

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-Bejaïa

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Fondamentale



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité anti-radicalaire des composés phénoliques des
extraits des fruits de *Pistacia lentiscus***

Présenté par :

M^{elle} YAHIAOUI Myassa & M^{elle} BOUSELAHANE Sabrina

Soutenues le : 11 septembre 2022

Devant un jury compose de :

M^r GHIDOUCHE A.

MCA

Président

M^r ATMANI D.

Professeur

Encadreur

M^{me} BENSALÉM-BOURNINE S.

MCA

Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Louange au Dieu le tout puissant qui m'a accordé la foi, le courage et la patience pour mener ce travail à terme.

*On tient tout d'abord à remercier infiniment le professeur **ATMANI Djebbar**, notre enseignant avant d'être notre promoteur, de nous inspirer ce sujet et nous guider tout au long de son élaboration.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à Mr **AISSAT G**, M^{elle} **Naima**, M^{elle} **Radia**, Mr **Sid Ali** et M^{elle} **Amina** qui nous ont vraiment soutenues tout au long de la réalisation de notre mémoire.*

*Un grand merci à Mr **GHI DOUCHE A** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance de ce mémoire et accepté de juger ce modeste travail.*

*Je remercie M^{me} **BENSALÉM –BOURNINE S** pour accepter d'être membre de ce jury. Qu'ils reçoivent ici toute ma gratitude.*

Mes remerciements sont destinés aussi à nos parents qui nous ont toujours permis de choisir notre chemin. Vous avez toujours été présents, aussi bien par votre soutien moral ainsi que financier.

Enfin je remercie toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route et à la fleure qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je rendorme. A ma très chère mère je dédie ce travail, que dieux te garde pour nous.

A celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon exemple éternel, à mon cher papa que dieux te préserve toujours dans ce bas monde en bonne santé.

A mon cher frère Ferdjellah.

A mes chères sœurs Thafsouth et Thiziri.

A mon très cher Yanis, mon soutien moral et ma source de joie, merci pour la patience et le soutien dont tu as fait preuve pendant toute la durée de ce travail.

A toute la famille cousins, cousines, oncles et tantes.

A tous mes amis (es).

MYASSA

Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie :

A ma mère et à mon père qui ont tout fait pour moi pour que je réussisse dans ma vie et mes études. Un grand merci à vous.

Que Dieu vous préserve toujours en bonne santé.

A ma très chères Sœur Nawel.

A mon très cher Frère Yacine.

A Toute ma famille sans exception, Oncles, Tantes, Cousins et Cousines.

A mes amis chacune à son nom qui m'ont appuyé chacun de leur manière

A ma meilleure amie Ilhem.

A tous personnes qui m'a aidé de proche ou de loin.

SABRINA

Liste des abréviations

CAT: Catalase.

DPPH •: Radical 2,2 - Diphenyl - 1 - Picrylhydrazyl.

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène.

GPx: Glutathion Peroxydase.

GSH: Glutathion Réduit.

HOCL : Acide Hypochloreux.

NADH, H: Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide Réduit.

NADPH: Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide-Phosphate.

NNEDA: N - Alpha - Naphthyl – Ethylenediamin.

ONS : Oxyde Synthase.

SNP: Sodium Nitroprusside.

SOD: Superoxydes Dismutases.

Listes des figures

N°	Titre	Page
1	<i>Pistacia lentiscus.</i>	3
2	Photographie du fruit de <i>Pistacia lentiscus.</i>	3
3	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	8
4	La classification des composés phénoliques	11
5	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus.</i>	20
6	Pourcentage d'inhibition de NO de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus.</i>	22
7	Pourcentage d'inhibition d'H ₂ O ₂ de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> à 187,5 ug/ml.	23

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Résultats du dosage des flavonoïdes et des phénols totaux.	19
II	Pourcentage d'inhibition du radical NO de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> à différentes concentrations.	21

Sommaire

Introduction	1
I.Synthèse bibliographique	
I.1 Pistacia lentiscus	2
II. Les radicaux libres et les antioxydants	5
II.1. Les radicaux libres.....	5
II.2. Les antioxydants	8
II.3. Mécanismes anti-radicalaires	12
II.4. Piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène	12
III. Matériel et méthodes	14
II.1. Matériels	14
II.2. Méthodes	14
IV. Résultats et discussion	18
IV.1. Extraction	18
IV.2. Dosage des composés phénoliques.	18
IV.3. Activité anti-DPPH	19
IV.4. Activité anti-monoxyde d'azote (NO·).....	20
IV.5. Activité anti-peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	22
Conclusion.....	25
Références bibliographiques	25

Introduction

Introduction

Les radicaux libres chimiques sont des molécules indispensables produites par un grand nombre de mécanismes physiologiques, car ils jouent un rôle utile et important dans le fonctionnement de notre organisme lors de la production rationnelle. Mais ils sont également formés par plusieurs phénomènes pathologiques exogènes qui conduisent à une augmentation excessive de ces radicaux libres qui causent des dommages directs aux biomolécules, dont certaines contribuent au développement de diverses maladies telles que le cancer, la sclérose latérale amyotrophique et le vieillissement accéléré. Dans ce cas, ces produits chimiques sont neutralisés par plusieurs systèmes antioxydants, notamment les minéraux, les vitamines C et E, les caroténoïdes et les polyphénols (favier, 2003).

Ces dernières sont des biomolécules aux effets antioxydants et anti-radicalaires naturels qui empêchent les réactions radicalaires (Duenas *et al.*, 2009).

Plusieurs plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement de plusieurs maladies humaines grâce à leur capacité de synthétiser des différentes molécules organiques possédant des propriétés curatives ou préventives.

Pistacia lentiscus est un arbuste appartenant à la famille des Anacardiacees, présent dans tous les types de sols en Algérie subhumide et semi-aride (Charef *et al.*, 2008 ; Arab *et al.*, 2014). Cette plante est très utilisée dans les remèdes traditionnels pour de nombreux maux : antiseptique, hépatique, gastro-intestinal et tonique car elle est riche en composés phénoliques et possède des activités pharmacologiques diverses, notamment anti-inflammatoire, hypoglycémiant, anticancéreuse et antioxydante (Lee *et al.*, 2004).

C'est dans ce but que notre travail visait à évaluer l'activité anti-radicalaire de l'extrait de fruit de *Pistacia lentiscus* in vitro par différentes techniques.

Le présent travail est divisé en trois parties, la première partie comprend une revue bibliographique dans laquelle certaines informations sur *Pistacia lentiscus*, les radicaux libres, les antioxydants et les composés phénoliques sont recueillies. La deuxième partie comprend des études expérimentales réalisées in vitro à l'aide de différentes techniques. La troisième section contient les résultats obtenus et leur discussion. Nous terminons ce travail par une conclusion.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

I. Synthèse bibliographique

I.1. *Pistacia lentiscus*

I.1.1. Distribution géographique et description botanique

Dans le monde, 10 espèces de *Pistacia* appartiennent à la famille des Anacardiaceae (Adams *et al.*, 2009), dont quatre sont les plus largement distribuées en Algérie : *Pistacia lentiscus* L., *P. terebinthus* L., *P. vera* L., *P. atlantica* (Ghalem et Benhassaini, 2007). *Pistacia lentiscus* est un arbuste à feuilles persistantes, produisant des baies globuleuses rouge vif, virant vers le noir à maturité (**Figure 1**). Il pousse dans les régions méditerranéennes (Bonnier et Douin, 1990), d'Europe et d'Afrique, jusqu'aux îles Canaries. On le trouve dans tous les types de sols, des régions semi-humides et semi-arides, plus précisément dans le bassin de la Soummam en Algérie.

I.1.2. Caractéristiques de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus se caractérise par des branches d'écorce qui sont rougeâtres et deviennent grises avec le temps. Lorsque l'écorce est coupée, la plante libère une résine piquante et incolore à forte odeur. Branches tordues et compactées, formant des touffes serrées. Les feuilles persistantes, composées, à nombre pair de folioles vertes (4 à 10), ovales, obtus, brillants, glabres, coriaces, clairs. Les pétioles sont ailés et verts (Hans, 2007). Fleurs unisexuées, d'environ 3 mm de large, groupées. Ce sont initialement de petites drupes rouges qui deviennent noires à maturité (Boullard, 2001). Les fleurs femelles sont jaune-vert et les fleurs mâles sont rouge foncé (Belfadel, 2009). Le fruit est une baie sphérique de 2-3 mm, remplie du même nucléole, initialement rouge, devenant brune-noire à maturité en automne (**Figure 2**).



Figure 1 : *Pistacia lentiscus*

http://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/ghedadba_nabil/files/cours3.pdf



Figure 2 : Photographie du fruit de *Pistacia lentiscus*

I.1.3. Taxonomie

Selon Quezel et Santa, (1963), *Pistacia lentiscus* est botaniquement classifié ainsi :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Apétale

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiaceés

Genre : Pistacia

Espèce : *Pistacia lentiscus*

I.1.4. Composition chimique de *Pistacia lentiscus*

Plusieurs études phytochimiques ont été menées sur différentes parties de cette espèce afin de déterminer leurs constituants actifs.

I.1.4.1. Fruits

La teneur en anthocyanes des fruits de *Pistacia lentiscus* était de 5,4 mg/ml, principalement : anthocyanine 3-O-glucoside (70 %), delphinidine 3-O-glucoside (20 %) et anthocyanine 3-O-arabinoside (10 %) (Luigia *et al* 2007). Les deux polyphénols, acide gallique et 1.2.3.4.6-pentaméthylglucose ont été isolés par des études chimiques sur la fraction acétate d'éthyle (AcOEt) du fruit *Pistacia lentiscus* (Abdelwahab *et al.*, 2007).

Les huiles essentielles constituent 0,2 % du poids des fruits (Grant *et al.*, 1990 ; Congiu *et al.*, 2002), 38,8 % sont des huiles fixes et contiennent 53 % d'acides gras monoinsaturés (Trabelsi *et al.*, 2011). Les travaux de Hamad *et al.* (2011) ont montré que 5 % du poids des fruits de *Pistacia lentiscus* étaient des protéines, et la composition minérale de ces fruits présentait la teneur en potassium la plus élevée (2,67 %), tandis que les teneurs en sodium, calcium et phosphore étaient de : 0,46, 0,37 et 0,004 %, respectivement.

I.1.4.2. Feuilles

L'huile essentielle représente 0,14 à 0,17 % du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus* qui contiennent du longifène, de l' α -pinène, du β -pinène, du γ -cadinène, du trans- β -terpinéol, de l' α -acomeol, du γ -muurolène, du sabinène et du terpinène. -4-ol (Dob *et al.* 2006).

I.1.5. Activité pharmacologique et effet thérapeutique de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus est une plante connue depuis l'Antiquité pour ses propriétés cicatrisantes. En effet, la racine séchée est utilisée pour lutter contre les inflammations intestinales et gastriques (Palevitch et Yaniv, 2000). La partie aérienne se caractérise par ses propriétés diurétiques (Scherrer *et al.*, 2005). Cependant, les feuilles sont utilisées pour traiter l'eczéma, la diarrhée et les infections de la gorge, la grippe, et comme un puissant antiulcéreux (Kivçaket Akay, 2005). Le mastic a été utilisé en médecine pour traiter les problèmes de gencives buccales (Bellakhdar, 1997; Dedousis *et al.*, 2004) ainsi que les douleurs abdominales, les douleurs de l'estomac, l'indigestion et l'ulcère peptique (Bammou *et al.*, 2015). L'huile essentielle de *P. lentiscus* est utilisée pour traiter les problèmes lymphatiques et circulatoires (Pritchards, 2004).

II. Les radicaux libres et les antioxydants

II.1. Les radicaux libres

II.1.1. Définition

Les radicaux libres sont des produits chimiques, des atomes ou des molécules qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés dans leur enveloppe externe (Kehrer, 2008), ce qui les rend instables. Ce déséquilibre n'est que temporaire, et pour gagner en stabilité, ces molécules réagissent rapidement avec d'autres composants qui tentent de transférer cet électron ou de capter l'électron libre d'une autre molécule (Halliwell et Gutteridge, 1990 ; Aourousseau, 2002). Ils attaquent la molécule stable la plus proche en arrachant des électrons, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

II.1.2. Les espèces réactives d'Oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres dérivés des molécules d'oxygène en ajoutant un électron. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont :

- Le radical superoxyde ($\cdot\text{O}_2^-$)

L'anion superoxyde, formé par la simple réduction de l'oxygène, ajoute un électron à l'oxygène moléculaire dans la chaîne respiratoire au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) (Belkheiri, 2010). C'est le radical libre le moins réactif, mais un précurseur des autres ERO (Koechlin-Ramonatxo, 2006).



- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène est produit par la dismutation de l'anion superoxyde en présence de superoxyde dismutase (SOD) (Raccach, 2004). Il est également formé par la réduction à deux électrons de l'oxygène, une réaction catalysée par la glucose oxydase (Halliwell *et al.*, 2000 ; Afonso *et al.*, 2007).



- Le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$)

Le radical hydroxyle est le radical libre le plus gourmand en électrons et le plus dangereux pour les organismes car il réagit avec de nombreuses espèces moléculaires (protéines, lipides, ADN, etc.), provoquant de multiples dommages (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Ce radical est formé par

la réaction de Fenton de H_2O_2 en présence de métaux de transition : les ions ferreux réagissent avec le peroxyde d'hydrogène (Goudable *et al.*, 1997).



- **Oxygène singulet**

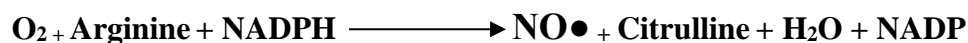
L'oxygène singulet est capable d'oxyder les protéines, l'ADN, et les lipides (Halliwell, 2006). Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante (Justine *et al.*, 2005).



II.1.3. Les espèces réactives d'azote

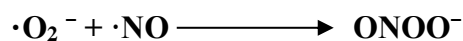
- Le monoxyde d'azote ($\cdot\text{NO}$)

Le monoxyde d'azote est un radical libre connu pour ses propriétés physiologiques (agissant sur le tonus vasculaire) (Barouki, 2006). L'oxyde nitrique est obtenu par la réaction catalytique de l'un des deux atomes d'azote terminaux du groupe guanidine de la L-arginine avec l'oxygène moléculaire (O_2) en présence du cofacteur NADH, H par l'acide nitrique. Oxyde synthase (ONS) (Sabry *et al.*, 1996).



- Le peroxyde d'azote (ONOO^-)

Le peroxyde d'azote est très réactif et provoque un stress oxydatif, qui produit une oxydation irréversible et diverses nitrations, notamment des résidus de tyrosine (Massion *et al.*, 2002). Le peroxyde d'azote peut agir sur l'ADN en modifiant les bases guanines car il interfère avec les mécanismes de l'apoptose (Gardés-Albert *et al.*, 2003 ; Pacher, 2007).



II.1.4. Source de radicaux libres

Les radicaux libres sont générés en permanence par un grand nombre de mécanismes à l'intérieur et à l'extérieur des cellules eucaryotes, on parle donc de sources endogènes exogènes.

- Sources exogènes

Les rayonnements, l'alcool, les résidus de la fumée de cigarette, les particules inhalées (amiante, silice), et de nombreux médicaments sont également capables de générer des radicaux libres.

- Sources endogènes

Les organismes trouvent leur énergie dans la respiration mitochondriale, dont la dernière étape réduit les molécules d'oxygène de quatre électrons sans libérer d'espèces radicalaires. Or, la fonction de la chaîne respiratoire mitochondriale produit l'anion superoxyde lorsque l'oxygène entre en contact avec certaines protéines du système respiratoire.

L'inflammation est également une source importante de radicaux libres oxydatifs produits directement par les phagocytes activés, siège d'un phénomène connu sous le nom d'explosion oxydative, consistant en l'activation du complexe NADPH oxydase, une enzyme qui produit de grandes quantités d'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire. Lorsque ce mécanisme est maîtrisé, il est essentiel pour lutter contre l'infection, car il englutit les bactéries et les corps étrangers.

Un autre radical libre, l'oxyde nitrique, est également produit par des systèmes enzymatiques qui agissent comme diverses NO synthases, médiées par des neurones, des cellules endothéliales ou des macrophages. Le mécanisme du cycle redox est également une source importante de radicaux libres, qui conduisent à l'oxydation spontanée des quinones sur les cytochromes P450. Les ions métalliques (chrome, cuivre, vanadium, fer) génèrent des radicaux hydroxyles très réactifs à partir de l'espèce moins réactive H_2O_2 par une réaction appelée réaction de Fenton (favier, 2003).

II.1.5. Rôles pathologique et physiologique des radicaux libres

Les radicaux libres, en situation physiologique et à des basses concentrations sont des espèces indispensables à la vie, car ils remplissent de très nombreuses fonctions utiles. Ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, la transduction de signaux cellulaires, la défense immunitaire contre les agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, la différenciation cellulaire, la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, la fécondation de l'ovule, la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes (Yoshikawa *et al.*, 2000). Une production excessive de radicaux libres (stress oxydant) provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides) (**Figure 3**), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides.

Le stress oxydant est considéré la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de

maladies plurifactorielles, comme le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Montagnier *et al.*, 1998).

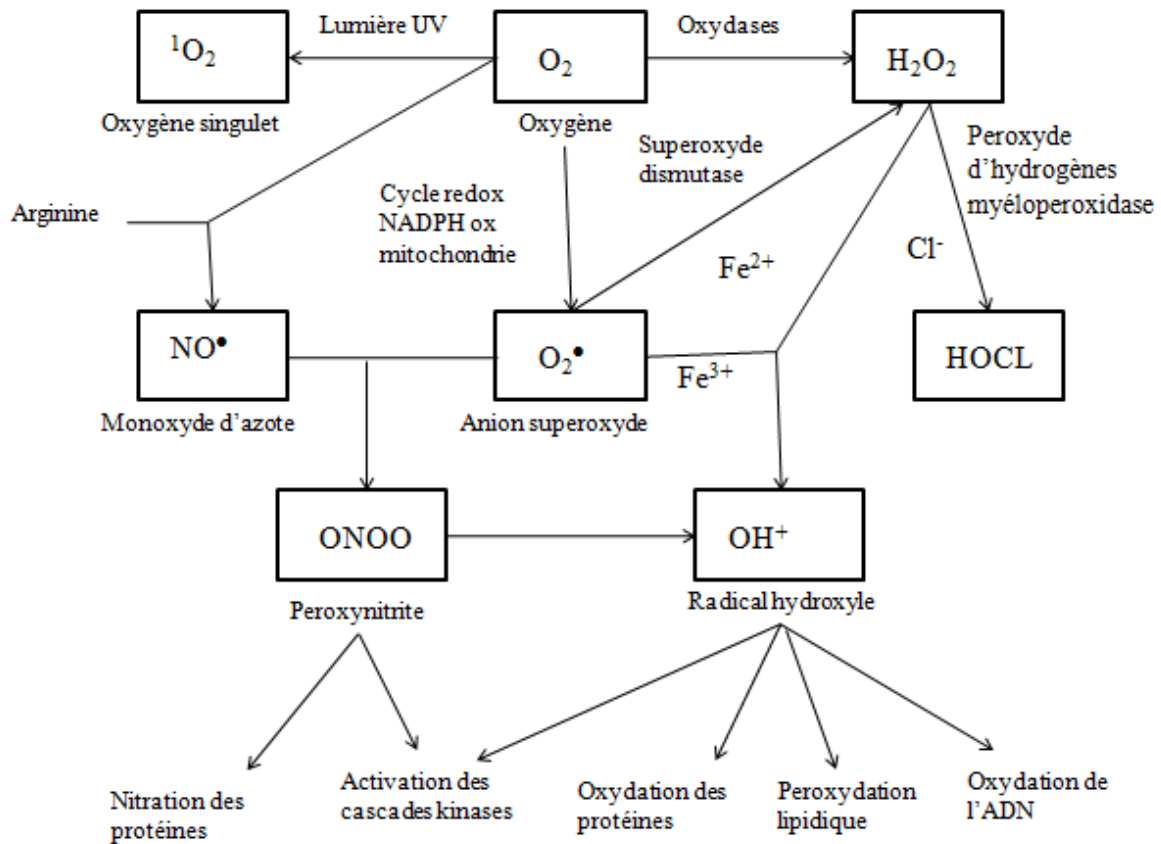


Figure 3 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Sies, 1997).

II.2. Les antioxydants

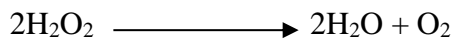
Les antioxydants sont l'ensemble des molécules présentes en faibles concentrations par rapport à celles du substrat oxydable, susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène (favier, 2003). Les antioxydants sont de deux types : endogènes (enzymatiques et non enzymatiques) et exogènes.

II.2.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques

Les enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (Mika *et al.*, 2004). Ils jouent un rôle important dans la protection de l'organisme contre toute attaque radicalaire agressive.

- Catalase (CAT)

C'est une enzyme présente dans les cellules hépatiques, les érythrocytes et les cellules rénales, au niveau intracellulaire, dans les peroxysomes. Le rôle de cette enzyme est de convertir et de catalyser la dismutation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Haleng *et al.*, 2007).



- Superoxyde dismutase (SOD)

Ces métalloprotéines constituent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif, assurant l'élimination de l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ par la réaction de dismutation, le convertissant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Haleng *et al.*, 2007).

- Glutathion peroxydase (GSH-Px)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes au détriment de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal est d'éliminer les peroxydes lipidiques produits par l'action du stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés. En cas de carence sévère en sélénium, la GPx s'effondre, c'est donc un bon reflet de cette carence (Haleng *et al.*, 2007).

II.2.2 Antioxydants endogènes non enzymatiques

Les antioxydants endogènes non enzymatiques comprennent plusieurs thiols, comme le glutathion qui, sous forme réduite, réagit avec les radicaux libres suivants : OH^{\bullet} , RO_2^{\bullet} , $^1\text{O}_2$, ONOO^- et HOCl (acide hypochloreux).

II.2.3. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des molécules qui possèdent la capacité de piéger et de désactiver les radicaux libres (Valko *et al.*, 2006), qui sont des vitamines, les caroténoïdes et les composés phénoliques (Berger., 2005).

- **La vitamine E**

La vitamine E est hydrophobe, ce qui lui permet de s'intégrer dans les membranes riches en acides gras polyinsaturés et de protéger en réagissant avec les radicaux peroxy (ROO^{\bullet}) pour former des radicaux libres de tocophéryle, empêchant la diffusion de la peroxydation des lipides (Haleng *et al.*, 2007).

- **La vitamine C**

Plus important encore, la vitamine C est un excellent piégeur d'AOE (HO^{\bullet} ou $\text{O}_2^{\bullet-}$). Il inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E sous forme de radicaux libres produits par réaction avec les radicaux libres lipidiques (Haleng *et al.*, 2007).

- **Les caroténoïdes**

Ce sont des pigments des plantes riches en doubles liaisons qui sont capables de délocaliser les électrons non-appariés, à éliminer l'oxygène singulet et à réagir avec les radicaux libres (Rahman, 2007).

- **Les oligoéléments**

C'est une classe des micronutriments essentiels (cuivre, zinc et sélénium) pour l'organisme (Higuchi, 2014). Cependant, ils sont essentiels à l'activité des enzymes susmentionnées, et un manque ou une carence de ces nutriments peut entraîner des dysfonctionnements sévères (Desmier, 2016).

II.2.4. Les composés phénoliques

II.2.4.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites végétaux secondaires présents dans toutes les parties supérieures des plantes (feuilles, fleurs, tiges, racines, pollen, fruits, graines et bois) (Beta *et al.*, 2005). Les polyphénols ont des propriétés antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Bidie *et al.*, 2011). Les composés phénoliques sont regroupés en une dizaine de classes chimiques qui ont toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique possédant de multiples fonctions hydroxyles libres ou apparentées aux glucides (Guignard, 1979).

II.2.4.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont des dérivés non azotés produits à partir de métabolites primaires, principalement par les deux voies suivantes :

- La voie du shikimate, dont la synthèse est associée à la synthèse d'acides aminés aromatiques (tyrosine et phénylalanine), dont la désamination produit l'acide cinnamique et ses dérivés.
- La voie de l'acétate de malonate pour former des acides phénoliques.

Par un mécanisme de condensation, les β -cétoesters dérivent de différentes longueurs (Chira *et al.*, 2008).

II.2.4.3. Classification des composés phénoliques

Le nombre de noyaux aromatiques qui composent les polyphénols permet de les classer en différents groupes (**Figure 3**) (Barboni *et al.*, 2006).

Parmi les catégories les plus importantes, nous distinguons les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

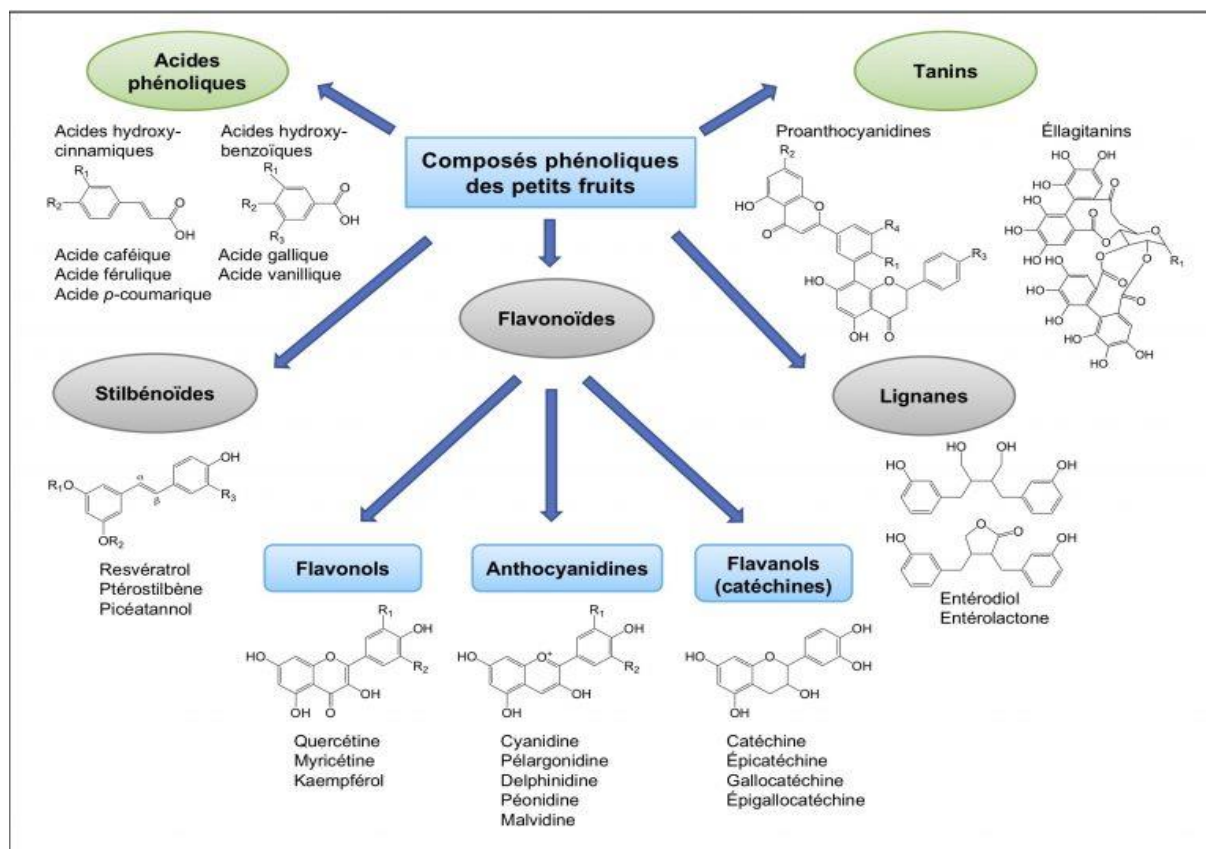


Figure 4 : la classification des composés phénoliques.

http://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/ghedadba_nabil/files/cours3.pdf

➤ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques désignent généralement les phénols à une seule fonction acide carboxylique (Stalikas *et al.*, 2007), qui sont divisés en acides phénoliques simples, acide hydroxybenzoïque et ses dérivés (C6-C1), et acide hydroxycinnamique et ses dérivés (C6 -C3) (Barboni, 2006).

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques à structure phénylbenzopyrone (Liu *et al.*, 2008), qui sont dérivés de flavanes contenant 15 atomes de carbone et forment une structure C6-C3-C6 caractérisée par la présence de deux cycles aromatiques, A et B, reliés entre eux par un hétérocycle C contenant de l'oxygène (Chira *et al.*, 2008).

➤ Les tannins

Les tannins sont des polyphénols capables de se lier à toutes les molécules, principalement les protéines (Zimmer et Cordesse, 1996). Ils se répartissent en deux grandes catégories : les tannins catéchiques (condensés) et les tannins hydrolysés (Choudhary et swarnkar, 2011).

II.3. Mécanismes anti-radicalaires

Il a été suggéré que les effets des polyphénols sur les radicaux libres peuvent fonctionner à travers trois mécanismes différents.

II.3.1. Inhibition enzymatique

Les composés phénoliques peuvent affecter et inhiber de nombreux systèmes enzymatiques (Middleton *et al.*, 2000), comme la xanthine oxydase qui est considérée comme une source biologique importante de radicaux superoxydes dans l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique (Peitta, 2000 ; Nijveldt *et al.*, 2001). En effet, les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de cette enzyme pour inverser la maladie de la goutte en réduisant la concentration d'acide urique et de radicaux superoxydes dans les tissus humains (Hanasaki *et al.*, 1994).

II.3.2. Chélation des ions métalliques

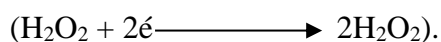
Les ions métalliques comme le fer et le cuivre jouent des rôles importants dans certaines fonctions biologiques. D'une part, ils contribuent à la formation des hémoprotéines et ils représentent des cofacteurs pour diverses enzymes du système de défense antioxydant (Fe pour la catalase, et Cu et Zn pour la superoxyde dismutase). D'autre part, ils renforcent les effets néfastes du stress oxydant en stimulant la production de radicaux libres hydroxyles (Pietta, 2000).

Ces ions métalliques sont chélatés par des composés phénoliques tels que les flavonoïdes qui sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques. La principale contribution à la chélation des ions métalliques est due au noyau catéchol sur le cycle B, les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo de l'hétérocycle C et les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre l'hétérocycle C et le cycle A. Selon les recherches menées par Van Acker et collaborateurs (1996), la quercétine est considérée comme le flavonoïde le plus actif en raison de ses 3 sites de complexation qui lui permettent de chélater les métaux.

II.4. Piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène

- Les flavonoïdes sont connus pour leur puissante capacité à piéger les radicaux libres. En formant des radicaux libres moins réactifs (flavoxyles), ces radicaux libres sont convertis en composés inactifs (Dorman *et al.*, 2003). Cela peut être lié au groupe hydroxyle phénolique attaché à la structure cyclique (Wattel *et al.*, 2002).

- Les polyphénols ont une activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène en raison de leur capacité à donner des électrons et des atomes d'hydrogène au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pour le neutraliser dans l'eau.



- Les polyphénols d'origine alimentaire (flavonoïdes) ont la capacité de capter le peroxyde d'azote (•ONOO⁻), dans le cas des composés monohydroxylés (exemple de l'acide p-coumarique), en dirigeant la nitration vers leur propre molécule, ou par transfert d'électrons dans le cas de la quercétine en inactivant le peroxyde d'azote (Nijveldt *et al.*, 2001 ; Pollard *et al.*, 2006).

L'objectif de cette étude est de tester l'activité anti-radicalaire des composés phénoliques des extraits de fruits de *Pistacia lentiscus*, en utilisant la méthodologie appropriée.

Chapitre III :
Matériels et méthodes

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. Matériel du laboratoire

Spectrophotomètre à UV (Shimadzu) ; Rotavapeur (Heidolph); Balance électrique (Radwag), Centrifugeuse (Sigma); Agitateur électromagnétique (Velp scientifica); pH mètre(Hanna instruments); Vortex (Neuaction); Sonicateur (Raypa);Etuve (Mettler); Pompe à air (Fisherbrand);Broyeur électrique (Comaf); Soxhlet (Behr labor-technik); Bain marie (Mettler); Micropipettes; Eprovettes; Entonnoir; Erlenmeyers; Bêchers; Tubes à essais, Spatules; Eppendorfs; Verre de montre; Boites de pétri en verre ...

III.1.2. Produits chimiques

Hexane; Méthanol; Ethanol; DPPH (1,1-Déphenyl-2-Picryl-hydrazyl) ; Tampon phosphate (Acide : KH_2PO_4 +Base : K_2HPO_4); H_2O_2 ; Sodium nitroprusside (SNP); Sulfanilamide; N-alpha-naphthyl-ethylenediamine (NNEDA); Acide phosphorique; Sodium salicylate; Acide ascorbique; Quercétine; Rutine; Catéchine; Acide gallique; Acide caféique; Acide coumarique, Acide cinnamique; Acide tannique; Trolox.

III.1. 3. Matériel végétal

Pistacia lentiscus.

La récolte des fruits de *Pistacia lentiscus* a été réalisée au niveau de la forêt de Tizi Neftah, Commune d'Amizour, Bejaia, Algérie.

III.2. Méthodes

III.2.1. Extraction

Après broyage des fruits de *P. lentiscus* à l'aide d'un broyeur électrique, le broyat a été délipidé à l'aide d'un extracteur Soxhlet pendant 6 heures par une extraction à l'héxane 95%. Ensuite, 10g de la poudre introduite dans la cartouche de Soxhlet a été mélangée avec 100ml de méthanol 80%. Le mélange a été transféré au bain à ultrasons pendant 15 minutes et filtré à l'aide d'une pompe à air et un entonnoir. Puis, la poudre a été récupérée et mélangée avec 80 ml de méthanol 80% pour réaliser les quatre autres cycles d'ultrasons. Par contre, le filtrat de chaque cycle a été centrifugé et transféré au rotavapeur à 40°C pour l'élimination de l'héxane et, enfin la solution obtenue a été conservée dans le réfrigérateur.

III.2.2. Activités antioxydantes

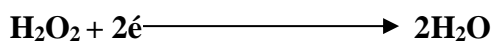
Plusieurs tests d'activité antioxydante ont été réalisés, parmi lesquels on retrouve les tests anti-peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), anti-monoxyde d'azote ($NO\cdot$), anti-hydroxyle ($OH\cdot$) anti-DPPH.

III.2.2.1. Activité anti-peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

La capacité des extraits de fruits de *P. lentiscus* à piéger le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) a été déterminée par la méthode de Ruch et al., (1989), avec quelques modifications.

Principe

Il s'agit de neutraliser le peroxyde d'hydrogène avec un antioxydant pour favoriser la décomposition du peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, selon la réaction suivante :



Mode opératoire

Une quantité de 0,6ml de la solution H_2O_2 (40mM) préparée dans un tampon Phosphate (pH=7,4) a été ajoutée à 1ml de la solution d'extrait à différentes concentrations. Après une incubation de 10minutes à température ambiante, l'absorbance de H_2O_2 présent dans le mélange réactionnel a été mesurée à 230nm ($\epsilon(H_2O_2) = 81 M^{-1} cm^{-1}$).

- **Remarque :** Le blanc a été préparé de la même façon mais sans le H_2O_2 :
(0,6 ml du méthanol + 1 ml de la solution d'extrait).

L'activité de piégeage de H_2O_2 est calculée suivant la formule :

$$\% \text{ de piégeage du } H_2O_2 = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

Acont : absorbance du contrôle / **Atest** : absorbance de l'extrait.

III.2.2.2. Activité anti-monoxyde d'azote ($NO\cdot$)

Principe

Le sodium nitroprusside (SNP) se décompose en présence de lumière dans une solution aqueuse (pH=7,2) pour former le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) qui réagit à son tour avec l'oxygène moléculaire. Des ions nitrites se génèrent et réagissent avec le réactif de Griess (un composé de deux produits : le sulfanilamide et (NNEDA) le N-alpha-naphthyl-ethylenediamine). Un sel de diazonium est formé à partir l'ion nitrite et le sulfanilamide, révélé par adjonction du N-alpha-naphthyl-ethylenediamine (NNEDA) qui produit un complexe de coloration rouge dont le maximum d'absorption est à 550nm (Maccocci et al., 1994).

Mode opératoire

Un volume de 500 µl de la solution sodium nitroprusside (10mM) préparée dans un tampon phosphate (pH=7,3) a été ajouté à 500 µl de la solution d'extrait à différentes concentrations. Après incubation pendant 150min à 25°C en présence de lumière, 1 ml de réactif de Griess (1% de sulfanilamide et 0,1% dichlorhydrate de Naphthylethylenediamine dans 5% H₃PO₄) a été ajouté. L'absorbance a été mesurée à 550nm.

• **Remarque :** Le blanc a été préparé de la même façon mais au lieu d'ajouter le réactif de Griess on ajoute 1ml de la solution tampon.

Le pourcentage d'inhibition du radical NO• pour chaque extrait et standard est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du radical NO}\bullet = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

A_{cont} : Absorbance du contrôle/**A_{test} :** Absorbance du standard / NO•

III.2.2.3. Activité anti-DPPH

L'effet des extraits de *P. lentiscus* sur le radical DPPH a été mesuré en utilisant la méthode de Mensor et *al.* (2001), avec quelques modifications.

Principe

Le DPPH (diphénylpicryl-hydrate) est un radical libre et stable de couleur violette intense qui perd sa coloration native quand il est réduit par les antioxydants.

Mode opératoire

Pratiquement, 710 µl de la solution éthanolique de DPPH (0,3mM) ont été additionnés à 290 µL de la solution d'extrait à différentes concentrations. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 517 nm.

L'activité d'inhibition du radical DPPH pour chaque extrait et standard est calculée suivant la formule :

$$\% \text{ anti-DPPH} = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

A_{cont} : Absorbance du contrôle/**A_{test} :** Absorbance du standard / DPPH

III.2.3. Dosage des flavonoïdes**Principe**

Les flavonoïdes ont une capacité à former un complexe avec le chlorure d'aluminium qui donne à la solution une coloration jaunâtre.

Mode opératoire

Un volume de 500 μ l de réactif de chlorure d'aluminium (133 mg de chlorure d'aluminium et 400 mg d'acétate de sodium cristalline dans 100 ml d'eau distillée) a été ajouté à 1ml de la solution méthanolique d'extrait à différentes concentrations. Après incubation pendant 10 min, l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

La quantité des flavonoïdes est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe 2) réalisée avec la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de la quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

III.2.4. Dosage des phénols totaux

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune, qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en un complexe d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue dont le maximum d'absorption est à 750nm, est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans l'extrait (Lapornik et *al.*, 2005).

Mode opératoire

Un volume de 1000 μ l de réactif de Folin a été ajouté à 200 μ l de la solution d'extrait à différentes concentrations. Après 3 min d'incubation, 800 μ l de carbonate de sodium ont été ajoutés. Après incubation pendant 30 min à 37°, l'absorbance a été mesurée à 760 nm.

Les résultats sont calculés à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe 2) réalisée avec l'acide gallique comme standard et exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG / g d'extrait).

III.2.5 Analyse statistique

Les résultats des différents tests réalisés sont présentés en moyenne \pm écart type. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du test t de Student à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8.02. La valeur obtenue en calculant t confirme que la population est différente, soit sont peu significatives à *P<0,05, significatives à **P<0,01, hautement significatives à ***p<0,001 et très hautement significatives à ****p<0,0001.

Chapitre III :
Résultats et discussions

III. Résultats et discussion

III.1. Extraction

III.1.1. Taux d'extraction

Selon les résultats obtenus dans cette étude, le rendement de l'extrait hydrométhanolique du fruit de *pistacia lentiscus* était de 25,39%(25,39 g d'extrait sec pour 100g de matière végétale sèche. Ce qui est supérieur aux rendements obtenus par les extraits éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus* récoltée dans la région d'Amizour, Béjaia (3,07 % pour les fruits et 6,09%) rapporté par les travaux de Remila *et al.*, (2015).

Ces taux d'extraction sont influencés par la méthode utilisée, la nature chimique des composés (solubilité dans les solvants), la granulométrie, le temps d'extraction, les conditions de stockage et la présence de substances interférents (Cowan, 1999; Levizou *et al.*, 2004).

D'après les résultats obtenus, on peut déduire que l'extraction à l'hydrométhanol donne les rendements les plus élevés. Ces mélanges sont le plus couramment utilisés pour extraire les composés phénoliques des végétaux car leurs polarités correspondent à la polarité des composés extraits. Dans ce cas, le solvant le plus polaire était plus efficace pour extraire les composés phénoliques de toutes les parties de la plante que le solvant le moins polaire.

III.2. Dosage des composés phénoliques.

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée en utilisant l'acide gallique comme molécule standard (**Annexe 1**) ($y = 0,01x + 0,01$, $R^2 = 0,999$). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait brut (mg EAG/g).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium($AlCl_3$). Les résultats sont exprimés au mg équivalent de quercétine par gramme de l'extrait brut (mg EQ/g) on utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine (**annexe 2**) ($y = 0,053x + 0,041$, $R^2 = 0,995$).

Les résultats du dosage des composés phénoliques dans l'extrait des fruits de *pistacia lentiscus* sont représentés dans **le tableau** ci-dessous.

Tableau 1 : Résultats du dosage des flavonoïdes et des phénols totaux.

Phénols totaux EAG/g d'extrait	Flavonoïdes EQ/g d'extrait
311,306 ±29,890	11,069 ±0,426

Selon le **tableau 1**, la concentration en polyphénols totaux des fruits de *Pistacia lentiscus* est d'environ 311,306 ±29,890 mg EAG/g d'extrait qui sont supérieurs à des travaux menés par Remila et ses collaborateurs(2015), Yemmem *et al.* (2017) sur les extraits éthanoliques de la même partie de la plante qui sont 205,97 ±6,51 et 41,8 ±1,03 mg EGA /g d'extrait, respectivement. Ces résultats restent supérieurs à celles obtenues par les travaux de Barbouchi et ses collaborateurs (2018) qui ont travaillé sur les extraits méthanoliques des feuilles de *P.lentiscus* dont la valeur 146,08 ± 0,67 mg de GAE/ g d'extrait

Concernant la concentration en flavonoïdes de cet extrait, elle est d'environ 11,069 ± 0,426 mg EQ/g d'extrait qui est supérieure à celles trouvées par Remila *et al.* (2015) et Yemmen *et al.* (2017) qui ont travaillé sur les extraits éthanoliques des feuilles où les valeurs sont 6,28 ±1,04 et 7,06 ±0,46 mg EQ/g d'extrait, respectivement. Par contre les résultats obtenus sont inférieures aux travaux réalisés sur les extraits éthanoliques des feuilles par Mehenni *et al.* (2016) est de 254,9 ±5,04 mg EQ/g d'extrait.

Les résultats obtenus de cette recherche nous laisse suggérer que l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus* est plus riche en composés phénoliques qui peuvent englobés plusieurs classes.

Une grande différence a été remarquée en comparant nos résultats de composés phénoliques et de flavonoïdes avec ceux d'autres auteurs. Cette différence est expliquée par de nombreux facteurs : les méthodes d'extraction et les solvants utilisés (Lee *et al.*, 2005), la partie utilisée de la plante, la période de récolte et les facteurs climatiques.

III.3.Activité anti-DPPH

Le DPPH est utilisé afin d'évaluer la capacité des antioxydants d'agir en tant que piègeurs des radicaux libres ou donateurs d'hydrogène (Molyneux, 2004).

La figure 5 illustre les résultats de l'activité scavenger du radical DPPH de l'extrait des fruits de *P.lentiscus*.

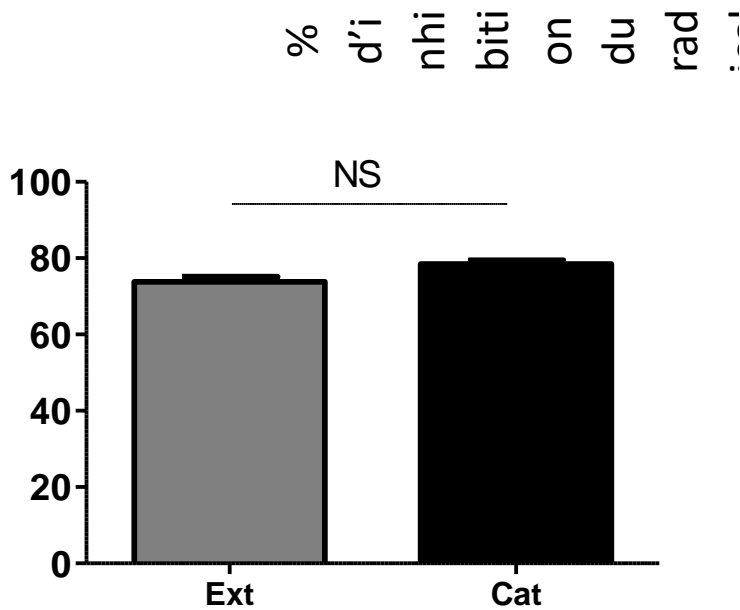


Figure 5 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*.

L'effet d'inhibition du radical DPPH (**figure 5**) à la concentration 187,5µg/ml est plus important dans l'extrait des fruits de *P.lentiscus* qui est de valeur 73,8 ±2,288%. L'analyse statistique indique qu'il n'existe aucune différence significative ($P^* < 0,05$) entre les pourcentages d'inhibition du radical DPPH et la catéchine comme standard.

Ces résultats sont inférieurs aux celles menés par Abdelwahed, et *al.* (2007) et Atmani, et *al.* (2009) qui sont supérieurs à 90%.

L'activité anti-radicalaire de l'extrait de fruits de *p lentiscus* est donc relativement dépendante de la teneur en composés phénoliques, ce qui explique que le pouvoir antioxydant est fort probablement dû aux composés phénoliques présents dans les fruits de *P.lentiscus*, et qui sont connus comme substances anti-oxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Turkmen *et al.*, 2007).

III.4.Activité anti-monoxyde d'azote (NO•)

Le monoxyde d'azote (NO) est un radical de faible réactivité qui joue le rôle d'un médiateur biologique régulant plusieurs fonctions physiologiques telles que la vasodilatation capillaire, la prolifération ou le message de neurones, mais dans les conditions pathologiques il réagit avec l'anion superoxyde et forme une molécule plus réactive et cytotoxique qui est le peroxyneutre (ONOOH).

Les extraits de plantes peuvent avoir des propriétés qui neutralisent la formation de NO, ils ont aussi un intérêt considérable à prévenir les méfaits d'une génération excessive de NO dans le corps humain. L'oxygène réagit avec l'oxyde nitrique généré par le nitroprussiate de sodium afin de former une molécule bien conservée par ces extraits qui est l'anion nitrite.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique analysé a un pourcentage d'inhibition du radical monoxyde d'azote très important.

Le tableau II montre que l'extrait méthanolique de fruits de *P.lentiscus* présente une activité inhibitrice maximale de 66 % à une concentration 250 µg/ml, et un pourcentage minimal de 3% enregistré à 15,526 ug/ml. D'après ces résultats on peut constater qu'il existe une relation dépendante entre l'effet piègeur du radical NO et la concentration de l'extrait analysé.

Tableau II : Pourcentage d'inhibition du radical NO de l'extrait méthanolique des fruits de *pistacia lentiscus* à différentes concentrations.

La concentration en ug/ml	Le pourcentage d'inhibition
250	66,540 ±1,642
187,5	59,821 ±0,661
125	52,777 ±2,487
62,5	51,774 ±1,691
31,25	4,510 ±5,846
15,625	3,038 ±1,016

Les résultats obtenus dans notre étude à la concentration 187,5µg/ml représenté par **la figure 6** dont les molécules de référence sont l'acide ascorbique et la catéchine ont montré que le pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique de fruits de *P.lentiscus* est très important qui est de valeur 59,557 ±5,355%.

L'analyse statistique de ces résultats, indique la présence d'une différence très significative (**<0,01) entre l'acide ascorbique et l'extrait, et une différence non significative entre la catéchine et l'extrait.

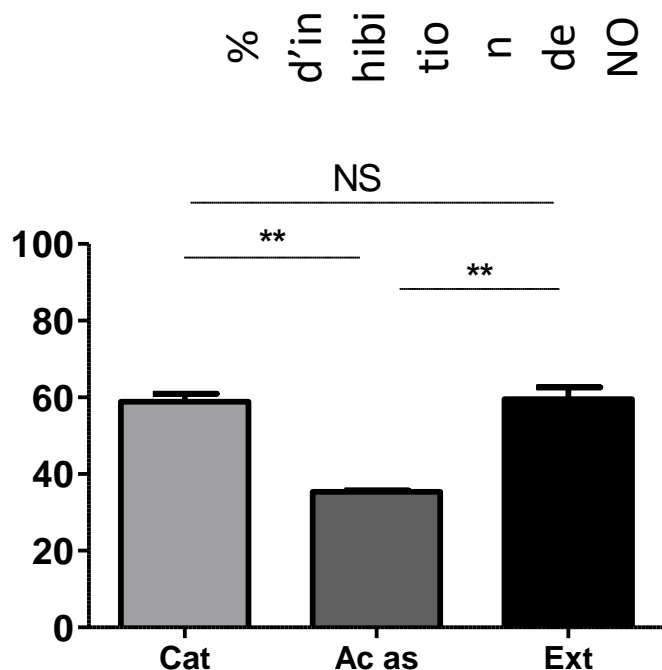


Figure 6 : Pourcentage d'inhibition de NO de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique analysé a un pourcentage important d'inhibition du radical NO par rapport au standard ce qui pourrait s'expliquer par la richesse des fruits de *P.lentiscus* en composés phénoliques, et certaines modifications dans la structure de base des flavonoïdes tels que: la glycosylation et l'O-méthylation de leur groupement hydroxyles qui peuvent modifier leurs activités antioxydantes (Atmani *et al.*, 2009).

III.5.Activité anti-péroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Dans notre expérience l'acide ascorbique, la catéchine et la quercétine ont été utilisées comme molécules de référence .L'effet scavenging du H₂O₂ par l'extrait méthanolique des fruits de *P.lentiscus* à 187,5 ug/ml est représenté par la **figure 7** ou le pourcentage d'inhibition de notre extrait est très important qui est de valeur 42,95 ±0,158%, ainsi que les teneurs des molécules de référence notamment la catéchine présente une capacité inhibitrice du H₂O₂ très élevée.

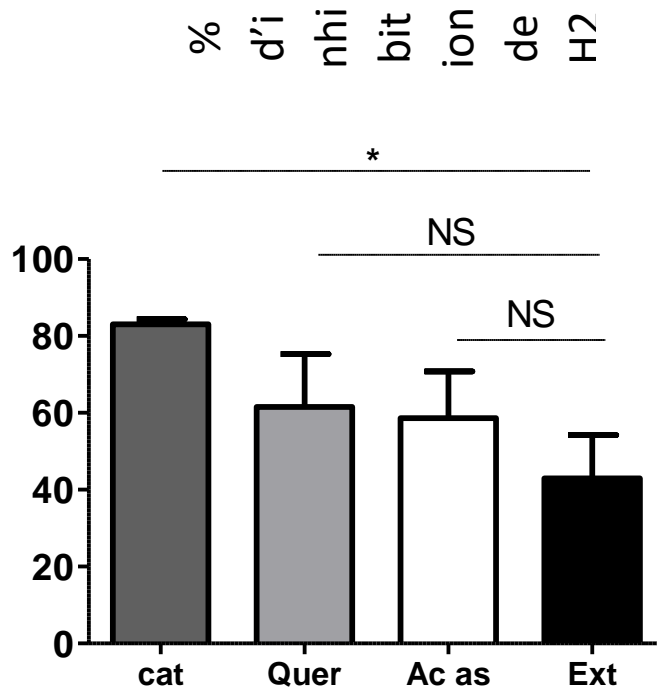


Figure 7 : Pourcentage d'inhibition d'H₂O₂ de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* à 187,5 µg/ml.

D'après l'analyse statistique de ces résultats aucune différence significative n'a été observée entre la quercétine, l'acide ascorbique et l'extrait testé. Par contre une différence significative ($P^* < 0,05$) a été enregistrée entre la catéchine et l'extrait.

Ces résultats pourraient s'expliquer par la richesse de l'extrait de notre plante en composés phénoliques qui présentent une capacité de neutraliser le H₂O₂ en H₂O.

D'après les recherches menées par Sroka et Cisonski, (2003) sur les acides phénoliques ont montré que deux paramètres jouent un rôle important dans cette activité qui est le nombre et la position du groupement hydroxyle lié au cycle aromatique.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales sont utilisées comme traitements traditionnels pour de nombreuses maladies humaines, y compris celles associées au stress oxydatif. *Pistacia lentiscus* est une espèce qui a été largement étudiée pour ses propriétés médicinales.

L'effet antiradicalaire et antioxydant des extraits de *Pistacia lentiscus* ont été évalués dans ce travail.

L'évaluation quantitative des phénols totaux et les flavonoïdes sont respectivement $311,306 \pm 29,890$ EAG/g d'extrait et $11,069 \pm 0,426$ EQ/g d'extrait. Les résultats du test DPPH et le test NO montrent que les effets d'inhibition sont compris respectivement entre 76% et 55% et entre 67% et 3% à différentes concentration, et l'analyse statistique de ces résultats indique qu'il n'existe aucune différence significative entre l'extrait hydro-méthanolique analysé et la catéchine qui est connue pour ses propriétés anti-oxydantes.

Selon les tests utilisés dans notre étude pour évaluer l'effet antiradicalaire des fruits de *P.lentiscus* on peut approuver qu'il existe une relation entre les activités antioxydants et les composés phénoliques, et que notre plante présente un effet anti-radicalaire important, donc une bonne source d'antioxydants.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais il serait souhaitable et de compléter cette étude par d'autres tests d'évaluation de l'activité antiradicalaire tel que : le pouvoir réducteur, l'identification des principes actifs de cette espèce avec des méthodes chromatographiques et l'évaluation de l'activité anti-radicalaire par ABTS. Notamment de s'orienter vers la détermination des molécules actives dans les extraits de *Pistacia lentiscus*.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

Abdelwahab, A.; Bouhlel, I.; Skandrani, I.; Valenti, K.; Kadri, M.; Guiraud, P.; Steiman, R.; Mariotte, AM.; Ghedira, K.; Laporte, F.; Dijoux-Franca, M-G, and Chekir-Ghedira, L. (2007): Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling, *Chemico-Biological Interactions* 165, 1-13.

Adams, M.; Plitzko, I.; Kaiser, M.; Brun, R, and Hamburger, M. (2009). HPLC-profiling for antiplasmodial compounds-3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. *Phytochemistry Letters* 2: 159-162.

Afonso, V.; Champy, R.; Mitrovic, D.; Collin, P, and Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène est superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Reactive oxygen species and superoxide dismutases : role in joint diseases. *Revue de Rhumatisme*, 74 : 636—643.

Arab, K.; bouchnak, O ,and yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxydant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of fundamental and Applied Science* ,6 ,77-91.

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

Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leur produit. *Productions animales*, 15 (1) : 67-82.

Barbouchi, M.; Elamrani, K.; El Idrissi, M, and Choukrad, M. (2018). A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of King Saud University - Science* 12p.

Barboni, T .; Chiamoni, N.; Leoni, E .; Desjobert, J.M, and Santoni P.A. (2006). Analysis of smoke during prescribed fires, Rirst international symposium on environment identities and Mediterranean area, pp. 10-13.

Barboni, T. (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. *Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse*, p26.

Barouki, R ; Morel, Y. (2004). Oxidative stress and gene expression. *J Soc Biol.* 195: 82-377.

Bellakhdar, J.; Claisse, R.; Fleurentin, J, and Yaunos C. (1991). Repertory of standart herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia ». *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 123-143.

Belkheiri, N. (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat. Université Toulouse III – Paul Sabatier, France.

Belfadel, F. Z. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*-Caractéristiques physicochimiques et effets et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Magister en biochimie organique, Université Mentouri, Constantine, 144 p.

Bammou, M.; Daoudi, A.; Slimani, I.; Najem, M.; Bouiamrine, E. H.; Ibjibjen, J. et Nassiri L. (2015) : Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86:7966- 7975

Berger, M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 48-53.

Bonnier, G.; Douin, R. (1990). La grande flore. Berlin, editor.

Boullard, B. (2001). Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Ed: Estem, p : 414, 415-24

Choudhary, R.K. and Swarnkar, P.L. (2011). Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India *Natural Product recherche*, 25(11): 1109.

Chira, K.; Suh, J.H. and Teissère, P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6: 75-82.

Congiu, R.; Falconieri, D.; Bruno, M.; Alessandra, P. and Silvia, P. (2002): Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. Essential oil by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4), 239-244.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4) :565,568-571.

Dedoussis, G.; Kaliora, A.; Psarras, S.; Chiou, A.; Mylona, A.; Papadopoulos, N. and Andrikopoulos N K. (2004). Anti atherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174, 293-303.

Desmir T. (2016). Les antioxydants de nos jours, définition et application .Thèse d'exercice. Université de Limoges.87p.

Dob, T.; Dahmane, D, and Chelghoum, C. (2006): Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 642-644

Dorman, H. J. D.; Kosar, M.; Kahlos, K.; Holm, Y. and Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *mentha spicata*, hybrids, varieties and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4563- 4569.

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 109: 108-115.

Gardès-Albert, A. M.; Bonnefont, D. R.; Abedinzadeh, Z, and Jore. D. (2003). Espèce réactive de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité Chimique*, 91-95.

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

Goudable, J, and Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11: 115-120.

Grant wyllie, S.; Joseph J, Brophy.; Vassilios, Sarafis, and Hobbs. (1990): Volatile Components of the Fruit of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of Food Science*, 55 (5), 1325–1326

Haleng, J .: Picemail, J.; Charlier, C, and Chapelle, J.(2007).Le stress oxydant. *Revue médicale de liège* 62 : 38-628.

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141: 312-322.

Halliwell, B, and Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Met. Enzymol.* 186 : 1-85.

Halliwell, B.; Clement, M.V, and Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxid in the human body. *Federation of European Biochemical Societies*, 486 : 10-13.

Hamad, H. Hasan.; Ibrahim, H. Habib.; Mariam, H. Gonaid. and Mojahidul. (2011). Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plants growing in al jabal al-akhdar. *J Nat Prod Plant Resour*, 1 (1), 15-23.

Hanasaki, Y.; Ogawa, S, and Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radicals of Biology Medecine*, 16: 845-850.

Hans, w.; koth. (2007). 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre: 242

Justine, P.; Odile, P, and Carole P. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat Université Paul-Sabatier de Toulouse. P : 14

Kehrer p. (2008). Radicaux libres en tant que médiateurs des blessures et des maladies tissulaires. *Examens critiques en toxicologie*, 23 : 21-48.

Kivçak, and Akay, S. (2005). Quantitative Determination Of alpha-Tocopherol In *PistaciaLentiscus*, *PistaciaLentiscus*Var. Chia, and *PistaciaTerebinthus*by Tlc-Densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*, 76, 62–66.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et métabolisme*, 20 : 165-177.

Lapornik, B.; Prošek, M, and Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71: 214-222.

Lee, J.; Koo, N.; Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3: 21-33.

Lee, J.; Barnes, K.W.; Eisele, T.; Giusti, M.M.; Haché, J.; Hofsommer, H.; Koswig, S.; Krueger, D.A.; Kupina, S.; Martin, S.K.; Martinsen, B.K.; Miller, T.C.; Paquette, F.; Ryabkova, A.; Skrede, G.; Trenn, U, and Wightman, J.D. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88: 1269-1277.

Levizou, E.; Petroupoulou, Y, and Manetas, Y. (2004). Total carotenoid amount in crude twig extracts may be overestimated due to interference by high contents of co-extracted phenolics. *Photosynthetica*, 42(2): 295-297.

Luigia, L., Anna, S., Giuseppe, V. (2007): Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus L.*, *Phillyrealatifolia L.* and *Rubiaperegrina L.* *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8, 360-364.

Luigia, L.; Platini, F.; Scardino, A.; Alabiso, O.; Vasapollo, G. and Tessitore, L. (2008). Autophagy inhibition enhances anthocyanin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7: 2476-2485.

Marcocci, L.; Packer, L.; Droy-Lefaix, M.T.; Sekaki, A, and Gardes-Albert, M. (1994). Antioxidant action of Ginkgo biloba extract Egb 761. *Methods of Enzymology*, 234: 462-475.

Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77 : 147-161.

Mehenni, C.; Atmani-Kilani, D.; Dumarcay, S.; Perrin, D.; Gérardin, P, and Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of food and drug analysis*, 24: 653- 669.

Middleton, E.; Kandaswami, C, and Theoharides, T.C. (2000). The Effects of plant Flavonoids, On Mammalian Cells. Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer (compte rendu

du premier colloque sur les applications des polyphénols). *Pharmacological review*, 52: 673-751.

Mika, A.; Minibayeva, F.; Beckett, R, and Lühje, S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*. 3 : 173-193

Molyneux. (2004). The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 211-219.

Montagnier, L.; Olivier R.; Pasquier, C. (1998). *Oxidative stress in cancer, AID and neurodegenerative diseases*, Marcel Dekker, New York.

Nijveldt, R. J.; Nood, E.; Hoorn, D.E.; Boelens, P.G.; Norren, K, and Leeuwen, P. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 418–425.

Pacher, P. ; Joseph, S. ; Beckman, Y. et Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol Rev* 87: 315-424.

Palevitch, D, and Yaniv Z. (2000). Medicinal plants of the Holy Land. *ModanPublishing House*, 9-88.

Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.

Pollard, S.E.; Kuhnle, G.G.C.; Vauzour, D. ; Vafeiadou, K.; Tzounis, X.; Whiteman, M.; Rice-Evans, C, and Spencer, J.P.E. (2006). The reaction of metabolites with peroxynitrite. *Biochemical and biophysical research communication*, 350: 960-968.

Prichard, A J N. (2004). The use of essential oils to treatsnoring. *Phytotherapy Research*, 18,696-699.

Quezel, P, and Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, ed, paris.

Raccah, D. (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*, 1(1) : 29-42

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors, *Clinical Interventions in Aging*. 2(2): 219-236.

Rajamanikandan, S.; Sindhu, T.; Durgapriya, D.; Sophia, D.; Ragavendran, P, and Gopalakrishnan, V.K. (2011). Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Mollugo nudicaulis* by *Invitro* Assays. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45(4): 310-316.

Remila, S.; Atmani-Kilani, D.; Delemasure, S.; Connat, J-L.; Azib, L.; Richard, T, and Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine* , 1-13.

Ruch, R. J.; Cheng, S. J, and Klaunig, J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen*, 10: 1003–1008.

Ruiz-Duenas, F.J, and Matinez, A.T. (2009). Microbial Degradation of Lignin: How a Bulky Recalcitrant Polymer is Efficiently Recycled in Natur and How We Can Take Advantage of this. *Microbial Biotechnology*, 2, 164-177.

Scherrer, A.M.; Motti, R, and Weckerle, C. S. (2005). Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy) — *J. Ethnopharmacol.* 97: 129-143.

Sies H. (1997). Antioxidant in disease mechanisms and therapy, *Advances in Pharmacology*, Academic Press, New York, 38.

Sroka, Z, and Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and antiradical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 753-758.

Stalikas D. (2007). Extration, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Jornal of Separation Science.* 30: 3268-3295.

Trabelsi, H.; Olfa, A.; Cherif, F.; Sakouhi, P.V.; Justin, R.; Nathalie, B, and Paul, M. (2011): Total lipid content, fattyacids and 4- desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*. Epub .

Turkmen, N.; Sedat Velioglu, Y.; Sari F, and Polat G. (2007). Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenols Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Food chem.*12:484-496.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Izakovic, M and Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxydants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Int.* 160 (1) : 1-140.

Van Acker, SA.; Van Den Berg, DJ.; Tromp, MN.; Griffioen, DH.; Bennenkom, WP.; Van Der Vijgh, WJ, and Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 331-342.

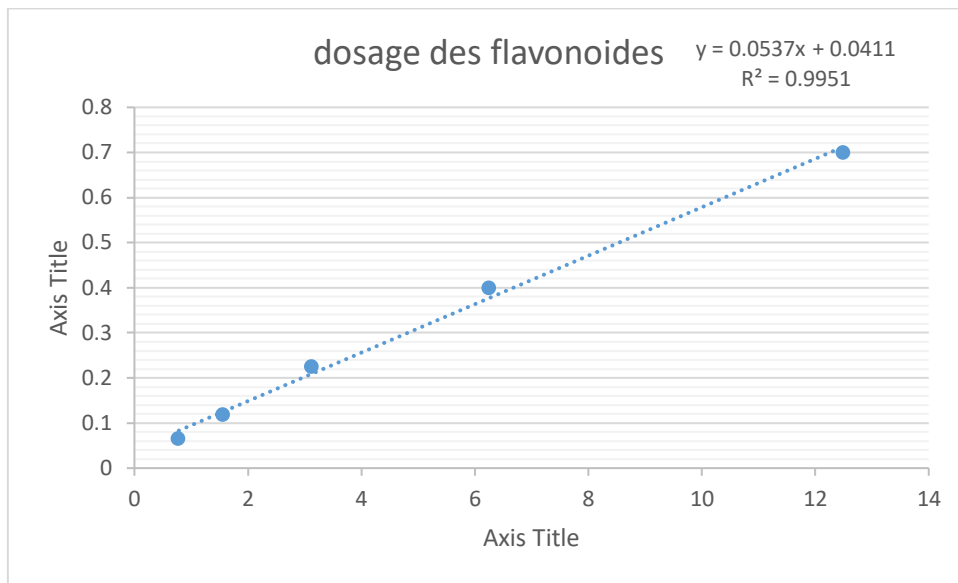
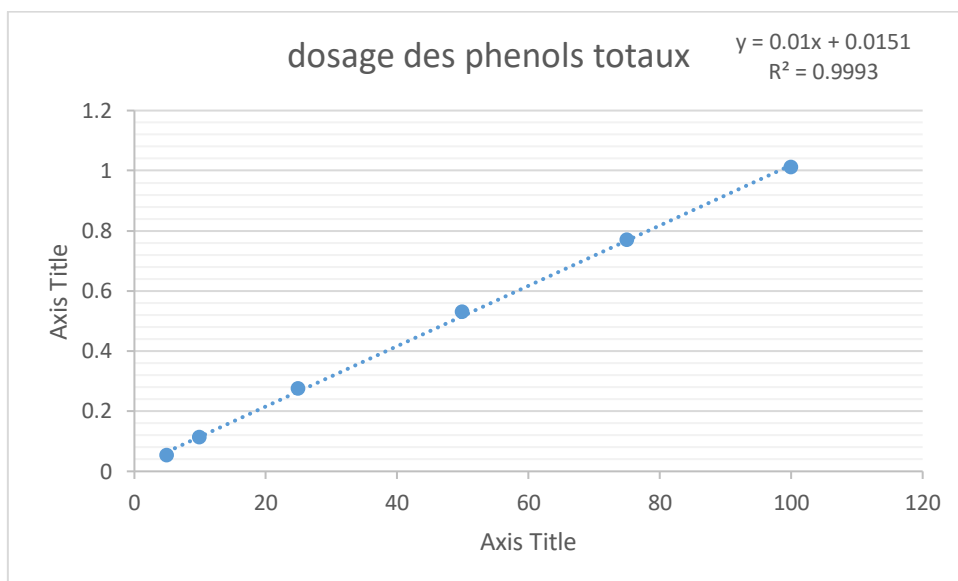
Wattle, A.; Kamel, S.; Mentaverri, R. ; Lorget, F.; Prouillet, Ch.; Petit, J-P.; Fardelonne, P, and Brazier, M. (2002). Potent inhibitory effect of naturally occurring flavonoids quercetin and kampferol on *in vitro* osteoclastic bone resorption. *Biochemical pharmacology*, 65: 35-42.

Yemmen, M.; Landolsi, A.; Ben Hamida, J.; Mégraud, F, and Trabelsi Ayadi, M. (2017). Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. *Cellular and Molecular Biology* 63(9): 87-95.

Yoshikawa, T.; Yamamoto, Y, and Naito Y. (2000). Free radicals in chemistry, *Biology and Medicine*, Ed. Oica International, Londres.

Zimmer, N, and Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Biol. Chem*, 9(3) : 167-179.

Annexes

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de quercétine.**Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

Résumé

Résumé

Le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) est une plante de la famille des anacardiacees utilisée traditionnellement dans le traitement de certaines maladies dont celles liées au stress oxydant. L'objectif de notre investigation est d'évaluer l'activité antiradicalaire de l'extrait hydro-méthanolique des fruits de *P.lentiscus*, *in vitro*. l'estimation de la teneur en polyphénols totaux de cet extrait a été évalué par le DPPH, NO et H₂O₂.

La teneur en phénols totaux est de 311 ±29,890 mg EAG/g de l'extrait des fruits et celle des flavonoïdes est de 11 ±0,426 mg EQ/g de même extrait. Les teneurs obtenues par les tests DPPH, NO et H₂O₂ à 187,5ug/ml sont respectivement de 74 ±2,288%, 60 ±0,661% et 43% ±0,158%.

Cet effet antiradicalaire significatif pourrait être dû à la richesse de *P.lentiscus* en composés phénoliques et leurs déférentes classes.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, composés phénoliques, fruits, extrait méthanolique, activité antiradicalaire.

Abstract

Lentisk pistachio tree (*Pistacia lentiscus*) is a plant belongs to the Anacardiaceae family traditionally used in the treatment of certain diseases including those related to oxidative stress. The objective of our investigation is to evaluate the antiradical activity of the hydro-methanolic extract of the fruits of *P.lentiscus*, *in vitro*. The estimation of the content of total polyphenols in this extract was evaluated by the DPPH, NO and H₂O₂.

The content of total phenols is 311 ±29.890 mg EAG/g of the fruit extract and that of flavonoids is 11 ±0.426 mg EQ/g of the same extract. The contents obtained by the DPPH, NO and H₂O₂ tests at 187.5 ug/ml are respectively 74 ±2.288%, 60 ±0.661% and 43% ±0.158%.

This significant antiradical effect could be due to the richness of *P.lentiscus* in phenolic compounds and their deferent classes.

Key words: *Pistacia lentiscus*, phenolic compounds, fruits, methanolic extract, antiradical activity.

ملخص

شجرة الضرو (*Pistacia lentiscus*) هي نبات من عائلة Anacardiaceae تستخدم تقليدياً في علاج بعض الأمراض بما في ذلك تلك المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

الهدف من دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للجراثيم للمستخلص المائي الميثانولي لثمار المتصورة *lentiscus* ، في المختبر .تم تقييم

تقدير محتوى البوليفينول الكلي لهذا المستخلص بواسطة DPPH و NO و H₂O₂.

محتوى الفينولات الكلي هو 311 ± 29.890 مجم / EAG جم من مستخلص الفاكهة ومحتوى الفلافونويد هو 11 ± 0.426 مجم / EQ

جم من نفس المستخلص. المحتويات التي تم الحصول عليها بواسطة اختبارات DPPH و NO و H₂O₂ عند 187.5 ميكروغرام / مل

هي على التوالي 74 ± 2.288 % ، 60 ± 0.661 % و 43 ± 0.158 %.

يمكن أن يكون هذا التأثير المضاد للشيخوخة ناتجاً عن ثراء *P. lentiscus* في المركبات الفينولية وفئاتها المختلفة.

الكلمات المفتاحية : *Pistacia lentiscus* ، مركبات فينولية ، ثمار ، مستخلص ميثانولي ، نشاط مضاد للجراثيم.