

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude de l'activité antioxydante et anti- butyrylcholinestérase des feuilles d'olivier et de lentisque

Présenté par : KHELLAF Yasmine
ZERGANE Sofia

Le 14/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : M^{elle} Moussaoui S. (MC-B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : M^{elle} Guendouze A. (MC-B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : M^{me} Teniou S. (MA-A Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralité sur les feuilles d'olivier (<i>Olea europaea</i>)	3
1. Introduction.....	3
2. Historique.....	3
3. Taxonomie	3
4. Aire de répartition	4
4.1. Dans le monde	4
4.2. En Algérie	5
5. Description botanique	6
6. Composition chimique des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	8
7. Vertus thérapeutiques des feuilles d'olivier	9
7.1. Utilisation traditionnelle	9
7.2. Activités pharmacologiques des extraits de feuilles d'olivier	10
7.2.1. Activité antimicrobienne.....	10
7.2.2. Activité hypoglycémiante	11
7.2.3. Activité hypotensive	11
7.2.4. Activité hypocholestérolémiante	12
7.2.5. Activité antioxydante	12
Chapitre 2 : Généralités sur <i>Pistacia lentiscus</i>	14
1. Introduction :.....	14
2. Taxonomie	15
3. Répartition géographique.....	15
3.1. Dans le monde	15
3.2. En Algérie	16
4. Description botanique	17
5. Composition chimique.....	19
6. Utilisation thérapeutique et traditionnelle.....	21
7. Propriétés biologiques et pharmaceutiques.....	21
7.1. Activité antioxydante	22

7.2. Activité Antimicrobienne et antivirale	23
7.3. Activité anti inflammatoire	23
7.4. Activité anti cancéreuse	23
Chapitre 3 : Oxydation et antioxydants	24
1. Oxydation.....	24
1.1. Mécanismes de l'oxydation	24
2. Stress oxydatif et antioxydants	25
2.1. Stress oxydatif.....	25
2.2. Antioxydants	26
2.2.1. Antioxydants enzymatiques	26
2.2.2. Antioxydants non enzymatiques	27
2.3. Mécanisme d'action des antioxydants	28
3. Polyphénols.....	29
3.1. Généralités	29
3.2. Classification des polyphénols.....	29
3.2.1. Polyphénols simples	29
3.2.2. Polyphénols complexes (tanins)	30
3.3. Intérêts thérapeutiques des polyphénols	31
3.3.1. Polyphénols et cancer	31
3.3.2. Polyphénols et maladies cardiovasculaires	31
3.3.3. Polyphénols et inflammation	31
3.3.4. Polyphénols et maladies neurodégénératives	32
MATERIEL ET METHODES.....	33
1. Matériel.....	33
1.1. Matériel végétal	33
1.1.3. Séchage, broyage et conservation du matériel végétal	33
1.2. Matériel non biologique	34
2. Méthodologie	35
2.1. Extraction solide-liquide (Extraction des composés phénoliques par macération)	35
2.2. Extraction liquide-liquide	37
2.3. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits	39
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	39
2.4. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits	40
2.4.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH	40

2.4.3. Pouvoir réducteur (FRAP)	42
2.4.4. Activité Phénanthroline	42
2.4.5. Activité Silver nanoparticule (SNP)	43
2.5. Evaluation de l'activité enzymatique des extraits.....	43
2.5.1. Activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase	43
RESULTATS ET DISCUSSION	46
1. Dosage des polyphénols totaux.....	45
2. Evaluation de l'activité antioxydante	47
2.1. Test DPPH radical libre	47
2.2. Test par piégeage du radical ABTS ^{•+}	49
2.3. Pouvoir réducteur (FRAP)	52
2.4. Test du silver nanoparticule (SNP).....	54
2.5. Activité Phénanthroline	55
4. Evaluation de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase	57
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	



Remerciements

En premier lieu nous tenons à dire « El-Hamdouli 'Allah », merci à Dieu de nous avoir donné la santé, le courage, la force et la volonté de terminer ce travail, ainsi que le soutien de nos parents que nous remercions de tous cœur pour leurs encouragements.


*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Dr. Moussaoui Samira**, qu'on remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, ses précieux conseils, sa rigueur, ainsi que sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier **Dr. Guendouz A** et **Dr. Teniou S.** de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nous remercions également **Pr. KABOUCHE Zahia** directrice du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) qui nous a accueilli pour la réalisation de notre travail au niveau de son établissement, ainsi que toute l'équipe de laboratoire pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.*

*Nous remercions toute l'équipe de Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT), et spécialement le chef de laboratoire biochimie **Dr. BENSOUICI Chaouki** pour son aide à l'acceptation et l'opportunité d'effectuer un stage dans les meilleures conditions.*

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à toutes les personnes et nos amies qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et espérons que ce travail donnera satisfaction au jury et fera honneur à notre département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.





Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma mère Abla, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et les précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père Kamel, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

A toi ma tante Moubaraka, ceci est ma profonde gratitude pour éternel amour, que ce rapport soit une Charité continue dieu garde ton âme en paix.

À mes chers frères et sœurs pour leur encouragement permanent, et leur soutien moral au long de mon parcours universitaire et particulièrement ma grande sœur Noussaïba, Mon affection pour vous est sans limite, votre soutien a sans doute été important pour le bon déroulement de mes études.

A mes deux bouts de sucre Soundous et Salsabil mes adorables petites cousines, qui savent toujours comment parquer la joie et le bonheur à mon cœur.

Sans oublier mon binôme Yasmine pour son soutien, l'esprit d'équipe et sa compréhension tout au long de ce projet.

*A tous mes amies son exception et surtout Amel, Doha et Youssra
Veuillez trouver ici l'expression de mes profonds sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien que vous ne m'avez jamais cessé de m'a porté.*

A toute personne qui a un sentiment d'amour et de respect envers moi.

A tous mes collègues ceux qu'ont contribués de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

A la petite Sofia, qui rêvait de ce moment, à Sofia, qui s'est battue, a été patiente, et a cru en elle pour atteindre ses premiers objectifs. Merci beaucoup de vous avoir fait confiance et d'avoir surmonté la plupart des obstacles. Merci de m'avoir fait sourire aujourd'hui, je suis fier de toi continue comme ça.



Sofia



Dédicace

Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur Mohamed le messager de Dieu Je voudrais dédier ce modeste travail :

À la reine qui m'a mis au monde à la première femme qui m'a appris les lettres, la lecture et l'écriture à mon amie et ma compagne à ma chère mère Karima.

À mon bras droit à celui qui a grandi et passé sa vie pour le plaisir de mes études, mon compagnon et mon soutien, ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation, à mon cher père Yacine.

À mes chères sœurs Douaa, Anfel et Ibada pour leurs encouragements, et leur soutien moral et à mon cher petit frère Abd Maoula.

À mon binôme Sofia celle qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments. Merci énormément pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de ce projet.

À la mémoire de mon cher grand père Rabah paix a son âme.

À ma chère copine Houyame.

À toute ma famille et à tous qui aime Yasmine et que j'aime.



Yasmine

Liste des abréviations

A_{0.5} : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AChE : Acétylthiocholinestérase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

Ag⁺ : Ion argent.

AgNO₃ : Nitrate d'argent

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

ArO•: Aryloxy.

ArOH: Phenol.

BChE: Enzyme butyrylcholinestérase.

BuCi : S-Butyrylthiocholine iodide.

CH₃COOK : Acetate de potassium.

Cm : Centimètre.

CI₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%.

CRBt : Centre de recherche en biotechnologie.

DTNB : Réactif d'Ellman.

DPPH : 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèces Oxygène Réactives.

FCR : Folin Ciocalteu.

Fe : Fer

Fe²⁺ : Ion fer ferreux.

Fe³⁺ : Ion fer ferrique.

FeCl₃ : Chlorure du fer.

GPX : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion réduit.

H⁺: Ions hydrogène.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

HO₂• : Radical perhydroxyle.

IKI : iode / iodure de potassium.

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium.

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium.

LDL : Lipoprotéine Faible Densité.

LDL-C : Cholestérol des lipoprotéines de basse densité.

LM : extrait mé-ethanolique des feuilles de lentisque.

LOST : Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques

MeOH : Méthanol.

Mg : Magnésium.

MnO₂ : Dioxyde de manganèse.

Mo₈O₂₃ : Molybdène.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NADPH : Nicotinamide adénosine dinucléotide phosphate (sous sa forme réduite).

O₂• : Radical Superoxydes :

OA : extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier.

OCH : extrait de chloroforme des feuilles d'olivier.

OH : Radical hydroxyle.

OH• : Radicaux hydroxyls.

OM : extrait methanolique des feuilles d'olivier.

PH : Potentiel hydrogène.

RO• : Radical alkoxy (Carbonyle Excité).

ROO• : Radical peroxy.

ROOH : Hydroperoxyde.

SNP : Silver nanoparticule.

SOD : Superoxyde dismutase.

T3 : Triiodothyronine.

T4 : Thyroxine.

TC : Total.

TCA : Acide trichloroacétique.

TG : Triglycérides.

Trolox : Acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

TSH: Thyroid-stimulating hormone.

UV: Ultraviolet.

V : Volume.

W₈O₂₃ : Oxydes De Tungstène.

Liste des figures

Figure 01 : Carte du monde oléicole.	5
Figure 02 : Carte oléicole d'Algérie.	6
Figure 03 : Feuilles d'olivier.	7
Figure 04 : Fleurs d'olivier.	7
Figure 05 : Fruits d'un olivier.	8
Figure 06 : Distribution géographique du genre <i>Pistacia</i> (zone colorée en mauve).	15
Figure 07 : Distribution de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> en Algérie.	15
Figure 08 : Fleurs de <i>Pistacia lentiscus</i> .	16
Figure 09 : Fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> .	17
Figure 10 : Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .	17
Figure 11 : Résine de <i>Pistacia lentiscus</i> .	18
Figure 12 : Radicaux libres et leurs espèces.	23
Figure 13 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène	25
Figure 14 : Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène.	27
Figure 15 : Neutralisation des radicaux libre par les antioxydants.	28
Figure 16 : Squelette de base des flavonoïdes.	29
Figure 17 : Feuilles d' <i>Olea europaea</i> et de <i>P. lentiscus</i> séchées et broyées en poudre.	33
Figure 18 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique des feuilles de lentisque.	35
Figure 19 : Protocole d'extraction liquide-liquide.	37
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	44
Figure 21 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).	46
Figure 22 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition du radical DPPH des extraits par rapport aux standards Trolox et Acide ascorbique.	47
Figure 23 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).	49
Figure 24 : Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} du test ABTS pour les différents extraits et standards.	49

Liste des tableaux

Figure 25 : Profil microplaque du test pouvoir réducteur.	51
Figure 26 : Histogramme représentant le pouvoir réducteur des extraits et des standards.	51
Figure 27 : La microplaque de dosage de l'activité de Silver nanoparticule.	53
Figure 28 : Histogramme représentant le pouvoir réducteur des ions Ag ⁺ des extraits et standards.	53
Figure 29 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité phénanthroline.	55
Figure 30 : Histogramme d'absorbance en fonction des concentrations des standards et les extraits du test phénanthroline.	55
Figure 31 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité enzymatique butyrylcholinestérase.	57
Figure 32 : Histogramme représentant les valeurs d'IC ₅₀ des extraits et standard pour l'activité butyrylcholinestérase.	57

Tableau 01 : Composition chimique globale des feuilles d'olivier.	9
Tableau 02 : Dénomination de <i>Pistacia lentiscus</i> selon les pays.	13
Tableau 03 : Composition chimique des différentes parties de la plante.	19
Tableau 04 : Effets biologiques et pharmacologiques étudiés de <i>Pistacia lentiscus</i> .	21
Tableau 05 : Gamme d'étalon de l'acide gallique.	39
Tableau 06 : Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits.	44
Tableau 07 : Activité antiradicalaire au DPPH des extraits exprimés en CI_{50} .	47
Tableau 08 : Valeurs d' IC_{50} de différents extraits et standards effectués par le test $ABTS\bullet^+$.	50
Tableau 09 : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance ($A_{0,5} \mu g/ml$) du pouvoir réducteur des extraits et standards.	52
Tableau 10 : Activité SNP des extraits et standards exprimée en $A_{0,5}$.	54
Tableau 11 : Différentes valeurs des $A_{0,50}$ de l'activité phénanthroline.	56
Tableau 12 : Valeurs de la CI_{50} de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase par les extraits.	58

A decorative black and white floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

INTRODUCTION

Introduction

Depuis longtemps, les plantes étaient connues pour leurs intérêts divers et leur arsenal naturel, servant de source fiable de nutriments, et des composants thérapeutiques comme des remèdes pour soulager et soigner les maladies humaines. Les personnes cherchent à savoir pourquoi ou comment ils agissent, mais c'est un fait incontesté.

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », qu'est un générateur des radicaux libres suite à un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants, impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution (**Moon J.K. et Shibamoto T., 2009**).

La surproduction exagérée des radicaux libres peut être à l'origine des lésions directes des molécules biologiques en réagissant avec l'ADN, lipides, protéines et glucides, ce qui conduit à l'apparition de certaines pathologies comme les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires...

De nombreuses études sur les plantes médicinales ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activité biologique antioxydante responsable de lutter contre le stress oxydatif ; telles que les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes ...etc.

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes intéressés à deux plantes médicinales méditerranéennes connues pour leurs propriétés thérapeutiques, la première est l'olivier (*Olea europaea L*), qui est la plus connue par leur production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques (**Djenane D. et al., 2012**). Par ailleurs, les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine (**Bisignano G. et al., 1999 ; Sudjanan A. et al., 2009 ; Aouidi F. 2012**). Ces composés possèdent entre autres un large éventail d'activités biologiques : antioxydante, antivirale, antimicrobienne qui les rendent très importants pour les domaines de la santé publique et l'industrie agroalimentaire. La seconde est représentée par le lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) qui est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiacees, connue pour ses vertus dans le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma et les calculs rénaux (**Gardeli C. et al., 2008**).

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et anti-butyrylcholinestérase des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* et d'*Olea europaea*, qui sont des plantes largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

Cette étude est subdivisée en deux parties essentielles :

- ✚ La première partie présente une synthèse bibliographique ; dans laquelle nous apportons un premier chapitre consacré à l'étude d'*Olea europaea*, un second chapitre porte sur des généralités de *Pistacia lentiscus* et un troisième chapitre qui apporte des informations sur l'oxydation et les antioxydants.
- ✚ La deuxième partie expérimentale répartie en deux chapitres dont le premier décrit le matériel et les méthodes utilisés (extraction des polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante enzymatique *in vitro*), le deuxième chapitre expose l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion.
- ✚ Et enfin, une conclusion générale parachève le travail réalisé.

A decorative black floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralité sur les feuilles d'olivier (*Olea europaea*)

1. Introduction

Depuis l'antiquité, l'olivier a façonné le paysage méditerranéen (**Doveri S. et Baldoni L., 2007**). Il est connu chez les phéniciens depuis la haute antiquité ; il est désigné par le mot « Zeitoun », ce mot est couramment employé dans le vocabulaire Amazigh (**Boudribila M., 2004**).

Dans le coran, l'olivier a été mentionné six fois à divers endroits, parmi lesquels un verset coranique cité au début de la sourate « Al-tine » (**Labdaoui D., 2017**).

2. Historique

L'olivier (*Olea europaea L.*) est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive qui est utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques (**Djenane D. et al., 2012**).

Il était dans l'antiquité grecque et romaine, un emblème de fécondité et un symbole de paix et de gloire. Le nom scientifique de l'arbre *Olea* vient d'un mot qui signifiait "huile" chez les grecques de l'antiquité (**Loussert R. et Brousse G., 1978**).

3. Taxonomie

L'olivier est classé par **Cronquist A., (1981)** comme suit :

- Règne : Plantae
- Sous règne : Spermaphytes
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous classe : Scrophulariales
- Famille : Oleaceae
- Genre : *Olea*
- Espèce : *Olea europaea L.*

L'olivier appartient à la famille des Oléacées. Son genre, *Olea* se compose de 35 espèces (Cordio A.I. *et al.*, 2008). Parmi lesquelles on trouve, *Olea europaea* L. qui est la seule espèce qui produit des fruits consommables (De casas R.R. *et al.*, 2006) avec deux sous espèces :

✓ *Olea oleaster* "oléastre" (*Olea europaeasubsp. Europaeavar. sylvestris*): qui se présente sous une forme spontanée comme un buisson épineux et à fruit ordinairement petit.

✓ *Olea sativa* "olivier cultivé" (*Olea europaeasubsp. Europaea var. sativa*) : il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou par greffage (Calado F. et Fausto J., 1987).

4. Aire de répartition

4.1. Dans le monde

Le bassin méditerranéen est considéré comme son lieu de prédilection avec près de 95% d'oliviers (Benhayoun G. et Lazzeri Y., 2007), mais cela n'empêche pas sa culture dans d'autres régions du monde. Aujourd'hui, l'olivier est cultivé dans toutes les régions du monde entre les latitudes 30° et 45°, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'au Japon et en Chine. Sur la figure 1 ; les pays en vert foncé (Turquie, Espagne, Portugal, Maroc, Italie et la Grèce) sont les pays ayant la plus importante production d'olives et d'huile d'olive. Les pays en vert clair sont des pays fournisseurs mais pas autant que les précédents. Les pays en jaune sont les pays les moins productifs (Su C. *et al.*, 2018).



Figure 01 : Carte du monde oléicole (COI, 2018).

4.2. En Algérie

C'est une activité héritée des temps anciens de la civilisation phénicienne, notamment en Algérie, où la culture de l'olivier est l'une des cultures fruitières les plus répandues et représente plus de 50% du bosquet de l'arbre national. L'olivieraie occupe 45% du verger arboré, le nombre total d'arbres qu'il contient est de 32 millions d'arbres et il occupe 75% de la superficie agricole utile dans un conteneur, qui mesure environ 34739,080 pieds, et selon les informations du ministère de l'Agriculture, les superficies oléicoles en Algérie ont considérablement augmenté de 170 mille hectares en 2000 à 487 mille hectares en 2017 (**Figure 02**) (Oreggia M. et Marinelli L., 2017).

La culture de l'olivier se situe dans les régions montagneuses et est divisée en un certain nombre de régions, à savoir :

- **Centre nord** : qui comprend notamment Tizi Ouzou, Bouira et Bejaia avec 54,3%.
- **Est** : Jijel, Skikda, Guelma et Mila avec 28,3%.
- **Ouest** : qui occupe 17 % Tlemcen, Relizane, Sig et Mascara (**Aggoun-Arhab M., 2016**).

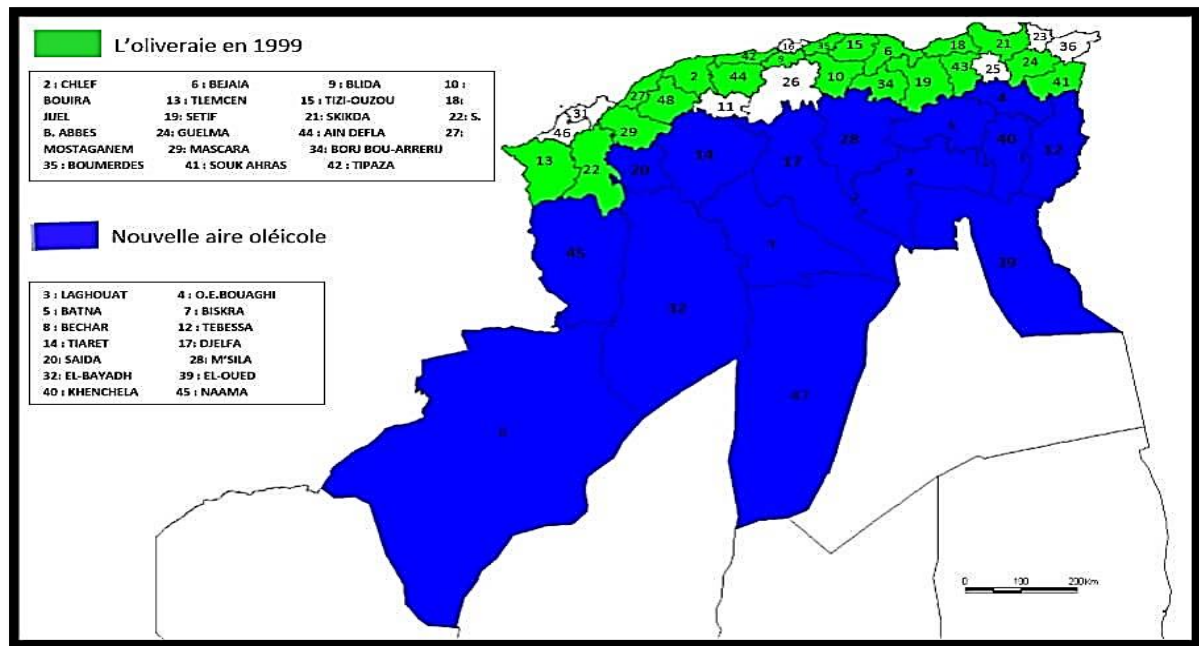


Figure 02 : Carte oléicole d'Algérie (Boukhari M., 2013).

5. Description botanique

L'olivier est une espèce à une croissance lente, tolérante au stress de la sécheresse et à une durée de vie extrêmement longue d'environ 500 ans, persistante dans la région méditerranéenne, où sa croissance est rythmée dans les régions tempérées qui permettent le développement dans différentes conditions environnementales caractérisées par son tronc, par son pouvoir de développer la croissance latérale et par le fait que ses racines sont difficiles à détruire (Benguendouz A., 2019).

C'est un arbre de taille moyenne, polymorphe avec une différence entre les feuilles du stade juvénile et celles du stade adulte. Au tronc noueux, très rameux, à l'écorce brune crevassée, au bois dur et dense, a une grandeur moyenne peut atteindre à une hauteur de 15 jusqu'à 20 mètres, et vivre très longtemps. Il s'adapte aux conditions parfaitement : d'un climat subtropical sec, hiver doux, automne au printemps pluvieux, été chaud et sec, une grande luminosité et la température comprise entre 13 et 22 °C (Selaimia R., 2018).

L'olivier se caractérise par le système aérien suivant :

- **Feuilles** : sont simples, entières, à pétiole court et à limbe lancéolé qui se termine par un mucron, elles sont de petite taille (3 à 8 cm de long et de 1 à 2,5 cm de large). Les feuilles sont opposées et persistantes, leur durée de vie est de l'ordre de 3 ans

(Benguendouz A., 2019). Elles possèdent des caractères nettement xérophytiques (épiderme supérieur fortement cuisiné et épiderme inférieur recouverts de poils) (Gharabi D., 2018). Les feuilles sont taillées avec des bords rotatifs. La face supérieure est vert foncé brillant, tandis que la face inférieure à un aspect argenté en raison de la purine. Les surfaces des feuilles exposées au soleil sont protégées par un teint vert foncé à texture vitreuse hydrofuge. Le dessous est lisse et contrôle l'écoulement de l'eau à travers un cheveu qui le recouvre comme un parapluie (Figure 03) (Fernández-Escobar R. *et al.*, 2012).



Figure 03 : Feuilles d'olivier (Selaimai H. *et al.*, 2019).

• **Fleurs :** Selon Loussert R. et Brousse G. (1978), les fleurs sont regroupées en petites grappes dressées à l'aisselle des feuilles. La fleur est constituée de 4 sépales, 4 pétales, 2 étamines et 2 carpelles. Elles sont hermaphrodites c'est-à-dire constitué des organes masculins et féminins (deux étamines +un pistil) (Labdaoui D., 2017). Les fleurs d'olivier sont groupées en inflorescence en grappes (de 10 à 40 fleurs). La longueur du stade de floraison de l'olivier se situe entre Avril et Juin, selon les conditions climatiques dominantes. La floraison se produit lorsque la température météorologique est établie à une température supérieure à 20 °C (Figure 04) (Wiesman Z., 2009).



Figure 04 : Fleurs d'olivier (Selaimai H. *et al.*, 2019).

• **Fruits** : le fruit de l'olivier est une drupe sphérique qui change généralement de couleur du vert au violet ou presque noir, lorsqu'elle est complètement mûre, à mésocarpe charnu, indéhiscente, à noyau (Chafaa S., 2013). La pulpe dense (représente 80% du poids total du fruit), la forme est allongée, ovale et évolue selon les variétés (1 à 4 cm de longueur et de 0.60 à 2 cm de diamètre), dont l'huile est un composant essentiel de la plante (**Figure 05**). Riche en acides gras insaturés, en vitamine E et en polyphénols. Un arbre peut produire en moyenne 15 à 50 kg d'olives, il peut donner 3 à 10 litres d'huile d'olive selon les variétés (**Boulkroune H., 2018**).



Figure 05 : Fruits d'un olivier (Selaimai H. *et al.*, 2019).

6. Composition chimique des feuilles d'*Olea europaea*

La composition chimique des feuilles et brindilles varie en fonction de nombreux facteurs (variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, proportion de bois, âge des plantations, etc..). Les feuilles fraîches d'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%, celle des feuilles sèches autour de 90% (**Civantos L. 1983**).

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tels que les tannins) et principalement par des polysaccharides tels que la cellulose et l'hémicellulose (**Martin-Garcia L. et al., 2006**).

La teneur en protéine est faible dans les feuilles d'olivier. La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, dont l'oleuropéside et en phénols. Elle exerce des

activités antioxydants, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles elle est utilisée sous forme de spécialité phytothérapeutique (**Tableau 01**) (**Zarzuelo A. et al., 1991 ; Gonzalez M. et al., 1992**).

Tableau 01 : Composition chimique globale des feuilles d'olivier (**Boudhrioua N. et al., 2009**).

Composition (En %)	Dose (exprimé en g par 100 g)
Eau	46,2-49,7 a
Protéines	46,2-49,7 a
Lipides	1,0-1,3 a
Minéraux	2,8-4,4 a
Carbohydrates	2,8-4,4 a
Fibre brutes	2,8-4,4 a
Cellulose	11,4 b
Hémicellulose	13,3 b
Lignine	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b
Tannins solubles	0,3 b

a. correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b. correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

7. Vertus thérapeutiques des feuilles d'olivier

7.1. Utilisation traditionnelle

Les feuilles ont été largement utilisées aux remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (**Wainstein J. et al., 2013**).

Des études indiquent que boire du thé aux feuilles d'olivier est une méthode utilisée depuis des siècles par les cultures du Moyen-Orient pour traiter des affections telles que la toux, les maux de gorge, la cystite et la fièvre (**Lee O.H. et al., 2009**). De plus, les feuilles d'olivier ont été utilisées dans des compresses pour traiter les brûlures, les éruptions cutanées, les verrues et autres problèmes de peau. Ils ont été utilisés dans

l'alimentation humaine sous forme d'extrait, de poudre et de tisane (**Karakaya S., 2009**).

Les feuilles d'olivier sont utilisées pour un usage externe et est à croquer, car il est connu pour soulager les douleurs dentaires et traiter les lèvres gercées, sous forme de décoction et de bain de bouche, il est utilisé pour traiter la stomatite, la gingivite et la glossite (maladies inflammatoires et / ou infectieuses de la langue).

Au terme de toutes ces utilisations traditionnelles, les scientifiques s'efforcent de prouver que les multiples bienfaits thérapeutiques de l'olivier résident non seulement dans l'huile d'olive, mais aussi dans les feuilles riches en "oleuropéine".

7.2. Activités pharmacologiques des extraits de feuilles d'olivier

7.2.1. Activité antimicrobienne

L'extrait de feuilles d'olivier renforcent le système immunitaire et permettent de lutter contre de nombreux agents infectieux ; bactéries, parasites, virus et certains champignons (**Walker M., 2000 ; Lee-Huang S. et al., 2003 ; Markin D. et al., 2003 ; Sudjana A.N. et al., 2009**).

Les effets antimicrobiens des polyphénols issus des feuilles d'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment ces activités biologiques (**Farhi H., 2009**), en effet les anciens égyptiens momifiaient les pharaons avec des feuilles d'oliviers pressées pour lutter contre l'attaque des bactéries, des champignons et des parasites (**Vladimir H., 2008**). De nombreuses études *in vitro* ont été effectuées pour démontrer que les extraits de feuilles d'olivier empêchent ou au moins retardent le taux de croissance de certaines bactéries (**Selaimia H. et al., 2019**). À titre d'exemple *Salmonella typhim*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Escherichia coli*, (agents causals d'infections du système gastro-intestinal ou des voies respiratoires chez l'homme (**Caturla N. et al., 2005**). L'action antibactérienne des phénols est liée à leur capacité à dénaturer les protéines et sont généralement classés comme agents agissant en surface. Leur action conduirait à la fuite des constituants cellulaires des bactéries tels que les protéines, le potassium et le phosphate. Ces effets pourraient être dus à la destruction du peptidoglycane ou aux dommages de la membrane cellulaire (**Mirad F. et Badis A., 2019**).

7.2.2. Activité hypoglycémiant

Les mécanismes hypoglycémiant provoqués par l'ingestion de plantes médicinales présentent des similitudes à ceux des classes médicamenteuses antidiabétiques connues, comme par exemple la metformine (qui favorise l'action de l'insuline, augmente l'utilisation et le stockage du glucose par les muscles, diminue la production hépatique de glucose et ralentit l'absorption intestinale du glucose), les sulfonurées (qui augmentent la libération d'insuline par le pancréas), ou encore les inhibiteurs de l' α -glucosidase, ont été identifiées (Yeh G.Y. *et al.*, 2003 ; Bnouham M. *et al.*, 2006). Depuis des millénaires on sait qu'*Olea europaea L.* améliore les troubles métaboliques et possède des propriétés antidiabétiques (Sato H. *et al.*, 2007).

De nombreux polyphénols participent à cette activité hypoglycémiant : l'oleuropéine donne de meilleurs résultats que l'extrait total de feuilles d'Olivier pour la production d'insuline, l'hydroxytyrosol améliore la sensibilité à l'insuline, la lutéoline inhibe l'augmentation postprandiale de la glycémie.

Ces substances sont également antioxydantes, et la réduction du stress oxydatif participe en partie à l'activité hypoglycémiant. De nombreuses études, portant aussi bien sur la feuille d'Olivier que sur l'huile d'olive, ont conforté l'action de la plante sur la régulation de la glycémie telle que rapportée dans le passé. Chez le rat rendu diabétique par l'alloxane, l'administration d'extraits de feuilles aux doses de 16 et 32 mg/kg entraîne une diminution très significative de la glycémie ainsi qu'une augmentation de la dose dépendante de l'utilisation périphérique du glucose (Gonzalez M. *et al.*, 1992).

7.2.3. Activité hypotensive

Les propriétés hypotensives seraient dues en grande partie à l'oleuropéine (Zaruelo A. *et al.*, 1991), et elle est également due à l'oléacine et l'acide oléanolique (Hansen K. *et al.*, 1996 ; Rodriguez-Rodriguez R. *et al.*, 2007).

D'après les travaux de Hansen K. *et al.*, (1996) et Somova L. *et al.*, (2004), la pression artérielle baisse d'une manière statistiquement significative après trois mois de traitement. Cette évaluation chimique a été réalisée à l'aide d'un extrait aqueux de feuilles d'olivier, elle a été menée dans le service de cardiologie de l'Hôpital Militaire de Tunis en 1996.

Les études cliniques de **Ghedira K. et al., (2008)** ont montré qu'une dose de 500 mg de l'extrait de feuilles d'olivier, deux fois par jour, peut remplacer une dose de 12.5-25 mg en captopril, dans l'abaissement des tensions artérielles systoliques et diastoliques chez les patients hypertendus.

7.2.4. Activité hypocholestérolémiant

L'action hypocholestérolémiant est associée à une diminution du cholestérol total (TC), cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL-C), des LDL oxydées et des triglycérides (TG) (**Jemai H. et al., 2008**).

Lors d'une étude réalisée sur les effets de l'administration d'extraits d'oleuropéine et de hydroxytyrosol chez la souris diabétique à des concentrations de 16 et 8 mg / kg de poids corporel ; les auteurs ont montré une diminution significative du taux de cholestérol chez les rats diabétiques ayant reçu de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol par rapport à un groupe témoin (**Vogel P. et al., 2015**).

Il est connu qu'une augmentation des taux d'hormones thyroïdiennes circulantes abaisse la concentration plasmatique de lipides et notamment celle du cholestérol. Ainsi, une étude récente a mis en évidence qu'un extrait de feuilles d'olivier (extrait aqueux) diminue le taux de TSH sanguin avec une augmentation de la T3 probablement due à une stimulation de la 5'-déiodinase qui converti la T4 en T3 (**Al-qarawi A.A. et al., 2002**).

7.2.5. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est faite principalement des polyphénols, composés qui continuent à faire l'objet de nombreux travaux. En 2007, des chercheurs Australiens ont conclu dans leur étude sur la capacité antioxydante de 55 plantes, que l'extrait de feuilles d'olivier présente l'activité antiradicalaire la plus importante. L'hydroxytyrosol est deux fois plus antioxydant que le resvératrol du vin rouge (**Wojcikowski K. et al., 2007**).

Les propriétés antioxydantes sont référées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes (O₂•) (**Rice-Evans C.A. et al., 1995 ; Bartosz G., 2003**).

L'oleuropéine a également un grand pouvoir antioxydant et diminue l'oxydation des lipides, en particulier les LDL, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, chez le lapin. L'étude

d'extrait de feuilles d'olivier sur les érythrocytes montre que lors d'exposition à un stress oxydatif, les érythrocytes prétraités résistent à l'oxydation des lipides et à l'hémolyse (**Benavente-Garcia O. *et al.*, 2000**).

Chapitre 2 : Généralités sur *Pistacia lentiscus*

1. Introduction :

De nos jours et malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement notamment l'Algérie (**Hajjaj G., 2017**).

La position géographique particulière de notre pays en région méditerranéenne et l'impressionnant gradient bioclimatique Nord Sud, a fait qu'une grande diversité de biotope occupée par une importante richesse floristique le caractérise. Parmi lesquelles cet arbre spontané qui pousse sur tout le bassin méditerranéen : porte le nom de pistachier de lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) (**Boumeras A. et al., 2018**).

L'espèce *Pistacia lentiscus* possède plusieurs noms vernaculaires selon les pays (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Dénomination de *Pistacia lentiscus* selon les pays (**Bougherara, M.I., 2015**).

Les pays	Noms vernaculaires
Angleterre	Chios mastic tree
Allemagne	Mastixbaum
France	Arbre au mastic, Lentisq
Espagne	Lentisco
Afrique du nord	Derw, darw (arabe)
Est Algérien	Gadhoun
Berbère	Tidekt, Tidekst

2. Taxonomie

Le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) est un arbuste du genre *Pistacia*, il appartient à la famille des Anacardiaceae, qui comprend plus d'environ 70 genres et 600 types (Landau S. *et al.*, 2014).

Taxonomie de *Pistacia lentiscus* (Abdeldjelil M., 2016) :

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Sapindales
- Famille : Anacardiaceae
- Genre : *Pistacia*
- Espèce : *Pistacia lentiscus* L.

3. Répartition géographique

3.1. Dans le monde

Le pistachier est originaire d'Asie Centrale. Présent en Turquie depuis 7000 ans avant J.C., il a été introduit en Italie dès le premier siècle avant J.C. et par la suite, sa culture s'est étendue aux autres pays méditerranéens et aux USA en 1854.

Le genre *Pistacia* L. présente une distribution disjointe en Eurasie méditerranéenne et à proximité de l'Afrique du Nord, de l'Est d'Asie, d'Amérique du Nord et d'Amérique centrale. Le Pistachier a été estimé avoir son origine à 37,60 millions d'années (Figure 06) (Xie L. *et al.*, 2014).

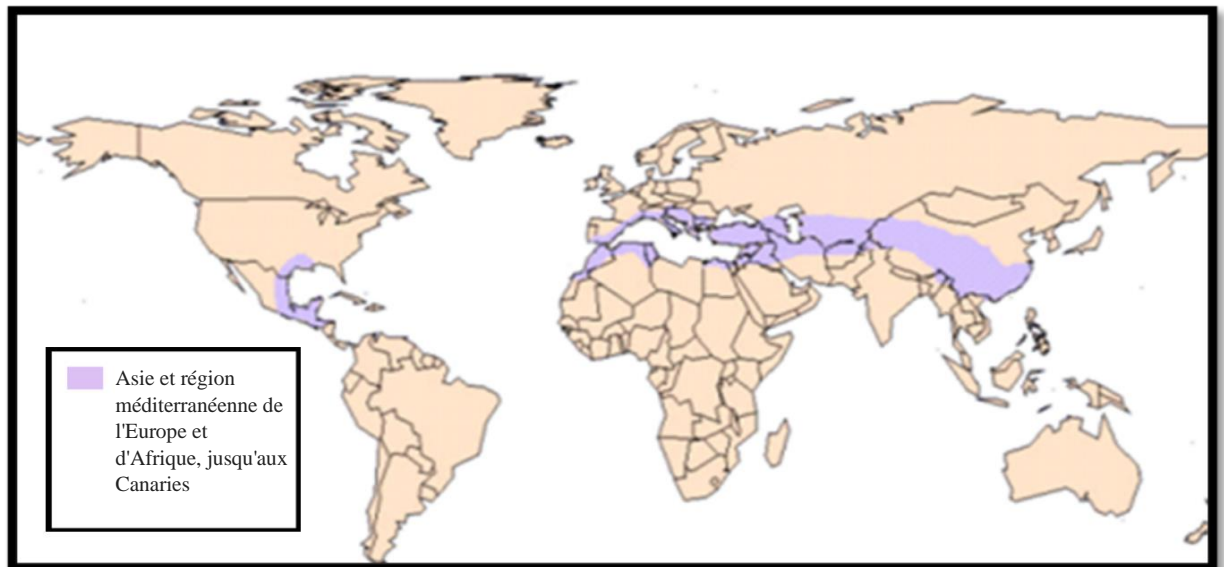


Figure 06 : Distribution géographique du genre *Pistacia* (zone colorée en mauve)
(Belfadel F., 2009).

3.2. En Algérie

En Algérie, il occupe l'étage thermo-méditerranéen, plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alpe, le chêne vert et le chêne liège. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda ; sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée (Abdeldjelil M., 2016) (Figure 07). On le retrouve sur tout type de sol subhumide et semi-aride (Abdelliche S. et Benabdalehh A., 2016) ; en préférant les terrains siliceux pauvres en potassium et en phosphore (Djerroud Z., 2011).

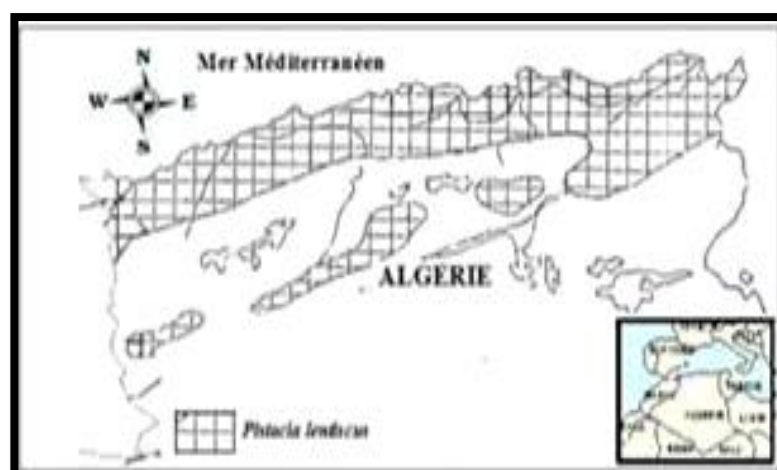


Figure 07 : Distribution de l'espèce *Pistacia lentiscus* en Algérie (Quezel P. et Santa S., 1963).

4. Description botanique

Le lentisque ou pistachier lentisque ou arbre à mastic, est un arbrisseau vivace dioïque thermophile (**More et White, 2005**), à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise à croissance très lente et à feuilles vertes persistantes et alternes (**Bock B., 2009**). Sa hauteur est de 1 à 3 mètres (**Belakhdar J., 2003**).

•**Fleurs** : Strictement unisexe, regroupées en panicules formées sur la branche précédente saison de croissance. Les fleurs mâles (8-10 par inflorescence) ont 1-2 lobes du périanthe et 8- 10 étamines à anthères rouge foncé. Les fleurs femelles (4-20 inflorescences) sont vertes et il y a deux bractéoles, 2 à 5 lobes du périanthe et une seule maison, dont un ovule (**Zaouli Y. et al., 2018**). La floraison a lieu de mi-Mars à la fin d'Avril (**Figure 08**) (**Landau S. et al., 2014**).



Figure 08 : Fleurs de *Pistacia lentiscus* (<https://www.gbif.org/species/3190583>).

•**Fruits** : Drupe, rouge puis noire à la maturité, d'environ 4 mm de diamètre (Landau S. *et al.*, 2014), la période de fructification a lieu du milieu à la fin de l'été (Juillet-Août) la maturation des fruits s'achève en automne (Octobre). Ils sont généralement une graine drupe (4-6 mm), initialement verte, puis rouge, virant au noir brillant à la maturité (Septembre-Octobre) (Figure 09) (Zaouli Y. *et al.*, 2018).



Figure 09 : Fruits de *Pistacia lentiscus* (<https://www.gbif.org/species/3190583>).

•**Feuilles** : Persistantes, composées, possédant 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 10) (Maameri H.Z., 2014).



Figure 10 : Feuilles de *Pistacia lentiscus* (<https://www.gbif.org/species/3190583>).

•**Résine** : Appelée également mastic, c'est le produit le plus connu de cette plante ; il s'agit d'une substance aromatique et résineuse qui suinte du tronc et des branches principales (**Figure 11**) (**Maameri H.Z., 2014**).



Figure 11 : Résine de *Pistacia lentiscus* (**Merzougui I., 2015**).

5. Composition chimique

La composition diffère d'une partie de la plante à une autre (**Tableau 03**), et les pourcentages des composants varie d'une région à une autre (**Doba T. et al, 2006, Amhamdi H. et al., 2009, Koutsoudaki C. et al., 2005**).

Tableau 03 : Composition chimique des différentes parties de la plante.

	Les composants	Les références
Fruits	Anthocyanes, leucoanthocyanes Tannins totaux Tannins galliques Flavonoïdes Glucosides Amidon Mucilages	(Arab K. et al., 2014)
Feuilles	Nleucoanthocyanes saponosides Sénosides Alcaloïdes Tannins totaux Tannins galliques Flavonoïdes Glucosides	(Arab K. et al., 2014)
Résine	α -pinène β - pinène β -myrcène le limonène β -caryophyllène	(Koutsoudaki C. et al., 2005)
Huile essentielle	α -pinène γ -cadinène trans β -terpinéol α -acorneo terpinen-4-ol γ -muurolene sabinène β pinène Limonène Gurjunène Germacrène, Humulène Épi bicyclosesquiphellandrène β –myrcène β –caryophyllène	(Doba T. et al., 2006 ; Amhamdi H. et al., 2009, Koutsoudaki C. et al., 2005)
Huile végétale	l'acide linoléique Undecylphénol acide palmitique pentadecylphénol Les minéraux : Na, K, Ça, Mg, Fe et Cu.	(Mekni N., 2011 ; Dhifi W. et al., 2013).

6. Utilisation thérapeutique et traditionnelle

Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, des plaies et brûlures légères. La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma). L'huile est également très utilisée pour les mêmes indications en Tunisie (**Yahya M., 1992, Iserin P., 2001, Baudoux D., 2003, Grosjean N., 2007**).

7. Propriétés biologiques et pharmaceutiques

Plusieurs activités biologiques sont prévues pour *Pistacia lentiscus* parmi ces activités : activité antioxydante, anticancéreuse, anti inflammatoire, antimicrobienne (activité antivirale, antifongique et antibactérienne). Les molécules qui sont présentes dans les différentes parties de la plante sont responsables de la présence des différentes activités biologiques (**Tableau 04**).

Tableau 04 : Effets biologiques et pharmacologiques étudiés de *Pistacia lentiscus*
(Abdeldjelil M., 2016)

Les activités	Les parties de la plante	Les Références
Antioxydante	Huile essentielle	(Khiari M.B. <i>et al.</i> , 2018)
	Fruits	(Bozorgi M. <i>et al.</i> , 2013)
	Feuilles	(Ljubuncic P. <i>et al.</i> , 2005)
Antimicrobienne	Huile essentielle	(Khiari M.B. <i>et al.</i> , 2018)
	Parties aériennes (feuilles, brindilles, fleurs)	(Barra A. <i>et al.</i> , 2007)
	Résine	(Arab K. <i>et al.</i> , 2014 ; Attouba S. <i>et al.</i> , 2014)
	Feuilles	(Mansour-Djaalab H. <i>et al.</i> , 2012)
Anti inflammatoire	Feuilles	(Boudieb K. <i>et al.</i> , 2019)
	Huile essentielle	(Khiari M.B. <i>et al.</i> , 2018)
	Résine	(Mahmoudi M. <i>et al.</i> , 2010 ; Triantafyllou A. <i>et al.</i> , 2011 ; Arab K. <i>et al.</i> , 2014 ; Attouba, S. <i>et al.</i> , 2014).
Anti cancéreuse	Résine	(Balan K. <i>et al.</i> , 2005 ; Balan K. <i>et al.</i> , 2007 ; Dimas K. <i>et al.</i> , 2009 ; Loutrari H. <i>et al.</i> , 2006 ; Moulos P. <i>et al.</i> , 2009).

7.1. Activité antioxydante

La richesse des différentes parties de *Pistacia lentiscus* en polyphénols et en flavonoïdes lui confère l'activité antioxydante et cela par le piégeage direct des ERO, l'inhibition des enzymes génératrices d'ERO, la chélation des ions de métaux de transition, responsables de la production des ERO et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (Halliwell B., 1994 ; Atmani D. *et al.*, 2009 ; Bozorgi M. *et al.*, 2013).

7.2. Activité Antimicrobienne et antivirale

Les composés phénoliques de *Pistacia lentiscus* ont un moyen de défense contre les micro-organismes. Le nombre de groupement hydroxyle augmente la toxicité ; soit par la chélation des ions métalliques, soit par des interactions non spécifiques, telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires, afin d'inactiver l'adhésion des micro-organismes (Cowan M., 1999 ; Lin Y. *et al.*, 2005).

7.3. Activité anti inflammatoire

La présence de flavonoïdes dans les différentes parties de *Pistacia lentiscus* lui confère cette activité. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines et des molécules pro-inflammatoires très actives (Manthey J., 2000 ; Bozorgi M. *et al.*, 2013).

7.4. Activité anti cancéreuse

Le cancer est le terme global employé pour décrire une croissance cellulaire sans contrôle de l'apoptose et des événements importants qui détermine la progression vers le cancer. Le principal événement du contrôle de la prolifération cellulaire est la régulation de l'apoptose (Keeble J. et Gilmore A., 2007). La gomme du mastic de *Pistacia lentiscus* contient des composés qui inhibent la prolifération et induisent l'apoptose des cellules cancéreuses (Balan K. *et al.*, 2007).

Chapitre 3 : Oxydation et antioxydants

1. Oxydation

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, qui fait flétrir les légumes et les fruits, rancir les graisses. Il modifie le goût et la couleur des aliments.

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Ces deux propriétés font que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade. Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont avant tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires, mais aussi les protéines. Dans le cas des enzymes, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort de la cellule. Il en est de même quand l'oxydation touche l'ADN ou une partie du système traduction/ transcription. L'oxygène de l'air à l'état fondamental O_2 est peu réactif par rapport à la majeure partie des molécules biologiques. Par contre il existe des formes beaucoup plus réactives et donc plus toxiques (**Figure 12**) (**Rolland Y., 2004**).

Radicaux libres :	Espèces à l'origine de radicaux libres :
- $O_2^{\bullet -}$: radical anion superoxyde	- 1O_2 : oxygène singulet
- OH^{\bullet} : radical hydroxyle	- H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène
- HO_2^{\bullet} : radical perhydroxyle	- $ROOH$: hydroperoxyde
- RO^{\bullet} : radical alkoxyle (carbonyle excité)	
- ROO^{\bullet} : radical peroxyde	

Figure 12 : Radicaux libres et leurs espèces (**Rolland Y., 2004**).

1.1.Mécanismes de l'oxydation

Traditionnellement, on décrit l'oxydation en trois phases distinctes, mais pratiquement simultanées :

Initiation : Le mécanisme réactionnel initial peut être initié par la chaleur les UV ou les ions métalliques. De même, l'oxygène triplet, stable, peut être activé en oxygène singulet, réactif, par l'intermédiaire d'un photosensibilisateur. La phase d'initiation aboutit donc à la formation d'espèces très réactives : ROOH et R• (**Rolland Y., 2004**).

Propagation : C'est une réaction radicalaire en chaîne et rapide. Elle consiste en une profusion de radicaux libres qui progressivement fixent de l'oxygène. La propagation génère des hydroperoxydes (ROOH) (**Alais C. et al., 2003**). La réaction en chaîne est courte à haute température et dans les systèmes polyinsaturés tels que les huiles de friture

Terminaison : Apparition de nouvelles espèces moléculaires anarchiques. La chaîne de propagation peut s'arrêter par la formation de polymères ou au contact avec un autre radical. Les molécules créées n'ont plus de fonction biologique (**Rolland Y., 2004**).

2. Stress oxydatif et antioxydants

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif (**Yepez B. et al., 2002**).

2.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération de radicaux libres et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd B. et al., 2003**). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif Intracellulaire (**Morel Y. et Barouki R., 1999**). Dans les systèmes vivants, une production physiologique de radicaux libres se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces réactifs est possible. Ce sont les antioxydants qui peuvent empêcher les dégâts cellulaires causés par les radicaux libres de l'oxygène (**Valko M. et al., 2007**).

2.2. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Park P. et al., 2001**).

2.2.1. Antioxydants enzymatiques

Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent à :

1. Eliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation.
2. Induire la synthèse des antioxydants.
3. Augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées.

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène (**Pelletier E. et al., 2004**) comme illustre la **figure 13**.

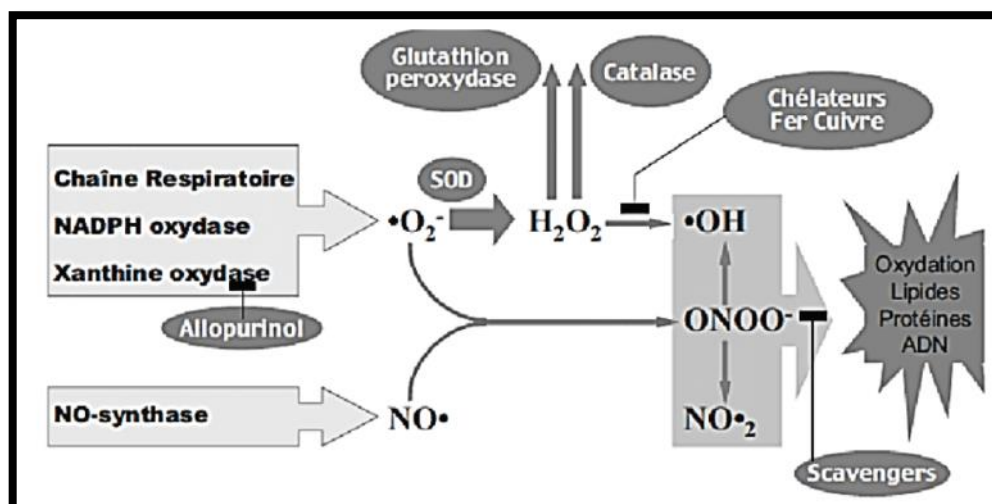
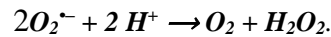
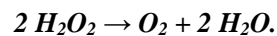


Figure 13 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (https://www.researchgate.net/figure/Action-des-antioxydants-au-cours-du-metabolisme-des-derives-reactifs-de-loxygene_fig5_338902188).

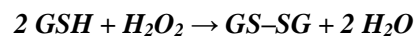
- **La superoxyde dismutase (SOD)** : C'est l'enzyme antioxydante "anti-O₂ •-" la plus importante dans toutes les cellules vasculaires car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée. L'absence de cette enzyme peut être létale.



- **La catalase** : Elle catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et des hépatocytes.



-**La glutathion peroxydase (GPX)** : Elle catalyse la réduction des hydro peroxydes (H₂O₂) et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène (Zerargui F., 2015).



2.2.2. Antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux antioxydants enzymatiques, la plupart de ces composés ne sont pas produits par l'organisme et peuvent provenir de nourriture. Ces composés comprennent de petites molécules telles que les vitamines, les caroténoïdes, les polyphénols, le glutathion et l'ubiquinone. Les antioxydants non enzymatiques sont caractérisés par de faibles poids moléculaires et la capacité à prévenir et/ou à réduire les dommages au stress oxydatif (Nimse P. *et al.*, 2015).

2.2.2.1. Acide ascorbique (vitamine C)

L'acide ascorbique ou vitamine C est hydrosoluble, même si la plupart des mammifères peuvent la synthétiser, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments. Les principales sources de vitamine C sont les fruits (en particulier les baies) et les légumes-feuilles (Ashor A.W., *et al.*, 2016).

La Vitamine C est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés aussi bien hautement réactifs tels que les radicaux d'OH et d'O₂ (Smirnoff N., 2018). Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques.

La Vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs de radicaux libres. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol (Xiong Y. *et al.*, 2017), ce qui lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Ashor A.W. *et al.*, 2016).

2.2.2.4. Polyphénols naturels comme antioxydants

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène (Figure 14). Leur structure leur confère une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyles des polyphénols sont bien des donateurs d'atomes d'hydrogènes ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactifs de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (Boubekri C. C., 2014).

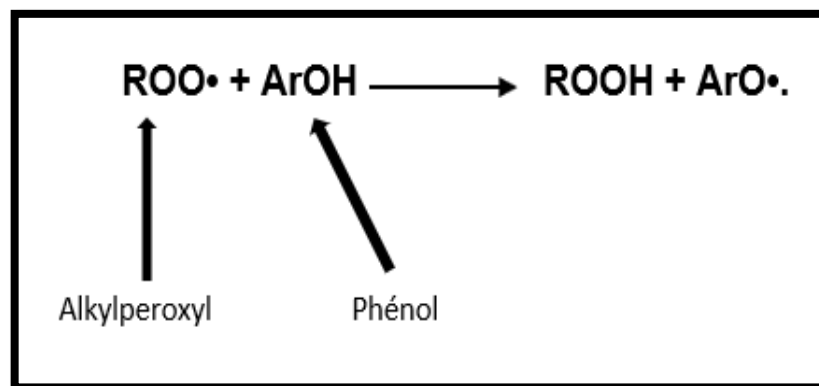


Figure 14 : Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène (Boubekri C., 2014).

2.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent inhiber l'oxydation en bloquant l'initiation de l'oxydation en réagissant avec les radicaux libres de l'oxygène (Figure 15). Ils génèrent ainsi des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un autre acide gras. D'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Hellal Z., 2011).

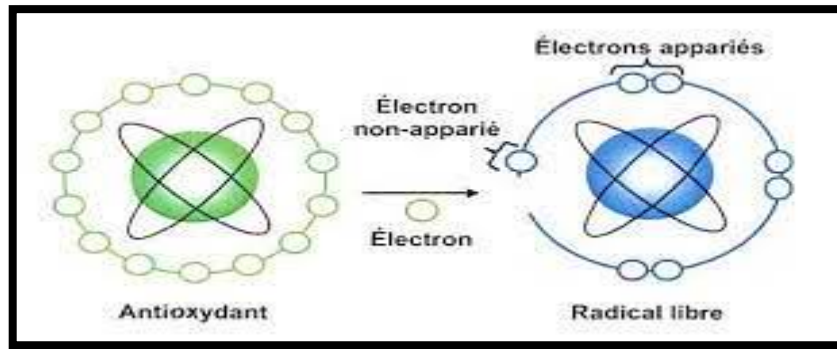


Figure 15 : Neutralisation des radicaux libre par les antioxydants (Carange J., 2010).

3. Polyphénols

3.1. Généralités

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus (Waksmundzka M. *et al.*, 2011).

Les phénols sont des composés aromatiques qui ont une structure cyclique plane, leur particularité, c'est qu'un groupe OH est lié à un atome de carbone du cycle benzénique.

La structure de base des polyphénols est composée de plusieurs noyaux phénols, ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Bruneton J., 1999).

3.2. Classification des polyphénols

3.2.1. Polyphénols simples

3.2.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Bruneton J., 2008).

3.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central

de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (**Figure16**) (**Ghedira K., 2005**). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (**Crozier A., 2003**). Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...).

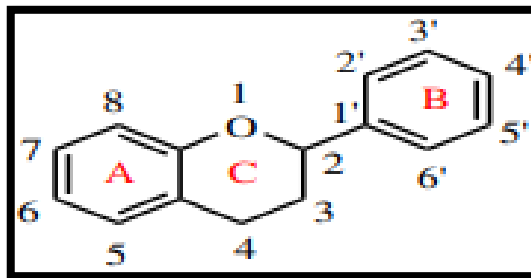


Figure 16 : Squelette de base des flavonoïdes (**Crozier A., 2003**).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7, ces substances existent généralement sous forme de glycosides (**Chira A. et al., 2008**).

3.2.1.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique (**Silva S. et al., 2010, Micol V. et al., 2005**).

3.2.2. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Aguilera-Carbo A. et al., 2008**). Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (**Paris M. et al., 1981**), d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (**Linden G. et al., 1994**).

3.3. Intérêts thérapeutiques des polyphénols

3.3.1. Polyphénols et cancer

Les propriétés anticancéreuses des polyphénols ont été mises en évidence dans de nombreuses études *in vitro*, utilisant des cultures cellulaires cancéreuses ou des animaux prétraités par des réactifs chimiques carcinogènes.

L'effet des polyphénols sur les lignées de cellules cancéreuses humaines est fréquemment protecteur et induit une réduction du nombre des tumeurs et de leur croissance (**Scalbert A. et al., 2005**). Plusieurs mécanismes d'action ont été identifiés : effets antiprolifératifs, induction de l'arrêt du cycle cellulaire ou de l'apoptose, prévention du stress oxydant, modification de la signalisation cellulaire (**Garcia I. et al., 2009**).

3.3.2. Polyphénols et maladies cardiovasculaires

Diverses études épidémiologiques ont montré l'existence d'une corrélation inverse entre la consommation des polyphénols ou d'aliments riches en polyphénols et le risque de développement de maladies cardiovasculaires. Les mécanismes d'action des polyphénols, impliqués dans la prévention de ce type de pathologies, incluent l'inhibition de l'oxydation des LDL, l'inhibition de l'agrégation des plaquettes et l'inhibition de la formation de cellules spumeuses dans les aortes (**Lamartiniere C. et al., 2002**).

3.3.3. Polyphénols et inflammation

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression, et les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement qui apparaissent suite à une agression d'un agent pathogène. Elles bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimique de l'inflammation (**Orliaguet G. et al., 2013 ; Hajjaj G., 2017**).

L'activité anti-inflammatoire des composés phénolique a été démontrée dans de nombreuses études *in-vitro* et *in-vivo* (**Santangelo C. et al., 2007**). Le stress oxydatif provoque une augmentation des activités des enzymes qui sont impliquées dans la libération des facteurs tels que les interleukines et les chimiokines (**Banzet S. et al., 2012**).

Les flavonoïdes peuvent inhiber différentes étapes de la réponse inflammatoire, ils peuvent inhiber la libération des médiateurs pro-inflammatoires, et quelques-uns

semblent modifier la fonction lymphocytaire et par conséquent la réponse immunologique (Hajjaj G., 2017).

3.3.4. Polyphénols et maladies neurodégénératives

Les maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer représentent un problème croissant lié aux pathologies du vieillissement cérébral, principalement car il y a une augmentation de la prévalence de la maladie d'Alzheimer à la fois et la maladie de Parkinson avec l'âge. Ceux-ci et d'autres maladies neurodégénératives semblent être déclenchées par des événements multi-factoriels dont la neuro-inflammation, une augmentation du stress oxydatif, de fer et / ou une déplétion des antioxydants endogènes. Par ailleurs, l'apport alimentaire régulier d'aliments riches en flavonoïdes et / ou de boissons a été associé 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 et une réduction du risque de développer la maladie de Parkinson. Les flavonoïdes peuvent agir pour protéger le cerveau dans un certain nombre de façons, y compris par la protection des neurones vulnérables, le renforcement de la fonction neuronale existantes ou en stimulant la régénération neuronale (Vauzour D. *et al*, 2010).

A decorative black and white floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

MATERIEL ET METHODES

Ce chapitre expose les matières végétales utilisées, les protocoles d'extraction, ainsi que les tests d'évaluation de l'activité antioxydante ; les mesures sont effectuées par spectrophotométrie. Ce travail est réalisé au sein du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) de l'université Frères Mentouri Constantine 1, et au laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBt).

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur deux types de feuilles :

- Les feuilles d'*Olea europaea* : dont la cueillette a eu lieu au mois de Novembre et Décembre 2021 à la commune de Bouzeguène (wilaya de Tizi Ouzou).
- Les feuilles de *Pistacia lentiscus* : ont été récoltées pendant la période du mois de Novembre 2021 à la Daïra d'El Ancer (wilaya de Jijel).

1.1.3. Séchage, broyage et conservation du matériel végétal

Cette étape est commune pour les deux plantes. Après la récolte, les échantillons ont été lavés puis séchés à l'abri de la lumière et l'humidité. La matière sèche obtenue est réduite en poudre grâce à un moulin à café puis tamisée afin d'obtenir une poudre fine (**Figure 17**). Cette dernière est conservée dans des bocaux en verre, fermés, étiquetés et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

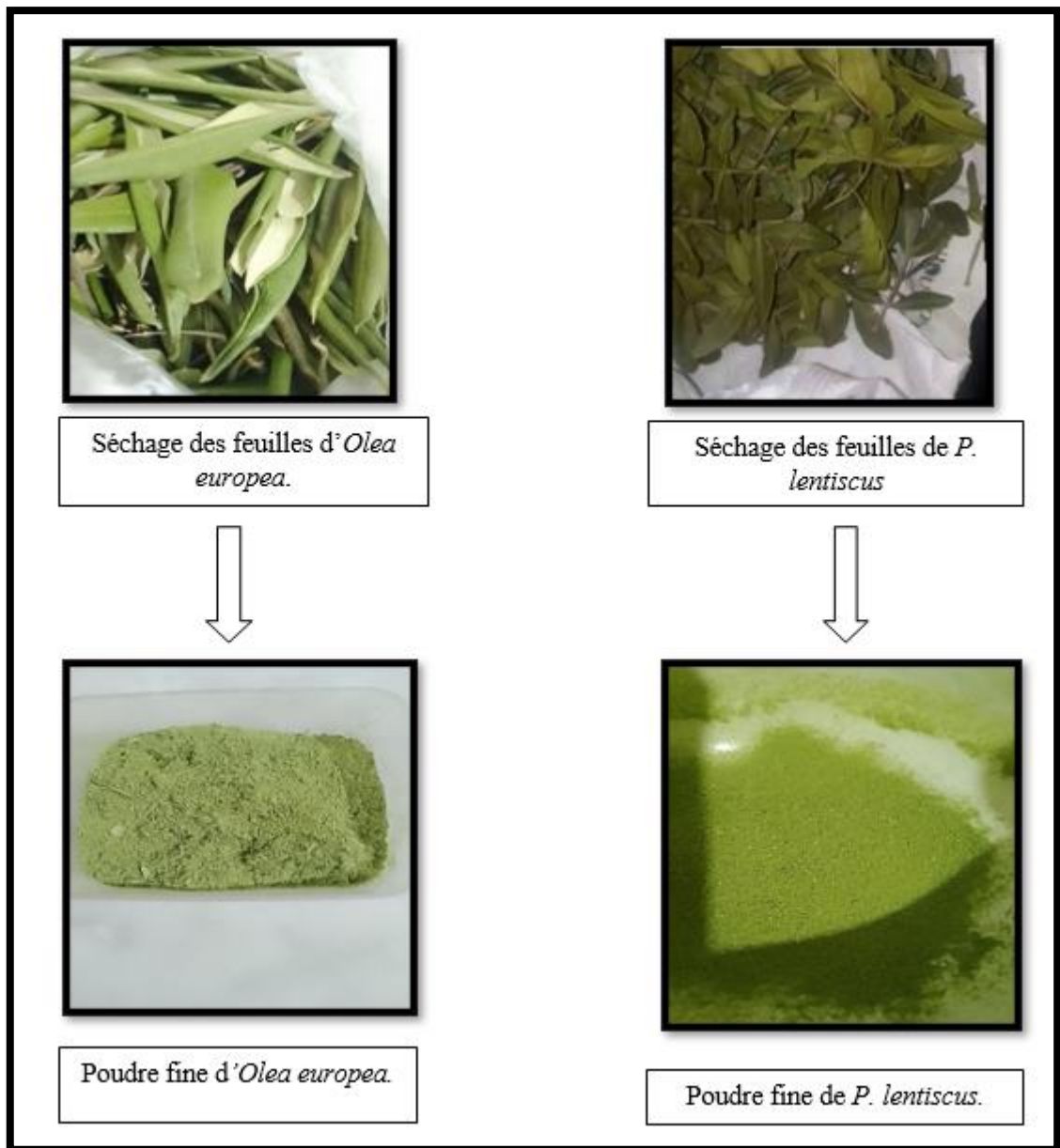


Figure 17 : Feuilles d' *Olea europaea* et de *P. lentiscus* séchées et broyées en poudre.

1.2. 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.

2. Méthodologie

2.1. Extraction solide-liquide (Extraction des composés phénoliques par macération)

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de la matière entre une phase qui contient la matière à extraire « solide », et un solvant d'extraction « liquide ». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant (**Chemmat F., 2014**).

La macération est une méthode qui consiste à laisser la poudre de la plante en contact prolongé à un solvant (**Lagnika L., 2005**). Le choix du solvant est orienté par les caractéristiques chimiques spécifiques pour chaque famille de métabolites secondaires, généralement les solvants les plus utilisés sont l'éthanol, méthanol ou même l'eau pour l'extraction des composés polaires et le dichlorométhane pour l'extraction des composés non polaires (**Rispall N. et al., 2005**).

2.1.1 Feuilles d'*Olea europaea*

L'extraction solide/liquide, a été réalisée par la macération de 100g de la matière végétale dans 500 ml du mélange hydroalcoolique MetOH/H₂O : (80/20 : v/v) pendant 72 heures avec renouvellement du solvant chaque 24 heures à l'abri de la lumière et sous agitation, ceci pour permettre d'extraire le maximum des principes actifs (polyphénols). Le volume total des extraits hydroalcooliques est filtré sur un papier filtre puis évaporer à sec sous agitation et chauffage réduit à 40°C dans un évaporateur rotatif. 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 la lumière pour bien s'assurer que les résidus du solvant vont s'évaporer (**Figure 18**).

2.1.2 Feuilles de *Pistacia lentiscus*

Pour les feuilles de lentisque nous avons utilisé le même protocole et les mêmes étapes (Figure 18).

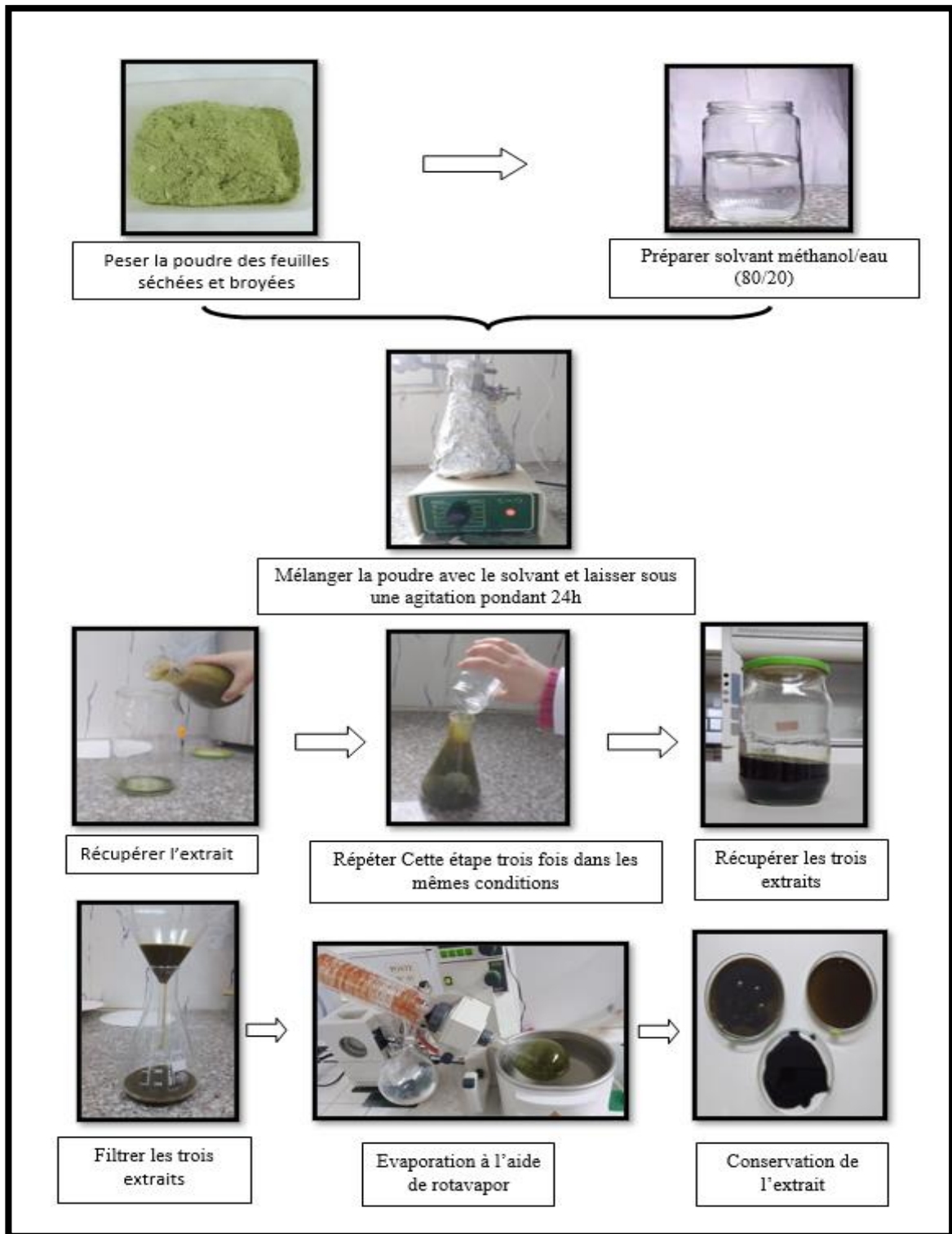


Figure 18 : Protocole de préparation de l'extrait méthonolique des feuilles de lentisque.

2.2. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est la plus simple des méthodes de séparation. Elle consiste à faire passer des métabolites (solutés) dissous dans une phase liquide, à une seconde phase liquide non miscible à la première. En pratique, les solutés sont souvent dans une phase aqueuse. Un solvant organique est utilisé pour les extraire (**Lide D.R., 1996**). Cette étape permet de séparer les polyphénols selon leur structure et degré de polymérisation ; en les affrontant avec plusieurs solvants allant du moins polaire au plus polaire.

Une décantation est réalisée sur l'extrait aqueux des feuilles d'*Olea europaea* qui va subir des affrontements par des solvants de polarité croissante :

- Affrontement par l'hexane.
- Affrontement par le chloroforme.
- Affrontement par l'acétate d'éthyle.

➤ **Affrontement par l'hexane**

L'extrait aqueux est mélangé avec l'hexane, pour éliminer les acides gras et les impuretés qui sont les composés non phénoliques risquant de gêner la suite des opérations. La phase organique est supérieure et la phase aqueuse est inférieure. L'extraction est refaite plusieurs fois jusqu'à ce que le solvant (hexane) devient transparent.

➤ **Affrontement par le chloroforme**

La phase aqueuse récupérée est mélangée avec le chloroforme qui permet l'extraction des aglycones méthoxylés et peu hydroxylés. Ici la phase aqueuse est supérieure et la phase organique est inférieure. Cette étape est répétée jusqu'à l'élimination du maximum des aglycones méthoxylés.

➤ **Affrontement par l'acétate d'éthyle**

Après l'élimination des acides gras et des aglycones méthoxylés ; la phase aqueuse est récupérée pour réaliser des affrontements plusieurs fois par l'acétate d'éthyle afin d'extraire les aglycones poly hydroxylés.

Ces affrontements se font dans une ampoule à décanter. La phase aqueuse et le solvant (V/V) sont mélangés en laissant sortir à chaque fois les gaz des produits. Après séparation des deux phases ; la phase organique chargée des composés spécifiques est récupérée, évaporée à sec et conservée à 4°C jusqu'à l'utilisation (**Figure 19**).

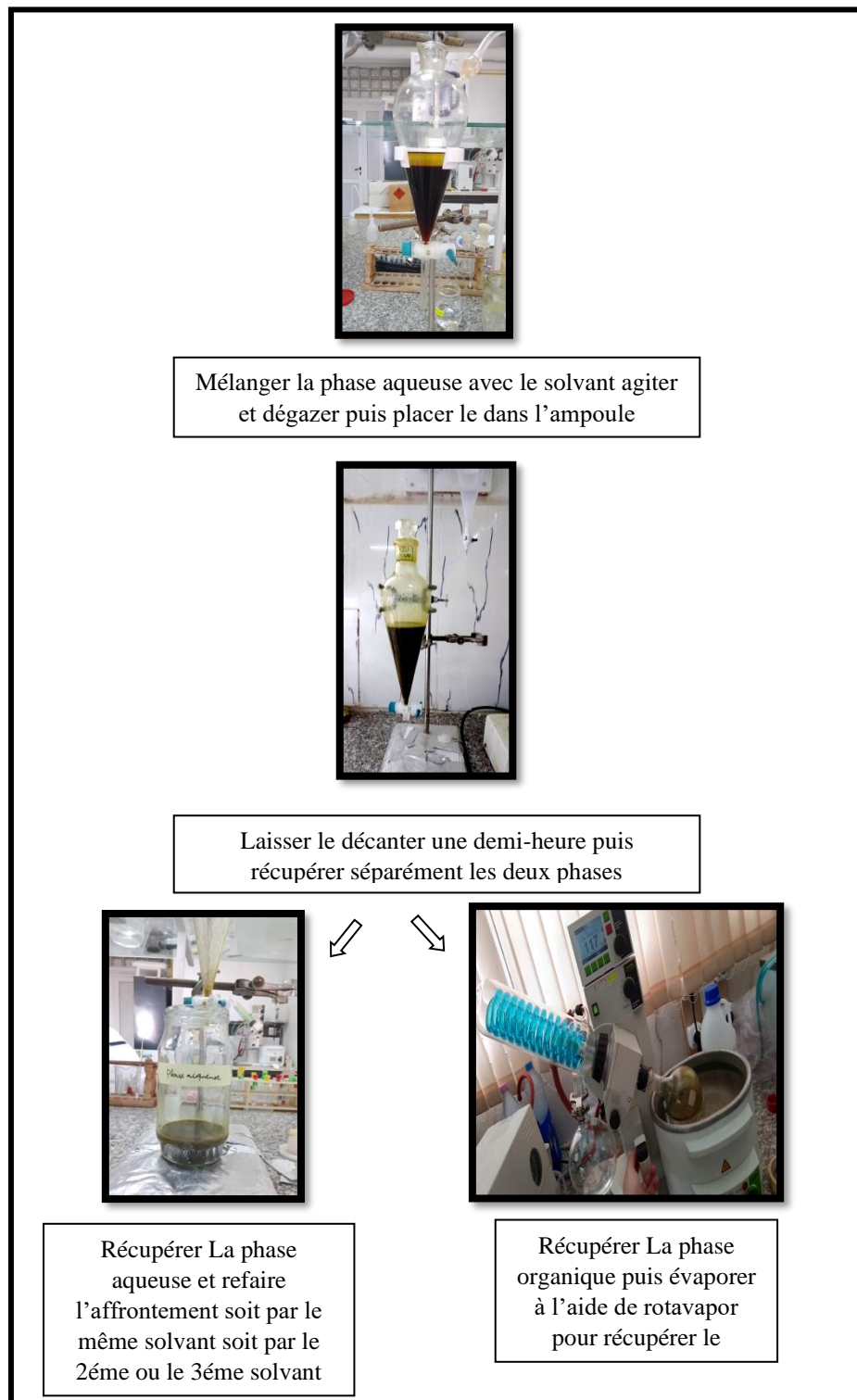


Figure 19 : Protocole d'extraction liquide-liquide.

2.3. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits

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

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxy présents dans l'extrait (**Ali-Rachedi F. et al., 2018**), il est réalisé en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (FCR) de couleur jaune, qui est composé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La teneur en phénols totaux est proportionnelle à la couleur bleue produite qui possède une absorption maximale aux environs de 750 -765 nm. La méthode de dosage est décrite par **Muller L. et al., (2010)**.

Mode opératoire

Une quantité de 1 mg de chaque extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits ; 20 μ l d'extrait ont été déposés avec 100 μ l de FCR à 10% et 75 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3). La microplaque est mise 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 du méthanol.

Une courbe d'étalonnage standard a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à partir d'une solution mère préparée avec de l'acide gallique.

Une masse de 0,5 mg de l'étalon l'acide gallique a été dissoute dans 5 ml de méthanol (MeOH) pour obtenir une solution mère S1 de concentration égale à 200 μ g/ml, une gamme de dilutions a été faite à partir cette dernière (**Tableau 05**). Ensuite, un volume de 20 μ l de chaque dilution a été transféré dans une microplaque contenant dans chaque puits 100 μ l du réactif folin-ciocalteu et 75 μ l de Na_2CO_3 . Enfin, l'incubation de la plaque dure 2 heures et la lecture est faite à la longueur d'onde 765nm.

Tableau 05 : 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

2.4. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits

La détermination du potentiel antioxydant des extraits des deux plantes l'olivier a été réalisée par l'utilisation de cinq méthodes : piégeage du radical libre **DPPH** ; piégeage de l'**ABTS** ; pouvoir réducteur **FRAP** ; réduction par la formation de complexe Fe²⁺ phénanthroline et l'activité Silver nanoparticule **SNP**.

2.4.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

Principe

Selon le protocole décrit par **Blois M.S, (1958)** l'activité de DPPH est mesurée, le principe de cette méthode utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 528 nm, la réduction du DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517nm, mais lors de la réduction par un antioxydant il n'absorbe plus à 515nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (**Sanchez-Moreno C., 2002**).

Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de DPPH est dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol, la solution obtenue est conservée à une température de -20°C et à l'abri de la lumière.

Une quantité de 1 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 avec des concentrations de 50/25/12.50/6.25/3.12/1,56/0,78 µg/ml, ces dilutions sont réalisées pour le test DPPH et ABTS seulement.

Dans une microplaque à 96 puits, 160 µl de la solution méthanolique de DPPH préparée préalablement et 40 µl des différentes concentrations de chaque échantillon ont été mélangées. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en ajoutant 40 µl du méthanol à 160 µl de la solution méthanolique de DPPH. L'incubation dure 30 minutes à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 517 nm.

2.4.2. Test de l'activité ABTS

Principe

La méthode utilisant le radical ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6- sulphonique) est l'une des tests les plus utilisés pour la détermination du pouvoir anti radicalaire des antioxydants. Elle est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS^{•+} de couleur bleu-vert en le transformant en ABTS- H⁺ incolore par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance reflète la capacité de capture du radical libre (**Alam et al., 2013**). L'activité scavenger du radical ABTS^{•+} a été mesurée en utilisant le protocole de **Re R. et al., (1999)**.

Mode opératoire

La solution ABTS a été préparée en mélangeant l'ABTS avec du persulfate de potassium K₂S₂O₈ (solution aqueuse conservée durant 16h dans l'obscurité à une température ambiante). L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 7.00±0.020 par l'éthanol à 734 nm.

Une quantité de 1mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol, puis on fait la dilution.

Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 160µl de l'ABTS. ⁺ est déposé dans chaque puits ensuite 40 µl des différentes concentrations de chaque solution d'extrait.

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

2.4.3. Pouvoir réducteur (FRAP)

Principe

Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique (Fe^{3+}) de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{2+}) de couleur bleu verdâtre, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Arasu M. *et al.*, 2016).

Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol, puis des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.12 µg/ml, ces dilutions sont réalisées pour les autres tests.

Dans une microplaque à 96 puits ; 10 µl des différentes concentrations de chaque extrait ont été déposés dans chaque puits avec 40 µl du tampon phosphate (pH 6.6) et 50µl de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) (1 g de potassium ferricyanide dans 100 ml H_2O). Après une incubation de 20 min à 50°C ; un volume de 50 µl d'acide trichloroacétique (TCA) (1 g d'acide tri-chloroacétique (TCA) dans 10 ml d' H_2O), 40 µl d' H_2O et 10µl de Chlorure du fer (FeCl_3) (0,1 g de chlorure ferrique FeCl_3 dans 100 m) ont été ajoutés. L'absorbance est lue à 700 nm.

2.4.4. Activité Phénanthroline

Principe

L'activité de la phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka A. *et al.* (2008). Elle est basée sur la réduction par des antioxydants des ions de fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe 1, 10- phénanthroline- Fe^{3+} en fer ferreux (Fe^{2+}) pour donner le complexe phénanthroline- Fe^{2+} (le complexe Ferroïne) qui donne une couleur rouge-orange qui absorbe au maximum à 508-510 nm.

Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits : 10 µl des extraits à différentes concentrations, 50 µl de chlorure de fer (FeCl₃) (0.2%) (0.02 g de FeCl₃ dans 10ml de H₂O), 30 µl de phénanthroline (0.5%) (0.05g de 1,10-phenanthroline dans 10ml de MeOH) et 110µl du méthanol ont été déposés successivement. Une incubation est réalisée à l'obscurité à une température de 30°C pendant 20 min suivi d'une lecture à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

2.4.5. Activité Silver nanoparticule (SNP)

Principe

Le principe est basé sur la réduction d'Ag⁺ en nanoparticules d'argent sphériques (SNP) par les polyphénols en présence de graines d'argent stabilisées au citrate, la couleur de suspension est contrôlée par la variation des concentrations de citrate trisodique, de nitrate d'argent et de graines d'argent. Cette coloration est mesurée par un spectrophotomètre à une absorbance de 423nm (Özyürek M. *et al.*, 2012).

Mode opératoire

Une quantité de 50 ml d'AgNO₃ (1.0 mM) : (0.170 g de Silver nitrate+ 100 ml H₂O) sont chauffés pendant 10 min puis 5 ml du Trisodium de citrate (1%) (1g de Trisodium citrate dans 100 ml H₂O) 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.

Un volume de 130 µl de solution SNP et 50 µl de H₂O 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.

2.5. Evaluation de l'activité enzymatique des extraits

2.5.1. Activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase

Principe

Le principe consiste de mettre en contact l'extrait avec l'enzyme acétylcholinestérase et son substrat étant l'acétylcholine afin d'évaluer la capacité de l'extrait d'inhiber l'activité de l'enzyme l'ACHé à dégrader son substrat l'acétylcholine. Les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer. L'activité est déterminée par la méthode d'Ellman G.L. *et al.*, (1961).

Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits ; 150 μ l du tampon phosphate de sodium (pH 8.0), 10 μ l des extraits à différentes concentrations et 20 μ l BChE ont été déposés.

Après une incubation dans une étuve à 25°C pendant 15 min ; 10 μ l du réactif d'Ellman DTNB et 10 μ l de BuCi (S-Butyrylthiocholine iodide) (substrat) (0.2mM) (4mg BuCi+ 4mg H₂O) ont été additionnés.

La lecture par spectrophotomètre à 412 nm permet de déterminer l'absorbance à T₀, après une incubation dans une étuve à 25 °C pendant 15 min, une deuxième lecture à la même longueur permet de noter l'absorbance à T₁.

A decorative black floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Dosage des polyphénols totaux

Le taux des polyphénols totaux a été déterminée par une méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu (FCR). L'acide gallique est utilisé comme un étalon le résultat obtenu est présenté dans une courbe d'étalonnage (**Figure 20**) dont l'équation : $Y = 0,0074x - 0,0865$ avec $R^2=0,9975$.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en ug équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (ug EAG / mg d'extrait) (**Voir Tableau 06**).

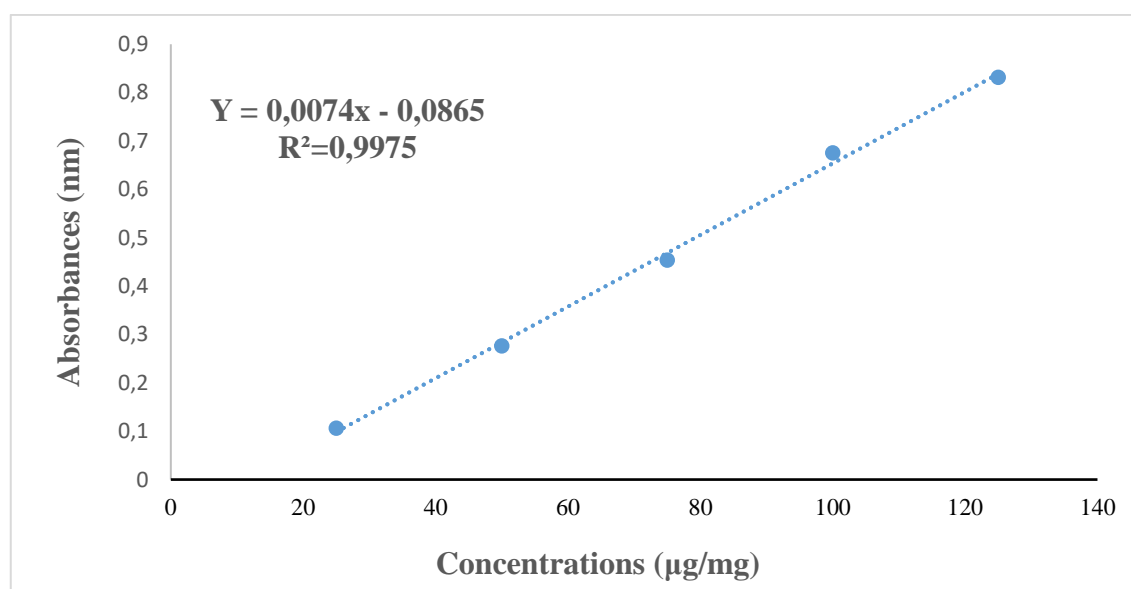


Figure 20 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Tableau 6 : Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits.

Extraits	Polyphénols totaux (µg EAG/mg d'extrait)
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	156,77±0,02
Extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM)	95,79±0,07
Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA)	158,80±0,03
Extrait chloroformique des feuilles d'olivier (OCh)	67,18±0,06

A partir des résultats obtenus (**Tableau 7 et Figure 20**), nous observons qu'il y a une variabilité des teneurs en polyphénols totaux des différents extraits. L'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA) et l'extrait méthanolique de lentisque (LM) sont les plus riches en polyphénols avec des teneurs de $158,80 \pm 0,03$ μg EAG/mg d'extrait, et $156,77 \pm 0,02$ μg EAG/mg d'extrait respectivement. Cependant l'extrait méthanolique (OM) et chloroformique (OCh) des feuilles d'olivier présentent les valeurs les plus faibles en polyphénols ($95,79 \pm 0,07$ et $67,18 \pm 0,06$ μg EAG/mg respectivement).

La teneur en polyphénols totaux de l'OM de notre étude ($95,79 \pm 0,07 \mu\text{g}$ EAG/mg) est supérieure à celle obtenue par **Abaza et al. (2011)** (24,09 mg EAG/g) sur des feuilles d'olivier cultivées dans le nord de la Tunisie, tandis qu'elle est inférieure à celle obtenue par **Xie P.G. et al., (2015)** (245,2 mg EAG/g) lors d'une étude réalisée sur la composition phénolique, et antioxydants des feuilles et fruits d'olivier (*Olea europaea L.*) recueillies auprès de Wudu Comté de Gansu, Chine.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux déjà publiés par **Benmouffki F., (2013)**, les auteurs ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle était le plus riche en polyphénols avec des teneurs de 17017.66 mg /100g EAG d'extrait, suivi par l'extrait chloroformique (7313.66 ± 625.93 mg /100g EAG) pour les feuilles d'olivier.

Le résultat de la teneur des feuilles de *Pistacia lentiscus* en composés phénoliques est comparable à celle d'une étude réalisée par l'équipe de **Berboucha M. 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 $136,25 \pm 18,97$ mg/g d'extrait. Par ailleurs, **Rahmani N. et al., (2015)** ont noté une valeur supérieure à celle de notre étude ($292,67 \pm 7,29$ mg/ g d'extrait) sur un 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 sur un extrait méthanoïque de feuilles d'olivier récoltées à la région de Tlemcen ($216. 289 \pm 20. 62$ mg/ g).

Ces différences de résultats peuvent être dues à la faible spécificité du réactif de « Folin-Ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique. Aussi la nature du sol, les étages bioclimatiques où pousse cette plante peuvent être les causes de la variabilité des résultats (**Tahar S.B. et al., 2015**).

2. Evaluation de l'activité antioxydante

Compte tenu de la complexité du processus d'oxydation, il est clair qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel d'oxydation d'un échantillon, il est nécessaire de combiner plusieurs tests supplémentaires pour fournir des résultats cohérents et complets.

Donc il nous a fallu une combinaison de cinq méthodes complémentaires pour évaluer l'activité antioxydante des extraits méthanolique (OM, LM) des feuilles d'olivier et de lentisque, acétate d'éthyle (OA) et chloroforme (OCh) d'*Olea europaea* L., basées sur deux mécanismes d'action :

- ❖ Effet du piégeage des radicaux c'est-à-dire les tests mesurant le transfert d'hydrogène vers un radical coloré stable facile à détecter (DPPH•, ABTS•⁺).
- ❖ Une activité réductrice du fer (Pouvoir réducteur, activité phénanthroline), et du métal chélate Ag⁺(SNP).

2.1. Test DPPH radical libre

La capacité antioxydante des différents produits a été exprimée par l'indice IC₅₀, qui correspond à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur de l'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'extrait est importante.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire au DPPH des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. et *Olea europaea* sont représentés dans le **tableau 07** et les **figures (21 et 22)**. Ces extraits végétaux sont comparés aux standards.

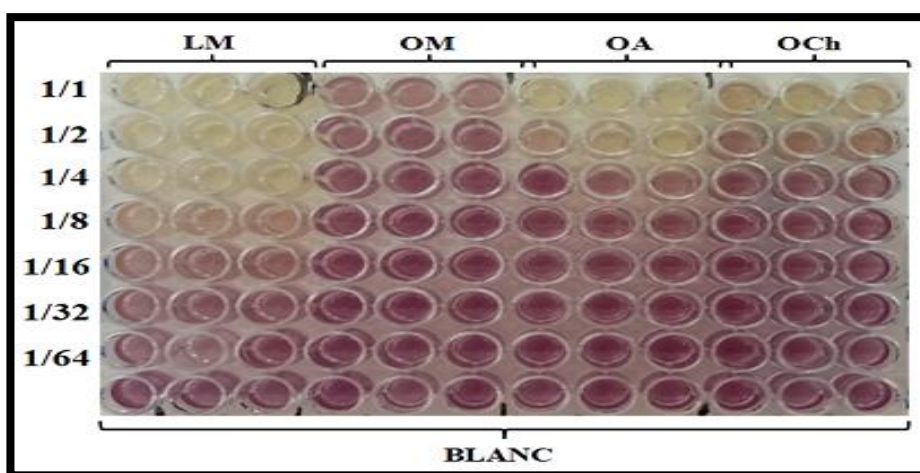


Figure 21 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).

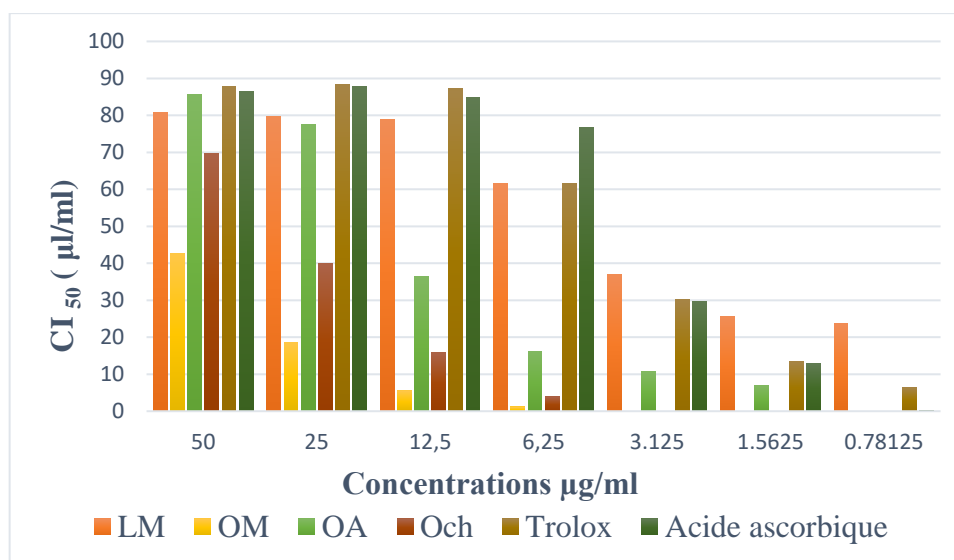


Figure 22 : Histogramme représentant le pouvoir d’inhibition du radical DPPH des extraits par rapport aux standards trolox et acide ascorbique.

Tableau 07 : Activité antiradicalaire au DPPH des extraits exprimés en CI_{50} .

Extraits/ Standards	CI_{50} (µg/ml)
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	4,79±0,31
Extrait méthanolique des feuilles d’olivier (OM)	>50
Extrait d’acétate d’éthyle des feuilles d’olivier (OA)	16,58±1,88
Extrait chloroformique des feuilles d’olivier (OCh)	33,55±1,21
Trolox	5,12±0,21
Acide ascorbique	4,39±0,01

D’après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, l’extrait LM de feuilles de lentisque a présenté la plus grande activité antiradicalaire avec une $CI_{50}= 4,79\pm 0,31\mu\text{g/ml}$, suivi de l’extrait OA ($CI_{50} = 16,58\pm 1,88 \mu\text{g/ml}$) et l’extrait OCh ($CI_{50} = 33,55\pm 1,21\mu\text{g/ml}$). L’extrait d’OM présente le pouvoir antioxydant le plus faible avec une $CI_{50} >50 \mu\text{g/ml}$.

D’autre part ; on remarque que les extraits OM, OA et OCh possèdent une activité inférieure à celle des antioxydants standards le trolox et l’acide ascorbique qui présentent une CI_{50} de l’ordre de $5,12\pm 0,21\mu\text{g/ml}$ et $4,39\pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ respectivement, par contre l’activité de l’extrait LM est supérieure à celle du trolox, et proche à celle d’acide ascorbique.

L'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Olea europaea* pourrait être due à la présence des composés phénoliques contenant des groupements hydroxyle dans leur structure comme l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et l'acide lutéoline-7-O-glucoside (**Sapakal V.D. et al., 2018**).

L'activité antiradicalaire au DPPH de l'extrait chloroformique des feuilles d'olivier ($CI_{50} OCh=33,55\pm 1,21 \mu g/ml$) de notre étude est faible en comparaison à celui de **Benmouffki F. (2013)**, avec une $CI_{50} = 12.226 mg/ml$, de même l'extrait d'acétate d'éthyle ($CI_{50} OA=16,58 \mu g/ml$) est moins que celui de la même étude avec une $CI_{50} = 0.0326 mg/ml$, pour l'extrait chloroformique des feuilles d'olivier de la région d'El-Milia (Jijel).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par **Rafiee Z. et al., (2012)** et **Ferradji A. (2011)** sur des extraits méthanoliques des feuilles d'olivier ($CI_{50} = 86.81\pm 0.43 \mu g /ml$) et feuilles de *Pistacia lentiscus* ($4,23 \pm 0,14 \mu g /ml$) cueillis de la région de Jaén (Espagne) et Skikda respectivement.

L'activité anti-radicalaire dépend généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. La structure des composés phénoliques est un facteur déterminant de leur piégeage des radicaux libres qui sont des pathogènes dans de nombreuses maladies (**Rauwald H.W. et al., 1994**).

2.2. Test par piégeage du radical ABTS^{•+}

En réagissant avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), 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 à la **figure 23**.

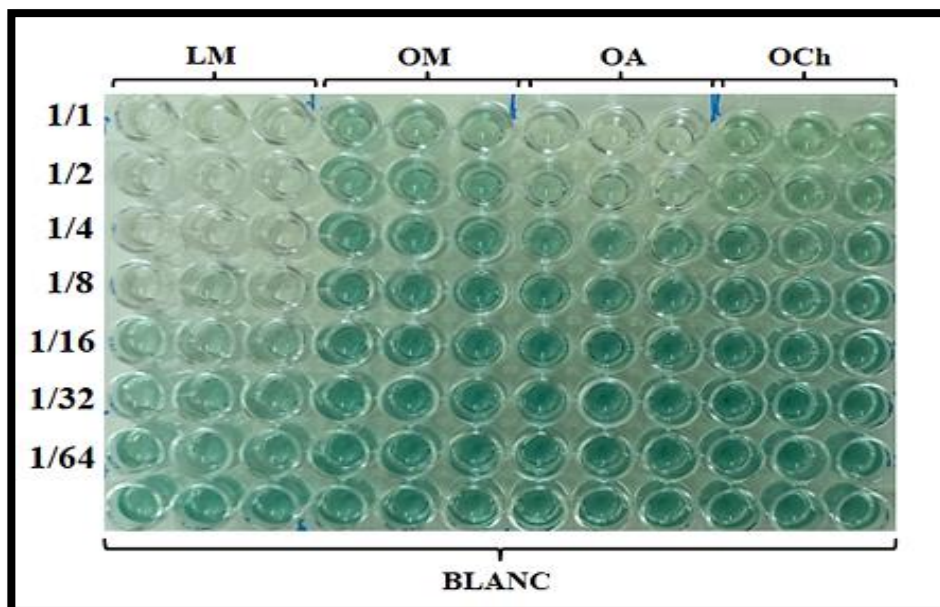


Figure 23 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).

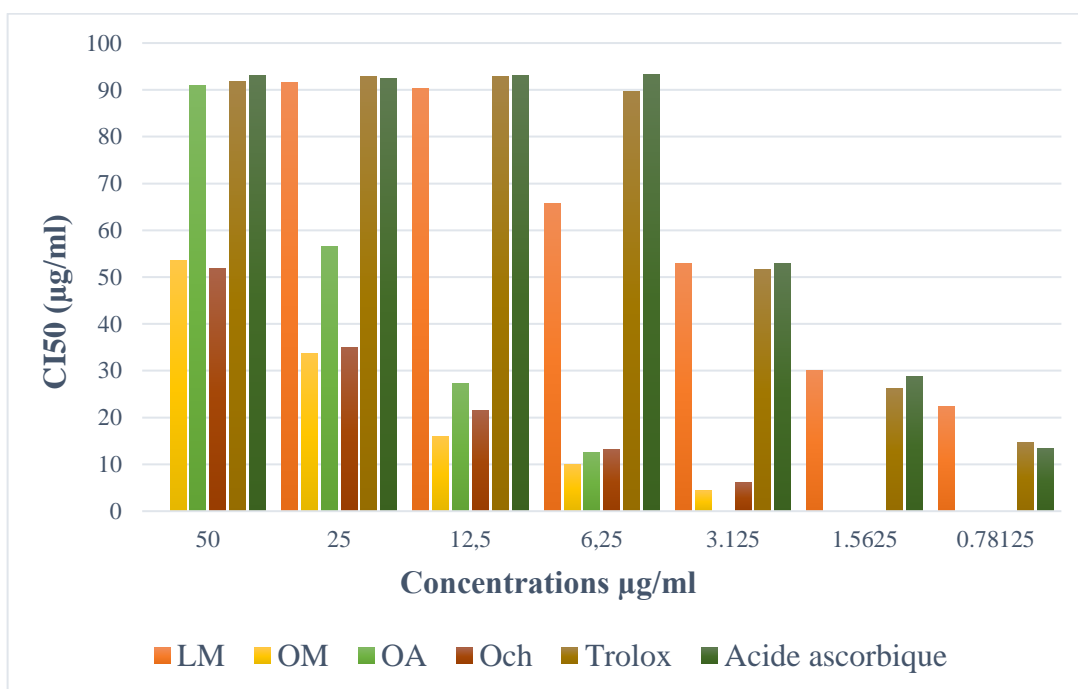


Figure 24 : Histogramme représentant les valeurs des CI₅₀ du test ABTS pour les différents extraits et standards.

Tableau 08 : Valeurs d'IC₅₀ de différents extraits et standards effectués par le test ABTS•⁺.

Extraits/ Standards	CI ₅₀ (µg/ml)
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	2,80±0,02
Extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM)	45,89±2,06
Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA)	22,17±0,51
Extrait chloroformique des feuilles d'olivier (OCh)	47,24±0,71
Trolox	3.21±0.06
Acide ascorbique	3.04±0.05

Nous constatons d'après l'histogramme 24 et le tableau 08 que les extraits donnent un effet antioxydant et sont capables de neutraliser le radical cation ABTS•⁺. Le pouvoir antioxydant le plus élevé est enregistré pour l'extrait LM avec une CI₅₀ = 2,80±0,02 µg/ml qui est proche à celui des standards trolox et acide ascorbique avec une CI₅₀ = 3.21±0.06 et 3.04±0.05 µg/ml respectivement. Les trois extraits (OA, OM et OCh) possèdent une activité antioxydante relativement moyenne avec des valeurs d'CI₅₀ = 22,17 ± 0,51, 45,89 ± 2,06 et 47,24 ± 0,71 µg/ml respectivement. Ces valeurs restent supérieures à celles des standards.

Le taux de l'activité à inhiber le radical ABTS•⁺ de notre extrait méthanolique de feuilles d'olivier est inférieur à celui obtenu par **Lins P.G. et al., (2018)** avec une CI₅₀ égale à 16,1µg/ml.

Aucune étude n'a été effectuée sur l'effet antioxydant des extraits d'acétate d'éthyle et chloroformiques de feuilles d'olivier par l'utilisation de la méthode d'ABTS par conséquent ; il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature.

Dans une étude réalisée par **Djebari J.B. et al., (2020)** sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*, la valeur obtenue d'CI₅₀ était de 99.72 ± 1.82 µg/ml ; donc une activité de piégeage du radical ABTS•⁺ moins importante que celle de notre extrait. Dans une autre étude réalisée par **Rigane G. 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 CI₅₀ = 42 ± 0.00 µg/ml.

La variabilité des résultats peut être due au contenu phénolique de la plante qui est fonction d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que les

conditions de stockage après la récolte, la maturité, les pratiques culturales et les facteurs climatiques ainsi que la polarité des solvants (Bourgou R. *et al.*, 2016).

2.3. Pouvoir réducteur (FRAP)

L'activité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea* a été évaluée en utilisant la méthode du pouvoir réducteur. L'apparition de la couleur verte dans la microplaque (Figure 25), indique la présence des réducteurs dans les extraits des plantes qui provoquent la réduction du fer ferreux Fe³⁺ au fer ferrique Fe²⁺.

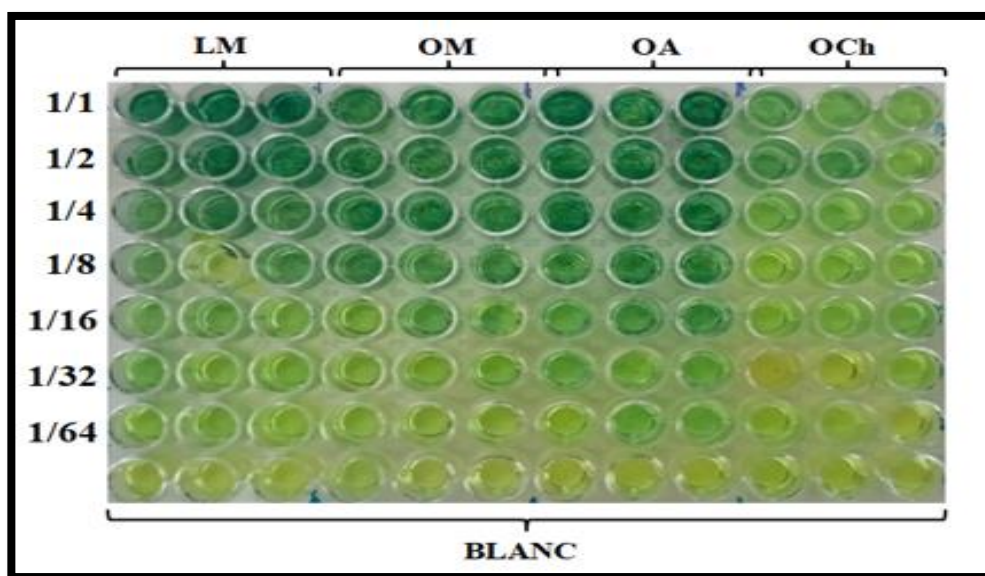


Figure 25 : Profil de la microplaque du test de pouvoir réducteur.

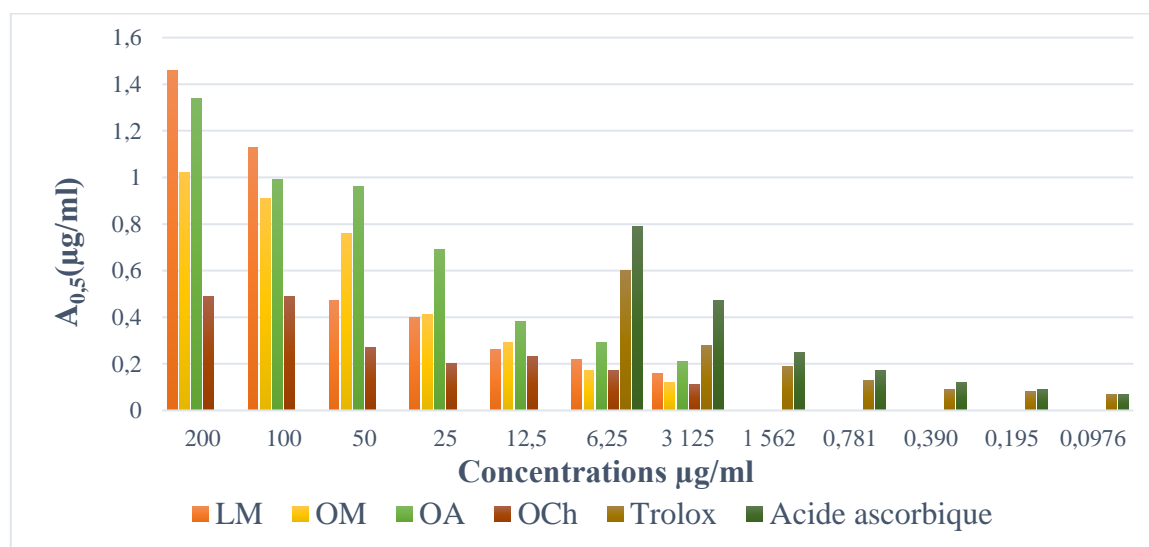


Figure 26 : Histogramme représentant le pouvoir réducteur des extraits et des standards.

Tableau 09 : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance ($A_{0,5}$ $\mu\text{g/ml}$) du pouvoir réducteur des extraits et standards.

Extraits/ Standards	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	50,20±0,05
Extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM)	31,01±1,81
Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA)	17,52±2,07
Extrait chloroformique des feuilles d'olivier (OCh)	>200
Trolox	5.25±0.20
Acide ascorbique	3.62±0.29

Les résultats obtenus montrent que l'extrait (OA) a le pouvoir réducteur le plus important ($A_{0,50} = 17,52 \pm 2,07 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Ce dernier est trois fois plus faible que le trolox ($A_{0,50} = 5.25 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$) et cinq fois plus faible que l'acide ascorbique ($A_{0,50} = 3.62 \pm 0.29 \mu\text{g/ml}$).

Cette activité est suivie par l'extrait OM ($A_{0,50} = 31,01 \pm 1,81 \mu\text{g/ml}$), qui est cinq fois moins faible que le trolox ($A_{0,50} = 5.25 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$) et huit fois moins faible que l'acide ascorbique ($A_{0,50} = 3.62 \pm 0.29 \mu\text{g/ml}$). Le résultat de l'extrait LM ($A_{0,50} = 50,20 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$) est moyennement faible et l'extrait OCh ($A_{0,50} > 200 \mu\text{g/ml}$) présente le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux standards et aux autres extraits.

Comparativement à l'étude faite par **Addab N. et al., (2020)** sur les extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée en mois de décembre 2018 à différentes régions (Batna, Mila, Biskra et Skikda); les auteurs ont enregistré un meilleur pouvoir réducteur avec une valeur de CI_{50} ($58.28 \pm 1.22 \text{ mg/ml}$) pour l'extrait éthanolique. Ce résultat est proche à celui de l'extrait méthanolique de notre étude.

L'étude de **Fethi T. et al., (2016)** a montré des valeurs d' EC_{50} de l'ordre de 80 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$ et 68 $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits butanolique, méthanolique et l'acétate éthyle respectivement, lors d'une étude réalisée sur des feuilles de *Pistacia atlantica* récoltées à la région de Tlemcen. Nous remarquons que l'activité de ces extraits est comparable à celle de notre étude.

Cette activité est due généralement à la richesse en composés phénoliques ayant des propriétés redox qui peuvent soutenir l'efficacité de ces composés comme piègeurs des radicaux libres et antioxydants (Baba S.A. et Malik S.A., 2015). En plus, de nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre les quantités des composés phénoliques et l'activité antioxydante (Olfa O. *et al.*, 2011, Amarowicz R. *et al.*, 2004).

2.4. Test du silver nanoparticule (SNP)

L'activité silver nanoparticule des extraits a été évaluée par spectrophotométrie à 423 nm, en suivant la réduction de l'Ag⁺ en nanoparticules d'argent sphérique. Dans ce test les résultats ont été comparés par rapport à l'acide ascorbique et le trolox. Les résultats sont présentés au-dessous :

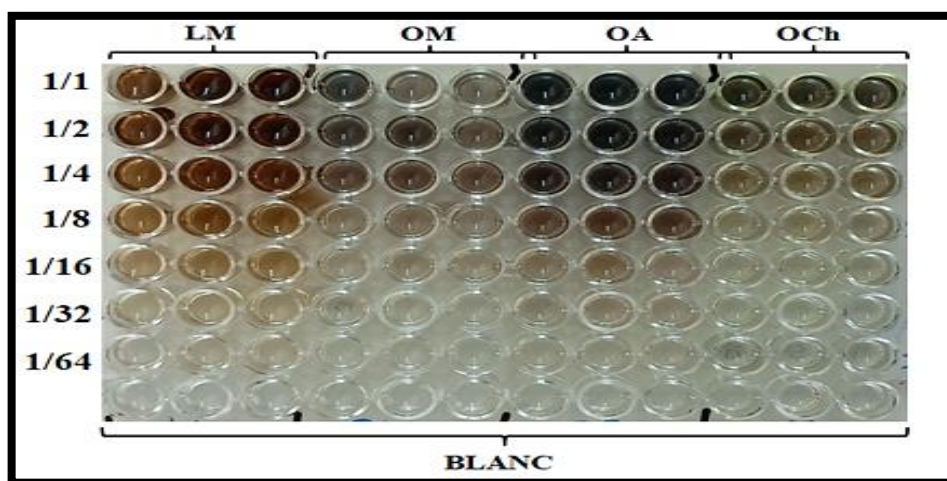


Figure 27 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité de silver nanoparticule.

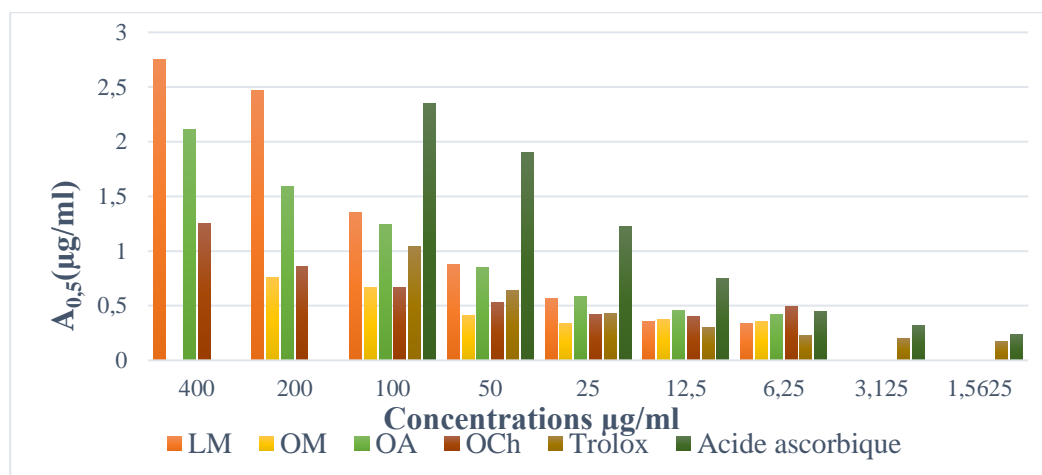


Figure 28 : Histogramme représentant le pouvoir réducteur des ions Ag⁺ des extraits et standards.

Tableau 10 : Activité SNP des extraits et standards exprimée en $A_{0,5}$.

Extraits/ Standards	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	20,97±0,68
Extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM)	68,06±3,19
Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA)	16,82±0,87
Extrait chloroformique des feuilles d'olivier (OCh)	46,52±0,41
Trolox	34,17±1,23
Acide ascorbique	7,14±0,05

A partir de ces résultats (**Figure 28 et tableau 10**), on constate que l'extrait OA et LM sont les plus actifs avec une $A_{0,5}$ égales à 16,82±0,87 et 20,97±0,68 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celle du trolox ($A_{0,5}=34,17\pm 1,23\mu\text{g/ml}$) et inférieure à celle de l'acide ascorbique ($A_{0,5}=7,14\pm 0,05\mu\text{g/ml}$).

L'extrait OCh montre une activité réductrice des ions Ag^+ avec une $A_{0,5}$ égale à 46,52±0,41 $\mu\text{g/ml}$, cette qui est légèrement faible à celle du trolox ($A_{0,5}=34,17\pm 1,23\mu\text{g/ml}$). Le pouvoir réducteur le plus faible est présenté par l'extrait OM ($A_{0,5}=68,06\pm 3,19\mu\text{g/ml}$).

L'analyse comparative entre les différents extraits à aboutit aux résultats suivants : OA> LM >OCh >OM.

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.

Cette variabilité de l'activité des extraits est due à la présence de composés phénoliques contenant des hydroxyles qui peuvent agir comme donneurs d'électrons, de sorte qu'ils peuvent montrer un lien direct entre la présence de composés phénoliques et leur capacité réductrice. En fait, certains chercheurs ont souligné le lien étroit entre les composés phénoliques (c'est-à-dire les flavonoïdes, les phénols simples et l'acide hydroxycinnamique) et la capacité réductrice des ions Ag^+ (**Ozyurek M. et al.,2012**).

2.5. Activité Phénanthroline

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe^{+2} phénanthroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de la

RESULTATS ET DISCUSSION

valeur d' $A_{0,5}$ des extraits et celles des standards (trolox et l'acide ascorbique) ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants :

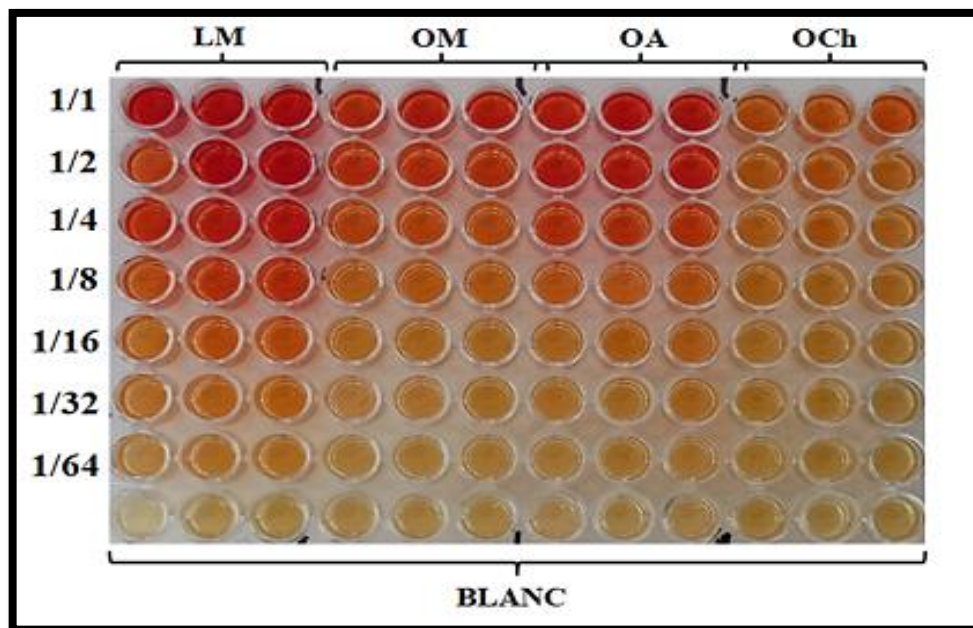


Figure 29 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité Phénanthroline.

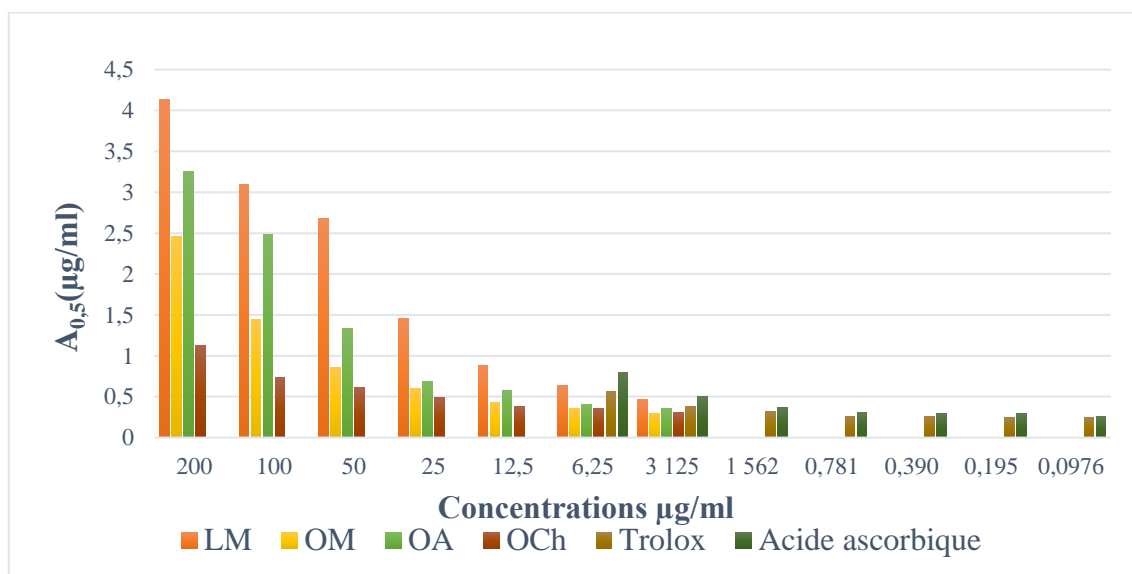


Figure 30 : Histogramme d'absorbances en fonction des concentrations des standards et les extraits du test phénanthroline.

Tableau 11 : Différentes valeurs des $A_{0,5}$ de l'activité Phénanthroline.

Extraits/ Standards	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	3,80±0,64
Extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM)	18,23±2,43
Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA)	9,59±0,48
Extrait chloroformique des feuilles d'olivier (OCh)	26,28±0,67
Trolox	5.21±0.27
Acide ascorbique	3.08±0.02

A partir du tableau 11 et la figure 30, on peut déduire que l'extrait LM a le pouvoir réducteur le plus important ($A_{0,5} = 3,80 \pm 0,64 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Ce dernier est presque similaire à la valeur de l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 3.08 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) et proche à celle du trolox ($A_{0,5} = 5.21 \pm 0.27 \mu\text{g/ml}$). Cette activité est suivie par celle de l'extrait OA ($A_{0,5} = 9,59 \pm 0,48 \mu\text{g/ml}$), avec un pouvoir réducteur trois fois moins faible que l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 3.08 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) et inférieur à celui du trolox ($A_{0,5} = 5.21 \pm 0.27 \mu\text{g/ml}$). Les extraits OM et OCh ($A_{0,5} = 18,23 \pm 2,43$ et $26,28 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$ respectivement) ont montré un pouvoir réducteur inférieur par rapport à celui des deux standards utilisés.

Cette différence du pouvoir réducteur vis-à-vis au complexe Fe^{+2} phénanthroline est due à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants qui dépend du degré d'hydroxylation et du degré de conjugaison, spécifiquement pour les flavonoïdes qui sont capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{+2}), donc une augmentation de la formation de complexe ferroïne (**Pulido R. et al., 2000**).

Notre résultat est comparable à celui de **Djidel M. et al., (2013)** qui ont montré que le résultat d'IC₅₀ du test de phénanthroline d'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est de $0.31 \pm 0,0002 \text{ mg/ml}$.

4. Evaluation de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase

L'évaluation d'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* et *Olea europaea L.* a été réalisée, cette inhibition est suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration

inhibitrice (IC_{50}) des différents extraits. Les résultats de cette activité sont reportés dans la figure 32 et le tableau 12.

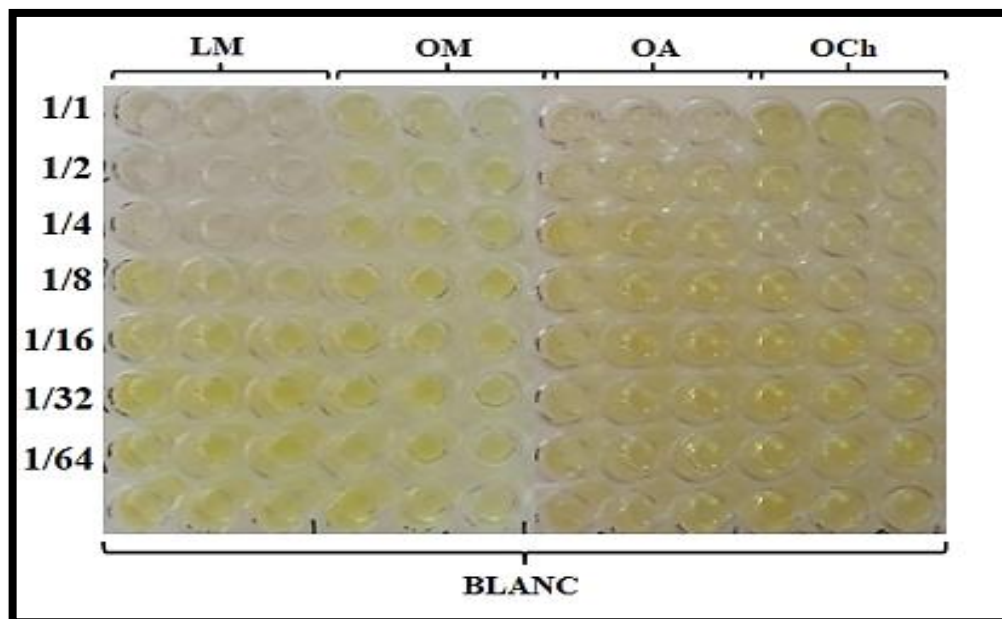


Figure 31 : Profil de la microplaque de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase.

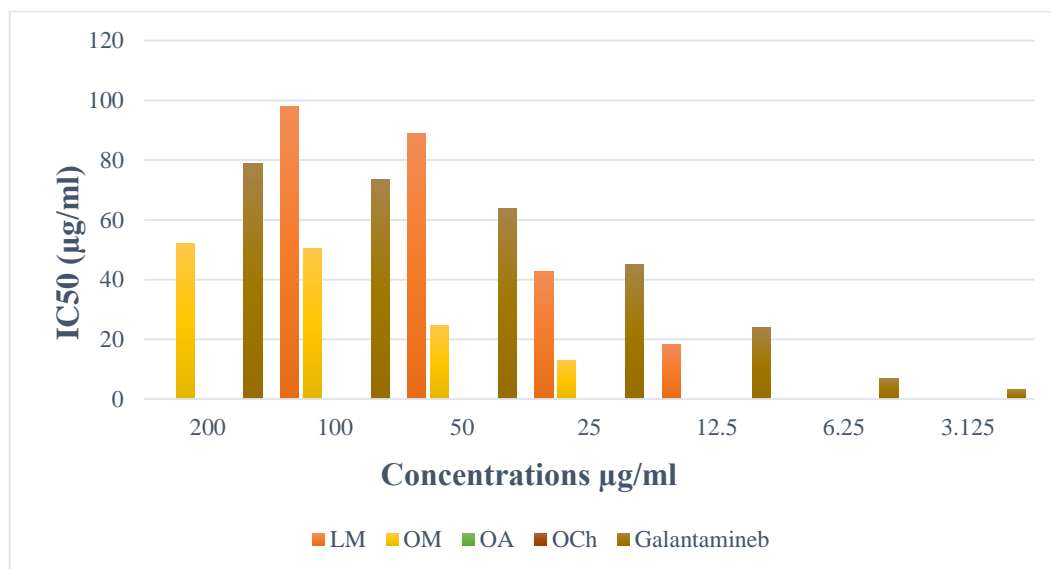


Figure 32 : Histogramme représentant les valeurs d' IC_{50} des extraits et standards pour l'activité anti-butyrylcholinestérase.

Tableau 12 : Valeurs des CI_{50} de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase des extraits et standard.

Extraits/ Standards	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Extrait méthanolique des feuilles de lentisque (LM)	28,94±1,48
Extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM)	94,38±0,81
Extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier (OA)	NA
Extrait chloroformique des feuilles d'olivier (OCh)	NA
Galantamine ^b	34.75±1.99

D'après les résultats obtenus (**Figure 32 et Tableau 12**), l'extrait LM exerce le plus grand pouvoir inhibiteur, avec une $CI_{50} = 28,94 \pm 1,48 \mu\text{g/ml}$, suivi par l'extrait OM avec une $CI_{50} = 94,38 \pm 0,81 \mu\text{g/ml}$. Cependant l'extrait OA et OCh n'ont aucune activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase.

En comparant avec le standard, l'extrait LM s'avère plus actif que la galantamine, qui présente une $CI_{50} = 34.75 \pm 1.99 \mu\text{g/ml}$. Par contre l'extrait OM est deux fois moins faible que le standard.

Une étude phytochimique réalisée par **Omar S.H. et al.**, en **2018** a rapporté un pourcentage d'inhibition ($CI_{50} = 84.77 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) proche à celui enregistré par notre étude sur l'extrait méthanolique des feuilles olivier ($94,38 \pm 0,81 \mu\text{g/ml}$).

L'inhibition de la butyrylcholinestérase est largement utilisée dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le rôle de l'enzyme est de provoquer la production de la protéine β -amyloïde et aider à sa diffusion dans le cerveau (**Bilami Y. et al.,2015**). A des concentrations élevées, l'accumulation pathologique de la β -amyloïde dans le cerveau entraîne un stress oxydatif, une destruction neuronale et enfin, le syndrome clinique de la maladie d'Alzheimer (**Erez P. et al.,2009**), le résultat obtenu lors du test d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase pour l'extrait LM est très satisfaisant , ce qui signifie que les feuilles du *Pistacia lentiscus* peuvent réduire l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer.

A decorative black and white floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées en pharmacopée traditionnelle et ils possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines. Ces propriétés ont été confirmées par des recherches scientifiques modernes ayant assuré l'efficacité de ces plantes grâce à leur richesse en métabolites secondaires.

Ce travail entre dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales algériennes ; nous nous sommes intéressés à l'évaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante et enzymatique des différents extraits de *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea*.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux, a révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Olea europaea* et l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*, suivi par les extraits chloroformique et d'acétate d'éthyle d'*Olea europaea*.

Les résultats ont confirmé que *Pistacia lentiscus* possèdent une capacité antiradicalaire (DPPH), un effet scavenger à l'ABTS et une activité phénanthroline supérieure par rapport aux trois extraits d'*Olea europaea* (OM, OA, OCh). Cependant les autres tests de l'activité antioxydante ; FRAP et SNP ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Olea europaea* a le meilleur pouvoir antioxydant en comparaison à l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*.

Le test enzymatique réalisé dans notre étude a prouvé que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* possède une forte activité anti-butyrylcholinestérase qui est proche à celle du standard suivi par l'extrait méthanolique d'*Olea europaea*. Cependant les deux extraits d'acétate d'éthyle et chloroformique ont montré des résultats négatifs.

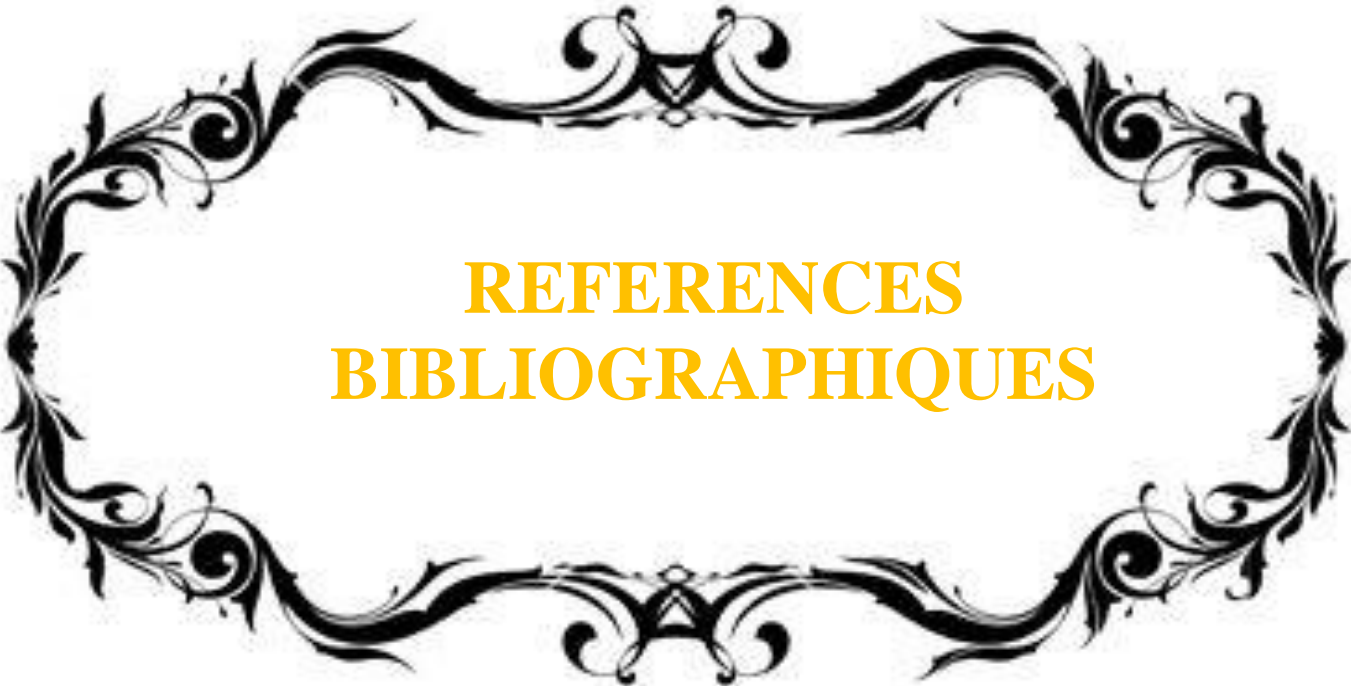
Nous pouvons conclure à partir des résultats obtenus que les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont un pouvoir antioxydant très important en comparaison aux feuilles d'*Olea europaea*. Aussi les feuilles de lentisque peuvent avoir un effet préventif contre l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer.

A la lumière de ces résultats basés sur l'exploration des activités biologiques, cette étude nécessite d'autres recherches qui visent à :

- ✚ L'isolement et l'identification de la ou les molécule (s) bioactive (s) responsables de l'activité antioxydante par des techniques chromatographiques et spectrales.

CONCLUSION

- ✚ L'étude *in vivo* pour déterminer les tissus et organes cibles, et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.
- ✚ Une investigation plus approfondie des deux feuilles de la présente étude en utilisant d'autres activités biologiques telles que les activités : anti-inflammatoire, antimicrobienne, antivirale et antidiabétique.

A decorative black and white floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



Abaza L., BenYoussef N., Manai H., Mahjoub Haddada F., Methenni K., Zarrouk M. . Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*. 2011 ; 62 : 96-104.

Abdeldjelil M. Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse Doctorale, Université des Frères Mentouri. Constantine.2016 ; P1- 42, P : 171.

Addab, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A., & Mahloul, K. Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* L. de l'Est Algérien : Comparative evaluation of antioxidant activity of ethanolic extracts from leaves of *Olea europaea* L. from Eastern Algeria. *Journal of the Faculty of Medicine of Oran*. 2020; 1, 4(2).

Aggoun- Arhab M. Caractérisation de la composition en Micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires, Université Frères Mentouri-Constantine.2016 ;175p.

Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N...Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*.2008 ;78: 189-199.

Alais C., Lindin G. & Miclo L... Biochimie alimentaire. Ed. DUNOD, (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanità*. 2003; 43 (4) : 394.

Alam M.N., Bristi N.J. and Rafiquzzaman M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical*. 2013 ; 21 (2): 143-152.

Ali-Rachedi F., Meraghni S., Touaibia N., et M. S. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima* L. 2018 ; 87 :13 -21.

Al-Qarawi A.A., Al-Damegh M.A & Elmoughy S.A. Effect of freeze-dried extract of *Olea europaea* on the pituitary thyroid axis in the rats. *Phytotherapy Research*.2002; 16: 286-287.

Amarowicz, R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, and Weil JA. Freeradical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 2004; Vol. 84: P 551-562.**Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J.P., Elbachiri A.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.*2009 ;3, 2: 90- 95.

Aouidi F... Etude et Valorisation des Feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans l'Industrie Agro-Alimentaire. Mémoire de Doctorat. Université de Carthage, Tunisie.2012; P : 3.

Arab, k., bouchenak, O., yahiaoui, K. Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of fundamental and Applied Science*.2014; 6 : 77-91.

Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, K. C., &Srigopalram, S. *In vitro* importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2016; 23(1): 6-10.

Ashor A.W., Siervo M. & Mathers J.C... Vitamin C, antioxidant status, and cardiovascular aging. In *molecular basis of nutrition and aging*.Academic Press.2016;P: 609-619.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, k., Loumis, H., Boudaoud, H... Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*.2009; 112(2): 303-309.

Attouba, S., Karam, M.S., Nemmar, A., Arafat, Kh., Johnd, W.F., Al-Dhaherib, M., Al Sultana, A., Razad, H. Short-Term Effects of Oral Administration of *Pistacia Lentiscus* Oil on Tissue Specific Toxicity and Drug Metabolizing Enzymes in Mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*.2014; 33: 1400-1410.



Baba SA., Malik SA. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*. 2015; Vol.9, n °4: P 449-454.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Balan, K.V., Demetzos, C., Prince, J., Dimas, K., Cladaras, M., Han, Z., Wyche, J.H., Pantazis, P...** Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product. Chios mastic gum. *In Vivo*.2005; 19, (1): 93-102.
- Balan, K.V., Prince, J., Han, Z., Dimas, K., Cladaras, M., Wyche, J.H., Sitaras, N.M., Pantazis, P...** Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus L. var. chia*. *Phytomedicine*.2007; 14, (4): 263-272.
- Bammou M., DaoudiA., Slimani I., Najem M., BouiamrineE., Ibijbijen, J. & Nassiri L...** Valorisation du lentisque « *Pistacialentiscus L.* » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied. Biosciences*.2014 ; 86 :7966- 7975.
- Banzet S, Koulmann N, Bourdon L.** (2012) Activité physique et hyperthermie. Disponible sur <https://www.researchgate.net/publication/267936644> (consulté le 11/02/2022).
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., Angioni, A.**Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J Agric Food Chem*.2007;55, (17):7093-7098.
- Bartosz G...** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*.2003 ;9 : 5-21.
- Baudoux D...** L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles, édition Amyris.2003 ; 145-146.
- Belakhdar J.** La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe et savoirPopulation. Ed : Fennec.2003 ; P : 764.
- Belfadel F. Z....**Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire de magister en Chimie organique. Université Mentouri Constantine.2009 ; P :47.
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A., Del Rio J. A...** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea L*-leaves. *Food Chemistry*.2000; 68(4): 457-462p.
- Benguendouz, A...** Caractérisation nutritionnelle, toxicologique et aptitudes technologiques de « *Sardinepilchardus* » pêchée dans la côte Algérienne. M. Selsel et

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

AttouGhalem. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 2019; P :163.

Benhammou, N., Atik, B.F., Panovska, T.K... Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in food sciences*. 2007; 29: 155-161.

Benhammou, N., Atik B.F., Panovska T.K... Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2008; 2: 23-27.

Benmouffki F. Etude phytochimique des extraits des feuilles d'olivier (variété de Chemlal) et L'évaluation de leurs activités antioxydante et antimicrobienne in vitro. Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme du Magister en Biologie. Université Ziane Achour de Djelfa. 2013 ; P :40-45-49.

Benhayoun G et Lazzeri Y... L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions Le Harmattan, Paris. 2007 ; P137, P17.

Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D. et Benboubetra, M.. 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*, 2010; 13(4):1-9.

Bilami Y, Boukahil M. Etude in silico de l'inhibition de la butyrylcholinestérase. 2015 :10.

Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N Et Saija A.. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol*. 1999; 51: 4-971.

Blois M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958; 4617 (181): 1119-1200.

Blumberg J., Bailey R., Sesso H. & Ulrich C... The evolving role of Multivitamin/multimineral supplement use among adults in the age of personalized nutrition. *Nutriments*. 2018 ; 10(2): 248-261.

Bnouham M., Ziyat A., Mekhfi H., Tahri A., et Legssyer A... Medicinal plants with potential antidiabetic activity-A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *International Journal of Diabetes and Metabolism*. 2006 ; 14(1) : 1-25.

Bock B. *Pistacia lentiscus* L. 2009. <http://www.telabotanica.org> (consulté le 10/01/2022).

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Bouaziz M., Sayadi S.** Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2005 ; 107; 497-504.
- Boubekri, C...** “ Etude de l’activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques”. Thèse de doctorat en Sciences. Université Mohamed Khider.Biskra.2014 ; P 53.
- Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimen I., Kechaou N...** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *industrial crops and products.* 2009; 29: 412–419.
- Boudieb, K., Ait Slimane, S., Amellal, Ch.H..** Effect of Maturation Degree on the Fixed Oil Chemical Composition, Phenolic Compounds, Mineral Nutrients and Antioxidant Properties of *Pistacia lentiscus* Fruits. *NotulaeBotanicae Horti. Agrobotanici Cluj-Napoca.* 2019 ; 47 : 1842-4309.
- Boudribila M- M.,** Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale. 29^{ème} édition. AWAL. 2004 ; 17- 31.
- Boulkroune, H...** L’oléiculture en petite Kabylie : améliorer la qualité du produit participe au développement durable de la filière Devant. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif. 2018 ; P : 186.
- Boumeras A., Naga A...** Evaluation de l’activité biologique de *Passifloraincarnata* L. *In vitro* (Anacardiaceae). 2018 ; P : 17
- Bourgou R., Serairi Beji F., Medini et Ksouri R.** Effet du solvant et de la méthode d’extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d’*Euphorbia helioscopia* S), *journal of new sciences.* 2016 ; Volume 28 : Article 12.
- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gray K., Horn E, McAnalley S. et McAnalley B...** Etude pilote ouverte de l’effet antioxydant d’Ambrose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience&Nutrion.* 2003 ; 4: P7.
- Bruneton J...** Acides phénols. In : *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales.* Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 2008 : P 198-260.
- Bruneton, J...** *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales.* Edition Technique et documentation. 1999 ; P 233.



- Calado F. et Fausto J...** L'olivier. 1er Edit. Milan. 1987; P 1-120.
- Carange, J...** Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassins stéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières. 2010.
- Caturla N., Perez-Fons L., Estepa A., Micol V...** Differential effects of oleuropein, abiophenol from *Olea europaea*, on anionic and zwitterionic phospholipid model membranes. Chem Phys Lipids. 2005 ;137 : 2-17.
- Chafaa, S...** Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier, *Olea europaea* et de la dynamique des populations de la cochenille violette *Parlatoria oleae* Colvée. 1880 (Homoptera : Diaspididae) dans la région de Batna. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique – EL- Harrach. 2013 ; P 168.
- Chemat F...** Éco-extraction du végétal. Procédés innovants et solvants alternatifs. Coll. Technique et ingénierie, Paris. 2014 ; P 336.
- Civantos L...** Valorisation des sous-produits de l'olivier. Réunion du comité technique. 1983 ; P 143-145.
- Cordeiro A.I., Sanchez-Sevilla J.F., Alvarez-Tinaut M.C., Gomez-jimenez M.C.** Genetic diversity assessment in Portugal accessions of *olea europaea* by RAPD markers. *Biologia Plantarum*. 2008; 52(4):642-647.
- Cowan, M. M...** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 1999 ;12(4): 564-582.
- Cronquist A. et Takhtadzhian A. L...** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia university press. 1981.
- Crozier A...** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. Goldberg. 2003; P: 27- 48.



D. Djenane¹, J. Yangüela², F. Derriche¹, L. Bouarab¹, P. Roncales². Extrait de feuilles d'olivier ; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* et *Pseudomonas aeruginosa* ; application sur la viande de dinde. 2012.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- De Casas R.R., Besnard G., Schönswetter P., Balaguer L. et Vargas P...** Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea L.* Theoretical and Applied Genetics. 2006 ; 113(4): 575-583.
- Derbel S., Ghedira K...** Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. Phytothérapie.2005 ;1 : 28-34.
- Dhifi, W., Jelali, N., Chaabani, E., Beji, M., Fatnassi, S., Omri, S., Mnif, W.** Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus L.*) seed oil. African Journal of Agricultural Research. 2013 ; 8(16): 1395-1400.
- Djenane D., Yanguela J., Derriche F., Bouarab L Et Roncales P...** Extrait de feuilles d'olivier ; tests *in vitro* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* et *Pseudomonas aeruginosa* ; application sur la viande de dinde. Phytothérapie.2012 ; 10-18.
- Djerrou Z...** Etude des effets pharmaco toxicologique de plantes médicinalesd'Algérie : Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *pistacia lentiscus*. Thèse de doctorat en science. Université Mentouri De Constantine.2011 ;1 :6.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant's extracts containing phenolic compounds. Food chemistry.2006; 97: 654-660.
- Doba, T., Dahmane, D., Chelghoum, C.** Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus L.* from Algeria. Journal of Essential Oil Research. 2006;18, (3): 335- 338.
- Doveri S., Baldoni L.,** Olive in Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Ed C. Kole. Fruits and Nuts, 2007; 4: 253- 264.



- Eggersdorfer M. & Wyss A...** Carotenoids in human nutrition and health. ArchBiochemBiophys.2018 ;652: 18- 26.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical pharmacology.1961 ; 7(2) : 88-95.

Erez P, Deborah E. Shale v§, Shani S, Estelle R, Einor B, Harvey W, Oded L, Hermona S. The Butyrylcholinesterase K Variant Confers Structurally Derived Risks for Alzheimer Pathology. 2009. DOI 10.1074/jbc.M109.004952.



Ferhi H. Effet de l'irradiation gamme sur les feuilles d'olivier et application dans les Produits carnés, thèse de magister, Université de 7 novembre, Carthage.2009 ; P11.

Ferradji A. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus. 2011: 45/67.

Fernández-Escobar R., García-Novelo J.M., Molina-Soria C.et Parra M. A... An approach to nitrogen balance in *olive orchards*. *Scientia horticultrae*.2012 135: 219-226.

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



Garcia-Lafuente A., Guillamon E., Villares A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*. 2009; 58: 537-552.

Gardeli. C., Vassiliki. P., Athanasios. M., Kibouris. M., Komaitis. M... Essential Oil Composition of Pistacia Lentiscus L. And Myrtus Communis L. Évaluation of Antioxidant Capacity of Methanolic Extracts. *Food chemistry*.2008 ; 107 (3): 1120-1130.

Gharabi, D... Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morphobiochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduites non greffés et greffés sur oléastre.Thèse de doctorat. Université DjillaliLiabes de Sidi Bel Abbes.2018 ; P :166.

Ghedira K... Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*.2005 ;04 : 162-169.

Ghedira K... L'olivier. Phytothérapie. 2008 ; 6(2) : 83-89.

Gonzalez M., Zarzuelo A., Gamez M.J., Utrilla M.P., Jimenez J. et Osuna I. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta medica*.1992 58(06) : 513-515.

Gonzalez M., Zarzuelo A., Gamez M.J., Utrilla M.P., Jimenez J. et Osuna I. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta medica*.1992 ; 58(06) :513-515.

Grosjean N... L'Aromathérapie, édition Eyrolles.2007 ; P 163.



Hajjaj, G....Screening phytochimique, etude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricariachamomilla*.et de *l'omenismixta L.* (asteraceae). Thèse de doctorat : Science de Médicament. Université Mohammed V, Maroc. 2017.

Halliwaell, B... Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition reviews*.1994; 52(8): 253-265.

Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S... Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research*.2007;30: 07- 13.

Hansen K., Adersen A., Christensen S. B., Jensen S. R., Nyman U., et Smitt U. W... Isolation of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor from *Olea europaea* and *Olea lancea*. *Phytomedicine*. 1996 ; 2(4) : 319-325.

Hellal Z. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou. 2011.



Iserin P... Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins 2ème édition Ed Larousse/VUEF.2001 ; P 13-16, P 250, P 291-296.

Jemai H., Bouaziz M., Fki I., El Feki A. et Sayadi S...Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-biological interactions*. 2008; 176(2-3): 88-98.



Karakaya S... Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*.2009; 67(11):632-8.

Keeble J. A., Gilmore A. P... Apoptosis commitment—translating survival signals into decisions on mitochondria. *Cell Research*.2007;17(12): 976-984.

Kivçak, B., Akay, S... Quantitative determination of alpha-tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. chia, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*.2005; 76(1): 62-6.

Koutsoudaki, C., Krsek, M., Rodger, A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. Chia. *J Agric Food Chem*.2005;53, (20) :7681-7685.



Labdaoui D.Impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilité de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie) Thèse de magistère, universitéAbdelhamid Ibn Badis de Mostghanem. 2017 ; P 161, P 178.

Laginika L... Étude photochimique et activé biologique de substances naturelle isolée de béninoise. Thèse de doctorat, Univ. LonisPasteur, Strasbourg, Bénin. 2005 ; P267.

Lamartiniere C.A., Cotroneo M.S., Fritz W.A Wang J., Mentor-Marcel R., Elgavis A...Genistein chemoprevention: timing and mechanisms of action in murine mammary and prostate. *Journal of Nutrition*. 2002 ;132 (3): 552S-558S.

Landau, S., Muklada, H., Markovics, A., Azaizeh, H... Traditional Uses of *Pistacia lentiscus* in Veterinary and Human Medicine. *Springer Science&Business*.2014;2: 163 – 177.

Lee O.H., Lee B., Lee J., Lee H-B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K., Kim Y.C... Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bio resource Technology*.2009; 100: 6107-6113.

Lee-Huang S., Zhang L., HuangP; -L and Chang Y.-T. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem. Biophys. Res. Commun*.2003; 307 (4): 1029-1037.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Lide D.R.**... Handbook of chemistry and physics. CRC Press, Boca Raton (Ela).1996.
- Lin, Y. T., Vатtem, D., Labbe, R. G., & Shetty, K.**... Enhancement of antioxidant activity and inhibition of *Helicobacter pylori* by phenolic phytochemical-enriched alcoholic beverage. *Process Biochemistry*.2005 ; 40(06): 2059-2065.
- Linden et Lorient D.**... Pigments et aromes. In : Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole. Ed: Masson.1994 ; P 338-340.
- Lins P G., Pugine S M P., Scatolini A M., Pires de Melo M.** In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea*L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4. 2018.
- Liu Z., Ren Z., Zhang J., Chuang C.C., Kandaswamy E., Zhou T. &Zuo L.**... Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Front Physiol*. 2018; 9: 477-480.
- Ljubuncic, P., Azaizeh, H., Portnaya, I., Cogan, U., Said, O., Saleh, K.A., Bomzon, A.**... Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional arab medicine in Israel. *J. Ethnopharmacol*. 2005; 99, (1): 43-47.
- Long H.S., Tilney P.M. et Van Wyk B.-E.**... The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaeasubsp. africana* (Oleaceae). *South African Journal of Botany*.2010;76, (02): 167-420.
- Loussert R, Brousse G.** L'olivier. Systématique et classification botanique. G.P. Maisonneuve et La rose, Paris.19.
- Loussert R., Brousse G.**... L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne. G.p. Maisonneuve et La rose, Paris.1978 ; 1-3, 58, 62-77,128-136.
- Loutrari, H., Magkouta, S., Pyriochou, A., Koika V., Kolisis, F.N., Papapetropoulos, A., Roussos, C.** Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. Chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutr Cancer*.2006 ; 55(1) :86-93.
- Luciano G., Roscini V., Mattioli S., Ruggeri S., Gravador R.S., Natalello A., Lanza M., De A. A. &Priolo A.**... Vitamin E is the major contributor to the antioxidant capacity in lambs fed whole dried citrus pulp. *Animal*. 2017 ; 11 : 411-417.



Maameri, H.Z.... Thèse de doctorat : *Pistacialentiscus*L. : Evaluation pharmacotoxicologique. *PharmacologieToxicologie*.2014 ; 4-5.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Hafezi, S., Nabavi, S.M., Eslami, AbdellicheS et Benabdalehh A...** L'effet préventif de l'huile de Pistacia lentiscus sur l'inflammation induite par l'acide acétique chez les rats de la souche Wistar. Mémoire master, Université des Frères Mentouri Constantine. 2016 ; P 53.
- Mansour-Djaalab, H., Kahlouche-Riachi F., Djerrou, Z., Serakta-Delmi, M., Hamimed, S., Trifa, W., Djaalab, I., Hamdi Pacha, Y.** In vitro evaluation of antifungal effects of Lawsonia inermis, *Pistacia lentiscus* and Juglans regia. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2012; 2, (2):263-268.
- Manthey, J. A...** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. Microcirculation. 2000; 7(S1).
- Markin D., Duek L And Berdicevsky I...** In vitro antimicrobial activity of olive leaves. Mycoses. 2003; 46 (3-4): 132-136.
- Martin Garcia I., Yanez Ruiz D., Moumen A., Molina Alcalde E...** Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *europaea*), leaf fermentation in continuous fermentors. Small Ruminant Research. 2006; 61, 53-61.
- Mekni, N.,** GC/MS Chemical Analysis of *Pistacia lentiscus* fatty oil from the north of Tunisia. International Journal of PharmTech Research. 2011 ; 3, (4) :2245-2248.
- MESSAOUDI, A., KESSBIA, A.** Etudes ethnobotanique, screening phytochimique et évaluation du pouvoir antimicrobien des polyphénols des grains de lentisque *Pistacia lentiscus*. 2017 ; 4.
- Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L. et Estepa A...** The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicemia Rhabdovirus (VHSV). Antiviral Research. 2005 ; 66: 129-136.
- Mirad F., Badis A.,** Activité antioxydant et antibactérienne des extraits des feuilles d'olivier sauvages et cultivés, thèse de magister, Université Akli Mohand Ouhandoulhaj, Bouira. 2019 ; P 22-23.
- Morel Y., et Barouki R...** Repression of gene expression by oxidative stress. Biochemical Journal. 1999 ; 342(3), 481-496.
- Moulos, P., Papadodima, O., Chatziioannou, A., Loutrari, H., Roussos, C., Kolisis, F.N...** A transcriptomic computational analysis of mastic oil-treated Lewis lung carcinomas reveals molecular mechanisms targeting tumor cell growth and survival. BMC Med Genomics. 2009; 2 (68) :1-15.

Müller L., Gnoyke S., Popken A. M., & Böhm V. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 2010; 43(6): 992–999.



Nimse S.B. & Pal D... Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Adv.*2015; 5(35): 27986-28006.



Olfa O, Thouraya C, Riadh K, Mouna BT, Hanen F, Chedly A, Mohamed EK, Brahim M. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011; Vol.24: p 103–110.

Omar S H., Scott C J., Hamlin A S., Obied H K. (2018). Biophenols: Enzymes (β -secretase, Cholinesterases, histone deacetylase and tyrosinase) inhibitors from olive (*Olea europaea* L). *Fitoterapia*, 128 ; 118-129.

Orliaguet, G., Gall, O., & Benabess-Lambert, F... Nouveautés concernant les antinflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*. 2013 ; 17 (5),228-237.

Orregoia M. et Marinelli L... FLOS OLEI. Del tribunal Di Roma, Italie.2017.



Paris M., Hurabeillen M... Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. Ed: Masson.1981; P 210-215.

Park P. J., Jung W. K., Nam K.S., Shahidi F. and Kim S. K... Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American oil Chemists Society*.2001 ; 78 (6): 651-656.

Pelletier, E., Campbell, P. G. C. & Denizeau, F...Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. Edition PUQ. 2004; P 182.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Pulido R, Bravo L, and Saura-Calixto F. Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols as Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000; Vol .48: P 3396-3402.



Quiñones, M., Miguel, M., & Alexandre, A... Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacologicalresearch*. 2013; 68 (1): 125-131.

Ozcan Erel. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 2004; 37 :277– 285.

Ozyurek, Mustafa., Gungor, Nilay., Baki, Sefa ., Guclu, Kubilay., and Apak, Resat. Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols, *Analytical Chemistry*.2012; 3: 2439–2453.



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

Rafiee. Z.,Jafari. S. M, Alami. M, and Khomeiri. M. Antioxidant Effect of Microwave- assisted Extracts of Olive Leaves on Sunflower Oil .2012: 1502/1509.

Rauwald, H.W., Brehm, O., & Odenthal, K.P. Screening of nine vasoactive medicinal plants for their possible calcium antagonistic activity. Strategy of selection and isolation for the active principles of Olea europaea and Peucedanum ostruthium. *Phytotherapy Research*. 1994; 8: 135–140.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M ., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorization assay. *Free Radical Bio*. 1999; 26: 1231-1237.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M and Pridham J.B... The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research, Rochelle, Université de La Rochelle*.1995; 22: 375-383.

Rispail N., Robert N. and Jodith K... Secondary métabolite profiling. Lotus japonicas, *Handbook*. 2005 ; 341.348.

Rodriguez-Rodriguez R., Herrera M. D., De Sotomayor M. A., et Ruiz-Gutierrez V. Pomace olive oil improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats by increasing endothelial nitric oxide synthase expression. *American journal of hypertension*. 2007; 20, (7): 728-734.

Rolland Y. Antioxydants naturels végétaux. OCL. 11 N°6.2004.



Sanchez-Moreno, C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Foods Science and Technology*. 2002; 8: 121- 137.

Santangelo C., Vari R., Scazzocchio B. Polyphenols, intracellular signaling and inflammation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*. 2007; 43, (4) : 394-405.

Sapakal, V. D., Shikalgar, T. S., Ghadge, R. V., Adnaik, R. S., Naikwade, N. S., & Magdum, C. S. (). In vivo screening of antioxidant profile: A review. *J. Herbal Med. Toxicol*. 2008 ; 2(2): 1-8.

Sarr S O., Fall A D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Ndiaye B. and Diop, Y.M. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2015; 9 (3): 1263- 1269.

Sato H., Genet C And Strehle A. Antihyperglycemic activity of TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem;biophys. Res. Commun*. 2007; 362:793-798.

Scalbert A., Manach C., Morand C., Remesy C., Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005 ; 45: 287-306.

Selaimia H., Zerrouki S., Zarouri M.W. Etude des vertus thérapeutiques des feuilles d'olivier cultivé et sauvage *Olea europaea L*, thèse de magister, université Saad Dahlab, Blida. 2019; P 17-34.

Selaimia, R. Etude de l'huile d'olive d'Algérie. Thèse de doctorat. Université 8 Mai 1945 Guelma. 2018 ; P 161.

Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V. et Boas V. Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grassasy Aceites*. 2010; 61 (02): 157-164.

Sindhu. S. Nair., Vaibhavi Kavrekar and Anshu Mishra. 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.

Smirnoff N.. Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med*.2018; 122: 116-129.

Somova L. I., Shode F. O., et Mipando M.. Cardiotonic and antidysrhythmic effects of oleanolic and ursolic acids, methyl maslinate and uvaol. *Phytomedicine*. 2004; 11(2-3), 121-129.

Su C., Sun J., Zhu W., et Peng L... History, distribution, and potential of the olive industry in China: a review. *Sustainability*. 2018;10, (5): 1-19.

Sudjana A.-N., D'orazio C., Ryan V., Rasool N., NG J., Islam N., Rilley T.-V and Hammer K.-A... Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* leaf extract. *Int. J. Antimicrob; Agents*.2009; 33, (5): 461-463.

Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E... Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*. 2008; 76(4): 899-905.



Thomas, S., Stefanos, D., Elzbieta, W... Distribution, development and structure of resin ducts in *Pistacia lentiscus* var. chia DuHAME. *FLORA*.1998; 195: 83-94.

Topçu G, Ay A, Bilici A, Sarıkürkcü C, Öztürk M, and Ulubelen A... A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 2007; Vol. 103, p816– 822.

Triantafyllou, A., Bikineyeva, A., Dikalova, A., Nazarewicz, R., Lerakis, S., Dikalov, S. Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress. *NutrJ*.2011; 10, (1), article 64.

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A... Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived *Pistacia lentiscus* L. seedlings. *Physiological*.2012; 170: 899-908.



Valadimir M... L'olivier et les vertus thérapeutiques de ses feuilles, thèse de doctorat, Université de Nantes.2008 ; P 82.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M. and Telser J., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol.2007; 39(1): 44-84.

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

Vogel P., Machado I. K., Garavaglia J., Zani V. T., de Souza D., et Dal Bosco S. M... Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea L*) to human health. Nutriciónhospitalaria. 2015; 31(3): 1427-1433.



Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. Natural medicine. 2013: 01-477.

Waksmundzka-Hajnos, M. & Sherma, J... High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. Chromatographic Science Series. 2011 ; 477-478.

Walker M... L'extrait de feuille d'olivier pour renforcer le système immunitaire. Editions Medicis-Entrelacs. 2000.

Wiesman, Z... Desert olive oil cultivation: advanced biotechnologies: Academic Press.2009; P 395.

WojcikowskiK., StevensonL., Leach D., Wohlmuth H., et Gobe G., Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process. The Journal of Alternative and Complementary Medicine.2007; 13(1): 103-110.



Xie, L., Yang, Z. Y., Wen, J., Li, D. Z., & Yi, T. S... Biogeographic history of *Pistacia* (Anacardiaceae), emphasizing the evolution of the Madrean-Tethyan and the eastern Asian-Tethyan disjunctions. *Molecular phylogenetics and evolution*. 2014;77(1): 136- 146.

Xie P J., Huang L X., Zhang C H., Zhang Y L.. Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europaea* L.) extracts and their structure– activity relationships. *Journal of Functional Foods*. 2015; 16: 460-471.

Xiong Y., Xiong Y., Zhou, S., Sun Y., Zhao Y., Ren X., Zhang Y. & Zhang N... Vitamin C and Ee supplements enhance the antioxidant capacity of erythrocytes obtained from aged Rats *Rejuvenation Res.* 2017; 20: 85-92.



Yahia M... La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie. *Ain Taya*, 1992; P 59.

Yeh G. Y., Eisenberg D. M., Kaptchuk T. J., et Phillips R. S... Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes care*. 2003; 26(4):1277-1294.

Yepez B., Espinosa M., López S. and Bolaños G... Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction, *Fluid Phase Equilibria*. 2002; 194-197, 879-884.

Yildirim, H., Onay, A., Gunduz, K., Ercisli, S., Karaat, E.F... An improved Micropropagation protocol for lentisk (*Pistacia lentiscus*). *Folia Horticulturae*. 2019 ; 31 : 61-69.



Zarzuelo A., Duarte J., Jimenez J., Gonzalez M., et Utrilla M. P... Vasodilator effect of olive leaf. *Planta medica*. 1991 ;57(05): 417-419.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Zerargui F. "Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L.* et caractérisation des substances bioactives", Thèse de doctorat en Sciences Université Ferhat Abbas Sétif 1.2015 ; P 17.

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

Zuluaga M., Gueguen V., Pavon-Djavid G. & Letourneur D....Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts.* 2017 ;7: 1-3.

Résumé

L'Algérie est riche en plantes médicinales qui ont des utilisations en phytothérapie car elles ont diverses propriétés biologiques et une gamme extraordinaire de molécules bioactives qui agissent comme agents chimiques contre les maladies. Ce travail est consacré à l'étude de l'activité anti-oxydante et enzymatique des extraits des feuilles de deux plantes *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea*, appartenant respectivement aux familles des *Anacardiaceae* et *Oleaceae*.

Différents extraits ont été préparés ; en réalisant une extraction liquide-solide et liquide – liquide à savoir : l'extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM) et lentisque (LM), l'extrait chloroformique et d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier.

La teneur des polyphénols totaux les plus élevées ont été constatés pour l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*Olea europaea* et l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* avec des valeurs de $158,80 \pm 0,03$ et $156,77 \pm 0,02$ μg EAG/mg respectivement. Cinq méthodes ont été réalisées pour évaluer l'activité antioxydante (le DPPH, l'ABTS, le SNP, le pouvoir réducteur et le test phénanthroline), et un seul test enzymatique permettant d'estimer l'effet inhibiteur de l'activité de l'enzyme butyrylcholinestérase. Nos résultats ont montré que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* possède une meilleure activité antioxydante pour le test du DPPH, ABTS et SNP, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Olea europaea* présente une meilleure activité antioxydante pour les deux tests ; le pouvoir réducteur et le test phénanthroline.

En ce qui concerne, l'activité anti-butyrylcholinestérase, l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* présente une forte activité inhibitrice de l'enzyme par rapport à l'extrait méthanolique d'*Olea europaea* et le standard ; avec une IC_{50} de l'ordre de $28,94 \pm 1,48$ $\mu\text{g/ml}$. Tandis que les deux extraits chloroformique et d'acétate d'éthyle des feuilles d'*Olea europaea* n'ont montré aucune activité.

En conclusion, on peut considérer que les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont un pouvoir antioxydant très important en comparaison aux feuilles d'*Olea europaea*. Aussi les feuilles de lentisque peuvent avoir un effet préventif contre l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, *Olea europaea*., polyphénols, DPPH, activité antioxydante, butyrylcholinestérase.

Abstract

Algeria is rich in medicinal plants which have uses in herbal medicine as they have various biological properties and an extraordinary range of bioactive molecules that act as chemical agents against diseases. This work is devoted to the study of the antioxidant and enzymatic activity of the leaves extracts for the two plants *Pistacia lentiscus* and *Olea europaea*, belonging respectively to the families *Anacardiaceae* and *Oleaceae*.

Different extracts were prepared; by carrying out a liquid-solid and liquid-liquid extraction, namely: methanolic extract of olive leaves (OM) and mastic tree (LM), chloroform and ethyl acetate extracts of olive leaves.

The highest total polyphenol content was found for the ethyl acetate extract from the leaves of *Olea europaea* and the methanolic extract from the leaves of *Pistacia lentiscus* with values of 158.80 ± 0.03 and $156.77 \pm 0.02 \mu\text{g EAG/mg}$ respectively. Five methods were performed to assess antioxidant activity (DPPH, ABTS, SNP, reducing power and phenanthroline test), and a single enzymatic test to estimate the inhibitory effect of the activity of the enzyme butyrylcholinesterase. Our results showed that the methanolic extract of *Pistacia lentiscus* has better antioxidant activity for the DPPH, ABTS and SNP tests, while the ethyl acetate extract of *Olea europaea* has better antioxidant activity for both tests; the reducing power and the phenanthroline test.

With regard to the anti-butyrylcholinesterase activity, the methanolic extract of the leaves of *Pistacia lentiscus* has a strong inhibitory activity of the enzyme compared to the methanolic extract of *Olea europaea* and the standard; with an IC_{50} of the order of $28.94 \pm 1.48 \mu\text{g/ml}$. While the two chloroform and ethyl acetate extracts from the leaves of *Olea europaea* haven't showed any activity.

In conclusion, it can be considered that *Pistacia lentiscus* leaves have a very high antioxidant power compared to *Olea europaea* leaves. Also, lentisk leaves can have a preventive effect against the appearance of Alzheimer's disease symptoms.

Key words: *Pistacia lentiscus*, *Olea europaea*., polyphenols, DPPH, antioxidant activity, butyrylcholinesterase.

ملخص

الجزائر غنية بالأعشاب الطبية التي لها استخدامات في طب الأعشاب لما لها من خصائص متنوعة عضوية ومجموعة غير عادية من الجزيئات النشطة بيولوجيًا التي تعمل كعوامل كيميائية ضد الأمراض. هذا العمل مخصص لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة والإنزيمية لمستخلصات أوراق *Olea* و *Pistacia lentiscus* *europaea*، تنتمي على التوالي إلى عائلات *Anacardiaceae* و *Oleaceae*.

تم تحضير مستخلصات مختلفة. من خلال إجراء عملية استخراج سائلة - صلبة وسائلة - سائلة، وهي: المستخلص الميثانولي لأوراق الزيتون (OM) وشجرة *Pistacia lentiscus* (LM)، ومستخلص الكلوروفورم وأسيئات الإيثيل لأوراق الزيتون.

تم العثور على أعلى محتوى إجمالي من مادة البوليفينول لمستخلص أسيئات الإيثيل من أوراق *Olea europaea*. ومستخلص الميثانول من أوراق *Pistacia lentiscus* بقيمة 0.03 ± 158.80 و 0.02 ± 156.77 ميكروغرام / ملغم على التوالي. تم إجراء خمس طرق لتقييم نشاط مضادات الأكسدة (DPPH، ABTS، SNP، FRAP واختبار الفينانثرولين)، واختبار إنزيمي منفرد لتقدير التأثير التثبيطي لنشاط إنزيم للبوتيريل كولينستراز. أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي لأوراق *Pistacia lentiscus* له نشاط مضاد للأكسدة أفضل لاختبار DPPH و ABTS و SNP، بينما يحتوي مستخلص أسيئات الإيثيل من *Olea europaea* على نشاط أفضل كمضاد للأكسدة في كلا الاختبارين؛ FRAP واختبار الفينانثرولين.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبوتيريل كولينستراز، يقدم المستخلص الميثانولي لأوراق *Pistacia lentiscus* نشاطًا مثبطًا قويًا للإنزيم مقارنة بالمستخلص الميثانولي لـ *Olea europaea* والمعيار؛ بقيمة $28.94 \pm IC_{50}$ 1.48 ميكروغرام / مل. بينما مستخلص كلا من الكلوروفورم وأسيئات الإيثيل من أوراق *Olea europaea* لم يظهر أي نشاط.

في الختام، يمكن اعتبار أوراق *Pistacia lentiscus* تتمتع بقدرات عالية جدًا من مضادات الأكسدة مقارنة بأوراق *Olea europaea*. كما يمكن أن يكون لأوراق *Pistacia lentiscus* تأثير وقائي ضد ظهور أعراض مرض الزهايمر.

الكلمات المفتاحية: *Olea europaea*، *Pistacia lentiscus*، بولي فينول، DPPH، نشاط مضاد للأكسدة، بوتيريل كولينستراز.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : KHELLAF Yasmine
ZERGANE Sofia

Thème : Etude de l'activité antioxydante et anti- butyrylcholinestérase des feuilles d'olivier et de lentisque.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée

L'Algérie est riche en plantes médicinales qui ont des utilisations en phytothérapie car elles ont diverses propriétés biologiques et une gamme extraordinaire de molécules bioactives qui agissent comme agents chimiques contre les maladies. Ce travail est consacré à l'étude de l'activité anti-oxydante et enzymatique des extraits des feuilles de deux plantes *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea*, appartenant respectivement aux familles des *Anacardiaceae* et *Oleaceae*.

Différents extraits ont été préparés ; en réalisant une extraction liquide-solide et liquide – liquide à savoir : l'extrait méthanolique des feuilles d'olivier (OM) et lentisque (LM), l'extrait chloroformique et d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier.

La teneur des polyphénols totaux les plus élevées ont été constatés pour l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*Olea europaea* et l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* avec des valeurs de $158,80 \pm 0,03$ et $156,77 \pm 0,02 \mu\text{g EAG/mg}$ respectivement. Cinq méthodes ont été réalisées pour évaluer l'activité antioxydante (le DPPH, l'ABTS, le SNP, le pouvoir réducteur et le test phénanthroline), et un seul test enzymatique permettant d'estimer l'effet inhibiteur de l'activité de l'enzyme butyrylcholinestérase. Nos résultats ont montré que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* possède une meilleure activité antioxydante pour le test du DPPH, ABTS et SNP, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Olea europaea* présente une meilleure activité antioxydante pour les deux tests ; le pouvoir réducteur et le test phénanthroline.

En ce qui concerne, l'activité anti-butyrylcholinestérase, l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* présente une forte activité inhibitrice de l'enzyme par rapport à l'extrait méthanolique d'*Olea europaea* et le standard ; avec une IC_{50} de l'ordre de $28,94 \pm 1,48 \mu\text{g/ml}$. Tandis que les deux extraits chloroformique et d'acétate d'éthyle des feuilles d'*Olea europaea* n'ont montré aucune activité.

En conclusion, on peut considérer que les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont un pouvoir antioxydant très important en comparaison aux feuilles d'*Olea europaea*. Aussi les feuilles de lentisque peuvent avoir un effet préventif contre l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Mots-clefs : *Pistacia lentiscus*, *Olea europaea*, polyphénols, DPPH, Activité antioxydante, butyrylcholinestérase.

Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST). (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie (CRBt).

Jury d'évaluation :

Encadreur : M^{elle} MOUSSAOUI S. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

Examineur 1 : M^{elle} Guendouze A. Maitre de conférences « B ». UFM-Constantine 1.

Examineur 2 : M^{me} Teniou S. Maitre assistante classe « A ». UFM-Constantine 1.