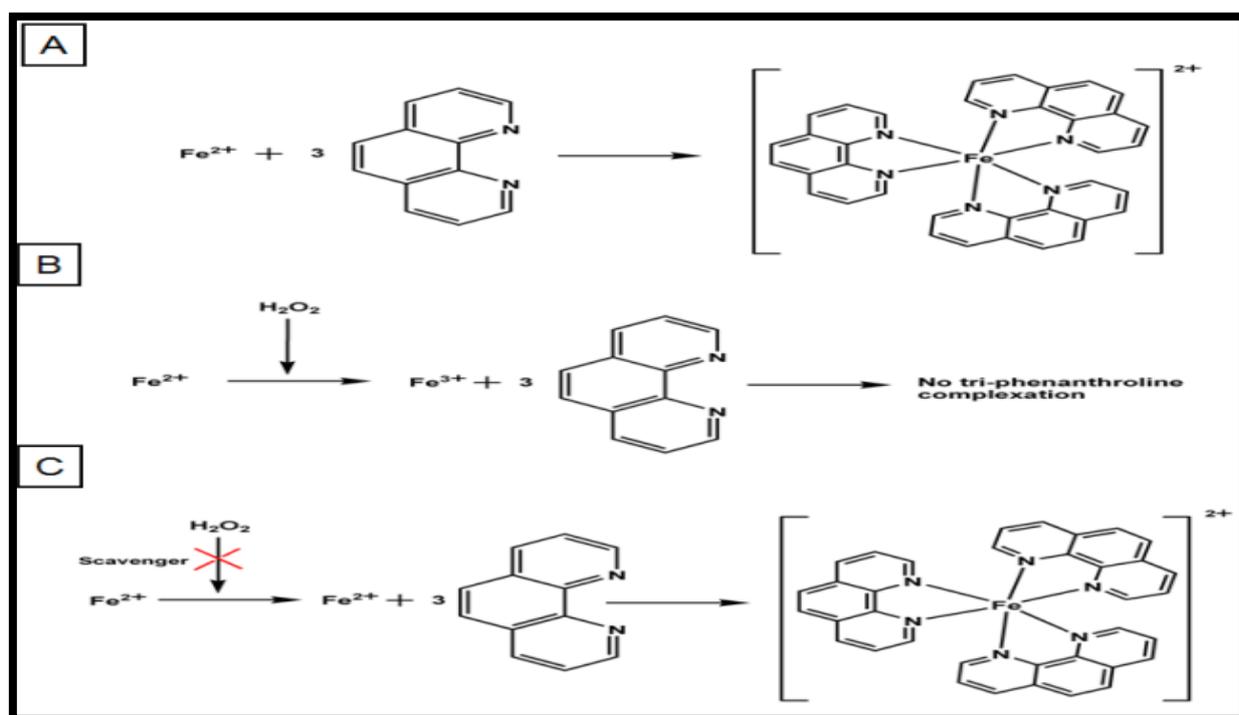
Un mélange constitué de 10  $\mu\text{l}$  d'extrait, 40  $\mu\text{l}$  de la solution tampon phosphate (pH 6.6) et 50  $\mu\text{l}$  de ferricyanure de potassium (1%)  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ , est incubé à 50 C° pendant 20 mn. On y ajoute 50  $\mu\text{l}$  de tri-chloroaceticacide (TCA) à 10%, 40  $\mu\text{l}$  d' $\text{H}_2\text{O}$  et 10  $\mu\text{l}$  de chlorure de fer  $\text{FeCl}_3$  à 0.1%. La lecture est réalisée à 700 nm.

## IV.6. Activité Phénanthroline

### a) Principe

Ce test est basé sur la réaction de l'ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) avec la 1,10-phénanthroline. L'ion ferreux forme spécifiquement un complexe de triphénanthroline rouge-orange qui absorbe au maximum à 508-510 nm.

On sait que si le peroxyde d'hydrogène est ajouté au tube avant l'ajout de 1,10-phénanthroline, alors  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxydera l'ion ferreux en ion ferrique qui est incapable de former un complexe rouge-orange avec la 1,10-phénanthroline (Figure 20) (Debanjan *et al.*, 2016).



**Figure 20 :** Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants (Debanjan *et al.*, 2016).

### b) Mode opératoire

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka., (2008).**

### ➤ Préparation des échantillons

Les mêmes concentrations et dilutions que le test précédent.

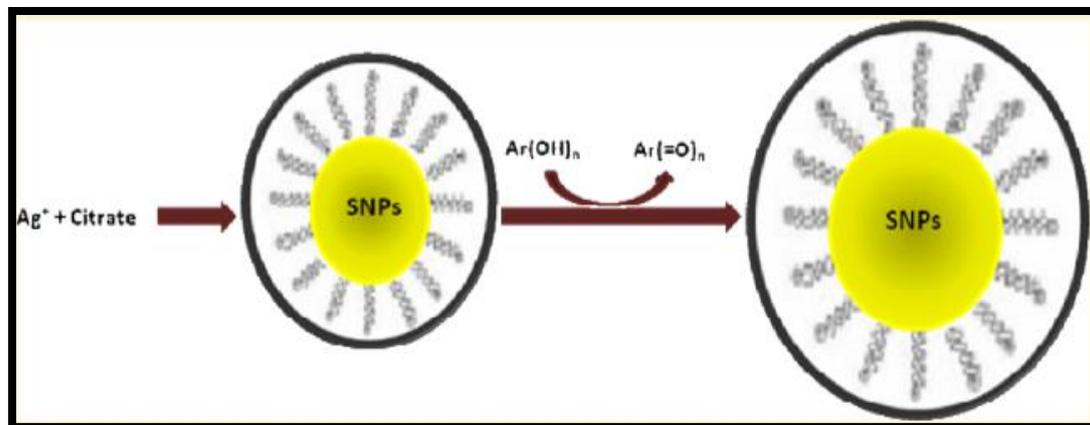
### ➤ Procédure

Un volume 10  $\mu\text{l}$  d'extrait a été ajouté à 50  $\mu\text{l}$  de chlorure ferrique  $\text{FeCl}_3$  (0.2%) et 30  $\mu\text{l}$  de phénanthroline (0.5%) puis 110  $\mu\text{l}$  de MeOH. Après une incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

## IV.7. Activité Silver nanoparticule (SNP)

### a) Principe

Une méthode colorimétrique sensible pour la détection des polyphénols basée sur la réduction des ions  $\text{Ag}^+$  par les polyphénols en présence de graines d'argent stabilisées au citrate. La couleur de la suspension stable a été contrôlée en faisant varier la concentration de citrate trisodique, de nitrate d'argent et de graines d'argent. La réduction d' $\text{Ag}^+$  en nanoparticules d'argent sphériques (SNP) par les polyphénols produit une bande d'absorption de SNP très intense à 423 nm (Figure 21) (Özyürek M *et al.*, 2012).



**Figure 21 :** Réduction d' $\text{Ag}^+$  par les polyphénols. (Özyürek M *et al.*, 2012).

### b) Mode opératoire

#### ➤ Préparation des échantillons

Les mêmes concentrations et dilutions que le test précédent.

➤ **Préparation de la solution SNP**

50 ml d'AgNO<sub>3</sub> (1.0 mM) : (0.170 g + 100 ml H<sub>2</sub>O) sont chauffés pendant 10 min puis 5 ml du trisodium de citrate (1%) sont ajoutés goutte à goutte jusqu'à le changement de la couleur vers le jaune pâle, ensuite la solution est laissée à température ambiante pour refroidissement.

➤ **Procédure**

Un volume de 130 µl de solution SNP et 50 µl de H<sub>2</sub>O ont été déposés successivement dans une microplaque à 96 puits contenant 20µl des différentes concentrations de chaque solution d'extrait. Une incubation est réalisée à l'obscurité à une température de 25°C pendant 30 min suivi d'une lecture à 423 nm.

Le Trolox a été utilisé comme standard.

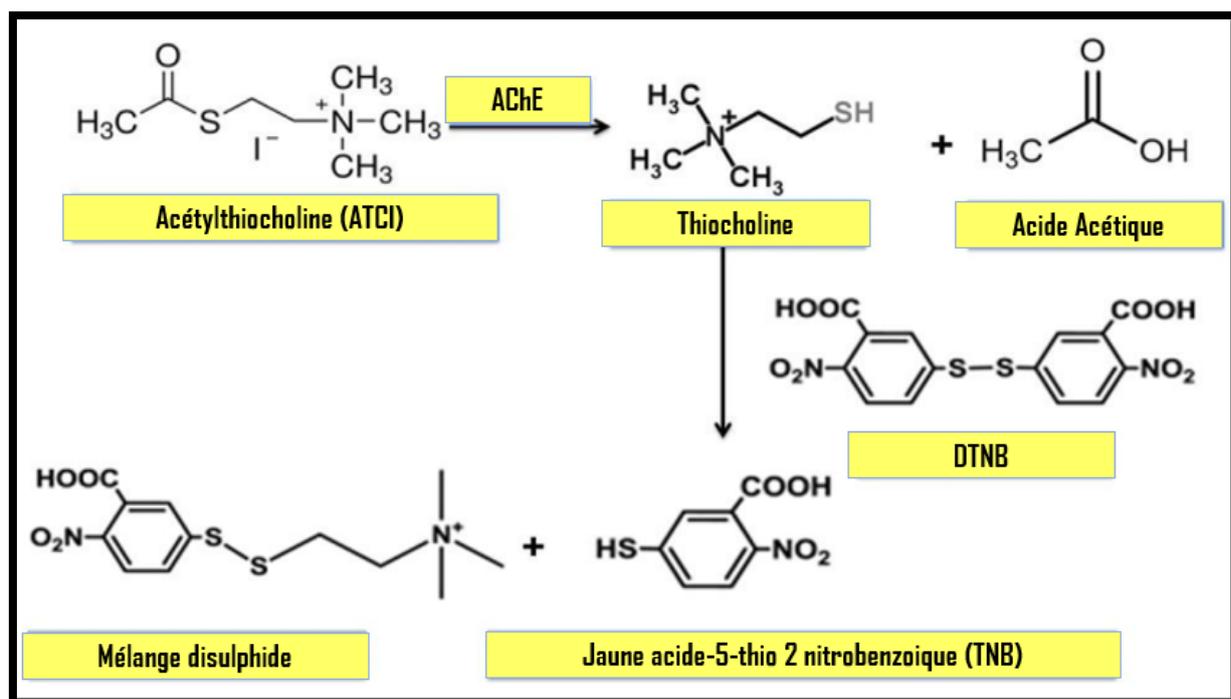
## **V. Evaluation de l'activité enzymatique**

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire biochimie du centre de la recherche en biotechnologies de Constantine (CRBt).

### **V.1. Activité anti cholinestérase**

#### **a) Principe**

Le test d'Ellman est basé sur le clivage de l'acétylthiocholine par l'AChE pour produire de la thiocholine. Cette dernière va réagir avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion de couleur jaune (**Ellman et al., 1961**) (Figure 22). En présence d'un inhibiteur enzymatique, cette réaction permet d'étudier les paramètres cinétiques et par la suite de quantifier l'inhibition exprimée par son IC<sub>50</sub> (concentration diminuant l'activité enzymatique de moitié) (**Ghnimi., 2015**). Les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer la métabolisation d'ATCI et diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer.



**Figure 22** : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman (Ali-Shtayeh *et al.*, 2014).

#### b) Mode opératoire

L'activité est déterminée par la méthode d'Ellman *et al.*, (1961).

##### ➤ Préparation d'échantillon

Quatre milligrammes de chaque extrait ont été dissous dans 1 ml de méthanol pour préparer la solution mère ensuite, une gamme des concentrations (Tableau 9) est préparée par des dilutions au 1/2 de la solution mère.

##### ➤ Procédure

150  $\mu\text{L}$  du tampon phosphate de sodium (pH 8.0) ont été ajoutés à 10  $\mu\text{L}$  des extraits à différentes concentrations, suivi par 20  $\mu\text{L}$  d'AChE, après une incubation à 25°C pendant 15 min ; 10  $\mu\text{L}$  de DTNB (0.5 mM) et 10  $\mu\text{L}$  d'acétylthiocholine iodide ont été ajoutés au mélange. Un témoin négatif est préparé en parallèle.

La lecture est faite à  $t_0 = 0$  min et  $t_1 = 15$  min à 412 nm.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE est déterminé par rapport au blanc par la formule :

$$\frac{(E - S)}{E} * 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait / S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

Le Galantamine est utilisé comme référence.

## V.2. Activité inhibitrice de l'alpha amylase (anti diabétique)

### a) Principe

Pendant longtemps, des produits naturels à base de plantes ont été utilisés pour le traitement du diabète. Il a été signalé que les aliments végétaux riches en polyphénols provoquent des effets similaires à l'insuline dans l'utilisation du glucose et agissent comme inhibiteurs d'enzymes clés comme l'alpha amylase et l'alpha glucosidase associées au diabète de type 2 et à la peroxydation lipidique dans les tissus (**Sindhu S. Nair et al., 2013**).

La méthode Caraway iode / iodure de potassium (IKI) a été appliquée avec de légères modifications pour déterminer la quantité d'amidon hydrolysé (absorbance à 620 nm) (**Xiao-Wei et al., 2012**).

### b) Mode opératoire

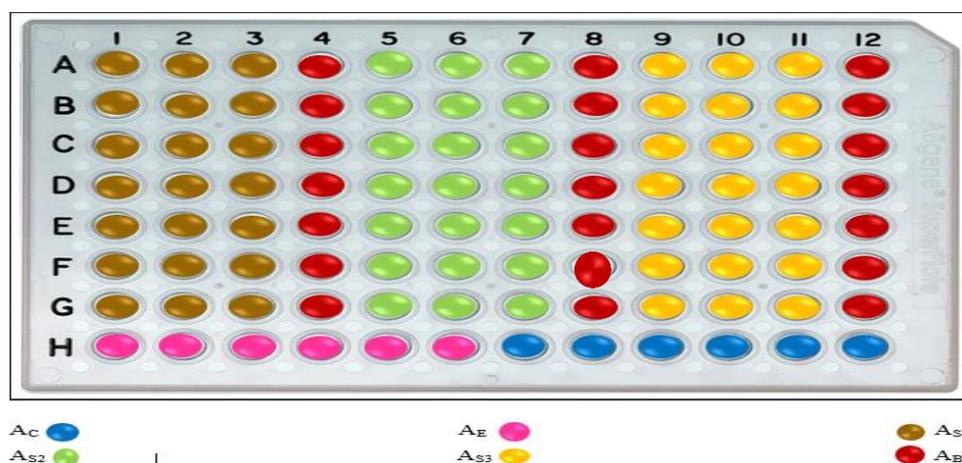
L'activité inhibitrice de l'alpha amylase des extraits a été déterminée par la méthode réalisée par **Zengin et al., (2014)**.

#### ➤ Préparation des échantillons

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits (Tableau 9).

#### ➤ Procédure :

Une microplaque de 96 puits est divisée en Cinq sections (Figure 23), elle a été remplie en respectant les instructions suivantes :



**Figure 23 :** microplaque représente les instructions respectant

Dans les puits ( $A_{S1}$ ,  $A_{S2}$ ,  $A_{S3}$ ) de la microplaque (Figure 23) : 25 $\mu$ L de chaque concentration des extraits ont été déposés, ensuite 50 $\mu$ l de la solution d'enzyme (alpha amylase) ont été additionnés. Après une incubation à 37 °C pendant 10 min ; 50  $\mu$ l d'amidon (0.1%) ont été ajoutés. Une deuxième incubation est effectuée à 37 °C pendant 20 min, ensuite des volumes de 25  $\mu$ l de HCl et 100  $\mu$ l de la solution IKI (3 g d'iodure de potassium dissoute dans 100 ml d'eau auquel a été ajouté 127 mg d'iode) ont été additionnés. La lecture est faite à la longueur d'onde 630 nm.

Dans les puits ( $A_B$ ) : 25 $\mu$ L de chaque concentration des extraits ont été déposés suivi par l'addition de 125 $\mu$ l de la solution tampon, 100  $\mu$ l d'IKI ont été ajoutés. La lecture est faite à la longueur d'onde 630 nm.

Dans les puits ( $A_C$ ) : 50  $\mu$ l de tampon ont été transférés suivi par l'addition de 25  $\mu$ l de méthanol. Après une période d'incubation de 10 min dans une étuve à 37°C, 50 $\mu$ l d'amidon ont été déposés et après 20 min d'incubation à 37 °C ; 25  $\mu$ l HCl et 100  $\mu$ l IKI ont été ajoutés. La lecture est faite à la longueur d'onde 630 nm.

Dans les puits ( $A_E$ ) : 50  $\mu$ l de l'enzyme ont été transférés suivi par l'addition de 25  $\mu$ l de méthanol. Après une période d'incubation de 10 min dans une étuve à 37°C, 50 $\mu$ l d'amidon ont été déposés et après 20 min d'incubation à 37 °C 25  $\mu$ l HCl et 100  $\mu$ l IKI ont été ajoutés. La lecture est faite à la longueur d'onde 630 nm.

Le pourcentage d'inhibition :

$$\%INH = 1 - [(A_C - A_E) - (A_S - A_B)] / (A_C - A_E)$$

$A_C$  = Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

$A_E$  = Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

$A_S$  = Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

$A_B$  = Absorbance [Extrait+IKI+125 $\mu$ l de tampon]



*Résultats*  
*et*  
*discussion*

## I. Extraction et quantification des antioxydants

### I.1. Extraction des composés phénoliques

#### ➤ Huile

L'extraction des polyphénols contenus dans l'huile étudiée, a été réalisée avec deux solvants, l'hexane et le méthanol. D'après les revues de la littérature ; la solubilité des composés phénoliques dépend de la polarité du solvant utilisé, c'est pour cela que nous avons opté pour le méthanol étant plus polaire par rapport à l'éthanol, l'acétone ...etc. qui présentent une faible affinité vis-à-vis de ces substances (**Denis O., 2004**). Après avoir libéré les polyphénols, l'hexane permet la bonne séparation des deux phases non miscibles ; une phase hexanique, renferme tout ce qui est lipidique et une phase, méthanoïque, renferme les polyphénols extraits de l'huile (**Djaouzi S., 2012**).

#### ➤ Feuilles et tourteaux

Nous avons utilisé le méthanol car il est un solvant polaire et les polyphénols sont généralement solubles dans ces solvants (**Macheix et al., 2005**).

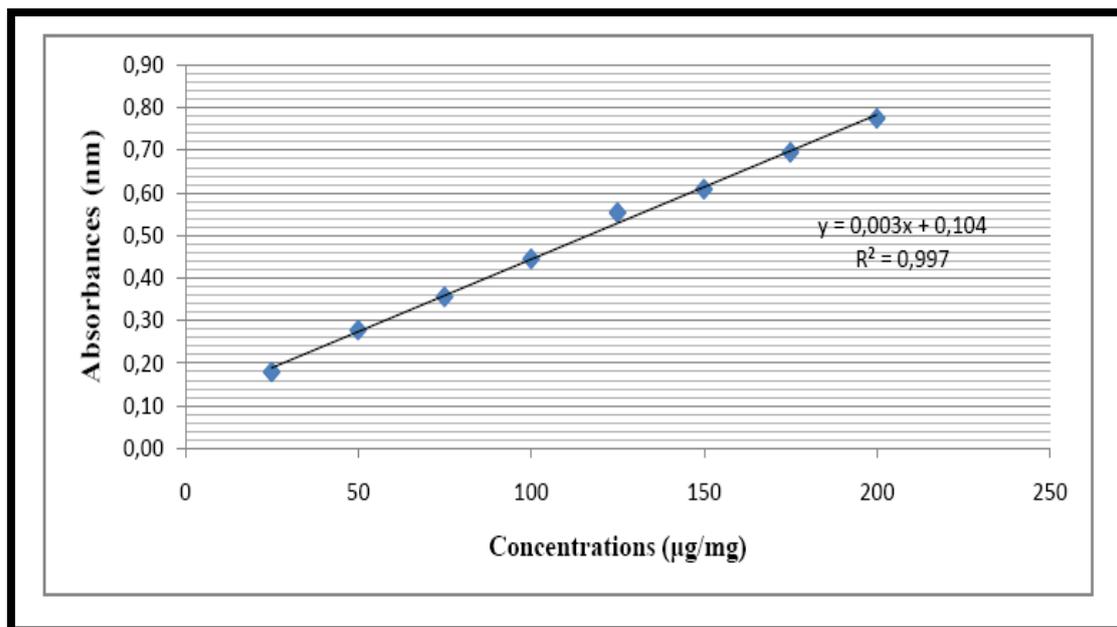
## II. Analyse quantitative des composés phénoliques

### II.1. Quantification des polyphénols totaux (TPC)

Le choix de quantifier les polyphénols parmi les différentes substances phytochimiques, résulte du fait que les polyphénols ont des activités biologiques très importantes. De même pour les flavonoïdes qui sont considérés comme la classe la plus importante des polyphénols.

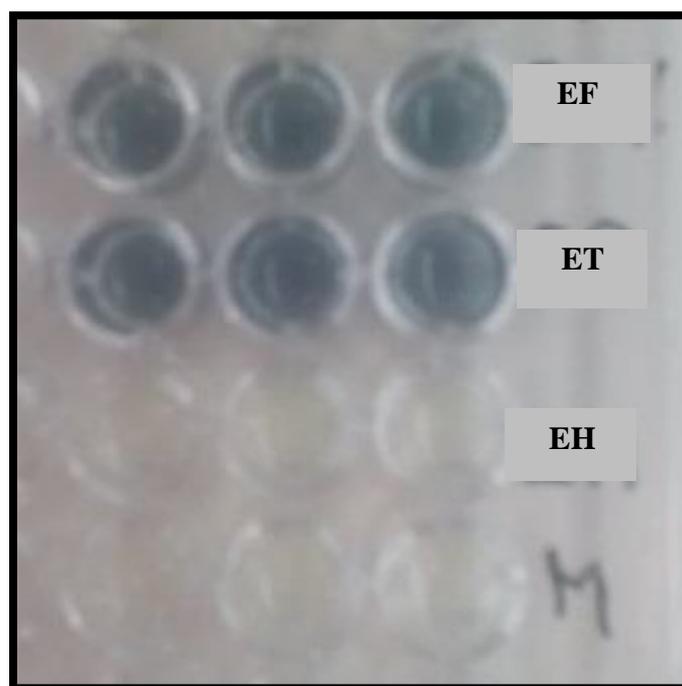
Les flavonoïdes et les acides phénoliques sont classés comme des antioxydants mixtes (**Romalho et al., 2006**), car ils sont capables de donner des protons aux radicaux libres, et sont encore capables d'empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), soit par l'inhibition des facteurs impliqués dans ce processus, ou par chélation des traces métalliques impliquées dans leur production (**Agatia et al., 2012**).

Le taux des polyphénols totaux est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage (Figure 24), cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg/g) (**François NM., 2010**). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,997$ .



**Figure 24 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats de dosage des polyphénols dans les feuilles, les tourteaux et l'huile fixe de *Pistacia lentiscus* sont résumés dans la Figure 25 et le Tableau 9.



**Figure 25 :** Profil de la microplaque du dosage des polyphénols totaux.

**Tableau 9** : Taux des polyphénols totaux des extraits.

Extraits	Polyphénols totaux (mg/g d'extrait)
<b>Extrait des feuilles (EF)</b>	155,27mg/ml±5,59
<b>Extrait des tourteaux (ET)</b>	150,17±2,35
<b>Extrait d'huiles (EH)</b>	NA*

\*NA : non absorbance.

D'après le Tableau 11, on remarque l'existence d'une forte teneur en polyphénols totaux pour les extraits des feuilles (155,27±5,59 mg/ g d'extrait) et les tourteaux (150,17±2,35mg/ g d'extrait) du *P. lentiscus*. L'extrait d'huile de *P. lentiscus* a enregistré un manque de la teneur en composés phénoliques.

Le résultat de la teneur des feuilles en composés phénoliques est comparable à celle d'une étude réalisée par l'équipe de **Berboucha et al., (2010)**, les auteurs ont réalisé une étude sur l'extrait éthanoïque des feuilles de *P. lentiscus* et ils ont enregistré une teneur en phénols totaux de 136,25±18,97 mg/g d'extrait. Par ailleurs, **Rahmani et al., (2015)** ont noté une valeur supérieure à celle de notre étude (292,67±7,29 mg/ g d'extrait) d'extrait éthanoïque des feuilles récoltées à la commune de Sidi aiche (Bejaïa). Aussi une étude menée par **Zitouni A., en 2017** a enregistré de forte teneur en polyphénols lors d'une étude réalisée sur un extrait méthanoïque de feuilles récoltées à Tlemcen (216. 289 ± 20. 62 mg/ g).

Cette différence des résultats en teneur des polyphénols peut être due au biotope de la plante ouest ou est d'Algérie, les variations interspécifiques, et/ou le stade de la récolte (fruits noirs ou rouges), la durée de stockage de ce fruit avant trituration et/ou les étapes d'extraction des composés phénolique et le matériel employé (**Arab K., 2014 ; Laribi., 2015**):

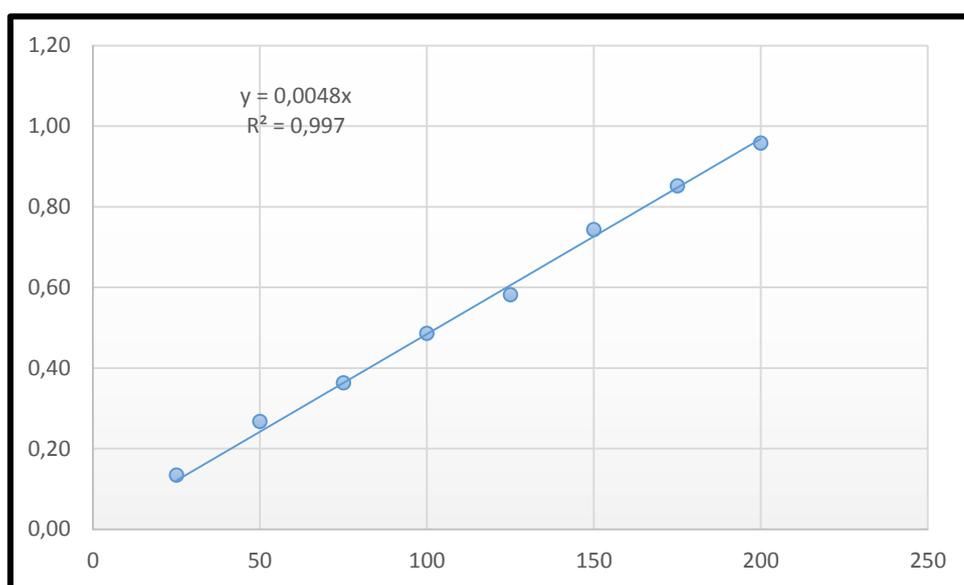
Aussi peut être due à l'alcool utilisée dans l'extraction par ce que la polarité du solvant d'extraction et aux propriétés des polyphénols qui sont généralement solubles dans les solvants polaires (éthanol) et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (chloroforme et hexane) (**Macheix et al., 2005**)

Les résultats présentés au tableau 11 et la figure 25 montrent un manque de la teneur en polyphénols totaux. Une faible quantité en polyphénols a été remarqué par **Bensaci M et al., (2015)**, avec une valeur de 1,80 ± 0,23 mg/ g , de même **Bouyahya et al., 2018** ont obtenu une faible quantité de polyphénols (22.61 ± 1.42 mg/ g) sur des extraits d'huile de la région Zarka (Maroc).

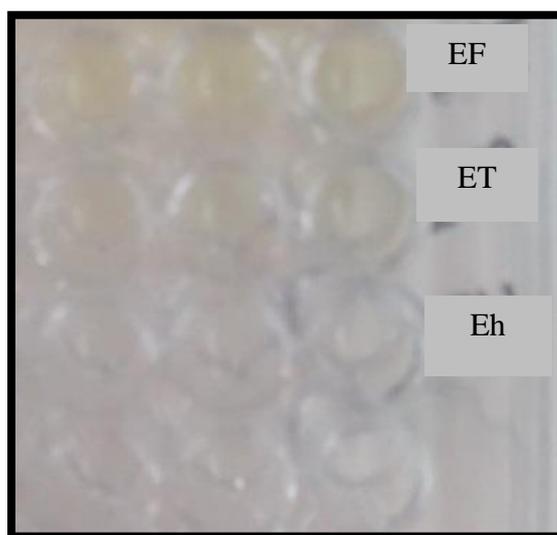
## II.2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium, basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium, ayant une absorbance maximale à 430 nm.

Le taux des flavonoïdes est calculé à partir de la gamme d'étalonnage de la quercétine et est exprimée en mg équivalent de quercétine par g d'extrait (mg/g) (Figure26). La formule de la régression linéaire de cette courbe est de  $y=0,0048x$  avec un coefficient de détermination  $R^2$  égal à 0,997.



**Figure26** : Courbe d'étalonnage de la quercétine.



**Figure 27** : Profil de la microplaque de dosage des flavonoïdes totaux.

La couleur jaune produite indique la présence des flavonoïdes dans le mélange réactionnel.

L'analyse de la figure 27 montre la présence des flavonoïdes dans les deux extraits (EF, ET), alors que l'extrait d'huile (EH) est pauvre en flavonoïdes.

Les extraits ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre (lecteur de microplaque). Les valeurs exprimées représentent la moyenne des trois répétitions. Les contenus en flavonoïdes sont calculés et représentés dans le tableau 10 ci-dessous :

**Tableau 10:** Résultats du dosage des Flavonoïdes

Extraits	Taux de Flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait)
<b>Feuilles</b>	91,73611±1,33
<b>Tourteaux</b>	65,97±3,98
<b>Huile</b>	NA

NA : non absorbance.

D'après les résultats du tableau 12, le taux des flavonoïdes le plus élevé a été détecté dans l'extrait des feuilles (EF) avec une valeur de  $91,73 \pm 1,33$  mg /g d'extrait, suivi par l'extrait des tourteaux (ET) avec une valeur de  $65,97 \pm 3,98$  mg/g d'extrait.

L'extrait d'huile (EH) est pauvre et n'a montré aucune trace des flavonoïdes.

La valeur de la teneur en flavonoïdes des feuilles reste largement supérieure à ceux trouvés par **Cheurfa et Allem., (2015)**, ( $3.107 \pm 0.014$  et  $8.218 \pm 0.009$  mg /g pour les extraits aqueux et éthanoïque respectivement) des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Et il est aussi supérieur à celui de **Djebari et al., (2020)** et **Cherbal et al., (2012)** ayant trouvé des valeurs de ( $12.6 \pm 4.1$  mg /g) et ( $38.7 \pm 0.02 009$  mg/g) pour l'extrait méthanoïque des feuilles de la même espèce.

Les résultats des études réalisés par **Bouyahya et al., (2018)** et **Chouaibi et al., (2016)** montrent de faibles teneurs en flavonoïdes pour les extraits d'huile des fruits du *P. Lentiscus* avec des valeurs de  $13.76 \pm 0.58$  mg EQ/g et  $3.69$  mg/g des respectivement. Ces résultats s'accordent avec celui de la présente étude.

Pour les tourteaux ; aucune étude n'a estimé la teneur en flavonoïdes ; ce qui nous empêche de comparer notre résultat.

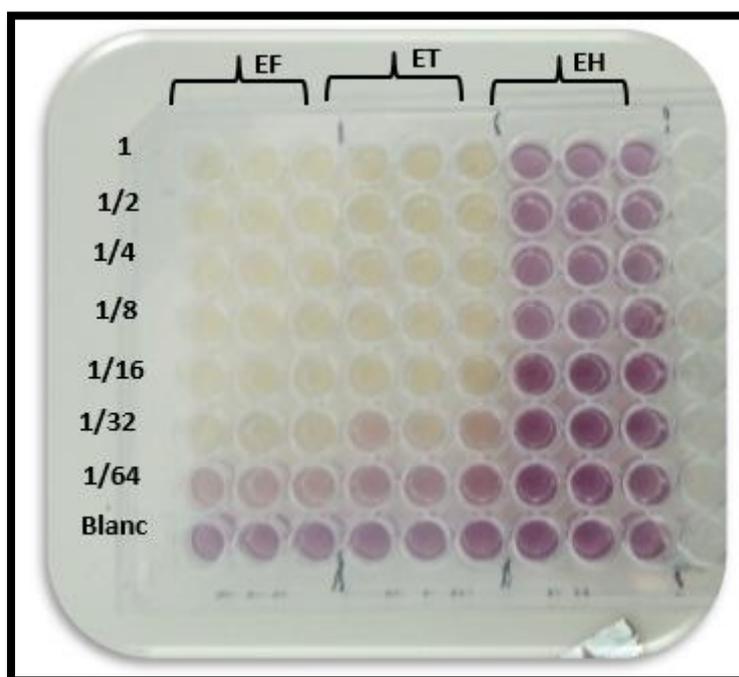
### III. Evaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes utilisées pour déterminer l'activité antioxydante d'un échantillon. Dans cette étude, les propriétés antioxydantes des extraits méthanoïques des feuilles, tourteaux et huile fixe de la plante *Pistacia lentiscus* ont été déterminées par les sept méthodes suivantes : Le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du radical-cation ABTS, la réduction du radical Galvinoxyl(GOR), le test du pouvoir réducteur, le test du phénanthroline, le test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) et le test SNP (silver nanoparticules).

#### III.1. Test DPPH radical libre

Le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule (Hartmann T., 2007).

La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Figure 28) (Epifano F *et al.*, 2007).



**Figure 28** : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti radicalaire DPPH.

#### Détermination des IC<sub>50</sub> des extraits

La mesure du potentiel antioxydant est réalisée en déterminant les produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels. Le

premier mode, plus ancien, nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation. En effet ces méthodes recherchent certains groupements fonctionnels (aldéhydes, cétones, dicarbonylés...) dans les dérivés des constituants d'origine. Le second relie la quantité de radicaux piégés à celle d'antioxydant utilisé (**François NM., 2010**).

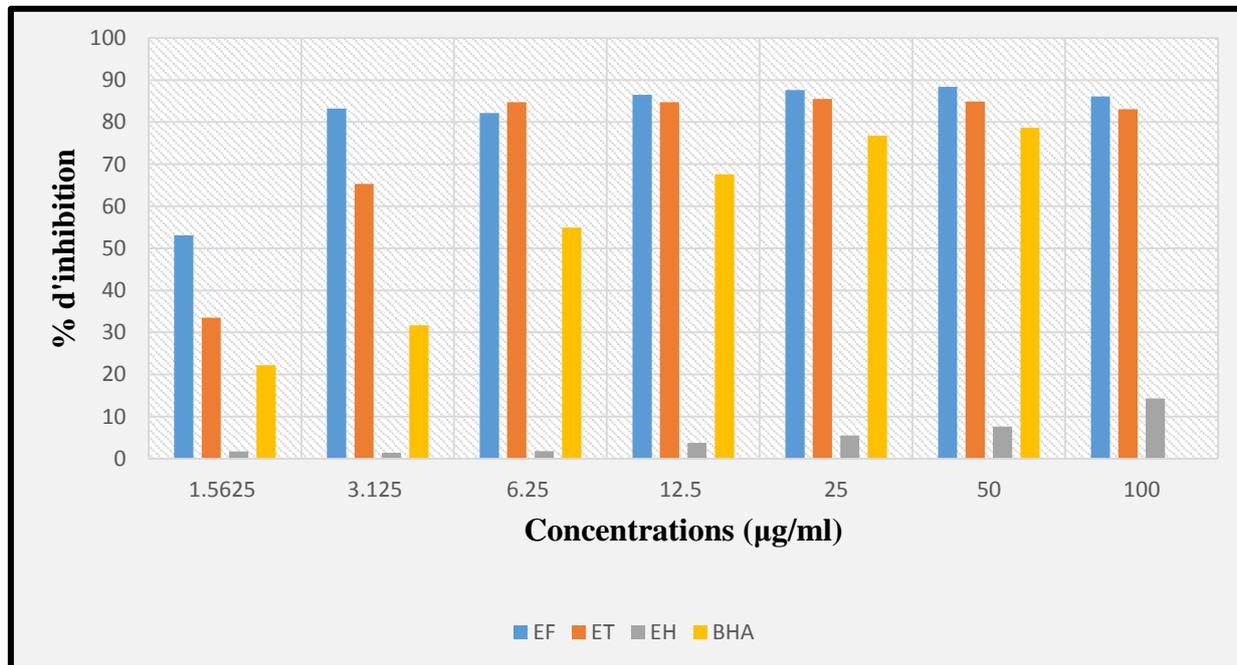
Nous avons choisi parmi de nombreux modes d'expression de cette mesure d'utiliser le pourcentage d'inhibition et l'IC<sub>50</sub> :

Le pourcentage d'inhibition est l'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres (**François NM., 2010**)

L'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50% (**Laib I et al., 2011**).

La valeur d'IC<sub>50</sub> exprimée en µg/ml a été déterminée graphiquement en utilisant le logiciel « GraphPad prisme 6 » à partir des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque échantillon testé.

Les résultats de pouvoir antiradicalaire exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• et en IC<sub>50</sub>, sont présentés au tableau 11 et la figures 29.



**Figure 29** : Histogramme représentant pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits et standard.

**Tableau 11** : Activité de pouvoir réducteur de DPPH des extraits exprimée en IC<sub>50</sub>.

Extraits méthanoïques et les standards	IC <sub>50</sub> µg/ml
EF	1,4±0.13
ET	2,54±0,26
EH	NA
BHA	5.73±0.41

L'étude a montré que les extraits méthanoïques des feuilles et des tourteaux étudiés possèdent un pouvoir antioxydant assez important. Ce pouvoir est confirmé par des valeurs d'IC<sub>50</sub> faibles (IC<sub>50</sub>= 1,4±0.13µg/ml pour les feuilles et 2,54±0,26 µg/ml pour les tourteaux) et des pourcentages d'inhibition importants. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> de ces deux extraits sont inférieures à celle du standard BHA (IC<sub>50</sub> est 5.73±0.41).

Pour l'extrait d'huile (EH) aucune activité antioxydante n'est observée.

Lors d'une étude menée par **Zitouni A., en 2017** ; Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH• des extraits de feuilles étaient assez faibles par rapport à nos résultats. Cet auteur a noté pour une concentration égale à 200 µg/ml et un pourcentage d'inhibition égale à 62,5% et 60% pour des extraits butanolique et d'acétate d'éthyle respectivement. Cependant l'extrait de notre étude a montré un pourcentage de 86,10% avec seulement 100µg/ml d'extrait méthanoïque de *P. lentiscus*.

Une étude de **Ghayth R et al., (2016)** sur les feuilles de *Pistacia atlantica* ; a montré une valeur d'IC<sub>50</sub> supérieure à notre résultat pour les deux extraits éthanoïque (32 ± 0.01 µg/ml) et l'extrait aqueux (200 ± 0.00 µg/ml).

En Pakistan **Farah N et al., (2017)** ont démontré des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 39.4 ± 1.7 et 54.4 ± 0.8µg/ml pour les extraits éthanoïque et méthanoïque respectivement des feuilles de *Pistacia chinensis*.

Tous ces résultats d'études de chercheurs prouvent que notre extrait des feuilles est beaucoup plus actif. Cette variabilité des résultats peut être attribué à la variabilité des espèces du *Pistacia*, en effet il a été démontré que les activités antioxydantes sont plus variables dans les espèces de la plante (inter-espèce) que dans la même espèces (intra-espèce) (**Ksouri et al., 2008**).

Aussi il a été suggéré que la polarité du solvant et la nature phénolique des plantes influencent l'estimation de l'activité antioxydante (**Ben ammar et al., 2010**). En effet **Fethi T et leurs collaborateurs en 2016** ont prouvé qu'une forte concentration de composés

phénoliques pourraient jouer un rôle majeur dans l'élimination des radicaux libres. Et il a été confirmé et rapporté dans plusieurs études que les composés phénoliques sont de puissants donateurs d'hydrogène possédant un radical DPPH élevée activité de nettoyage.

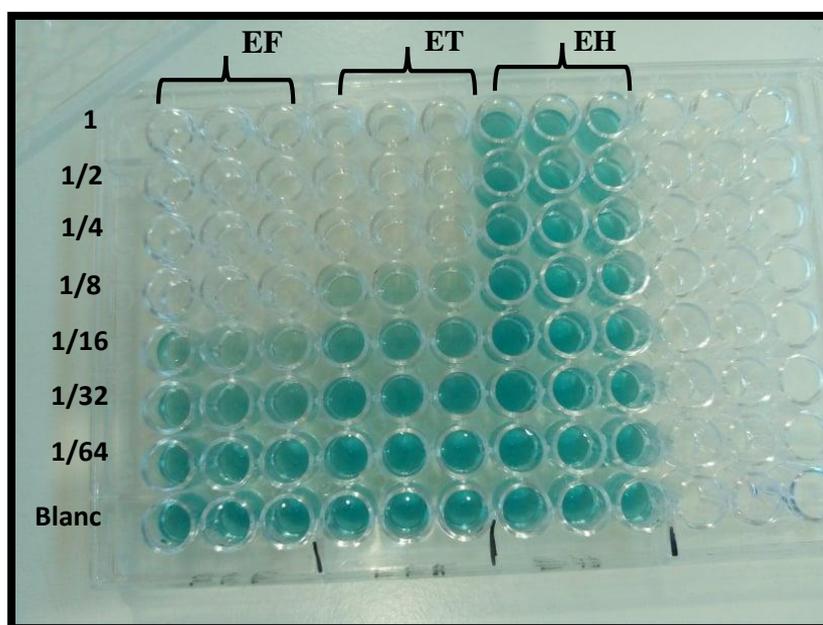
La présente étude a montré que l'extrait d'huile a montré un faible pouvoir de réduction du radical libre DPPH, ceci a été confirmé par **Bensaci M et al., 2015** qui ont démontré une grande valeur d'IC<sub>50</sub> (304379 µg/ml) pour un extrait d'huile de *P. lentiscus* récoltés en décembre 2014, dans la région du Chétaibi de la wilaya d'Annaba.

Cependant **Bouyahya A et al., en 2018** ont obtenu une IC<sub>50</sub> de 37.38 µg/ml pour l'extrait huile végétale issue de les fruits de *P. lentiscus* récoltée au Maroc. Ceci confirme la présence d'une activité de piégeage du radical libre du DPPH.

### III.2. Test par piégeage du radical ABTS+•

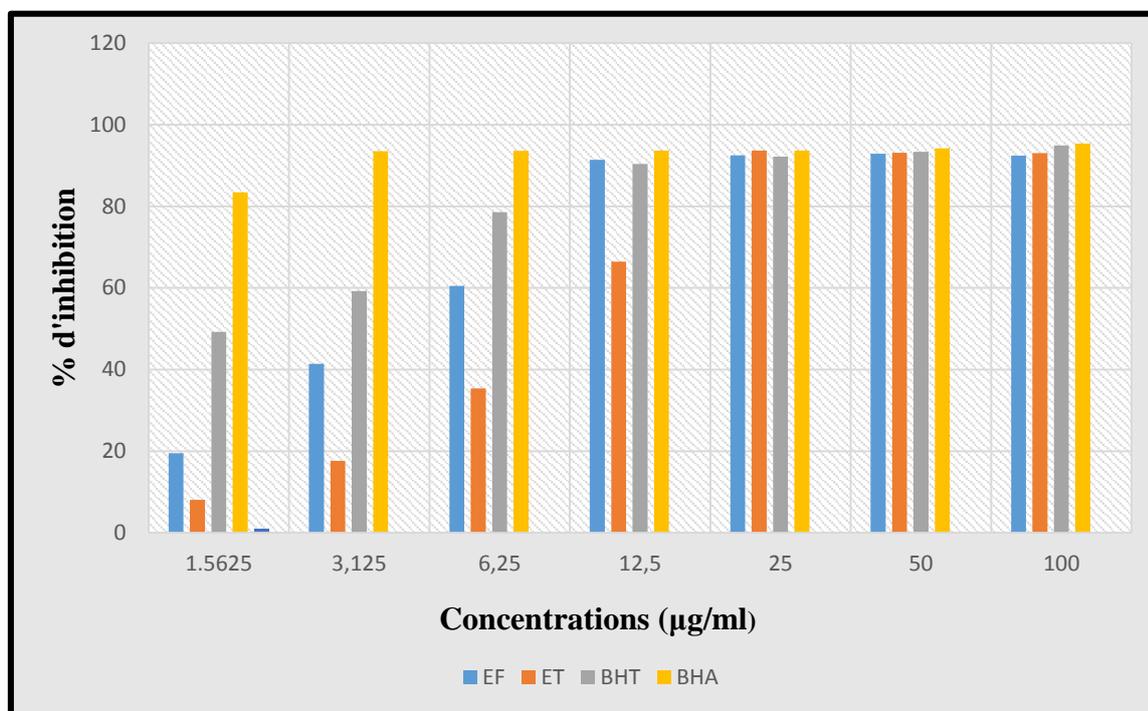
En réagissant avec le persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), l'ABTS, forme le radical ABTS+• de couleur bleue (à verte). L'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange qui est mesurée par spectrophotométrie à 734 nm.

La disparition de la coloration bleue est proportionnelle à la capacité d'inhiber le radical ABTS+•. Le profil de la microplaque obtenue est représenté dans la figure 30.



**Figure 30:** Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).

Après avoir mesuré l'absorbance à 734 nm, les résultats enregistrés ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition des différents extraits et de réaliser un histogramme des extraits ainsi des standards (BHA et BHT) en fonction des leurs concentrations (Figure 31).



**Figure 31** : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS par les extraits et standards.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> exprimées en µg/ml ont été déterminées en utilisant le logiciel « GraphPad prisme 6 » et sont représentés au tableau 12.

**Tableau 12** : CI<sub>50</sub> des extraits et standards obtenus par le test ABTS.

Extraits/ Standards	CI <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>Extrait Feuilles (EF)</b>	4,82±0,84
<b>Extrait Tourteaux (ET)</b>	9,12±0.31
<b>Extrait Huile (EH)</b>	NA
<b>BHT</b>	1.59±0.03
<b>BHA</b>	1.03±0.00

D'après les résultats représentés à la figure 31 et le tableau 14, nous constatons que le pourcentage d'inhibition de l'ABTS est proportionnel à la concentration des extraits et des standards. Le test a montré que les deux extraits (EF, ET) possèdent un potentiel de piégeage

du radical ABTS<sup>•+</sup> intéressant. Ce pouvoir est confirmé par des valeurs d'IC<sub>50</sub> faibles et des pourcentages d'inhibition importants. Aussi, on constate que l'extrait (EF) est le plus actif avec une IC<sub>50</sub> = 4.82±0.84µg/ml, l'extrait (ET) est moins actif avec une IC<sub>50</sub>=9,12±0.31, ce pouvoir reste inférieur à celui du BHA (1.03±0.00 µg/ml) et du BHT (IC<sub>50</sub>= 1.59±0.03µg/ml). Tandis que l'extrait d'huile (EH) ne possède aucune capacité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup>.

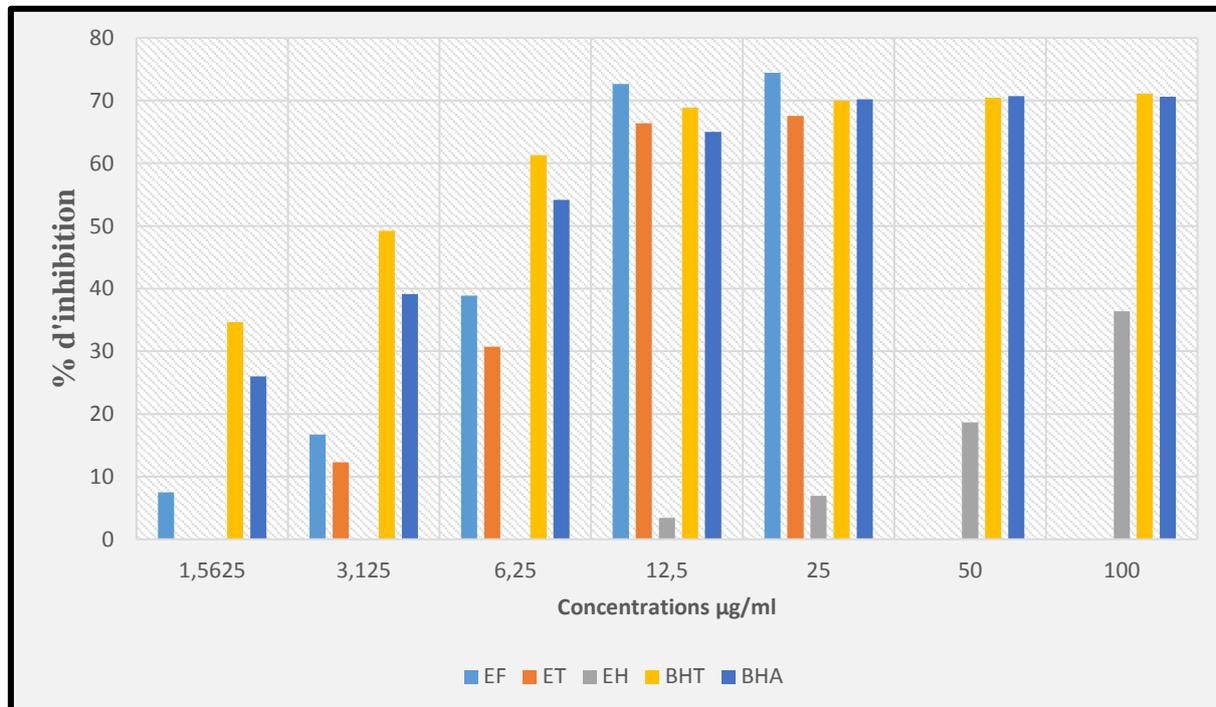
Dans une étude réalisée par **Djebari et al., (2020)** sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*. La valeur d'IC<sub>50</sub> est de 99.72 ± 1.82 µg/mL donc une activité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> moins importante que celle de notre plante.

Dans une autre étude réalisée par **(Rigane et al, 2016)**, sur l'extrait éthanolique des feuilles d'une autre espèce de *Pistacia atlantica*, révèle La présence d'une efficacité antiradicalaire avec une IC<sub>50</sub> = 42 ± 0.00 µg/ml.

Les recherches bibliographiques effectuées ne nous ont pas permis de trouver des travaux qui ont réalisé le test de l'ABTS sur les tourteaux ou l'huile de fruits de *Pistacia lentiscus* ; ce qui rend difficile la comparaison de nos résultats.

### III.3. Radical galvinoxyl (GOR)

Le pouvoir de la réduction du radicale GOR de tous les extraits de *P. lentiscus* est présenté en histogramme (Figure32).



**Figure 32** : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition du radicale GOR par les extraits et standards.

**Tableau 13** : Activité de pouvoir réducteur du radicale GOR des extraits exprimée en IC<sub>50</sub>

Extraits/standards	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EF</b>	7,31±0,69
<b>ET</b>	11,69±0,73
<b>EH</b>	>100
<b>BHA</b>	3.32±0.18
<b>BHT</b>	5.38±0.06

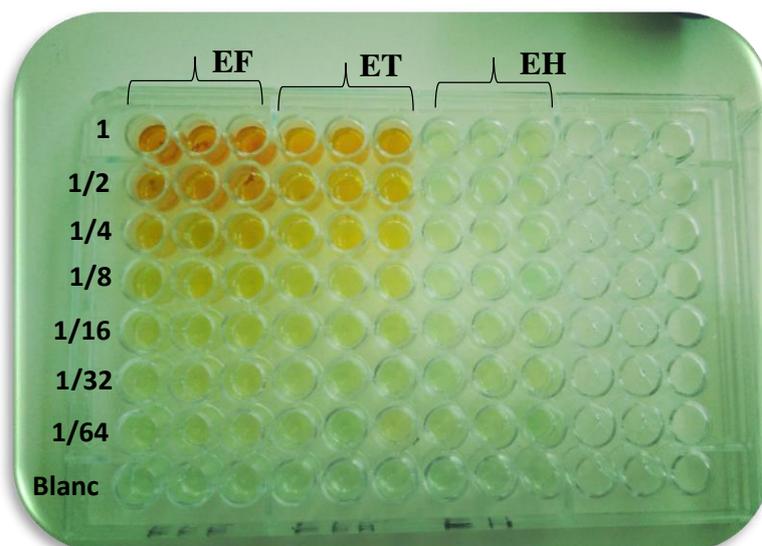
L'étude a montré que l'extrait méthanoïque des feuilles et des tourteaux étudiés possèdent un pouvoir antioxydant assez important. Ce pouvoir est confirmé par des valeurs d'IC<sub>50</sub> faibles (Tableau 13) et des pourcentages d'inhibition importants (Figure 32). La capacité la plus élevée est observée à l'extrait des feuilles (IC<sub>50</sub> = 7,31±0,69 µg / mg), cette valeur est supérieure à celle du standard BHT et BHA. L'extrait des tourteaux présente une bonne activité antioxydante avec une valeur d'IC<sub>50</sub>= 11,69±0,73µg/mg. Par contre l'extrait d'huile a un faible pouvoir antioxydant avec une valeur d'IC<sub>50</sub> = >100µg / mg.

Les recherches bibliographiques effectuées ne nous ont pas permis de trouver des travaux qui ont réalisé le test GOR sur les tourteaux ou l'huile des fruits de *Pistacia lentiscus* ; ce qui rend difficile la comparaison de nos résultats.

#### III.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

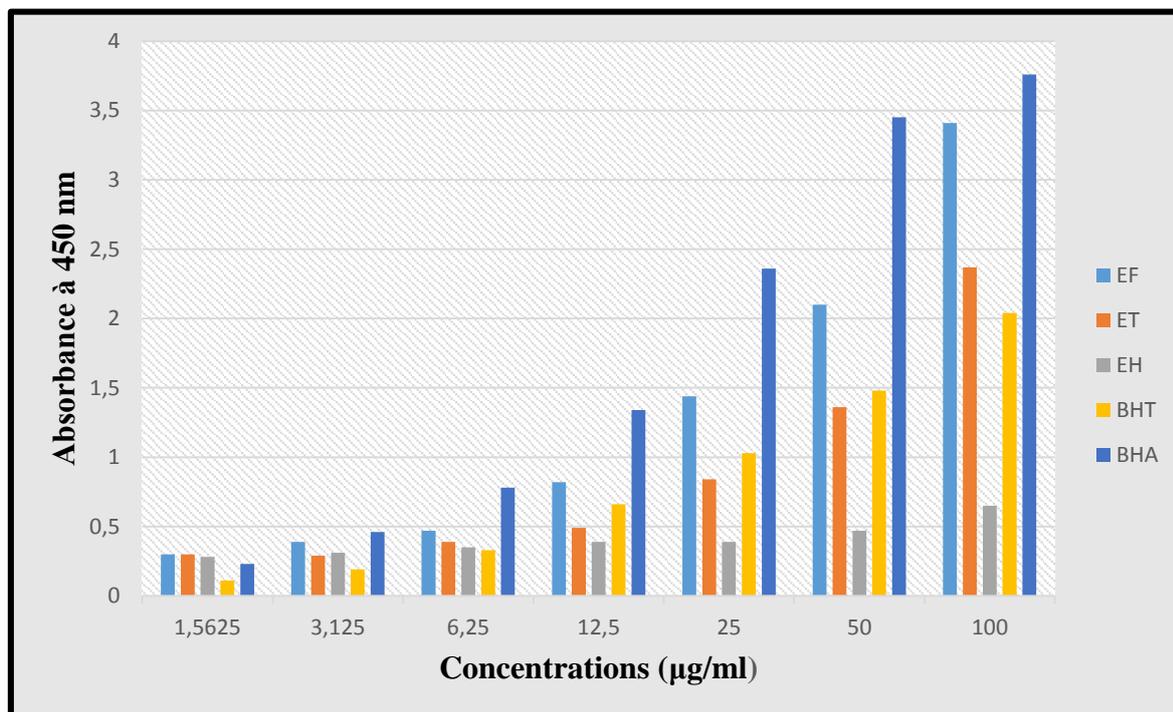
Au cours de cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante des différents extraits de *Pistacia lentiscus* en utilisant la méthode CUPRAC qui est basée sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu<sup>2+</sup> Neocuproïne (NC), produisant ainsi un complexe chromogène de Cu<sup>+</sup>-NC qui absorbe à 450 nm (**Apak et al., 2004**).

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a un changement de la couleur du milieu réactionnel du transparent à l'orangé, ce qui montre qu'il présente une capacité antioxydante (Figure33).



**Figure 33:** profile de microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (CUPRAC).

La figure 34 présente un histogramme dans lequel les résultats d'analyse de l'activité à réduire le complexe cuivre-néocuproïne de nos extraits sont représentés.



**Figure 34:** Histogramme représentant la capacité d'inhibition du CUPRAC par les extraits et standards.

D'après ces résultats nous observons que l'absorbance augmente en fonction de l'augmentation de la concentration utilisée.

Les Valeurs d' $A_{0.5}$  pour les extraits et les standards (BHA/BHT) sont représentés au tableau 14.

**Tableau 14 :**  $A_{0.5}$  des extraits et standards obtenues avec le test CUPRAC.

Extraits/ Standards	$A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>EF</b>	6.70 $\pm$ 0.05
<b>ET</b>	11.55 $\pm$ 0.95
<b>EH</b>	49.82 $\pm$ 4.44
<b>BHT</b>	9.62 $\pm$ 0.87
<b>BHA</b>	3.64 $\pm$ 0.19

Les résultats obtenus à la figure et le tableau sont parfaitement cohérents au virage colorimétrique observé dans le milieu réactionnel.

Les extraits (EF) et (ET) ont montré une meilleure activité inhibitrice du CUPRAC avec des valeurs d' $A_{0.5}$  = (6.70 $\pm$ 0.05  $\mu\text{g/ml}$ ) et (11.55 $\pm$ 0.95  $\mu\text{g/ml}$ ) respectivement, l'extrait (EF) possède une forte activité en comparaison à celle du standard BHT ( $A_{0.5}$  = 9.62 $\pm$ 0.87  $\mu\text{g/ml}$ ). Alors que les deux extraits (ET, EF) ont une activité légèrement faible en comparaison au standard BHA ( $A_{0.5}$  = 3.64 $\pm$ 0.19  $\mu\text{g/ml}$ ).

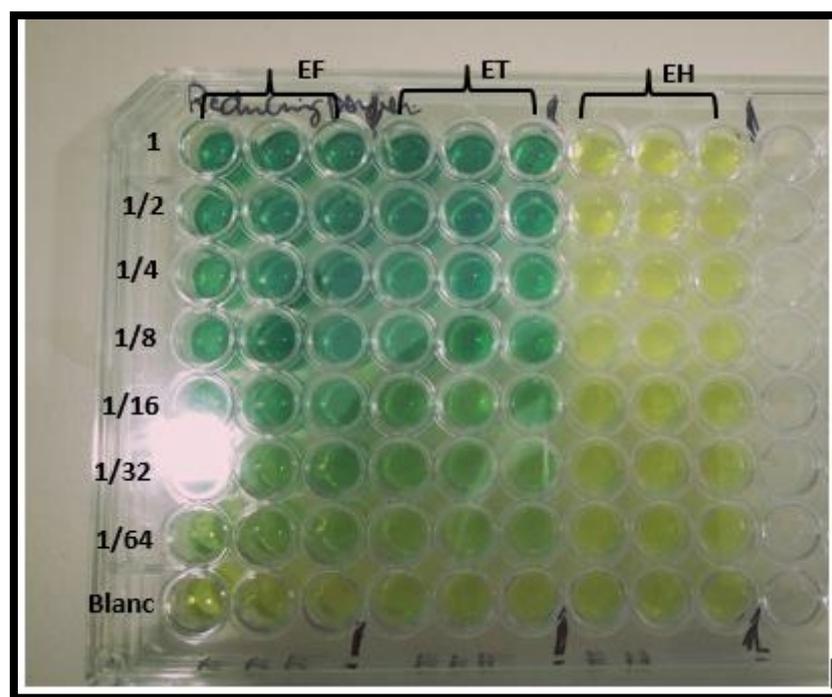
L'extrait d'huile (EH) a une activité inhibitrice du cuivre très faible par rapport aux extraits EF, ET et standards avec une  $A_{0.5}$ =49.82 $\pm$ 4.44  $\mu\text{g/ml}$ .

L'extrait méthanolique des feuilles de la présente étude a une capacité de réduction cuprique presque similaire à celle trouvée par **Achili et al., (2020)**. Les auteurs ont réalisé le travail sur une espèce du genre *Pistacia* (*Pistacia atlantica*), et ont trouvé des valeurs de d' $A_{0.5}$  = (4.98 $\pm$ 0.34  $\mu\text{g/ml}$  et 5.08 $\pm$ 0.14  $\mu\text{g/ml}$ ) pour les extraits d'acétate d'éthyle et n-BuOH respectivement

### III.5. Pouvoir réducteur

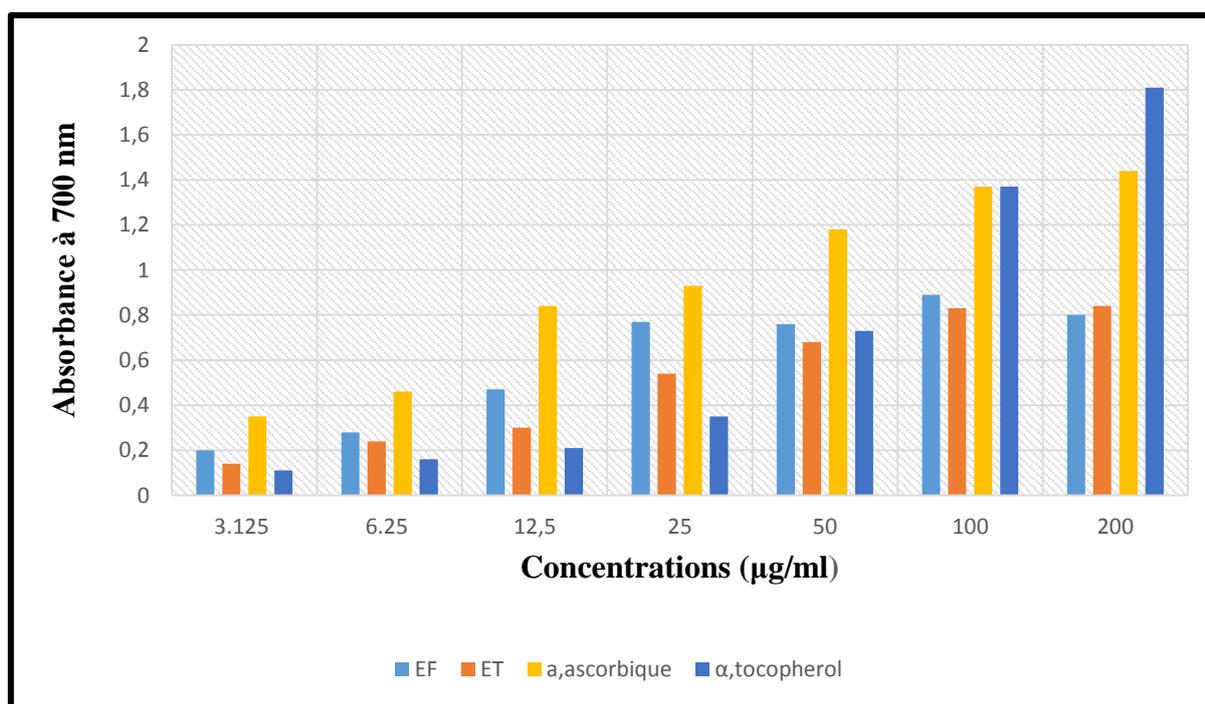
L'activité antioxydante des extraits méthanoïque de *Pistacia lentiscus* a été évaluée en utilisant la méthode du pouvoir réducteur.

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction du fer ferreux  $\text{Fe}^{3+}$  au fer ferrique  $\text{Fe}^{2+}$ . Par conséquent,  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700nm (**Chung Y-C., 2002**) (Figure 35).



**Figure35** : profil micoplaque du test pouvoir reducteur.

La capacité de la réduction de  $Fe^{3+}$ / complexe ferricyanide par les extraits analysés sont analysées au tableau 15 et la figure 36.



**Figure36** : Histogramme représentant le pouvoir réducteur  $Fe^{3+}$  des extraits et standards.

**Tableau 15:** Activité de pouvoir réducteur de  $\text{Fe}^{3+}$  des extraits exprimée en  $A_{0,5}$ .

Extraits/Standards	$A_{0,50}$ $\mu\text{g/mL}$
<b>EF</b>	14,64 $\pm$ 2,91
<b>ET</b>	22,70 $\pm$ 11,25
<b>EH</b>	NA
<b>Acide ascorbique</b>	6.77 $\pm$ 1.15
<b><math>\alpha</math>-Tocophérol</b>	34.93 $\pm$ 2.38

A partir du tableau 15 et la figure 36, nous remarquons que les valeurs d' $A_{0,5}$  des extraits sont de 14,64  $\mu\text{g/ml}$ ; 22,70 et  $\mu\text{g/ml}$  pour les feuilles et les tourteaux respectivement, ces valeurs sont supérieures à celle de l'acide ascorbique (6.77 $\pm$ 1.15  $\mu\text{g/ml}$ ) et inférieures à celle de l'  $\alpha$ -tocophérol (34.93 $\pm$ 2.38  $\mu\text{g/ml}$ ) indiquant une activité antioxydante relativement importante pour les extraits des feuilles et tourteaux.

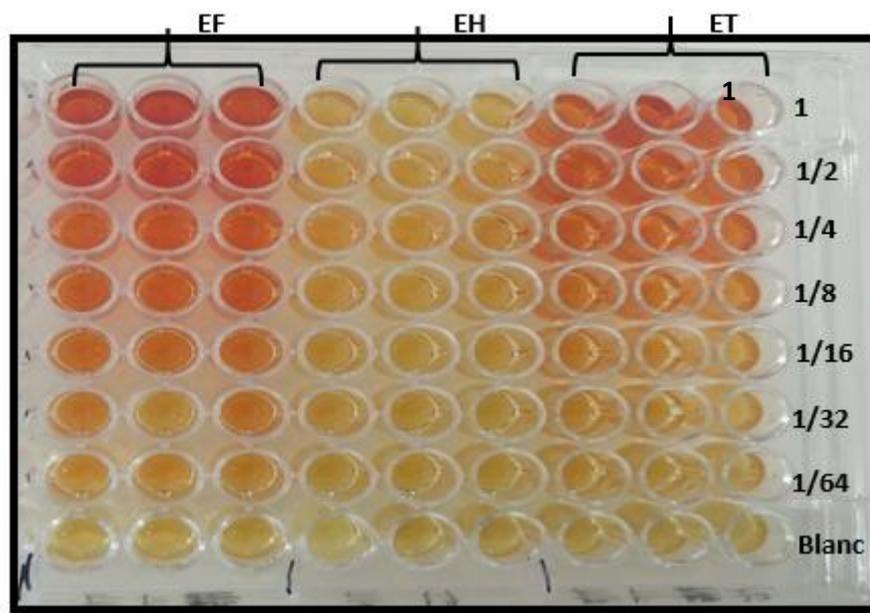
L'extrait d'huile du *Pistacia lentiscus* ne montre aucune absorbance et de ce fait une absence d'activité du pouvoir réducteur.

L'étude de **Fethi T *et al.*, en 2016** a montré des valeurs d' $A_{0,5}$  de l'ordre de 60,15 et 68  $\mu\text{g/ml}$  pour les extraits butanolique, méthanoïque et l'acétate éthyle respectivement, lors d'une étude réalisée sur des feuilles de *P.lentiscus* récoltées à la région de Tlemcen. Nous remarquons que la valeur d'extrait méthanoïque se rapproche de celle de la présente étude par contre les deux autres extraits sont moins actifs.

### III.6. Test de l'activité phénanthroline

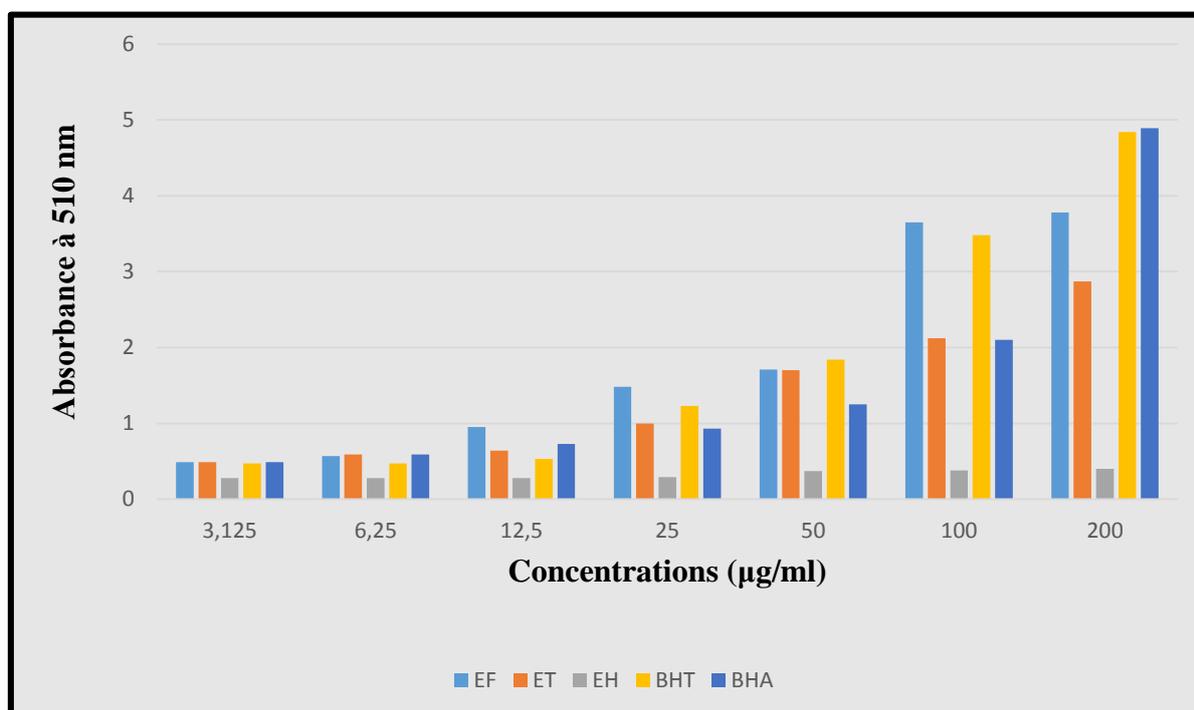
Ce test est basé sur la réduction de  $\text{Fe}^{+3}$  par un agent antioxydant pour donner l'ion  $\text{Fe}^{+2}$  qui ensuite réagit avec la phénanthroline pour donner un complexe de couleur rouge orangée.

Les résultats obtenus dans la figure 37 indiquent qu'il y a un changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune au rouge-orangée, ce qui montre qu'il présente une capacité antioxydante.



**Figure 37** : Profil de la microplaque de dosage de l'activité phenanthroline.

La figure 38 représente l'histogramme d'absorbances en fonction des concentrations des standards et des extraits. Et le tableau 16 représente les valeurs d' $A_{0,5}$



**Figure 38** : Histogramme d'absorbance en fonction des concentrations des standards et les extraits du test phenanthroline.

**Tableau 16** : Différentes valeurs des  $A_{0,50}$  de l'activité phénanthroline.

Extraits/Standards	$A_{0,50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>EF</b>	$3,98 \pm 2,08$
<b>ET</b>	$7,05 \pm 0,28$
<b>EH</b>	$>200$
<b>BHT</b>	$2,24 \pm 0,17$
<b>BHA</b>	$0,93 \pm 0,07$

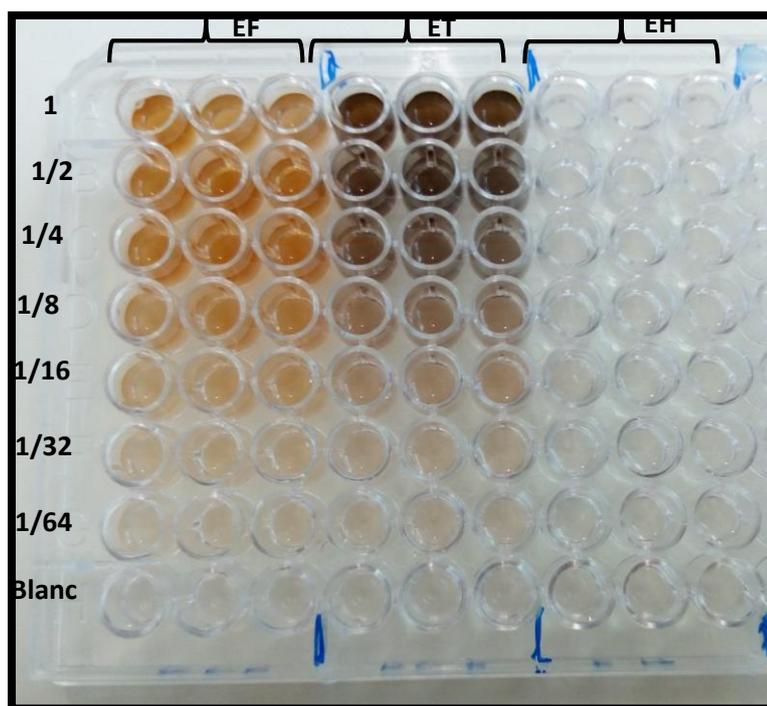
L'analyse des résultats manifestent une proportionnalité entre les absorbances des échantillons et leurs concentrations respectives. Plus l'absorbance est élevée, plus l'activité phénanthroline est importante (Figure 38).

D'après les résultats représentés à l'histogramme, on constate que l'extrait (EF) a une capacité antioxydante plus élevée que celle des autres extraits avec  $A_{0,5} = 3,98 \pm 2,08 \mu\text{g/ml}$ . Cette valeur est plus proche à celle du BHT et BHA présentant des  $A_{0,5}$  de l'ordre de  $2,24 \pm 0,17$  et  $0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$  respectivement. Suivi par l'extrait des tourteaux avec :  $A_{0,5} = 7,05 \pm 0,28 \mu\text{g/ml}$  donc on peut dire qu'il a une forte activité de réduction de fer ferrique. Tandis que l'extrait (EH) présente une valeur d' $A_{0,5} > 200 \mu\text{g/ml}$ , il présente une très faible activité antioxydante.

Ceci est confirmé par l'étude réalisée par **Djidjel et al., (2013)** qui ont montré que le résultat d' $IC_{50}$  du test de phénanthroline d'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est de  $(0,31 \pm 0,0002 \text{ mg/ml})$ , il est donc évident que l'extrait méthanolique des feuilles a une forte activité antioxydante.

### III.7. Test du silver nanoparticule (SNP)

Après un temps d'incubation en présence des extraits de *Pistacia lentiscus*, et du témoin positif BHT, une couleur marron apparaît dans certains puits (Figure 39), l'intensité de la couleur reflète le pouvoir antioxydant.



**Figure 39** : Profil de la microplaque de dosage de l'activité SNP.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour l'huile, les feuilles et les tourteaux de *P.lentiscus* et les deux standards (acide ascorbique et trolox) sont indiquées au Tableau 17.

**Tableau 17** : Activité SNP des extraits et standards exprimée en IC<sub>50</sub>.

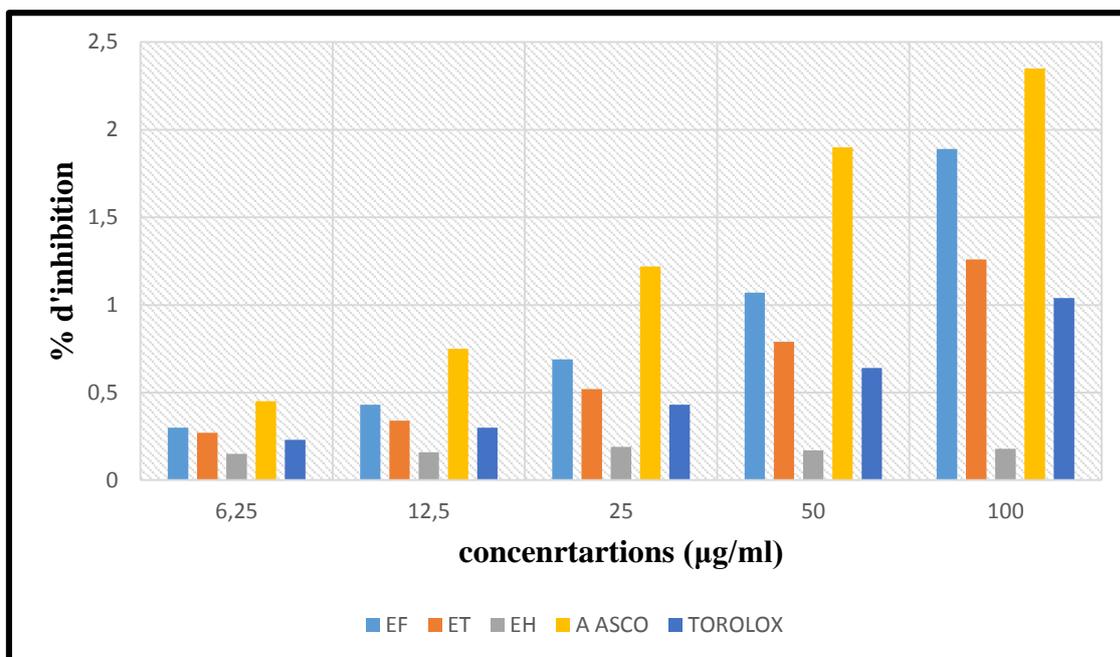
Extraits/Standards	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EF</b>	15,93±0,13
<b>ET</b>	24,93±1,27
<b>EH</b>	NA
<b>Acide ascorbique</b>	7,14±0,05
<b>Trolox</b>	34,17±1,23

D'après le tableau 17, on remarque que parmi les trois extraits de *P.lentiscus*, l'extrait des feuilles et des tourteaux représente les extraits les plus actifs avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 15,93±0,13 et 24,93±1,27 µg/ml respectivement, par contre l'extrait d'huile montre un manque d'activité anti-radicalaire.

L'activité de l'extrait des feuilles et des tourteaux est supérieure à celle du trolox (34,17±1,23 µg/ml.) et inférieure à celle de l'acide ascorbique (7,14±0,05 µg/ml.).

Les résultats de la mesure du pourcentage d'inhibition sont enregistrés à la figure 40. Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la

concentration soit pour l'acide ascorbique et le trolox ou pour l'huile les feuilles et les tourteaux de *P.lentiscus*. On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile est inférieur à celui des deux standards (trolox et l'acide ascorbique) pour toutes les concentrations utilisées par contre pour les feuilles et les tourteaux le pourcentage d'inhibition du radical libre est supérieur à celui de la Trolox et inférieur à celui de l'acide ascorbique aussi pour toutes les concentrations utilisées.



**Figure 40:** Histogramme représentant le pouvoir réducteur des ions  $Ag^+$  des extraits et standards.

En raison de l'absence des études ayant réalisé le test du pouvoir réducteur des ions  $Ag^+$ , nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

En résumé, la comparaison de la puissance antioxydante (Tableau 18) des extraits de notre plante *Pistacia L.*, testés par les 7 méthodes antioxydantes (DPPH, ABTS, GOR, SNP, pouvoir réducteur, CUPRAC et activité phénanthroline), on peut dire que l'extrait (EF) est l'extrait le plus actif autrement dit le plus antioxydant, suivi par l'extrait (ET). Cette forte activité pourrait s'expliquer par la richesse de ces deux extraits en composés phénoliques et flavonoïdes ayant des propriétés antioxydantes connues.

En revanche, l'extrait (EH) n'a montré aucune activité antioxydante dans la majorité des tests ou parfois très faible, ceci peut être relié à l'absence des composés phénoliques et les flavonoïdes.

**Tableau 18:** Comparaison de la puissance antioxydant des extraits.

Extraits	IC <sub>50</sub> (µg/ml)				A <sub>0.5</sub> (µg/ml)		
	DPPH	ABTS	GOR	SNP	CUPRAC	RP	PT
<b>EF</b>	1,4±0.13	4,82±0,84	7,31±0,69	15,93±0,13	6.70±0.05	14,64±2,91	3,98±2,08
<b>ET</b>	2,54±0,26	9,12±0.31	11,69±0,73	24,93±1,27	11.55±0.95	22,70±11,25	7,05±0,28
<b>EH</b>	NA	NA	>100	NA	49.82±4.44	NA	>200

RP : pouvoir réducteur / PT : phénanthroline / NA : non absorbance.

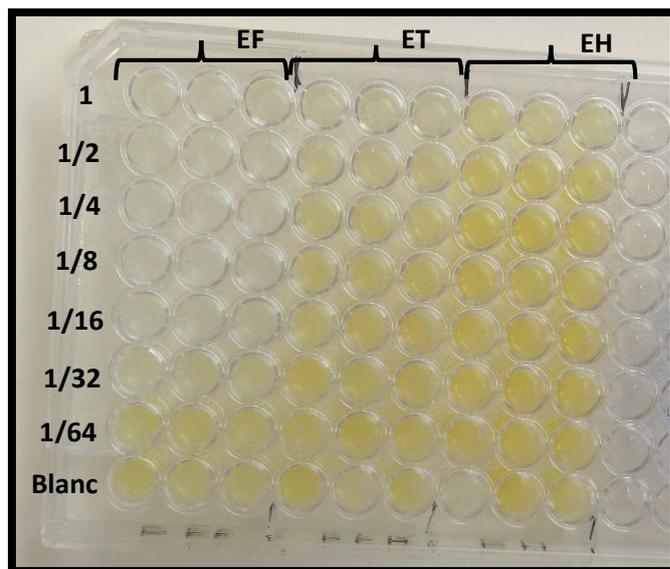
#### IV. Evaluation des activités inhibitrices des enzymes

Au cours des trois dernières décennies, L'inhibition des enzymes a attiré l'attention des scientifiques biomédicaux, une variété d'inhibiteurs ont été découverts et utilisés pour le contrôle de diverses maladies. L'action des inhibiteurs d'enzymes dans la découverte de médicaments est devenue une approche fondamentale de la pharmacologie dans l'industrie pharmaceutique, les laboratoires de recherche ou centres de recherche sur les médicaments (Raza et Soomro., 2012).

Dans le but d'identifier si notre plante possède un potentiel antidiabétique et/ou anti Alzheimer, des enzymes cibles thérapeutiques potentielles de ces deux pathologies, en l'occurrence l'alpha-amylase et l'acétylcholinestérase, ont été utilisés comme cibles d'étude anti-enzymatique.

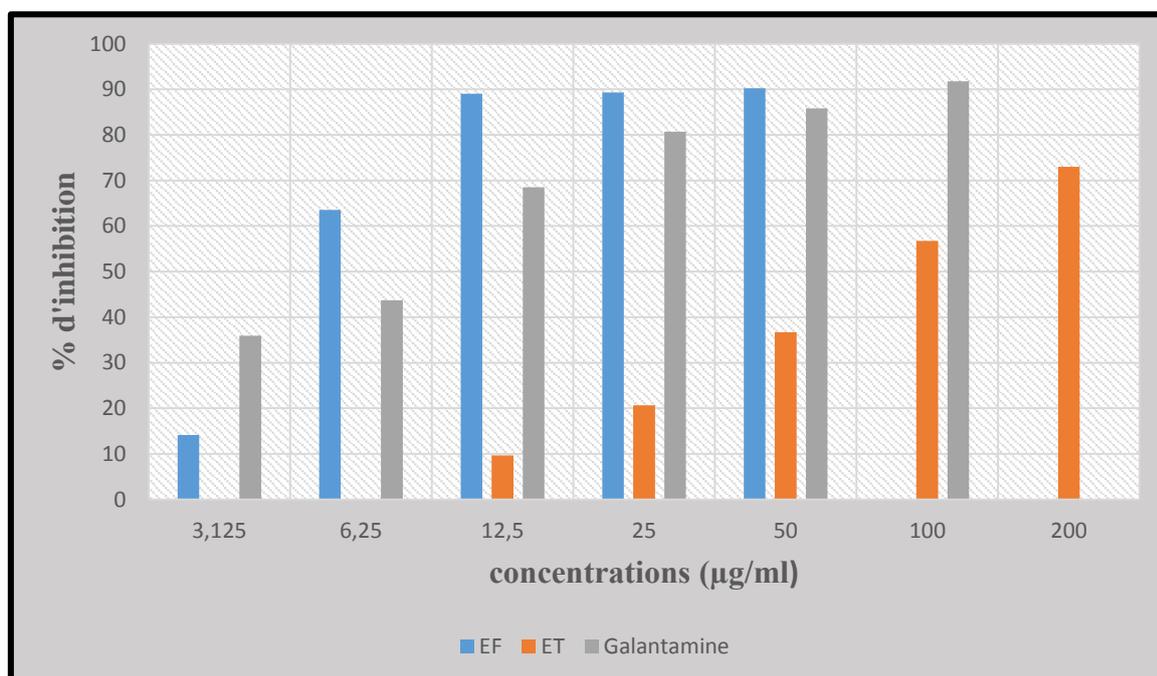
##### IV.1. Activité anti-acétylcholinestérase

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a un changement de la couleur du milieu réactionnel, ce qui montre la présence de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase pour les deux extraits (EF et ET) (Figure 41).



**Figure 41:** Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-acétylcholinestérase.

La figure 42, c'est un histogramme des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations, le galantamine est utilisé comme standard. Le tableau 21 représente les valeurs d'IC<sub>50</sub>.



**Figure 42:** Histogramme du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et standard pour l'activité anti-acétylcholinestérase.

**Tableau 19** : IC<sub>50</sub> des extraits et standards obtenus par le test de l'activité anti-acétylcholinestérase.

Extraits/Standard	CI <sub>50</sub> (µg/ml)
EF	<b>5,76±0,97</b>
ET	<b>91,17±9,66</b>
EH	<b>NA</b>
Galantamine	<b>6.27±1.15</b>

D'après les résultats du tableau 19, il est constaté que l'extrait (EF) exerce une activité anti-acétylcholinestérase très forte avec une IC<sub>50</sub> de (5,76±0,97 µg/ml), cette activité est légèrement supérieure à celle du standard galantamine (6.27±1.15 µg/ml).

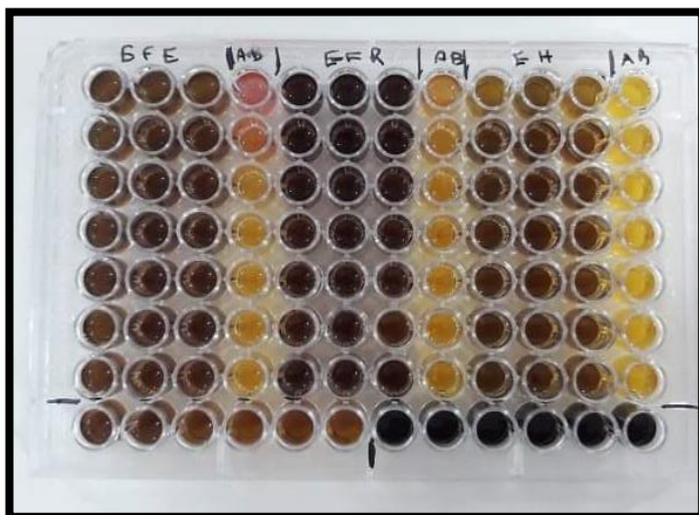
L'extrait des tourteaux présente une activité faible avec par rapport au standard Galantamine avec IC<sub>50</sub>= 91,17±9,66 µg/ml pour l'ET.

Cependant l'extrait d'huile (EH) n'a aucune activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.

L'étude réalisée par **Achili et al., (2020)**, a montré une valeur d'IC<sub>50</sub> de l'ordre de 186.75±5.92 µg/mL pour l'extrait méthanoïque des feuilles de *Pistacia atlantica*. Contrairement à notre résultat, cet extrait exerce une très faible activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.

#### **IV.2. Activité alpha amylase**

D'après les résultats obtenus au tableau 20 et le changement de couleur dans certains puits de la microplaque (Figure 43), l'activité à inhiber l'enzyme alpha amylase est absente dans l'extrait d'huile de *Pistacia lentiscus*, tandis qu'elle est présente chez les deux extraits ; avec une IC<sub>50</sub> égale à 8,9±0,14 µg/ml pour l'extrait des feuilles, et une forte activité enregistrée par une saturation pour l'extrait des tourteaux, les IC<sub>50</sub> des deux extraits sont inférieures à celle du standard acarbose (IC<sub>50</sub>=3650,93±10,70 µg/ml), il a été prouvé que ce dernier réagit mieux *in vivo* qu'*in vitro*.



**Figure 43:** Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti alpha-amylase.

**Tableau 20 :** Activité d'inhibition de l'enzyme alpha amylase des extraits exprimée en  $IC_{50}$ .

Extraits/Standards	$IC_{50}$ $\mu\text{g/ml}$
<b>EF</b>	8,9 $\pm$ 0,14
<b>ET</b>	Saturation
<b>EH</b>	NA
<b>Acarbose</b>	3650,93 $\pm$ 10,70

Une étude de **Ziyad B.A., en 2018** a obtenu des valeurs d' $IC_{50}$  de 56 $\pm$ 5.0  $\mu\text{g/ml}$  et 54  $\pm$  3.2  $\mu\text{g/ml}$  pour les feuilles de *P. Atlantica* récoltées à la région de Laghouat et Ain Oussera respectivement. Ces résultats confirment que l'extrait de la présente étude possède une excellente activité d'inhibition de l'enzyme alpha-amylase en comparaison aux extraits des feuilles obtenues des deux régions du sud Algérien.



# *Conclusion*

### Conclusion et perspectives

Etant donné la toxicité et/ou les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse ainsi que le coût élevé de plusieurs produits pharmaceutiques, les plantes restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement. L'usage de ces plantes est lié certainement, aux vertus thérapeutiques attribuées aux molécules bioactives synthétisées par la plante, non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants. Pour cela, la phytochimie et la phytothérapie font l'objet de plusieurs études aujourd'hui.

L'objectif principal assigné par cette étude a été dans le même contexte : l'étude de la phytochimie, l'évaluation du pouvoir antioxydant, et la mesure des activités enzymatiques des différentes parties d'une plante médicinale : *Pistacia lentiscus*.

L'analyse phytochimique de la plante a mis en évidence les principaux métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes.

Les résultats quantitatifs des phénols totaux, flavonoïdes totaux ont montré que les parties les plus riches en ces composés sont les feuilles et les tourteaux de *P. lentiscus*. Cependant l'huile gras issus des fruits de la plante d'étude était pauvre en les polyphénols et en flavonoïdes.

Il ressort de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des différentes parties d'une plante, que la partie des feuilles, des tourteaux de *P. lentiscus* ont présenté la meilleure capacité antioxydante et le pouvoir le plus considérable à réduire le fer l'ABTS, le Radical galvinoxyl (GOR), le complexe Cuivre-Neocuproène, l'ion  $\text{Ag}^+$  et à piéger le radical libre DPPH et à colorer le ferrocyanure de potassium ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en présence du chlorure ferrique.

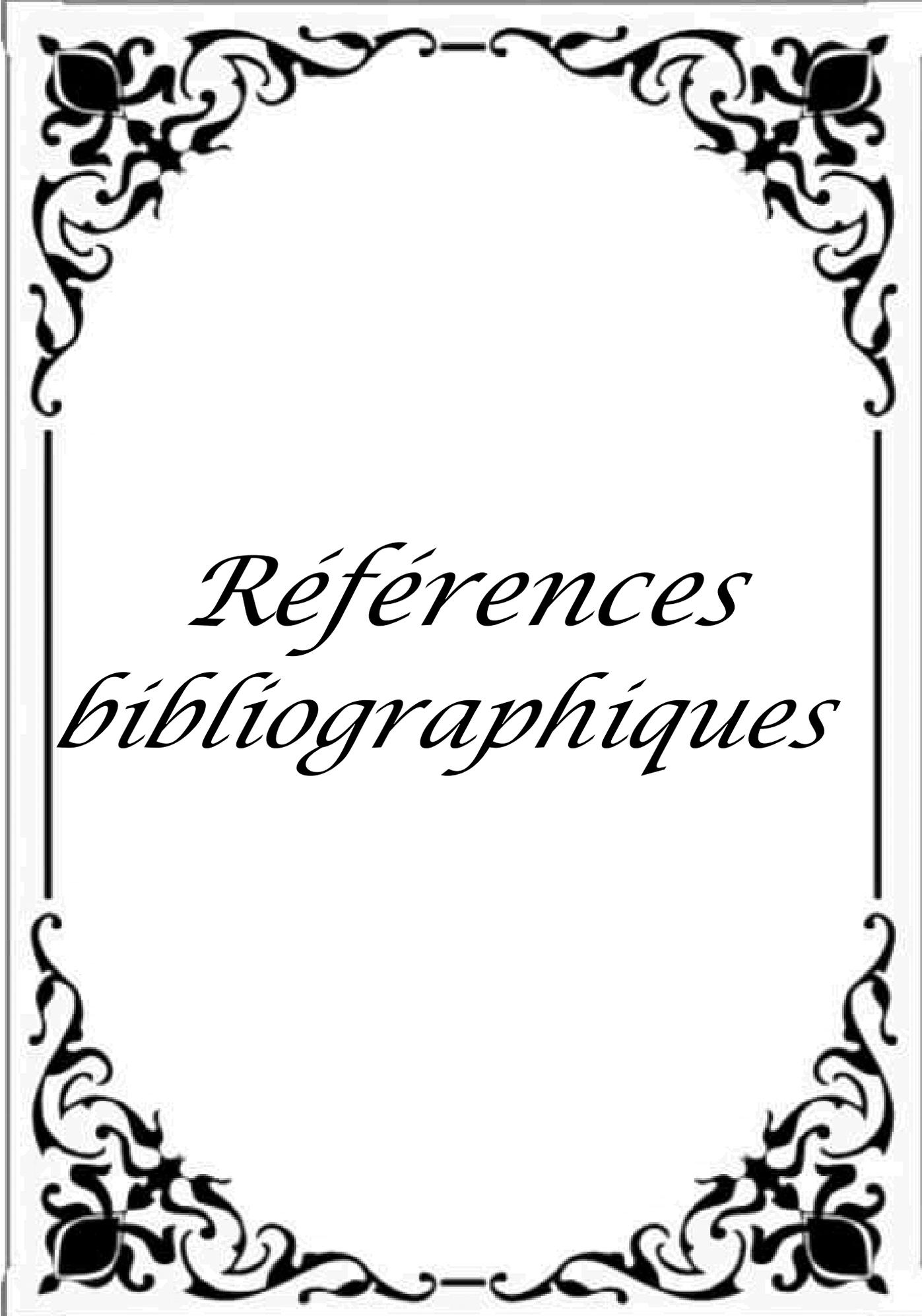
Les résultats des activités enzymatiques réalisées sur les différents extraits des feuilles, des tourteaux et d'huile grasse de *P. lentiscus*, ont révélé la présence d'une activité anti-cholinestérase et activité inhibitrice de l'alpha amylase pour les feuilles et les tourteaux, par contre l'huile a montré des résultats négatifs.

Les résultats du notre travail ont confirmé que les feuilles et les tourteaux de *P. lentiscus* possèdent une puissante activité antioxydante et ils sont une bonne source de phénols et flavonoïdes, aussi ils permettent de réduire l'apparition, l'aggravation et/ou les complications de le maladie Alzheimer et du diabète.

Donc ce travail peut confirmer scientifiquement la pertinence des remèdes traditionnels, en donnant une importance à l'usage thérapeutique des plantes médicinales, mais, il demeure une

première approche sur la contribution au domaine de la recherche des antioxydants naturels. Pour cela, quelques perspectives peuvent être envisagées :

- Poursuivre et améliorer cette étude par l'isolement des molécules contenues dans les molécules actives de ces plantes pour les tester, *in vivo*, afin d'arriver à une application thérapeutique.
- Tester d'autres activités biologiques telles que l'activité anticancéreuse, anti-inflammatoire et antibactérienne.
- Réaliser un enrichissement d'huile par les molécules actives des feuilles et des tourteaux, afin d'augmenter sa valeur nutritionnelle ; étant donné que l'huile de lentisque soit parmi les huiles de large utilisation dans plusieurs disciplines.



*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques :

### A

**Abdeldjelil M C.** (2016). Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. Doctorat en sciences vétérinaires. Université de Constantine 1. N° : 02/DS/2016. Série : 01/VET/2016.

**Abdur Rauf., Seema Patel., Ghias Uddin., Bina S. Siddiqui., Bashir Ahmad., Naveed Muhammad., Yahia N. Mabkhot., Taibi Ben Hadda.** (2017). Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 86. P 393–404.

**Achili Imene., Amel Amrani1., Chaouki Bensouici., Fatih Gül., Muhammed Altun., Ibrahim Demirtas., Djamila Zama., Fadila Benayache and Samir Benayache.** (2020). Chemical Constituents, Antioxidant, Anticholinesterase and Antiproliferative Effects of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. Extracts. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 11, 00-00.

**Agatia G., Azzarellob E., Pollastrib S., Tattinic M.**( 2012) Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, vol. 196, pp. 67- 76.

**Aiche – Itratni Ghenima.** (2016). Activités biologique, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *pistacia lentiscus* et *d'origanum majorana*. doctorat en science biologique. Université Mouloud Mammeri deTizi-Ouzou.

**Aït Said, S.** (2011) Stratégies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. Lentiscus* L. et *P. Atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité: approches morpho anatomiques, phytochimiques et ecophysiologiques. Doctorat en sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie.

**Aït youssef M.** (2006). Plantes médicinales de cabylie. Paris, p 260-263.

**AKROUM S.** (2010). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat : Université MENTOURI de CONSTANTINE-ALGERIE.

**Ali-Shtayeh M. S., Jamous R. M., Abu ZaitounS Y., Qasem I. B.** (2014). In-vitro screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer's disease. *Functional Foods in Health and Disease*. 4(9) : 381-400.

**Alyafi J.** (1979). Approche systématique et écologie du genre *Pistacia* L. dans la région Méditerranéenne. Thèse de Docteur de 3<sup>ème</sup> Cycle. Faculté des Sciences et Techniques. St Jérôme, Marseille P.

**Ansari S.H., Nahida., Siddiqui A.N.** (2012) *Pistacia lentiscus*: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4, (4), pp. 16-20.7

**Apak R., Güçlü K., Özyurek M., Karademir S.** (2004). Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine : CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26) : 7970-7981.

**Apak R., Guclu K., Ozyurek M., & Karademir S. E.** (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.

**Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K.** (2014). Phytochimical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. *J fundam appl. Sci.* 2014, 6(1), 77-91.

**Arab K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K.** (2014). Phytochemical Study and Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Phenolic Compounds of *Pistacia Lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences.* 6(1): 79-93.

## B

**Bakchiche B., Gherib A.** (2014). Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. *International Journal of innovation and applied studies* 9 (1), 167.

**Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E., Ibijbijen J. and Nassiri L.** (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86(1): 7966.

**Baratto M.C., Tattini M., Galardi C., Pinelli P., Romani, A., Visioli, F., Basosi R., Pogni R.** (2003). Antioxidant Activity of Galloyl Quinic Derivatives Isolated from *P. lentiscus* Leaves. *Free Radical Research*, 37 (4), pp. 405–412.

**Bartosikova A., Necas J., Suchy C., Kubinova U.** (2003). Antioxydative effects of morine in ischemia, reperfusion of kidney in the laboratory. *Drug and Chemical Toxicology*, 72, 87-94.

- Belfadel F Z.** (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* caractéristiques physico\_chimiques et effets biologiques (effet cicatrisant chez le rat). université de constantine, n°144, 33.
- Belhadj S.** (2001). Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. *Chiers Option Méditerranéennes*, (56), PP.107-109.
- Ben ammar H., Rached ., Derdour A., Marouf A.**(2010). Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Biol Sci.* 10:1–9.
- Bensaci M.** (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne del'huile fixe de *Pistacia lentiscu*. Master en Biochimie Moléculaire et Santé. Université Frères Mentouri Constantine, p. 67.
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D. et Benboubetra, M.**(2010). Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Journal of medicinal food*, 13(4):1-9.
- Berset C., Cuvelier M.** (1996). Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments (France)*.
- Blois M.S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.
- Boizot N., Charpentier J-P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra* : 79-82.
- Bougherara M I.** (2015). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Doctorat en biochimie. Université d'Annaba .
- Bouyahya A., Dakka2 N., Talbaoui1 A., El Moussaoui N., Abrini J., Bakri1 Y.**(2018). Phenolic contents and antiradical capacity of vegetable oil from *Pistacia lentiscus*. *J. Mater. Environ. Sci.*, Volume 9, Issue 5, Page 1518-1524
- Bouyahya A., N. Dakka., A. Talbaoui., N. El Moussaoui., J. Abrini, Y. Bakri.** (2018). Phenolic contents and antiradical capacity of vegetable oil from *Pistacia lentiscus* (L). *J. Mater. Environ. Sci.*, 2018, Volume 9, Issue 5, Page 1518-1524.
- Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi Surmaghi M. H., Shams-Ardekani MR., Rahimi, R.** (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology, *The Scientific World Journal*, P 33.

**Bubonja-Sonje M., Giacometti J., & Abram M.** (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chem*, 127(4), 1821-1827.

## C

**Castola V., Bighelli A., Casanova J.**(2000). intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology* 28,PP.79-88.

**Charef M.** (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus*. thèse de doctorat P84.

**Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P.** (2008). Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.

**Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P.** (2008).Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. *J Am OilChemSoc*, 85, PP.921–924.

**Cherbal A., Kebeiche M., Madani K., El-Adawi H.** (2012). Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. *Asian J. Plant Sci.*11, 131–136.

**Chourfa Mohammed et Rachida Allem.** (2015). Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts in vivo. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25 p 142–144.

**Chouaibi. M., K.B. Daoued., M. N. Gaout., O. Bel Haj S. Hamdi.** Chemical composition and antioxidant activities of cold pressed lentisc (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. (2016). *La rivista italiana delle sostanze grasse* - Vol. XCIII – p 31-38.

**Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C-F., Chou S.T.** (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 2454–2458.

**Correia O., Barradas M.D.** (2000). Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L. *Plant Ecology*, 149(2), 131-142.

## D

**Dais P., Boskou D.** (2009). Detection and quantification of phenolic compounds in olive oil, olives, and biological fluids. *Olive Oil, Minor Constituents and Health*, 55-107.

**Debanjan Mukhopadhyay., Pinakpani Dasgupta., Debalina Sinha Roy, Shauroseni Palchoudhuri., Ipsita Chatterjee., Shahnaz Ali and Sujata Ghosh Dastidar.** (2016). A

Sensitive *In vitro* Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10 Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants* Vol. 6 p 124-132.

**Delattre J., Beaudoux J.-L. X., Bonnefont-Rousselot D.** (2005) Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques., 1er ed edn. Paris.

**Denis O., Estelle B., Pinatel C., Souillol S., Guérére M., Artaud J.** (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierge. *Annales des falsifications de l'expertise chimique et toxicologique*. 965 : 169-196pp

**Dhifi W., Jelali N., & E. Chaabani.** (2013). Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 8(16):1395-1400.

**Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K., & Maïga A.** (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chimie - C R CHIM*, 7, 1073–1080.

**Djaouzi S., Djerroud N.** (2012). Optimisation de l'enrichissement de huile d'olive par les principes actifs des margines, contrôle de qualité et analyse. Abedeerahmane Mira de bejaia, p : 26.

**Djedaia S.** (2017). Etude Physico-Chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L). doctorat en science . Université Badji Mokhtar-Annaba. P :103.

**Djidjel Saliha., Khennouf Seddik., Ameni Djamil., Baghiani Abdrrahmane., Arrar Lekhmici and Charef Noureddine.** (2013). Antioxidant proprieties of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Pharmacognosy Communications*.vol 3. P 28-34.

**Dogan Y., Baslar S., Aydin H., Mert H.H.** (2003) .A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolianpart of Turkey . *Acta Bot. Croat*, 62 (2), 73–88.

**Duenas M., Hernandez T., Estrella I., and Fernandez D.** Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food chemistry*, 2009, vol. 117, pp. 599-607.

## E

**Edeas M.**(2007).Les polyphenols et les polyphenols de the 1.Phytotherapie,5,PP.264-270.

**El Yahyaoui O., Ait ouaaziz N., Sammama1 A., Kerrouri S., Bouabid B., Lrhorfi1 L.A., Zidane L., Bengueddour R.** Etude ethnobotanique: Plantes médicinales commercialisées à la

province de Laâyoune; identification et utilisation. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2015, vol .12, pp. 533-541.

**Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherston R.M.** (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95. Pergamon Press Lid., Printed in Great Britain

**Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M.** (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68:939-953.

## F

**Farah N., Muhammad R., Naseer A.S., Rahmat A.K., Kiran N., Saadia S.** (2017). Pistacia chinensis: Strong antioxidant and potent testicular toxicity amelioration agent, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2017; ▪(▪): 1–10

**Favier A.** (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.

**Favier A.** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 2003, pp. 108-115.

**Fethi T., Belyagoubi-Benhammou N., Zitouni A., Atik-Bekkara F.** (2016). Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of Pistacia atlantica Desf. subsp. Atlantica from Algeria, *Natural Product Research*, 1478-6419 (Print) 1478-6427

**Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J.** (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.

**François N.M.** (2010). Identification de polyphénols , evaluation de leur activite antioxydante et etude de leurs proprietes biologique. Doctorat en Chimie organique. Paul Verlaine-Metz , p. 108.

**François N.M.** (2010). Identification de polyphénols, evaluation de leur activite antioxydante et etude de leurs proprietes biologique. Chimie organique. Universités de Paul Verlaine-Metz.

## G

**Gàbor M., Cody V., Middleton E.J., Harborne J.B., Beretz A., Liss A.R.,** (1988). Plants Flavonoids in biology and Medicine II; Biochemical, Cellular and Medecinal properties. New York, 1-15 p.

**Garnier G., Bézanger-Beauquesne L., Debraux G.** (1961). Ressources médicinales de la flore française. Edition, Vigot Frères Editeurs, 665-666 P.

**Ghalem B.R., Benhassaini, H.** (2007) Etude des phytostérols et des acides gras de *Pistachia atlantica*. *Afrique Science*. 3(3) 405 – 412.

**Ghayth R.b., Hanene A., Chedia A., Ridha B.S., Zouheir N.** (2016). Phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial activity of leaf extracts from *Pistacia atlantica*. 1478 6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>.

**Ghinimi W.** (2015). Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : Ricinus communis et Jatropha curcas. Evaluation de leur propriété antioxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat en chimie/biologie. Université de LORRAINE (France) et université de Carthage (Tunisie).

**Gutteridge J.M., Halliwell B.** (1992) Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine, second edition, by Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. *Free Radic.Biol.Med.* 12: 93-95.

## H

**Hacini N., Djellou, R.** (2017) Study of the Antibacterial and Antifungal Activities of Oils Of *Pistacialentiscus l.* *International Journal of Applied Environmental Sciences*, 12, (1), pp. 133 143.

**Hartmann T.** (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 68: 2831-2846.

**Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, (1), PP. 3-6.

## I

**Ighodaro O.M., Akinloye O.A.** (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*.

## J

**Johnston K., Sharp P., Clifford M., Morgan L.** (2005). Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *J of FEBS letters* 579 (7), 1653-1657.

**Jones W. P., Chin Y. W., Kinghorn A. D.** The role of pharmacognosy in modern medicine and pharmacy. *Current drug targets*, 2006, vol. 7, pp. 247- 264.

## K

**Kandouli C.**, (2018). Etude des propriétés antidiabétiques, antioxydantes et antiinflammatoires des extraits hydrosolubles d'*Anvillea radiata* Coss. & Dur. Sur le diabète de type 2 expérimental induit par le régime (high fat) chez la souris C57/BL6J. Des Frères Mentouri Constantine.

**Kassemi N.**, (2006) Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte : cas de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*), (*Coleoptera bruchidae*), Thèse de Magistère biologie, Université Abou bakr belkaid, Tlemcen, 97p.

**Krishnanand Mishra., Himanshu Ojha., Nabo Kumar Chaudhury.** (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH\_ assay: A critical review and results. Food Chemistry 130 p 1036–1043.

**Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C.** (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 331: 865- 873.

## L

**LAIB I., BARKAT M.** (2011). Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fruits secs de la *LAVANDULA OFFICINALIS*, Magister en Alimentation et des Technologies Agroalimentaires. Université de Constantine Mentouri.

**Laribi R.**, (2015). Les composés phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive Algérienne: identification et propriétés. *Frhat Abbas université de Sétif* 1, p. 81.

**Lenoir L.** (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat : Université D'Auvergne.

**Luigia L., Scardino A., Vasapollo G.** (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus L.*, *Phillyrea latifolia L.* and *Rubia peregrina L.* *Innovative Food Science And Emerging Technologies*, 8, (3), PP.360-364.

## M

**Maameri –Habibatni Z.** (2014). *Pistacia lentiscus L. : Evaluation pharmacotoxicologique.* Doctorat en science, Université de Constantine 1.

**Macheix J.J., Fleuriet A., Jay- Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, p: 192.

**Manthey J.M.** (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*, 7, 28-34.

**Mekious.** (1997). Plante dans la médecine traditionnelle et la cuisine algérienne. Ed : RVBIA. p51.

**Mezni., A.Khaldi., A.Maaroufi., L.Hamrouni., M.Msalle., M.Boussaid., M.L.Khouja.** (2012). composition en acides gras et propriétés biologique de l'huile fixe des fruits de *pistacia lentiscus* L.

**Montezano A.C., Dulak-Lis M., Tsiropoulou S., Harvey A., Briones M.** (2015). Oxidative stress and human hypertension : vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. *Canadian journal of cardiology* 31 (5), 631-641.

**More D. et White J.** (2005). Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et variétés du Monde, Flammarion, p18-797.

**Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V.** 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992-999.

## N

**Nahida., S.H Ansari., A.N Siddiqui.** (2012). *Pistacia lentiscus*: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 4, Suppl 4, p 16-20.

## O

**Osamuyimen O. I., Isoken H. I., Vincent N. C., Olohirere E. U., Sunday O. O., Emmanuel E. O., Anthony I. O., Etinosa O. I.** Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *International Journal of Molecular Science*, 2011, vol. 12, pp. 2958-2971.

**Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

**Ozcan Erel.** (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 37 p277– 285

**Ozyurek Mustafa., Kubilay G., Esmâ T., Kevser S., Erol E., S. Esin ç., Sefa B., Leyla Y., Seyda K., Apak R.** (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *The Royal Society of Chemistry* 3, p 2439–2453.

**Özyürek Mustafa., Nilay Güngör., Sefa Baki., Kubilay Güçlü., and Reşat Apak** (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols, *Analytical Chemistry*.

## P

**Pauwels E.K.J.** (2011). The protective effect of the Mediterranean diet: focus on cancer and cardiovascular risk. *Medical Principles and Practice*, 20; 103-111.

## Q

**Quezel P., Et Santa S.** (1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales*. Paris C.N.R.S., 2 volumes. 1170p.

## R

**Rahmani N., Zouia S.** (2015). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux plantes locale : *Pistacia lentiscus* et *Clematis flammula*. Doctorat en Biochimie appliquée. Université A. MIRA de Bejaia, p. 35.

**Ramalho V.C., et Jorge, N.** Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. *Quimica Nova*, 2006, vol. 29, pp. 755-760.

**Rasilainen S., Nieminen J. M., Levonen A.L., Otonkoski T.,Lapatto R.** (2002) Dose-dependent cysteine-mediated protection of insulin-producing cells from damage by hydrogen peroxide. *Biochem.Pharmacol.* 63: 1297-1304.

**Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Kumar M.R.** (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release* 113 (3), 189-207.

**Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorizationassay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.

**Remila S., Atmani-Kilani D., Delemasure S., Connat J.-L., Azib L., Richard T., and Atmani D.** (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3): 274–286.

**Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N. and Tattini M.,** (2002). Identification and quantification of galloyls derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, 13: 79-86.

## S

**S. Paraschos., S. Mitakou., A.-L. Skaltsounis.** (2012). Chios Gum Mastic: A Review of its Biological Activities. *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 19, No. 14.

**Saleh Abu-Lafi., Fuad Al-Rimawi., Jehad Abbadi., Saleh. A. Naser and Khaled Qabaha.** (2020). *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 14(7), p. 317-325.

**Sebei K., Boukhchina S., Kallel H.** (2007). Évolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (*Brassica napus* L.). *Comptes Rendus Biologies*, 330(1), 55-61.

**Seigue A.** (1985). *La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes*, Maisonneuve & Larose, pp 22- 27, pp 137 – 139

**Shi H, Noguchi N, Niki E.** (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymol* 2001;335:157-66.

**Silva D.M.d., Riet-Correa F., Medeiros R.M., Oliveira O. F. d.** (2006). Toxic plants for livestock in the western and eastern Seridó, state of Rio Grande do Norte, in the Brazilian semiarid. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 26(4), 223-236

**Sindhu. S. Nair., Vaibhavi Kavrekar and Anshu Mishra.** (2013). *In vitro* studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, 2013, 3(1):128-132.

**Singhal Manmohan., Arindam Paul., Hemendra Pratap Singh., Sushil Kumar Dubey and Kalpesh Gaur.** (2011). Evaluation of Reducing Power Assay of Chalcone Semicarbazones. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2011, 3(3):639-645.

**Smail-Saadoun, N.** (2005). Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* desf. ssp. *Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens, (63), PP. 369-371.

**Solayman ., Yousuf A., Fahmida A., Asiful I., Nadia A., Md. Ibrahim Kh., Siew H.G.** (2016). Polyphenols: Potential Future Arsenal in the Treatment of Diabetes. *Current Pharmaceutical Design*, 22, 549-565.

**Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D.** (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.

**Szydłowska-Czerniaka A., Dianoczki C., Recseg K., Karlovits G., Szlyk E.** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 2008;76:899-905.

## T

**Tdera K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka.** (2006). Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*, 52, 149-153.

**Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A.** (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816–822.

**Trabelsi H., Cherif O.A., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud, J., Barouh N., Boukhchina S., Mayer P.** (2012). Total lipid content, fatty acids 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food chemistry*, 131, PP.434-440.

## V

**Van Acker S.A., Van Den Berg D.J., Tromp M.N., Griffioen D.H., Bennis W.P., Van Der Vijgh W.J., Bast A** (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 331-342.

**Vauzour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G., Oruna-Concha M. J., Spencer J. P. E.** (2010). Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients* 2, 1106-1131.

**Vaya J. and Mahmood S.** (2006). Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *Biofactors*, 28: 169-175.

## W

**Wang L., Yen J.H., Liang H.L., Wu M.J.** (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Journal of food and drug Analysis*, 11(1), 60-66.

**Wang W., Wu N., Zu Y. G. et Fu Y. J.**(2008). Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry.*, **108** (3) : 1019-1022.

## X

**Xiao-Wei Yang., Min-Zhu Huang., Yong-Sheng Jin., Lian-Na Sun., Yan Song., Hai Sheng Chen.** (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia* 83 p 1169–1175.

## Y

**Yang T.T.C., Devaraj S., Jialal I.** (2012). Oxidative stress and atherosclerosis. *Journal of clinical ligand assay* 24 (1), 13-24.

## Z

**Zengin G. et al.** (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products* 53, p 244–251.

**Zitouni A.** (2017). Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes médicinales *Pistacia lentiscus. L* et *Gymnocarpos decander.* Forsk. Doctorat en biologie. Université ABOU BEKR BELKAID de TLEMCEM, p. 67.

**Ziyad B.A., Mohamed Y., Johan V., Bieke D., Kristiaan D., Debby M., Yvan V.H.**(2017). Potentially antidiabetic and antihypertensive compounds identified from *Pistacia atlantica* leaf extracts by LC fingerprinting. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 149 (2018) 547–556.

## Résumé

*Pistacia lentiscus* (Famille - Anacardiaceae), est utilisé depuis longtemps dans le système traditionnel de médicaments pour le traitement de divers types de maladies. Les découvertes scientifiques ont également révélé les vastes activités pharmacologiques des diverses parties de cette espèce.

Dans le présent travail l'objectif ultime était l'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et les flavonoïdes totaux par la méthode au trichlorure d'aluminium, l'évaluation de l'activité antioxydante et enzymatique des extraits méthanoïques des feuilles, tourteaux et huile fixe de *Pistacia lentiscus*, *in vitro*.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux a révélé des teneurs considérables dans l'extrait des feuilles et des tourteaux avec des valeurs de  $155,27 \pm 5,59$  mg EAG/g, et  $150,17 \pm 2,35$  mg EAG/g respectivement, de même la teneur la plus élevée des flavonoïdes totaux est constatée dans ces deux extraits ( $91,73 \pm 1,33$  et  $65,97 \pm 3,98$  mg EQ/g d'extrait) respectivement. Pour l'extrait (EH) aucune absorbance n'a été mesurée.

L'activité antioxydante qui a été réalisée par sept méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR, SNP, pouvoir réducteur et le test Phénanthroline) a révélé une bonne activité antioxydante et a montré que les extraits des feuilles et des tourteaux étaient les plus actifs, tandis que l'extrait d'huile était le plus faible dans la majorité des tests.

Des activités d'inhibition des enzymes d'acétylcholinestérase (AChE) et d'alpha amylase, ont montré que l'extrait des feuilles possède une forte activité inhibitrice de ces enzymes, aussi cette activité est meilleure que celle des standards avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de  $91,17 \pm 9,66$  et  $8,9 \pm 0,14$  respectivement. De même l'extrait des tourteaux a révélé une bonne activité d'inhibition des enzymes cités ci-dessus, tandis que l'extrait d'huile n'a montré aucune activité. Les activités biologiques observées peuvent être attribuées à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans les extraits.

Cette étude a démontré de bonnes activités antioxydantes, anticholinestérase et anti-alpha amylase des extraits de *P. lentiscus*, ce qui ouvre de nouvelles possibilités pour les industries pharmaceutiques et alimentaires.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus*, activité antioxydante, anti acétylcholinestérase, polyphénols, flavonoïdes.

## Abstract

*Pistacia lentiscus* (Family - Anacardiaceae), has long been used in the traditional system of drugs for the treatment of various types of diseases. Scientific discoveries have also revealed the vast pharmacological activities of various parts of this species.

In the present work the ultimate objective was the quantitative estimation of total polyphenols by the Folin-Ciocalteu method and of total flavonoids by the aluminum trichloride method, the evaluation of the antioxidant and enzymatic activity of the methanoic extracts of leaves, cake and fixed oil of *Pistacia lentiscus*, *in vitro*.

The quantitative analysis of total polyphenols revealed considerable contents in the extract of leaves and cakes with values of  $155.27 \pm 5.59$  mg EAG / g, and  $150.17 \pm 2.35$  mg EAG / g respectively. , likewise the highest content of total flavonoids is observed in these two extracts ( $91.73 \pm 1.33$  and  $65.97 \pm 3.98$  mg EQ / g of extract) respectively. For the extract (EH) no absorbance was measured.

The antioxidant activity which was achieved by seven methods (DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR, SNP, reducing power and the Phenanthroline test) revealed good antioxidant activity and showed that the extracts of the leaves and cakes were the most active , while the oil extract was the lowest in the majority of tests.

Inhibition activities of acetylcholinesterase (AChE) and alpha amylase enzymes, showed that the extract of the leaves has a strong inhibitory activity of these enzymes, so this activity is better than that of the standards with IC50 of l' order of  $91.17 \pm 9.66$  and  $8.9 \pm 0.14$  respectively. Likewise, the meal extract showed good inhibiting activity of the enzymes mentioned above, while the oil extract showed no activity.

The observed biological activities can be attributed to the presence of phenolic compounds and flavonoids in the extracts.

This study demonstrated good antioxidant, anticholinesterase and anti-alpha amylase activities of *P. lentiscus* extracts, which opens up new possibilities for the pharmaceutical and food industries.

**Key words:** *Pistacia lentiscus*, antioxidant activity, anti acetylcholinesterase, polyphenols, flavonoids.

## ملخص

لطالما استخدمت *Pistacia lentiscus* (عائلة - Anacardiaceae) في النظام التقليدي للأدوية لعلاج أنواع مختلفة من الأمراض. كشفت الاكتشافات العلمية أيضا عن الأنشطة الدوائية الواسعة لأجزاء مختلفة لهذا النوع.

في العمل الحالي. كان الهدف النهائي هو التقدير الكمي لمجموع البوليفينول بطريقة Folin ciocalteu ولجمال الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الالمنيوم وتقييم النشاط المضاد للاكسدة والنشاط الانزيمي لمستخلصات الميثانولية لاوراق، كعك، والزيت النباتي ل *Pistacia lentiscus* في المختبر.

اظهر التحليل الكمي لمجموع البوليفينول محتويات كبيرة في مستخلص الأوراق والكعك بقيم:

155.27 ± 5.59 مغ/غ، و 150.17 ± 2.35 مغ/غ على التوالي. اما بالنسبة للزيت فلم يسجل أي امتصاص.

اظهر النشاط المضاد للاكسدة الذي تم قياسه بسبعة طرق :

(خفض الطاقة واختبار الفينانثرولين SNP و GOR و CUPRAC و ABTS و DPPH)، نشاطا مضاد للاكسدة جيد.

خاصة عند مستخلصات الأوراق والكعك بينما كان مستخلص الزيت هو الأدنى في غالبية الاختبارات.

أظهرت أنشطة التثبيط لانزيم الاستيل كولين استراز وانزيم الالفا اميلاز ان مستخلص الأوراق له تأثير مثبت قوي لهذه الانزيمات، يليه مستخلص الكعك. بينما مستخلص الزيت لم يكن له أي نشاط.

يمكن ارجاع سبب هذه الأنشطة البيولوجية الى وجود الفينولات والفلافونويد في المسخلصات.

أظهرت هذه الدراسة أنشطة جيدة لمضادات الاكسدة ومضادات الكولين استراز والالفا اميلاز لمستخلصات *Pistacia lentiscus* مما يفتح إمكانيات جديدة للصناعات الغذائية و الدوائية.

**الكلمات المفتاحية:** *Pistacia lentiscus*، نشاط مضاد للاكسدة، مضاد للاستيل كولين استراز، بولي فينول، فلافونويد.

**Présentée par :** LASMAR Meriem

**Date de soutenance :** 13-09-2020

LARIBI Amina

**Année universitaire :** 2019-2020

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie de la nutrition

**Thème :** Etude de l'activité antioxydante et enzymatique des extraits de la plante médicinale  
*Pistacia lentiscus*.

### Résumé :

*Pistacia lentiscus* (Famille - Anacardiaceae), est utilisé depuis longtemps dans le système traditionnel de médicaments pour le traitement de divers types de maladies. Les découvertes scientifiques ont également révélé les vastes activités pharmacologiques des diverses parties de cette espèce.

Dans le présent travail l'objectif ultime était l'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et les flavonoïdes totaux par la méthode au trichlorure d'aluminium, l'évaluation de l'activité antioxydante et enzymatique des extraits méthanoïques des feuilles, tourteaux et huile fixe de *Pistacia lentiscus*, *in vitro*.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux a révélé des teneurs considérables dans l'extrait des feuilles et des tourteaux avec des valeurs de  $155,27 \pm 5,59$  mg EAG/g, et  $150,17 \pm 2,35$  mg EAG/g respectivement, de même la teneur la plus élevée des flavonoïdes totaux est constatée dans ces deux extraits ( $91,73 \pm 1,33$  et  $65,97 \pm 3,98$  mg EQ/g d'extrait) respectivement. Pour l'extrait (EH) aucune absorbance n'a été mesurée.

L'activité antioxydante qui a été réalisée par sept méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR, SNP, pouvoir réducteur et le test Phénanthroline) a révélé une bonne activité antioxydante et a montré que les extraits des feuilles et des tourteaux étaient les plus actifs, tandis que l'extrait d'huile était le plus faible dans la majorité des tests.

Des activités d'inhibition des enzymes d'acétylcholinestérase (AChE) et d'alpha amylase, ont montré que l'extrait des feuilles possède une forte activité inhibitrice de ces enzymes, aussi cette activité est meilleure que celle des standards avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de  $91,17 \pm 9,66$  et  $8,9 \pm 0,14$  respectivement. De même l'extrait des tourteaux a révélé une bonne activité d'inhibition des enzymes cités ci-dessus, tandis que l'extrait d'huile n'a montré aucune activité.

Les activités biologiques observées peuvent être attribuées à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans les extraits.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus*, activité antioxydante, anti acétylcholinestérase, polyphénols, flavonoïdes.

**Laboratoire de Biochimie UFM-Constantine**

**Laboratoire : CRBt**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** <sup>Mme</sup> Guendouze A. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

**Encadreur :** <sup>Mme</sup> Moussaoui S. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

**Examinatrice :** <sup>Mme</sup> Medoukali I. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.