

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique  
Filière : Sciences biologiques  
Option : Biochimie appliquée



Réf :.....

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

## **MASTER**

### *Thème*

**Effet de la curcumine et l'extrait  
éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus*  
sur deux enzymes antioxydantes: la  
catalase et la superoxyde dismutase**

Présenté par :

**Boukoucha Cilia & Chentir Lamia**

Soutenu le : **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

**Mr Bouadam S.**

MAA

Président

**Mr Atmani Dj.**

Professeur

Encadreur

**Mme Amir-Metrouh H.**

MCB

Examinatrice

**Année universitaire : 2016 / 2017**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à :*

*A ma très chère mère, ma raison d'être, ma raison de vivre, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices et les efforts que tu n'as jamais cessé de me donner.*

*A mon très cher père, en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les soutiens, les sacrifices, la tendresse et les prières tout au long de mes études, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous m'avez donné pour mon éducation et ma formation.*

*A mes chères sœurs, Nihad et Ibtissam pour leur grand amour, leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mon binôme, en témoignage d'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble.*

*A toute ma famille, pour leur patience et leur encouragement même de loin.*

*A tous ceux que j'aime, qui ont cru en moi, qui ont répondu présent à chaque fois que j'avais besoin d'eux et qui me donnent l'envie d'aller en avant.*

***Lamia***

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à :*

*A ma très chère mère, ma raison d'être, ma raison de vivre, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices et les efforts que tu n'as jamais cessé de me donner.*

*A mon très cher père, en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les soutiens, les sacrifices, la tendresse et les prières tout au long de mes études, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous m'avez donné pour mon éducation et ma formation.*

*A mes chères sœurs, Bouchra et Ilhem, pour leur grand amour, leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mes chers frères, Saad et Sid Ali*

*A mon binôme, en témoignage d'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble.*

*A toute ma famille, pour leur patience et leur encouragement même de loin.*

*A tous ceux que j'aime, qui ont cru en moi, qui ont répondu présent à chaque fois que j'avais besoin d'eux et qui me donnent l'envie d'aller en avant.*

***Cilia***



## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous remercions le **bon Dieu** le tout puissant, de nous avoir donné la force nécessaire et la patience qui nous a permis de mener ce travail à terme.*

*Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre promoteur **Mr Atmani**, pour avoir dirigé ce travail et accepté d'encadrer, pour ses conseils et ses orientations.*

*Nous exprimons également nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre co-promotrice **M<sup>me</sup> Atmani**, d'avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que pour l'aide qu'elle nous a apportée, pour son soutien professionnel, pour ses conseils qu'elle nous a prodigués, sa patience, sa confiance, qu'elle nous a témoignés et qui ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude.*

*Nous tenons à remercier également:*

***M<sup>r</sup> Bouadam**, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury qui va juger ce travail;*

***M<sup>me</sup> Amir**, d'avoir accepté d'examiner notre travail. On vous transmet notre profonde gratitude pour le temps que vous avez consacré à la lecture de ce travail ainsi que vos remarques;*

***M<sup>lle</sup> Ourabah**, qui sans elle rien n'aurait été pareil, votre aide si précieuse, votre dévouement, votre bonne humeur, un bonheur d'avoir travaillé avec une personne aussi gentille que vous;*

***M<sup>lle</sup> Chaher**, pour vos conseils si précieux et vos encouragements;*

***Naima** l'ingénieure du laboratoire de génétique, pour son dévouement, son aide et sa bonne humeur;*

*Merci à tous les membres du laboratoire génétique, ainsi que toute personne de près ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*

# Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01
<b>CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I.1. Stress oxydant.....	02
I.2. Radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène .....	02
I.3. Différents types d'espèces réactives de l'oxygène .....	02
I.4. Sources des espèces réactives de l'oxygène.....	03
I.5. Conséquences du stress oxydant .....	05
I.6. Système antioxydant .....	05
I.7. Plantes médicinales .....	14
<b>CHAPITRE II: MATÉRIEL ET METHODES</b>	
II.1. Matériel végétal.....	15
II.2. Méthodes.....	16
II.2.1. Etude de l'interaction de l'extrait des feuilles de <i>P. lentiscus</i> et la curcumine avec la catalase.....	16
II.2.2. Etude de l'interaction de l'extrait des feuilles de <i>P. lentiscus</i> et la curcumine avec la superoxyde dismutase.....	17
II.2.3. Dosage de l'activité de la catalase et superoxyde dismutase dans les feuilles, la poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	18
II.2.4. Dosage de l'activité de la catalase et superoxyde dismutase dans la curcumine.....	20
II.2.5. Analyse statistique.....	21
<b>CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION</b>	
III.1. Etude de l'activité enzymatique de la catalase .....	22
III.1.1. Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'activité de la catalase.....	22
III.1.2. Dosage de l'activité de la catalase dans les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	25
III.1.3. Dosage de l'activité de la catalase dans la curcumine .....	26
III.2. Etude de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase.....	27

III.2.1. Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'activité de la superoxyde dismutase.....	28
III.2.2. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	29
III.2.3. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans la curcumine.....	31
III.3. Discussion générale.....	32
CONCLUSION.....	33
Références bibliographiques.....	34
Glossaire.	

## *Liste des abréviations*

- ❖ **ADN:** acide désoxyribonucléique
- ❖ **AGPI:** acide gras polyinsaturé
- ❖ **ANOVA:** analyse de la variance
- ❖ **AS:** acide salicylique
- ❖ **CAT:** catalase
- ❖ **COX:** cyclooxygénase
- ❖ **Cu/Zn-SOD:** superoxyde dismutase-cuivre/zinc
- ❖ **EC-SOD:** superoxyde dismutase extracellulaire
- ❖ **EDTA:** acide éthylène-diamine-tétraacétique
- ❖ **ERN:** espèces réactives de l'azote
- ❖ **ERO:** espèces réactives de l'oxygène
- ❖ **GPx:** glutathion peroxydase
- ❖ **GSH:** glutathion réduit
- ❖ **GSH-Px:** glutathion peroxydase
- ❖ **GSSG:** glutathion oxydé
- ❖ **LOX:** lipooxygénase
- ❖ **Mn-SOD:** superoxyde dismutase-manganèse
- ❖ **NBT:** nitro-bleu tétrazolium
- ❖ **OMS:** Organisation mondiale de la santé
- ❖ **PNN:** Polynucléaires neutrophiles
- ❖ **RL:** radical libre
- ❖ **RO $\cdot$ :** radicaux alkoxyles
- ❖ **ROOH:** hydroperoxydes organiques
- ❖ **SOD:** superoxyde dismutase
- ❖ **UV:** ultraviolet
- ❖ **XO:** xanthine oxydase



## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Origine extra- et intracellulaire des espèces réactives de l'oxygène.....	4
<b>Figure 2:</b> Régulation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydants.....	6
<b>Figure 3:</b> Structure du noyau phénol.....	7
<b>Figure 4:</b> Structure chimique de la curcumine .....	8
<b>Figure 5:</b> Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène .....	9
<b>Figure 6:</b> Structure du site actif impliqué dans l'activité catalase chez les catalases peroxydases .....	11
<b>Figure 7:</b> Localisation subcellulaire des trois isoformes de la SOD .....	12
<b>Figure 8:</b> Photographie originale des feuilles de <i>P.lentiscus</i> .....	15
<b>Figure 9:</b> Relation entre riboflavine, le radical superoxyde, NBT et SOD .....	17
<b>Figure 10:</b> Photographie originale du dispositif utilisé dans l'étude de l'activité de la superoxyde dismutase .....	18
<b>Figure 11:</b> Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'activité de la catalase .....	22
<b>Figure 12:</b> Dosage de l'activité de la catalase dans les feuilles fraîches, poudre et extrait éthanolique des feuilles de <i>P.lentiscus</i> .....	25
<b>Figure 13:</b> Dosage de l'activité de la catalase dans différentes concentrations de la curcumine .....	27
<b>Figure 14:</b> Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'activité de la superoxyde dismutase.....	28
<b>Figure 15:</b> Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	29
<b>Figure 16:</b> Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans différentes concentrations de curcumine .....	31

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I:</b> Les différents types de la superoxyde dismutase .....	<b>13</b>
---	-----------

L'oxygène est un composé indispensable à la vie mais qui peut présenter, dans certaines circonstances, une forte toxicité. Il peut en effet, lors de réactions radicalaires former des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Rochette, 2008**). Dans certaines conditions pathologiques, ces derniers sont produits de façon excessive ce qui conduit à un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les systèmes antioxydants; on parle alors du stress oxydant, qui entraîne des dommages oxydatifs sur des molécules biologiques (les protéines, les lipides, les glucides et l'ADN) induisant, par conséquent l'émergence de différentes pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives, le cancer, le diabète et le vieillissement (**Favier, 2003**).

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant et neutraliser les radicaux libres, notre organisme est équipé de tout un système complexe de défense antioxydante, enzymatique et non enzymatique. Parmi les enzymes antioxydantes, on distingue la catalase et la superoxyde dismutase (**Halliwell et Gutteridge, 1990**).

Les composés phénoliques, métabolites secondaires de plantes, se sont avérées de puissants antioxydants par leur effet de piégeage des radicaux libres, chélation des métaux et inhibition des enzymes génératrices de radicaux libres (**Sofidiya et al., 2006**). Aussi, leur activité antioxydante peut provenir de leur capacité à activer, directement ou indirectement, les enzymes antioxydantes. Des recherches ont été consacrées à l'étude de l'activation de la superoxyde dismutase (**Shen et al., 2013**) et la catalase par les plantes médicinales et leurs constituants phénoliques (**Najjar et al., 2017**).

*Pistacia lentiscus* est une plante très répandue en Algérie et qui est souvent utilisée pour traiter les maladies telles que l'eczéma, la maladie de Crohn et les infections de la gorge (**Markovics et al., 2011**). Des études ont montré la richesse des feuilles de cette plante en métabolites secondaires notamment les polyphénols et les tannins qui ont montré un pouvoir antioxydant (**Remila et al., 2014; Esmat et al., 2012**).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés dans notre travail à étudier l'interaction enzymatique de l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante comparée à la curcumine, avec deux enzymes antioxydantes: la catalase et la superoxyde dismutase. Le dosage de ces deux enzymes dans les feuilles fraîches, la poudre obtenue après le broyage et l'extrait éthanolique nous permettra d'estimer si l'activité de ces deux enzymes a été maintenue même après l'extraction.

## I.1. Stress oxydant

Le stress oxydant apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur de l'état pro-oxydant. La rupture de cet équilibre est due à la promotion d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Gutteridge, 1995**). Ces dernières sont produites de manière continue et peuvent attaquer toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons, entraînant une très grande réactivité de ces espèces chimiques vis-à-vis des lipides, des protéines et de l'ADN. C'est pourquoi les effets des ERO sont retrouvés dans des pathologies très variées (**Goudable et Favier, 1997**).

## I.2. Radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène

Un radical libre (RL) est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (**Halliwell, 1996**). Ce déséquilibre n'est que transitoire et n'est comblé que par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (**Valéry et al., 2007**).

Les espèces réactives de l'oxygène regroupent les radicaux libres de l'oxygène et certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante et qui peuvent être des précurseurs de radicaux tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (**Morris et al., 1995; Favier, 2003**). Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène, nommé espèce réactive de l'oxygène puisque ce n'est pas un radical libre (**Puppo et Halliwell, 1988**).

## I.3. Différents types d'espèces réactives de l'oxygène

### I.3.1. Oxygène singulet $^1O_2$

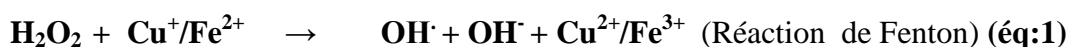
Cet agent oxydant puissant peut réagir directement avec des molécules qui, habituellement, ne réagissent pas avec l'oxygène, telles que les acides gras polyinsaturés. Il est formé par photo-activation de l'oxygène (**Halliwell et Chirico, 1993**).

### I.3.2. Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

La réduction monoélectrique de l'oxygène moléculaire génère l'anion  $O_2^{\cdot-}$  (**Halliwell et Chirico, 1993**). Bien que radicalaire, il n'est pas très réactif. Cependant, il peut générer des radicaux réactionnels tels que le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) en présence de  $H_2O_2$  et des métaux (**Fridovich, 1997**).

### I.3.3. Radical hydroxyle $OH^{\cdot}$

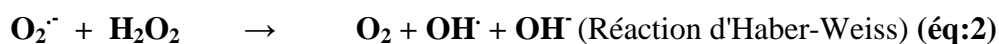
Il est produit à partir de l'eau par les radiations ionisantes dans tous les organismes vivants, mais il est surtout formé par la réaction de Fenton (**McCord, 1993**) à partir d' $H_2O_2$  représentée ci-dessous :



Le radical hydroxyle formé est très oxydant, c'est le radical le plus dangereux pour l'organisme (**Gutteridge, 1995**).

### I.3.4. Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée $H_2O_2$

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) se forme par dismutation enzymatique ou spontanée de l' $O_2^{\cdot-}$ . L'absence de charges électriques à sa surface le rend très lipophile et peu réactif en milieu aqueux. Il peut ainsi traverser les membranes biologiques et se retrouver à une grande distance de son milieu de production (**Halliwell et al., 2000**). Il représente une source importante de nombreuses ERO, plus spécifiquement le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), via l'oxydation des métaux de transition (réaction de Fenton, éq:1), ou via la réaction de Haber-Weiss (éq:2), en présence de l' $O_2^{\cdot-}$  (**Nordberg et Anner, 2001**).

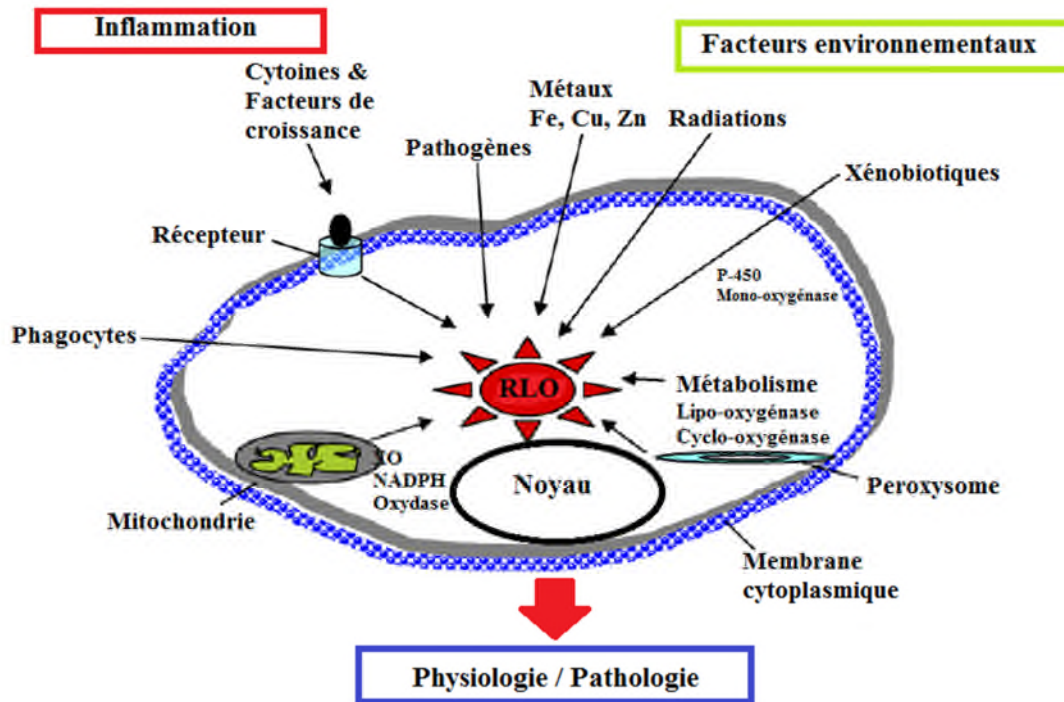


## I.4. Sources des espèces réactives de l'oxygène

### I.4.1. Source endogène

La production des ERO est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin de l' $O_2$  pour produire de l'énergie, via une réduction tétravalente séquentielle d' $O_2$  en eau au cours du processus dit respiration mitochondriale. Toutefois, une partie de l' $O_2$  échappe à sa réduction en eau (1 à 5%), qui peut alors être à l'origine de la production du superoxyde au niveau du transporteur d'électron ubiquinone (coenzyme Q) (**Favier, 2003; Spiteller, 2006; Jahn et al., 2008**). Les dérivés semiquinones (coenzyme Q) ou les cofacteurs flavine (forme semi-réduite, comme la

xanthine oxydase) jouent un rôle important dans la production de l' $O_2^{\cdot-}$ . Par ailleurs, les cycles catalytiques des enzymes lipooxygénases (LOX) et cyclooxygénases (COX) (Figure1) produisent des radicaux peroxy lipidiques, qui interviennent dans l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI, voie enzymatique et non enzymatique) (Spiteller, 2006; Jahn *et al.*, 2008).



**Figure 01:** Origine extra-et intracellulaire des espèces réactives de l'oxygène. XO: xanthine oxydase; P-450:cytochrome P-450 (Alfonso *et al.*, 2007).

#### I.4.2. Source exogène

Les ERO sont également générées sous l'effet d'oxydants environnementaux (Figure 1). En effet, les rayonnements (UV, X), la consommation excessive d'alcool, le tabagisme, certains polluants industriels et l'exercice physique intense sont des situations qui provoquent une surproduction d'ERO dans notre organisme, susceptible de surpasser nos défenses anti-oxydantes naturelles (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase et autres enzymes anti-oxydantes), provoquant ainsi des dégâts cellulaires (Tessier et Marconnet, 1995; Favier, 2003).

## I.5. Conséquences du stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies vu le caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003). En effet, il est considéré comme facteur déclenchant ou associé au cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire et vieillissement accéléré (Favier, 2003), ainsi que d'autres maladies chroniques, y compris le diabète et l'hypertension (Roberts et Sindhu, 2009), l'arthrite (Messier *et al.*, 2004), l'insuffisance cardiaque (Maiorana *et al.*, 2000), l'insuffisance rénale (Castaneda *et al.*, 2004) et la maladie d'Alzheimer (Kalmijin *et al.*, 2000).

Toutefois, la cellule dispose d'un système antioxydant (exogène et endogène) qui représente une ligne de défense essentielles contre les ERO et les empêche d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

## I.6. Système antioxydant

Le système antioxydant est formé d'un ensemble d'antioxydants exogène et endogène, enzymatique et non-enzymatique.

### I.6.1. Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations dans le milieu où elle intervient (Halliwell et Gutteridge, 1990). Les antioxydants peuvent agir soit en réduisant ou en dismutant les espèces réactives de l'oxygène, soit en les piégeant pour former un composé stable. Ils peuvent aussi chélater le fer libre ou le cuivre pour empêcher la réaction de Fenton (Favier, 2003). Les systèmes antioxydants de défense sont enzymatiques ou non-enzymatiques.

#### I.6.1.1. Système antioxydant non-enzymatique

Les principaux antioxydants non-enzymatiques sont retrouvés dans l'alimentation. Parmi ceux-ci, on retrouve certaines vitamines: la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), la vitamine C (ascorbate) et les caroténoïdes (vitamine A et  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes...) (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

❖ **Vitamine E (tocophérol)**

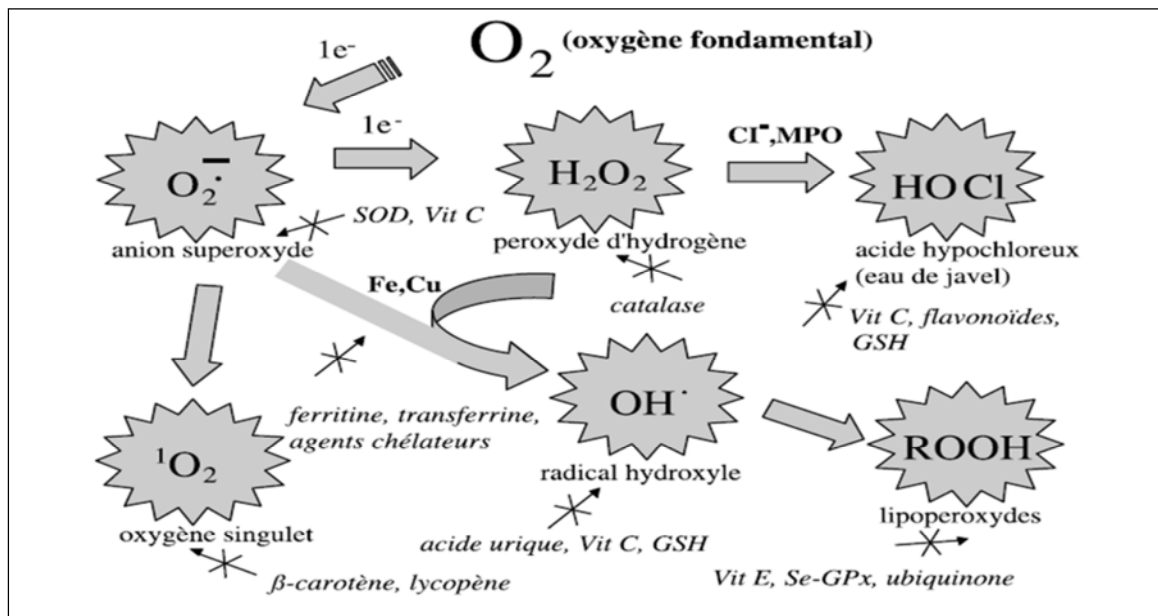
La vitamine E est également appelée  $\alpha$ -tocophérol et possède la plus grande biodisponibilité, ainsi qu'une capacité d'absorption et de métabolisation par le corps. C'est l'antioxydant liposoluble qui protège les membranes de l'oxydation en interagissant avec les radicaux lipidiques produits de la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique (Kumar *et al.*, 2010).

❖ **Vitamine C (acide ascorbique)**

C'est un antioxydant puissant, qui agit comme un piègeur des ERO pour empêcher ou au moins atténuer, leurs effets délétères. Elle agit en synergie avec la vitamine E et régénère également sa forme réduite (Foyer et Noctor, 2005).

❖  **$\beta$ -carotène**

La  $\beta$ -carotène est apportée par l'alimentation, elle est dotée de plusieurs capacités: en tant que précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singulet (Figure 2) et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation (Goudable et Favier, 1997).



**Figure 2:** Régulation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail *et al.*, 2002).

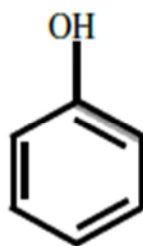


### ❖ Glutathion

C'est un tri-peptide (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cystéinyglycine) avec de multiples fonctions dans les organismes vivants (Vivancos *et al.*, 2010). Il agit comme un antioxydant, soit directement en interagissant avec les espèces réactives de l'oxygène(ERO) ou de l'azote (ERN) et les électrophiles soit indirectement en tant que cofacteur de plusieurs enzymes telles que la glutathion peroxydase (GPx) (Lushchak, 2012).

### ❖ Les polyphénols

Sont considérés comme des métabolites secondaires, les composés phénoliques sont présents chez tous les végétaux supérieurs. Ils forment un ensemble de substances caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique (figure 3) qui est l'élément structural fondamental auquel est directement lié un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction: éther, ester et hétéroside (Bruneton, 2009).



**Figure 3:** Structure du noyau phénol (Stookey, 1970).

#### a) Biosynthèse des phénols

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie de shikimate et la voie de l'acétate.

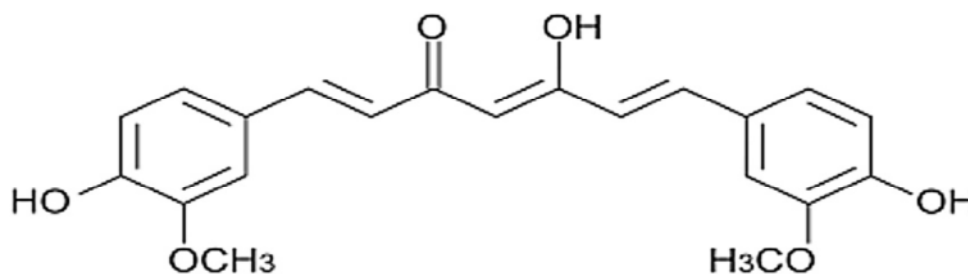
- **Voie de l'acide shikimique :** C'est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes ; elle conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acides benzoïques, lignanes, coumarines....etc. (Bruneton, 2009).
- **Voie de l'acétate :** Elle démarre des polyacétates qui engendrent, par cyclisation des composés souvent cycliques : isocoumarines, quinones,...etc (Bruneton, 2009).

**b) Classification**

Les polyphénols constituent en fait une importante famille d'antioxydants chez les plantes et comprennent une grande diversité de composés parmi lesquels on distingue des flavonoïdes et plusieurs classes de non flavonoïdes (Cheynier, 2005).

- **Les composés flavonoïdes** : partagent un noyau commun constitué de 2 anneaux phénoliques et d'hétérocycles oxygénés. Ils sont divisés en plusieurs groupes (Cheynier, 2005) : flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols dont les plus importants représentants sont les catéchines du thé vert, du vin rouge et du chocolat (Pincemail *et al.*, 2007).
- **Les composés non flavonoïdes** : sont des molécules simples, comme les acides phénoliques (qui sont subdivisés en acides benzoïques et acides hydroxynnamiques, basés respectivement sur les squelettes C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> et C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) (Cheynier, 2005), lignanes et stilbènes dont la molécule la plus connue est le resvératrol très abondant dans le raisin (Pincemail *et al.*, 2007), ainsi les curcuminoïdes.

-Les **curcuminoïdes** se sont des composés phénoliques dont le principal est la curcumine (diferuloylméthane) (Edeas, 2006). Elle provient de la racine de *Curcuma sp.* (Zingiberaceae). Elle est employée depuis des centaines d'années en Asie pour ses propriétés alimentaires, ainsi que pour ses propriétés médicinales (Sharma *et al.*, 2005), y compris un effet anti-inflammatoire, anticancéreux et sa capacité à neutraliser les radicaux libres notamment le radical hydroxyle et l'anion superoxyde (Sharma *et al.*, 2005; Barik *et al.*, 2005). La structure de la curcumine comporte une chaîne aliphatique insaturée dont le nom scientifique est : 1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione (Figure 4) (Sharma, 1976).



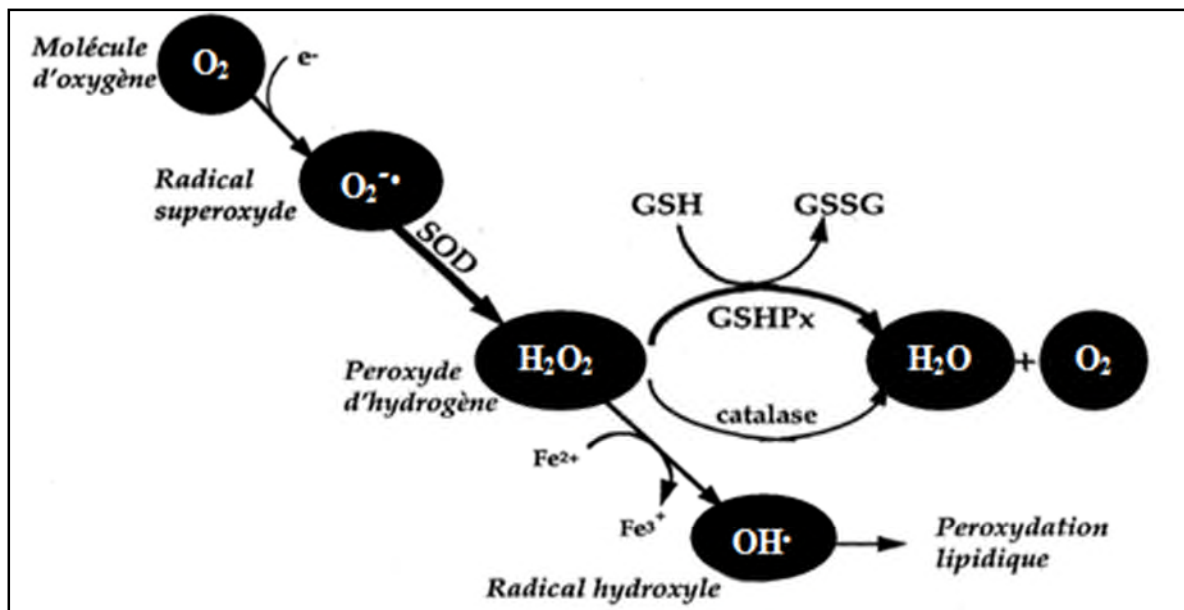
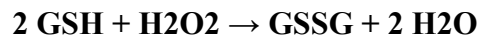
**Figure 4:** Structure chimique de la curcumine (Najjar *et al.*, 2017).

## I.6.1.2. Système antioxydant enzymatique

Les ERO sont rapidement éliminées par des enzymes antioxydantes, comme la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT) et la superoxyde dismutase (SOD) (Buldak *et al.*, 2014).

## ❖ Glutathion peroxydase (GSH-Px)

La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine, une enzyme clé dans la protection des biomembranes exposées au stress oxydatif (Nakagawa et Imai, 2000). Elle constitue la voie majeure de dégradation des hydroperoxydes (peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , hydroperoxydes organiques ROOH) dans la plupart des cellules et des compartiments subcellulaires. Elle inhibe donc la production des radicaux libres très oxydants tels que le radical hydroxyle  $OH^\bullet$  dérivé du  $H_2O_2$  et les radicaux alkoxydes  $RO^\bullet$ , dérivés des hydroperoxydes organiques (Richard *et al.*, 1997). Pour son fonctionnement, elle utilise le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elle transfère l'oxygène (figure 5), le transformant en glutathion oxydé (GSSG).



**Figure 5 :** Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène (Goudable et Favier, 1997).

## ❖ Catalase

La catalase a été d'abord identifiée en 1811 lorsque Louis Jacques Thénard, qui a découvert le  $H_2O_2$ , suggère que sa décomposition est causée par une substance inconnue. En 1900, Oscar Loew a été le premier à lui donner le nom de catalase après l'avoir

découverte dans de nombreuses plantes et animaux (**Zàmocky and Koller, 1999**). Cette enzyme est une oxydoréductase (EC 1.11.1.6), dont la fonction principale est la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau (**Nicholls, 2012**), traduite par l'équation suivante:



La catalase a été rapidement caractérisée, capable de métaboliser 42 000 molécules/sec de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 0° C. Elle est présente dans tous les principaux organes, y compris le foie, qui a l'activité la plus élevée, le cerveau et les reins. Elle est aussi présente dans le sang et la moelle osseuse (**Mayfiled and Duvall, 1996**). Goldberg et Hochman ont proposé, en 1989, une classification des catalases en fonction de leurs propriétés physicochimiques, en trois catégories: les catalases typiques, atypiques et catalases-peroxydases. Cependant, cette classification a été abandonnée, suite à l'apparition de nouvelles séquences de catalases, et remplacée par une classification basée sur les critères phylogénétiques. Cette nouvelle classification différencie les catalases monofonctionnelles, les catalases-peroxydases et les catalases non-héminiques (**Mayfiled et Duvall, 1996**).

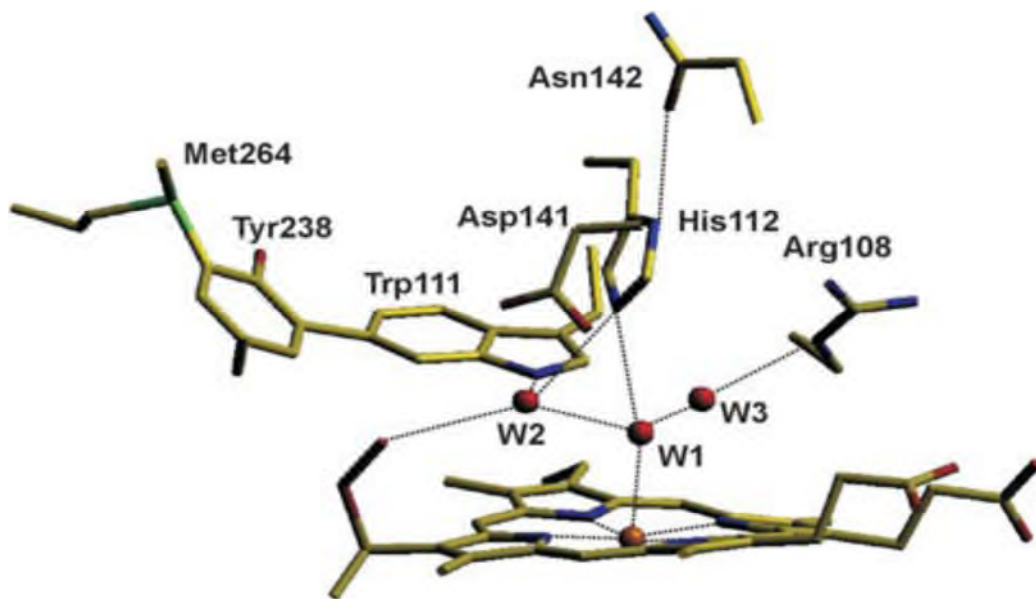
- **Catalases typiques dites monofonctionnelles**

La majorité des catalases sont regroupées dans cette catégorie. Elles sont constituées d'un groupement héminique et d'une grande (>75 KDa) ou une petite sous-unité (<60 KDa), structurée en homotétramère. Dans la majorité des cas, la protoporphyrine IX constitue l'hème. Quatre résidus d'acides aminés sont associés à l'atome de fer de l'hème pour dégrader l' $\text{H}_2\text{O}_2$ : l'histidine, la sérine, la tyrosine et l'asparagine (**Goldberg et Hochman, 1989**).

Les catalases monofonctionnelles sont classées en trois clades. Le premier comprend principalement des catalases d'origine végétale, le second est constitué de catalases possédant une large sous-unité et sont d'origine bactérienne ou fongique. Ces dernières ont une structure stable et rigide qui pourrait expliquer l'extrême résistance à la dénaturation thermique, au pH et à la protéolyse (**Chelikani et al., 2004**). Le dernier clade et qui comprend des catalases formées d'une petite sous-unité sont présentes chez les bactéries, les archaebactéries, les champignons et chez d'autres eucaryotes (**Klotz et al., 1997**).

- Catalases-peroxydases

Ces catalases bifonctionnelles sont formées d'une triade d'acides aminés (Figure 6): le tryptophane 111 situé au niveau du site actif, la méthionine 264 et la tyrosine 238 (Chelikani *et al.*, 2004). Les enzymes de ce groupe sont des homodimères, qui possèdent un groupement hémique avec une masse moléculaire variant entre 120 et 340 KDa. Leurs séquences sont plutôt proches des peroxydases de plantes que des catalases typiques (Adelaida *et al.*, 2012).



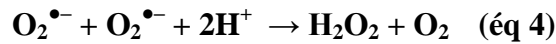
**Figure 6 :** Structure du site actif impliqué dans l'activité catalase chez les catalases-peroxydases (Chelikani *et al.*, 2004).

- Catalases non-héminiques dites à manganèse

Les enzymes de cette catégorie possèdent du manganèse à la place d'un hème, elles sont aussi nommées Mn-catalase, car le centre catalytique est un groupement constitué de deux atomes de manganèse. Actuellement elles ne sont connues que chez les bactéries (Chelikani *et al.*, 2004). Ces enzymes contiennent quatre ou six sous-unités identiques de 30 KDa avec un domaine extrêmement conservé constitué de 4 hélices (Allgood et Perry, 1986). Les catalases à manganèse ont toutes un taux d'élimination de l'eau oxygénée inférieur à celui des catalases des autres catégories (James, 2012).

## ❖ Superoxyde dismutase

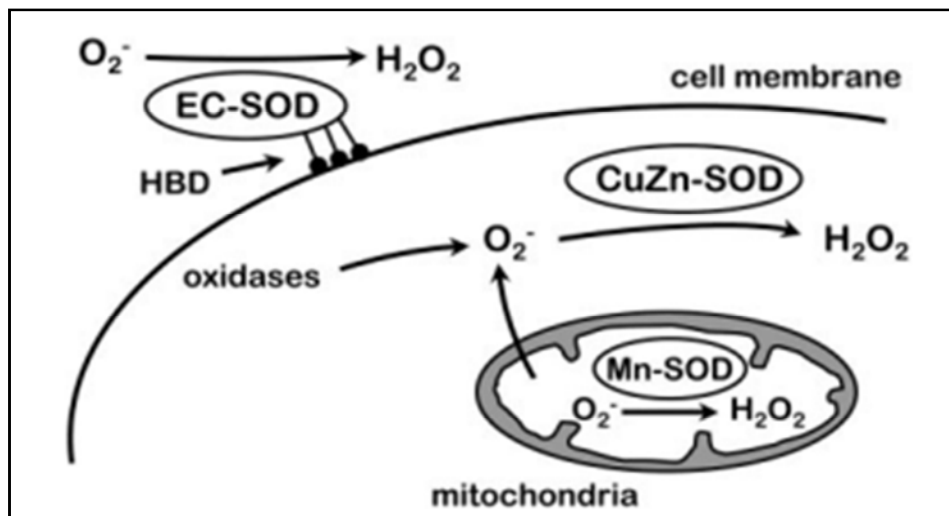
La superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme à cuivre découverte par Joe McCord et Irwin Fridovich en 1969 dont le rôle catalytique est la dismutation de l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  en dioxygène et  $H_2O_2$  (McCord et Fridovich, 1969) selon la formule (éq 4):



Le peroxyde d'hydrogène est ensuite rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène ( $O_2$ ) et en molécules d'eau ( $H_2O$ ). Ainsi, différentes études ont confirmé que la production de  $H_2O_2$  sous l'action de la SOD était bien le facteur déclenchant des mécanismes naturels de défenses antioxydantes. La SOD apparaît donc comme l'enzyme clé de la défense naturelle contre les radicaux libres (Menvielle-Bourg, 2005). Son activité est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable et Favier, 1997).

Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire (Liou *et al.*, 1993), qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire (Tableau I) et leur localisation cellulaire (Figure 7) (Haleng *et al.*, 2007).

1. La Cu/Zn-SOD ou SOD1 cytosolique utilise le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique ;
2. La SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse ;
3. La EC-SOD ou SOD3 extracellulaire, utilise le cuivre et le zinc.



**Figure 7:** Localisation subcellulaire des trois isoformes de la SOD (Faraci et Didion, 2004).

Tableau I: Les différents types des superoxydes dismutases.

Types	Localisation chromosomique et cellulaire	Structure	Fonctions
SOD1 (Cu/Zn-SOD)	Gène localisé au niveau du chromosome 21.	- Masse moléculaire d'environ 32 kDa (Afonso <i>et al.</i> , 2007).	- Joue un rôle dans la survie et la croissance cellulaire.
	-Présente dans le cytoplasme, compartiment nucléaire et l'espace intermembranaire mitochondrial des cellules mammifères (Afonso <i>et al.</i> , 2007).	- Homodimères ou monomères trouvés chez les eucaryotes et certains procaryotes (Barondeau <i>et al.</i> , 2004). Le site actif est maintenu par une liaison disulfure entre deux cystéines hautement conservées (Tainer <i>et al.</i> , 1982).	-Cette enzyme est impliquée dans la réponse cellulaire à différents stress (Afonso <i>et al.</i> , 2007). -Chez l'homme, des mutations du gène SOD1 sont à l'origine des désordres neurodégénératifs, associés à des dommages oxydatifs. (Okado-Masumoto et Fridovich, 2002).
SOD2 (Mn-SOD)	-Gène situé sur le chromosome 6 (Morten <i>et al.</i> , 2006).	-Les Mn-SOD eucaryotes sont habituellement tétramères, tandis que les enzymes procaryotes sont habituellement dimères (Borgstahl <i>et al.</i> , 1992).	-Joue un rôle important dans la protection vis-à-vis des radicaux libres induits par l'hyperoxie.
SOD3 (EC-SOD)	- Gène situé sur le chromosome 4 (Fattman <i>et al.</i> , 2003). -Essentiellement présente dans les compartiments extracellulaires, plasma, lymphe, fluide cérébrospinal, et liquide synovial (Fattman <i>et al.</i> , 2003).	-EC-SOD humaine est un tétramère de 135 kDa (Marklund, 1982). - Région centrale homologue à Cu/Zn-SOD humain et contient tous les ligands essentiels pour la coordination du site actif : les ions Cu et Zn (Petersen <i>et al.</i> , 2003).	- La SOD3 protège les cellules et la matrice des effets délétères de l'O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> généré par les polynucléaires neutrophiles (PNN) actifs. (Enghild <i>et al.</i> , 1999).

### I.7. Plantes médicinales

Depuis des temps immémoriaux, l'homme a utilisé des extraits de plantes pour se protéger contre plusieurs maladies et pour améliorer sa santé et son style de vie (**Raj Kapoor et al., 2010**). Selon l'OMS, ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des médicaments (**Sofowora, 2010**).

Les plantes médicinales sont une source riche en polyphénols qui, dû à leurs pouvoirs antioxydants, leur confère des vertus médicinales. L'activation des enzymes antioxydantes par les polyphénols est l'un des systèmes antioxydants importants pour la défense contre certaines maladies comme l'ulcère (**Devi et al., 2007**). Aussi, des études *in vivo* ont montré que le fait de donner la catalase ou la superoxyde dismutase à des souris ulcérées a contribué à la gastro-protection et à la guérison de ces souris (**Devi et al., 2007**). L'activité antioxydante de *Pistacia lentiscus* a été prouvée en tant que scavenger de plusieurs espèces radicalaires entre autres le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Atmani et al., 2009**). Sa capacité à inhiber la xanthine oxydase, une enzyme productrice de radicaux libres a été aussi démontrée (**Berboucha et al., 2010**).

Les différentes parties de *Pistacia lentiscus* ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques afin d'identifier leurs principes actifs (**Remila et al., 2015; Mehenni et al., 2016**). Ces études consacrées essentiellement au mastic ont montré la présence de flavonoïdes, des huiles essentielles, ainsi que des triterpenoïdes (**Marner et al., 1991; Papageorgiou et al., 1997**).

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence de glycosides de flavonols, comme la quercétine, myricétine ainsi que l'isoflavone genistéine (**Remila et al., 2015; Mehenni et al., 2016**). Elles contiennent 6 à 7% de gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique (**Romani et al., 2002**). Les études pharmacologiques qui ont été effectuées sur *Pistacia lentiscus* ont révélé qu'elle possède plusieurs vertus dans le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, les calculs rénaux et la jaunisse (**Gardeli et al., 2008**). La gomme mastic est utilisée dans les cosmétiques et la parfumerie, comme aromatisant alimentaire et pour son activité antimicrobienne, en particulier contre *Helicobacter pylorii* (**Baytop, 1984**), et anticancéreuse, notamment le cancer du sein, foie, rate, estomac et utérus (**Duke, 1983**).



## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel végétal

#### II.1.1.1. Description botanique

*Pistacia lentiscus* (pistachier) appartient à la famille des anacardiaceés et pousse surtout dans le bassin méditerranéen (Triantafyllou *et al.*, 2007). C'est un arbrisseau de 1 à 8 m de hauteur à feuilles persistantes (figure 8) et à fleurs jaunâtres ou violacées (Iauk *et al.*, 1996). Les fruits sont légèrement globulaires, d'abord rouges puis noirs à maturité (Charef *et al.*, 2008); par incision, on obtient une résine d'odeur forte, le mastic (Triantafyllou *et al.*, 2007).



**Figure 8:** Photographie originale des feuilles de *P. lentiscus*.

#### II.1.1.2. Taxonomie

La taxonomie rapportée ci-dessous a été décrite par Yaaqobi *et al.* (2009).

**Règne :** Plantae

**Classe:** Magnoliopsida

**Ordre:** Sapindales

**Famille:** Anacardiaceae

**Genre:** *Pistacia*

**Espèce:** *Pistacia lentiscus*

### II.1.1.3. Récolte de la plante

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été récoltées début juillet 2016 à côté du village de Tizi Neftah, commune d'Amizour située à l'est de Bejaia, loin de tout impact de pollution.

### II.1.1.4. Séchage, broyage et tamisage

Les feuilles de *P. lentiscus* ont été nettoyées des impuretés, puis séchées à l'ombre et à température ambiante. Par la suite, les feuilles ont été séchées dans l'étuve (37°C), afin d'éliminer l'humidité restante puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisées afin d'obtenir une poudre fine (63µm de diamètre), qui a été stockée à l'abri de la lumière à 4°C.

### II.1.1.5. Extraction

L'extraction à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* a été effectuée selon le protocole d'extraction de **Atmani et ses collaborateurs (2009)**, en suivant ces étapes :

1. **Macération (24h)** : qui consiste à mélanger 100g de poudre de feuilles dans 400 ml d'éthanol (96%) et laisser agiter le tout pendant 24h.
2. **Décantation (24h)** : une fois la macération achevée, le mélange a été mis dans une éprouvette et laissé décanter pendant 24h.
3. **Séparation des phases** : le surnageant a été récupéré dans des ballons spécifiques et a subi un séchage avec rota vapeur afin de récupérer l'extrait brut.
4. **Evaporation** : Une fois que l'éthanol est évaporé complètement, l'extrait est récupéré et conservé à -20°C.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Etude de l'interaction de l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* et la curcumine avec la catalase

L'activité de la catalase a été déterminée en mesurant le taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène, suivant la méthode de **Najjar et al., (2017)**. Les échantillons (10µl) de curcumine (12,5-100 µg/ml) d'une part et l'extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus* d'autre part (12,5-100 µg/ml) ont été incubés avec de la catalase (1,14 µM) dans du tampon phosphate (10mM, pH=6,8) pendant 15minutes. La réaction a été mesurée immédiatement à 240nm après avoir mélangé 20 µl du mélange, avec 1480 µl de peroxyde d'hydrogène (12mM). La réduction de l'absorbance à 240 nm résultant de l'élimination de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été

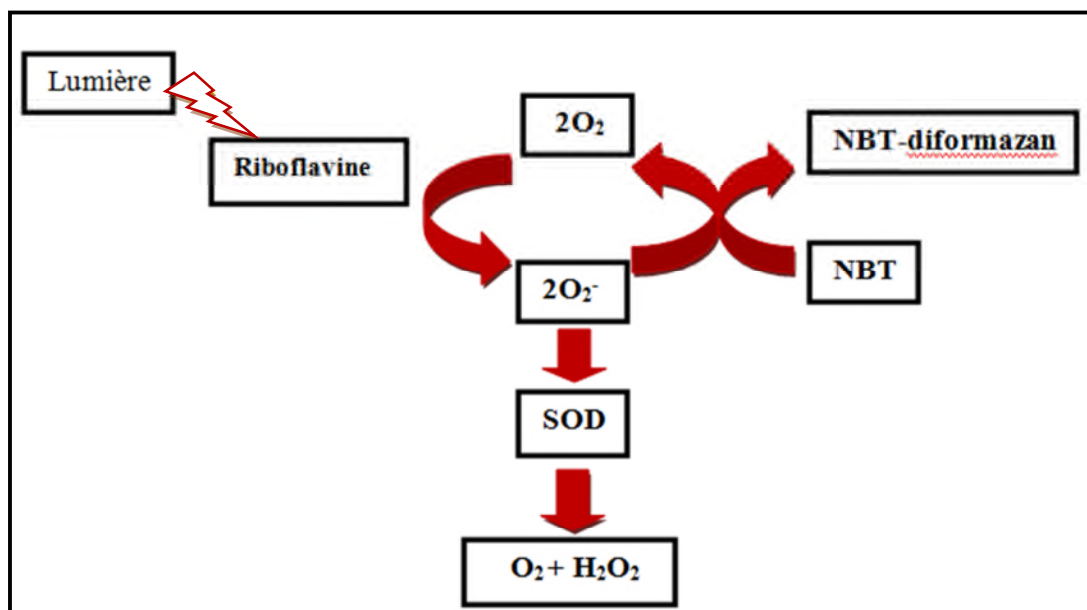
suivie pendant 30s avec un spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu UV spectrophotometer, UV-1800).

Une unité d'activité a été définie comme la quantité d'enzyme qui décompose  $1\mu\text{M}$  de peroxyde d'hydrogène en 1 min (Najjar *et al.*, 2017).

La concentration de la solution mère de la catalase a été déterminée en mesurant son absorbance à 405 nm, en utilisant le coefficient d'extinction molaire de la catalase ( $3,24 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) (Sameijima et Yang, 1963).

### II.2.2 Etude de l'interaction de l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* et la curcumine avec la superoxyde dismutase

La méthode employée (Winterbourn *et al.*, 1975) est basée sur la capacité de la superoxyde dismutase à inhiber la réduction du nitro-bleu tétrazolium (NBT) par l'anion superoxyde (figure 9).



**Figure 9** : Relation entre riboflavine, le radical superoxyde, NBT et SOD.

Le mélange réactionnel était composé de 0,1 ml de solution de NBT (1,5 mM), 0,2 ml d'EDTA/méthionine (0,1M EDTA contenant 0,3 mM méthionine), 15  $\mu\text{l}$  de l'enzyme SOD (5 $\mu\text{g/ml}$ ) et 15 $\mu\text{l}$  de l'extrait de *P.lentiscus* et/ou curcumine avec différentes concentrations (12,5-100  $\mu\text{g/ml}$ ). Du tampon phosphate de potassium (67 mM, PH=7,8) a été ajouté pour porter le volume final à 3 ml. La réaction a été initiée par l'illumination avec une lampe fluorescente (15 W).

L'appareil conçu pour exposer les tubes à la lumière était composé d'un support de tubes à essai immergé dans de l'eau dans un bain-marie à 25 ° C (figure 10) (Beauchamp et Fridovich, 1971).



**Figure 10:** Photographie originale du dispositif utilisé dans l'étude de l'activité de la superoxyde dismutase.

Les tubes ont été incubés pendant 5 minutes pour obtenir une température constante (25°C), puis additionnés de 0,12 mM de riboflavine et incubés dans une boîte lumineuse pendant 12min. L'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre (Shimadzu UV spectrophotometer, UV-1800) à 560nm, à 4 et 12min (Winterbourn *et al.*, 1975). Une unité de SOD est définie comme la quantité d'enzyme qui inhibe la photoréduction du NBT de 50% (Beauchamp et Fridovich, 1971).

### II.2.3. Dosage de l'activité de la catalase et superoxyde dismutase dans les feuilles, la poudre et l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus*

#### II.2.3.1. Dosage de l'activité de la catalase dans *Pistacia lentiscus*

Le but du protocole a été de révéler la présence d'une activité de catalase dans les feuilles fraîches, la poudre issue du broyage et l'extrait des feuilles de *P. lentiscus*. Différentes concentrations ont été testées (12,5-100 µg/ml).

##### ❖ Dans les feuilles fraîches de *Pistacia lentiscus*

Les feuilles fraîches ont été récoltées fin mai 2017 de la forêt de Tizi Neftah et ont été conservées immédiatement au frais et congelées ensuite à -80°C. Deux jours après, les feuilles

ont été pesées, broyées avec un mortier et un pilon froid dans un bain de glace et dissous dans du tampon phosphate de sodium à 10mM (pH=6,8) pour obtenir une concentration de 20mg/ml, puis homogénéisées, jusqu'à disparition du résidu fibreux. L'homogénat a été centrifugé à 10000g pendant 20 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée à 4°C (**Giannopolitis et Ries, 1977**). L'activité de la catalase a été évaluée dans le surnageant récupéré en mesurant la réduction de l'absorbance à 240 nm résultant de l'élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en utilisant la méthode décrite ci-dessus (**Najjar et al., 2017**) mais en absence de l'enzyme.

#### ❖ Dans la poudre et l'extrait de *Pistacia lentiscus*

Le dosage de la catalase dans la poudre (20mg/ml) et l'extrait (20mg/ml) dissous dans du tampon phosphate de sodium (10mM, pH de 6,8) a été mené avec la méthode de **Najjar et al., (2017)**. La solution de poudre ainsi obtenue a été centrifugée à 4000 rpm pendant 20 min, pour se débarrasser de la poudre non dissoute. La quantification des protéines totales dans les feuilles fraîches, poudre issue du broyage et l'extrait de la plante a été déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**.

La quantité de catalase (U/min/mg protéines) dans les feuilles fraîches, poudre issue du broyage et l'extrait de la plante a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43.6 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) (**Najjar et al., 2017**).

#### II-2-3-2 Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans les feuilles, la poudre et l'extrait de *Pistacia lentiscus*:

Le but du protocole a été de révéler la présence d'une activité de superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, la poudre issue du broyage et l'extrait des feuilles de *P. lentiscus*. Les différentes concentrations ont été testées (12,5-100 µg/ml).

#### ❖ Dans les feuilles fraîches de *Pistacia lentiscus*

L'extraction de la superoxyde dismutase a été entreprise de la même manière que pour la catalase. Le surnageant, ci-dessus mentionné à titre d'extrait de SOD brut, a été utilisé immédiatement avant les analyses pour les déterminations enzymatiques (**Giannopolitis et Ries, 1977**). L'activité de la superoxyde dismutase a été mesurée par l'inhibition de la réduction du NBT causée par les radicaux superoxydes par l'adoption de la même méthode du test enzymatique (décrite ci-dessus) sans l'addition de l'enzyme (**Giannopolitis et Ries, 1977**).

**❖ Dans la poudre et l'extrait de *Pistacia lentiscus***

Le dosage de la superoxyde dismutase dans la poudre (20mg/ml) et l'extrait (20mg/ml) dissous dans du tampon phosphate de sodium (67mM, pH de 7,8) a été mené avec la méthode de **Giannopolitis et Ries (1977)**. La solution de poudre ainsi obtenue a été centrifugée à 4000rpm pendant 20 min pour se débarrasser de la poudre non dissoute. La quantification des protéines totales dans les surnageants de feuilles et de la poudre, et aussi dans l'extrait a été déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**.

La quantité de superoxyde dismutase (U/min/ $\mu$ g protéines) dans les feuilles fraîches, poudre issue de broyage et l'extrait éthanolique de la plante a été calculée en considérant qu'une unité enzymatique correspond à 50% d'inhibition de la réduction du NBT (**Beauchamp et Fridovich, 1971**).

**II.2.4. Dosage de l'activité de la catalase et superoxyde dismutase dans la curcumine****II.2.4.1. Dosage de l'activité de la catalase dans la curcumine**

Le dosage de la catalase dans la curcumine (composé pur, 20mg/ml) dissoute dans du méthanol dilué à 1% a été mené avec la méthode de **Najjar et al., (2017)**. La solution de curcumine a été agitée pour qu'elle se soit totalement dissoute. Différentes concentrations ont été testées (12,5-100  $\mu$ g/ml).

L'activité de la catalase (U/min) dans la curcumine a été calculé en utilisant le coefficient d'extinction du  $H_2O_2$  ( $43.6 M^{-1}cm^{-1}$ ) (**Najjar et al., 2017**).

**II.2.4.2. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans la curcumine**

Le dosage de la superoxyde dismutase dans la curcumine (20mg/ml) dissoute dans l'éthanol a été mené avec la méthode de (**Winterbourn et al., 1975**). La solution de curcumine a été agitée pour qu'elle se soit totalement dissoute. Différentes concentrations ont été testées (12,5-100  $\mu$ g/ml).

L'activité de la superoxyde dismutase (U/min) dans la curcumine a été calculé en considérant qu'une unité enzymatique correspond à 50% d'inhibition de la réduction du NBT (**Beauchamp et Fridovich, 1971**).

**II.3. Analyse statistique**

Les résultats de l'ensemble des tests réalisés ont été exprimés en moyenne (M)  $\pm$  SD ou «standard déviation» pour chaque groupe. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Graph Pad Prism (5.0). Les différences sont considérées significatives à \* $p < 0,05$ , hautement significatives à \*\* $p < 0,001$ , et très hautement significatives à \*\*\* $p < 0,0001$ .

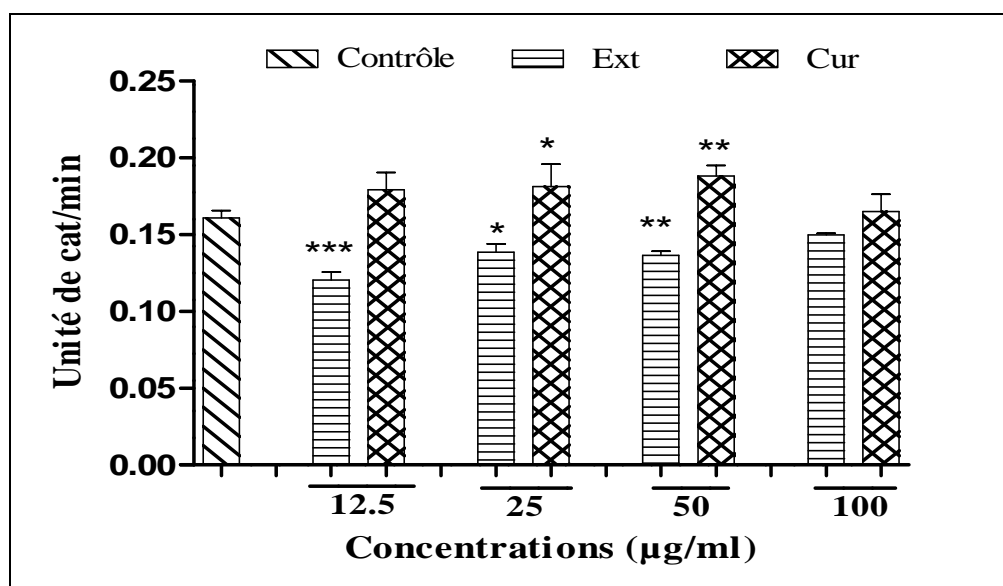
### III. Résultats et discussion

Notre étude avait pour but d'examiner l'interaction de la curcumine et l'extrait de *P.lentiscus* avec la catalase et la superoxyde dismutase, deux enzymes antioxydantes essentielles pour les organismes vivants.

#### III.1. Etude de l'activité enzymatique de la catalase

##### III.1.1. Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'activité de la catalase

Après incubation de la catalase avec l'extrait des feuilles de *P. lentiscus*/curcumine pendant 15 minutes à une température ambiante, l'activité de cette dernière a été déterminée en mesurant le taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène, suivant la méthode de **Najjar *et al.*, (2017)**. Les résultats de l'effet des différentes concentrations de la curcumine (12,5-100µg/ml) et l'extrait éthanolique (12,5-100µg/ml) des feuilles de *P.lentiscus* sur l'activité de la catalase sont présentés dans la figure 11.



**Figure 11: Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'activité de la catalase.** Les données sont représentées en moyenne  $\pm$  SD pour n=3; \*p<0,05 différence significative, \*\*p <0,001 différences hautement significatives, \*\*\*p<0,0001 différence très hautement significative par rapport au témoin. Cur : Curcumine, Ext : Extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus*.



L'extrait des feuilles de *P. lentiscus* a inhibé la catalase de façon maximale (25,04%) à la concentration la plus faible de 12,5µg/ml; cette inhibition diminue en augmentant la concentration de l'extrait. En effet, à 25µg/ml et 50µg/ml les pourcentages d'inhibition sont de 13,82 et 15,03%, respectivement.

De même que pour l'extrait de *P. lentiscus*, l'activité de la catalase a augmenté avec l'augmentation de la concentration de la curcumine. Cependant, la curcumine n'a pas causé une inhibition de la catalase mais une activation à partir de 25µg/ml (16,73% d'activation) qui a atteint son maximum à 50µg/ml ( $p < 0,001$ ) avec un pourcentage d'activation de 21,21%. D'autre part, la concentration de 100µg/ml pour l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* et la curcumine a donné une activité comparable à celle du contrôle.

La catalase est une enzyme endogène antioxydante qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en dioxygène (**Chelikani et al., 2004**). Elle existe chez tous les organismes aérobies chez lesquels elle participe, comme la peroxydase, à la défense contre les dérivés toxiques de l'oxygène (**Goudable et Favier, 1997**). L'inhibition de la catalase par l'extrait de *P. lentiscus* suggère un potentiel pro-oxydant (**Halliwell, 2005**). Cette inhibition peut être due à un effet synergique des composés de l'extrait ou à la présence d'un composé majoritaire.

En effet, *P. lentiscus* est une plante riche en polyphénols (**Remila et al., 2014 ; Mehenni et al., 2016**) dont les propriétés antioxydantes ont été prouvées, plus particulièrement une activité scavenging contre le  $H_2O_2$  (**Atmani et al., 2009**). Les études ont montré que la catéchine est un composant majoritaire de *P. lentiscus* (**Romani et al., 2002; Rodriguez-Pérez et al., 2013**). Une étude de **Pal et al., (2014)** sur l'interaction de la catéchine avec la catalase a montré que ce composé phénolique provoque des changements de conformation dans la structure secondaire de cette enzyme, ce qui influence son site actif et ses fonctions physiologiques et la rend inactive dans la neutralisation du  $H_2O_2$ . Ceci peut suggérer que c'est la catéchine de l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* qui est à l'origine de l'inhibition de la catalase. Les études précédentes ont aussi rapporté la présence d'autres tannins dans l'extrait éthanolique de *P. lentiscus* tels que l'acide gallique et l'acide tannique (**Remila et al., 2014 ; Mehenni et al., 2016**). Cependant, l'inhibition observée n'est pas dose-dépendante. En effet, les tannins sont des composés complexes et volumineux, qui peuvent inhiber l'enzyme de façon non

spécifique, en provoquant un encombrement stérique qui augmente avec la concentration et devient non significatif à 100µg/ml (figure 11).

Les études *in vitro* d'interaction entre les extraits de plantes ou les polyphénols avec la catalase sont rares. D'après nos recherches, aucune étude n'a montré une activation de cette enzyme *in vitro* par les extraits de plante ou polyphenols. A titre d'exemple, une étude a montré une inhibition de la catalase par plusieurs extraits de raisin (**Spanou et al., 2011**).

L'acide salicylique (AS), qui est un composé hydroxybenzoïque, a aussi réprimé l'activité de la catalase (**Durner et Klessig, 1996**). Ces chercheurs ont interprété ces résultats comme bénéfiques. Ils ont émis l'hypothèse que l'inhibition de la catalase dans les tissus infectés de plante ou d'animaux sert à maintenir une concentration élevée de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pour son rôle comme second messenger dans l'activation des gènes des protéines antioxydantes et de résistance aux infections (**Schmidt et al., 1995**). En même temps, l'AS protège la catalase de la dégradation par les concentrations élevées de son substrat (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), qui est produit dans des conditions de stress oxydant chez les animaux et d'infection chez les plantes (**Herbert et al., 1948**). Cette hypothèse peut expliquer la disparité entre l'activation de la catalase *in vivo* et son inhibition *in vitro*.

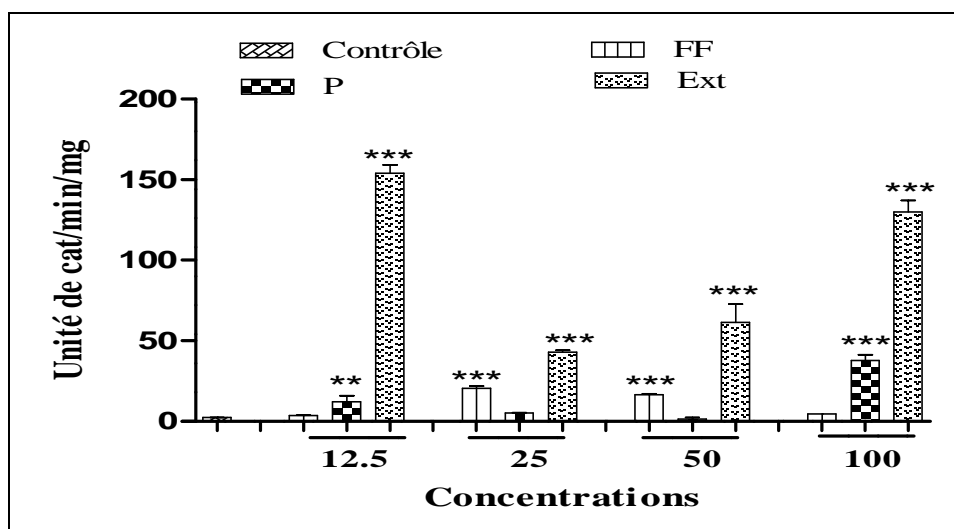
D'autre part, la curcumine est un polyphénol connu présent dans le curcuma, une racine dont l'Inde est la principale productrice (**Chattopadhyay et al., 2004**). En effet, l'étude de la curcumine dans des modèles biologiques a révélé qu'elle possédait un grand nombre de propriétés pharmacologiques, telles que la capacité à neutraliser les radicaux libres notamment le radical hydroxyle et l'anion superoxyde (**Jayaprakasha et al., 2005**), probablement dû à sa propriété de donneur d'électrons.

L'activité antioxydante de la curcumine a été confirmée par son activation de la catalase à des concentrations élevées (25 et 50 µg/ml) (Figure 11). Un mécanisme possible par lequel la curcumine active la catalase a été suggéré pour révéler la nature des interactions entre la catalase et la curcumine en utilisant des méthodes de calculs et des techniques optiques (**Najjar et al., 2017**). En effet, la curcumine est supposée être impliquée dans les arrangements des résidus d'acides aminés dans le site actif de l'enzyme, de façon à modifier sa conformation en causant l'augmentation de la distance entre les résidus du goulot d'étranglement du canal étroit (**Najjar et al., 2017**). Cette distance détermine la quantité de substrat qui a accès au site actif de l'enzyme. Cependant, l'équipe de **Najjar et ses collaborateurs (2017)** ont montré une activation maximale de la catalase de 100% à

200 $\mu$ g/ml, ce qui n'est pas en accord avec nos résultats. Cette disparité dans les résultats peut être attribuée à une différence dans la pureté de la curcumine (celle utilisé dans notre laboratoire est à 95% pure), à la durée de son stockage (la curcumine au laboratoire est stockée depuis 2010) et à la difficulté de sa dissolution dans le tampon.

### III.1.2. Dosage de l'activité de la catalase dans les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*

La figure 12 ci-dessous montre l'activité de la catalase exprimée en (U/mg de protéines) dans les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.



**Figure 12 :** Dosage de l'activité de la catalase dans les feuilles fraîches, poudre et extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus*. Les données sont représentés en moyenne  $\pm$  SD pour n=3 ; \*\*\*p<0,0001 différence très hautement significative par rapport au contrôle. FF : Feuilles fraîches de *P.lentiscus*, P : Poudre, Ext : Extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus*.

On remarque que l'activité de la catalase dans les feuilles fraîches de *P. lentiscus* est supérieure à celle du contrôle pour les concentrations de 25 et 50 $\mu$ g/ml ( $p<0,0001$ ). L'inverse est observé pour la poudre des feuilles de *P. lentiscus*, où l'activité de la catalase a enregistré une augmentation par rapport au contrôle seulement pour les concentrations de 12,5 et 100  $\mu$ g/ml, tandis que des différences non significatives ont été révélées pour les concentrations de 25 et 50  $\mu$ g/ml, respectivement.

Pour l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus*, l'activité de la catalase est maximale et très hautement significative ( $p<0,0001$ ) pour la concentration de 12,5  $\mu$ g/ml par rapport au

contrôle. Cette activité baisse significativement à 25µg/ml et augmente à partir de cette concentration de manière dose-dépendante.

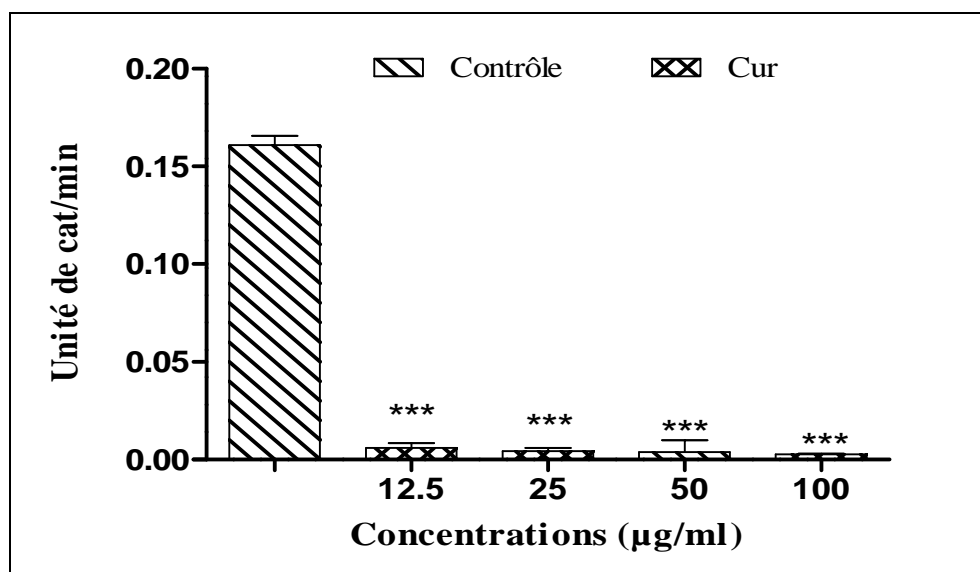
L'activité de la catalase observée dans la figure 12 peut être due soit à la présence de cette enzyme dans les échantillons étudiés soit à leur activité scavenging. Les résultats du dosage de l'activité de la catalase dans les feuilles fraîches, poudre et extrait de *P. lentiscus* ont montré que, ce dernier a donné la meilleure activité de manière dose-dépendante. Ceci est consistant avec l'allure de l'activité de l'extrait en présence de l'enzyme (figure 11) et révèle que l'inhibition à de faibles concentrations qui s'atténue en augmentant la concentration est probablement dû à une activité scavenging du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de l'extrait (**Atmani et al., 2009**) qui, en même temps peut inhiber l'enzyme, par un mécanisme similaire de l'AS.

Concernant la concentration de 12,5µg/ml de l'extrait qui a donné la meilleure activité de catalase, la méthode de Bradford a montré qu'à cette dilution, la quantité de protéines est presque nulle, ce qui suggère que l'activité observée est probablement due à une pure activité de scavenging. La concentration de 12,5 µg/ml est optimale (figure 12) et d'après la théorie de **Halliwell et al., (2000)** sur le paradoxe des antioxydants, l'activité de ces derniers peut être forte à de faibles concentrations alors qu'à de fortes concentrations, elle peut devenir pro-oxydante.

Le fait que l'extrait a donné une meilleure activité que les feuilles fraîches et la poudre peut être interprété par une teneur faible en catalase dans les feuilles fraîches de *P. lentiscus*. Aussi, il démontre que l'extraction par l'éthanol a optimisé la quantité de polyphénols dans l'extrait qui a montré une meilleure activité de scavenging que la poudre.

### III.1.3. Dosage de l'activité de la catalase dans la curcumine

L'activité catalase de la curcumine a été déterminée en mesurant le taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène, les résultats sont illustrés dans la figure 13.



**Figure 13: Dosage de l'activité de la catalase dans différentes concentrations de la curcumine.** Les données sont représentées en moyenne  $\pm$  SD pour  $n=3$ , \*\*\* $p<0,0001$  différence très hautement significative par rapport au témoin. Cur : Curcumine.

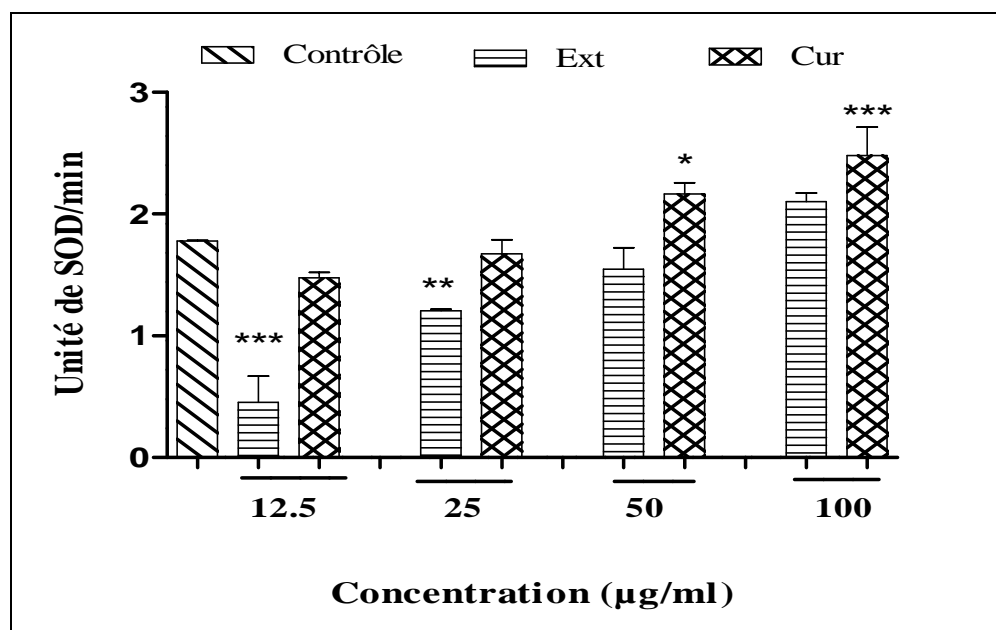
Cette figure indique une activité de catalase de la curcumine très faible comparée au contrôle pour toutes les concentrations testées (12,5-100µg/ml). La curcumine est un composé phénolique ne possédant pas de protéines et donc pas de catalase qui décompose le peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau. L'activité détectée est donc purement celle de scavenging du  $H_2O_2$  qui s'est avérée très faible et comparable à toutes les concentrations de la curcumine (12,5-100 µg/ml). Combinée avec les résultats de la figure 11, et vu que l'activité de scavenging du  $H_2O_2$  de la curcumine est très faible, l'activation de la catalase observée est surtout due à une interaction de la curcumine sur le site actif de l'enzyme en accord avec les résultats de **Najjar et al., (2017)**.

### III.2. Etude de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation du radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'oxygène ( $O_2$ ) (**McCord et Fridovich, 1969**). Les ions superoxydes générés par la réduction de la riboflavine par la lumière convertissent le NBT en bleu de formazan, qui absorbe la lumière à 560 nm. Cependant la SOD inhibe cette réaction en éliminant les ions superoxydes du milieu réactionnel (Figure 9).

### III.2.1. Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'activité de la superoxyde dismutase

Les résultats de l'effet des différentes concentrations de la curcumine (12,5-100µg/ml) et l'extrait éthanolique (12,5-100µg/ml) des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'activité de la superoxyde dismutase sont présentés dans la figure 14.



**Figure 14 : Effet de la curcumine et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'activité de la superoxyde dismutase.** Les données sont représentées en moyenne  $\pm$  SD pour n=3 ; \*p<0,05 différence significative, \*\*p <0,001 différences hautement significatives, \*\*\*p<0,0001 différence très hautement significative par rapport au contrôle. Ext : Extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*; Cur : Curcumine.

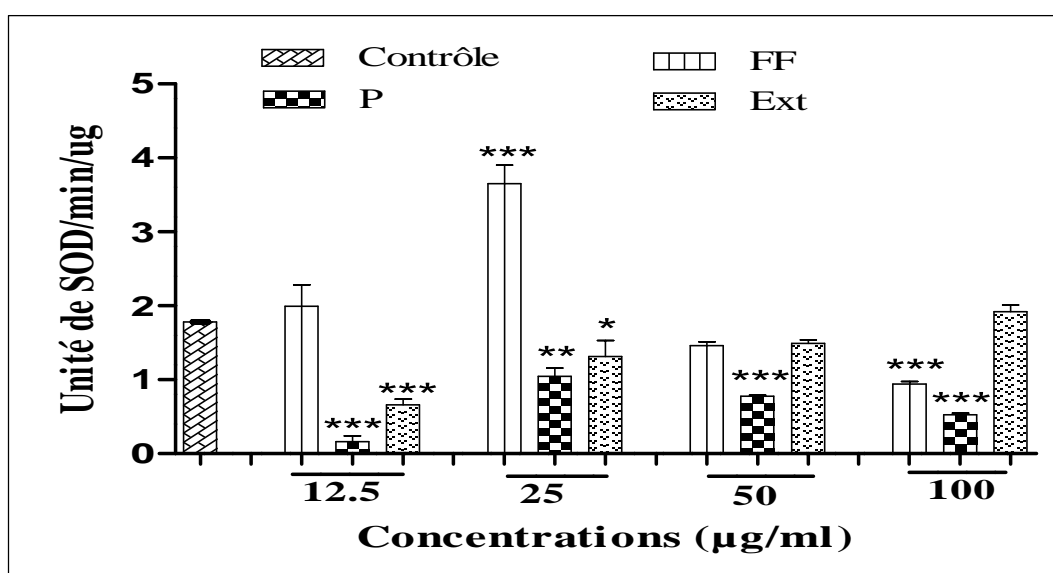
On observe que l'activité de la superoxyde dismutase a été significativement inhibée, comparée à celle du contrôle par l'extrait éthanolique de *P. lentiscus* aux concentrations de 12,5 et 25µg/ml (pourcentages d'inhibition de 74,61 et 32,45%, respectivement), indiquant que cet extrait est pro-oxydant aux concentrations utilisées (Halliwell, 2005). Cette inhibition s'atténue en augmentant la concentration de manière à ce qu'elle devienne non significative à 50 et 100µg/ml, suggérant que, de même pour la catalase, cette inhibition est non spécifique. L'étude des extraits de graines et fruits de raisin a montré que ces derniers sont des inducteurs de l'enzyme (Spanou *et al.*, 2011), en contraste avec nos résultats pour *P. lentiscus*.

L'analyse statistique a aussi révélé une augmentation dose-dépendante de l'activité de la superoxyde dismutase en présence de la curcumine entre 12,5 et 100  $\mu\text{g/ml}$ .

Cette augmentation est significative pour les concentrations de 50 et 100  $\mu\text{g/ml}$  qui suggère que la curcumine a activé l'enzyme à ces concentrations, avec des pourcentages d'activation de 21,37 et 39,14% à 50 et 100  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement.

### III.2.2. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*

Les résultats de dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, poudre et extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus* sont présentés dans la figure 15.



**Figure 15: Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, poudre et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.** Les données sont représentés en moyenne  $\pm$  SD pour  $n = 3$  ; \* $p < 0,05$  différence significative, \*\* $p < 0,001$  différences hautement significatives, \*\*\* $p < 0,0001$  différence très hautement significative par rapport au contrôle. FF : Feuilles fraîches de *P. lentiscus*, P : Poudre, Ext : Extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus*.

On constate que l'activité de la superoxyde dismutase est significativement supérieure à celle du contrôle pour la concentration de 25  $\mu\text{g/ml}$  des feuilles fraîches de *P. lentiscus* et a donné une activité maximale ( $p < 0,0001$ ). Cependant une activité significativement moins forte à celle du contrôle a été observée pour la concentration de 100  $\mu\text{g/ml}$ . Des différences non significatives ont été observées pour les concentrations de 12,5 et 50  $\mu\text{g/ml}$ .

En ce qui concerne la poudre des feuilles de *P. lentiscus*, l'activité de la superoxyde dismutase est inférieure à celle du contrôle pour toutes les concentrations (12,5-100

µg/ml). Cette activité est minimale à 12,5 et maximale à 25µg/ml. D'autre part, une activité de superoxyde dismutase dose-dépendante de l'extrait a été révélée à des concentrations allant de 12,5 à 100 µg/ml, qui atteint son maximum à 25µg/ml.

La comparaison de l'activité de la SOD entre les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait montrent que les feuilles fraîches contiennent une activité supérieure à 25µg/ml et que la poudre a montré le moins d'activité à toutes les concentrations. En absence de l'enzyme, l'élimination de l'anion superoxyde par l'extrait de *P. lentiscus* peut être due soit à la présence de l'enzyme dans l'extrait soit au pouvoir scavenging de ce dernier. L'élimination du superoxyde en l'absence de l'enzyme (figure 15) montre la même allure qu'avec sa présence (figure 14) du fait que l'activité de la SOD augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait des feuilles de *P. lentiscus*, suggérant que les composés phénoliques présents dans cet extrait ont une activité scavenging de l'anion superoxyde (Cos *et al.*, 1998). On peut constater que l'extrait agit plutôt par scavenging et cette activité n'est pas forte pour être égale au contrôle. Les feuilles de *P. lentiscus* sont riches en tannins (Atmani *et al.*, 2009), tels que l'acide gallique. Ces derniers peuvent se comporter comme des antioxydants et des pro-oxydants en fonction de la concentration et de la source des radicaux libres (Labieniec *et al.*, 2003).

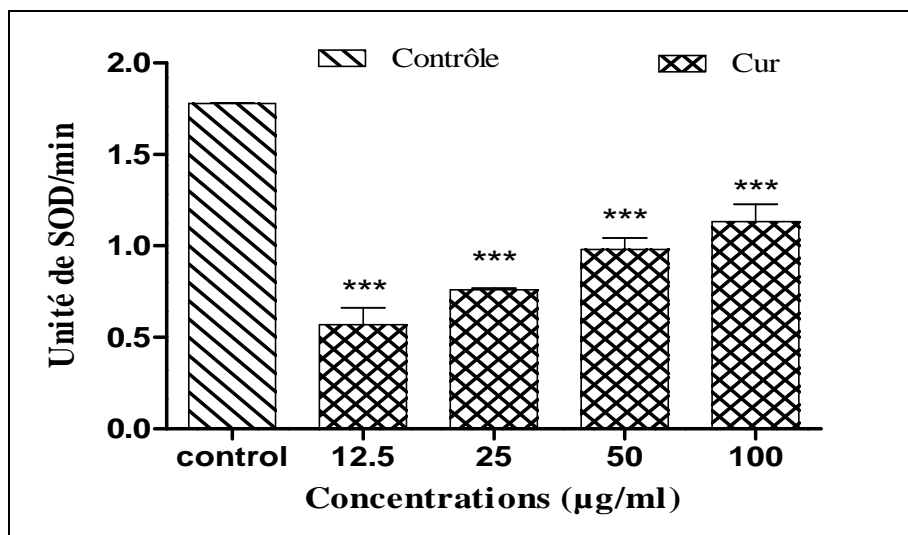
Dans le cas des feuilles fraîches de *P. lentiscus*, l'activité maximale enregistrée pour la concentration de 25 µg/ml peut être expliquée par la présence de l'enzyme dans la plante ajoutée à un pouvoir scavenging qui fait que cette concentration est optimale pour éliminer le radical superoxyde par rapport à la vitesse de sa production dans le milieu réactionnel. D'après Bowler *et al.*, (1994), les trois formes de la superoxyde dismutase (les formes cuivre/zinc, manganèse et fer) existent dans les plantes. Les feuilles de *Pisatacia lentiscus* sont riches en polyphénols tels que la catéchine, la quercétine, myricétine et gallocatéchine (Romani *et al.*, 2002). Il a déjà été rapporté que ces composés ont une activité scavenging de l'anion superoxyde (Cos *et al.*, 1998).

La dénaturation de la SOD au cours du séchage et broyage des feuilles de *P. lentiscus*, ajouté aux conditions de conservation (4°C) peut expliquer la diminution de l'activité de la SOD pour toutes les concentrations de la poudre issue du broyage des feuilles de *P. lentiscus* en accord avec d'autres études (Spsychalla et Desborough, 1990) qui ont rapporté que certaines activités enzymatiques des tubercules de pomme de terre diminuent au cours du temps pendant le stockage.



### III.2.3. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans la curcumine

D'après la figure 16 ci-dessous, on observe que l'activité de superoxyde dismutase de la curcumine augmente de manière dose-dépendante ; cependant, cette activité est inférieure à celle du contrôle (enzyme seule) pour toutes les concentrations (12,5-100 $\mu$ g/ml).



**Figure 16 : Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase dans différentes concentrations de curcumine.** Les données sont représentées en moyenne  $\pm$  SD pour  $n=3$ , \*\*\* $p<0,0001$  différence très hautement significative par rapport au témoin. Cur : Curcumine.

Comme la curcumine est un composé pur, l'activité observée est purement de scavenging de l'anion superoxyde. En effet, **Vajragupta et al., (2004)** a montré que la curcumine a un effet sur l'anion superoxyde mais à des concentrations très élevées, ce qui est en accord avec nos résultats. Comme l'allure de la représentation schématique de la figure 16 en absence de l'enzyme ressemble à celle de la figure 14 en présence de l'enzyme, dans ce dernier cas l'activité de l'enzyme étant supérieure à celle du contrôle, on peut supposer qu'il y a un effet synergique entre l'activation de l'enzyme et son effet scavenging par la curcumine.

L'étude de **Chattopadhyay et al., (2004)** a démontré que la curcumine, *in vitro*, inhibe significativement la production des espèces réactives de l'oxygène, tels que  $H_2O_2$ , l'anion superoxyde et le radical nitrite. Cette inhibition est attribuée aux groupes phénoliques et méthoxy sur les cycles benzéniques et le système 1,3-dicétone (figure 4) qui sont les deux caractéristiques structurales importantes de la curcumine qui contribuent à ses propriétés antioxydantes (**Sreejayan et Rao, 1996**).

### III.3. Discussion générale

Les deux enzymes, catalase et SOD sont la première ligne de défense chez les organismes vivants contre le stress oxydant. Certaines plantes telles que *Cassia fistula* ont montré une activation importante *in vitro* de ces deux enzymes (**Kumar et al., 2012**).

La comparaison des extraits de *P. lentiscus* avec la curcumine a donné des résultats très différents. La curcumine active les deux enzymes, tandis que l'extrait de *P. lentiscus* les a plutôt inhibées. Aucune étude n'a examiné l'activation *in vivo* par les extraits de *P. lentiscus* des deux enzymes. Toutefois, si on examine les recherches effectuées *in vivo* sur les plantes médicinales, on note une activation de ces enzymes, ce qui suggère que le mécanisme d'action de ces plantes *in vivo* est différent de celui *in vitro*. En effet, *in vivo* les plantes médicinales agissent indirectement en activant les gènes des enzymes antioxydantes, la catalase et la superoxyde dismutase (**Devi et al., 2007**).

D'autre part, les résultats de la curcumine ont suivi une dose-dépendance logique alors que ceux des extraits n'étaient pas toujours dose-dépendants. Le fait que l'extrait de plantes est constitué d'un mélange de composés différents qui causent parfois un encombrement stérique a contribué à des résultats difficiles à interpréter (pas de dose-dépendance).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme. En médecine traditionnelle, plusieurs plantes et herbes ont été utilisées pour traiter les maladies induites par les radicaux libres.

*Pistacia lentiscus* est une plante locale riche en polyphénols dont les propriétés antioxydantes ont été prouvées et son effet pharmacologique en médecine traditionnelle est très utilisé dans le traitement de diverses pathologies.

L'objectif de notre travail a été d'évaluer l'interaction enzymatique de l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante comparée à la curcumine, un polyphénol connu présent dans le curcuma, avec deux enzymes antioxydantes: la catalase et la superoxyde dismutase.

L'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude ont montré que la curcumine active les deux enzymes antioxydantes (catalase et superoxyde dismutase) à des concentrations élevées. Le dosage de l'activité de ces deux enzymes suggère que la curcumine active la catalase en agissant sur le site actif de l'enzyme alors que l'activité observée pour la SOD est une combinaison avec l'activité scavenging de l'anion superoxyde. Cependant l'extrait de *P. lentiscus* a plutôt inhibé ces deux enzymes à de faibles concentrations, suggérant un effet pro-oxydant. Le dosage de l'activité des deux enzymes dans les feuilles, la poudre et l'extrait de *P. lentiscus* a montré des activités non-dose-dépendantes qui est due au fait que l'extrait est un mélange de composés différents.

À partir des résultats obtenus concernant l'effet de l'extrait éthanolique de *P.lentiscus* sur l'activité de la catalase et la superoxyde dismutase comparée à la curcumine, il serait ainsi souhaitable d'enrichir ce travail par :

- La réalisation d'une électrophorèse afin de confirmer la présence ou l'absence de la catalase et/ou la superoxyde dismutase dans les feuilles fraîches, la poudre et l'extrait éthanolique de *P.lentiscus*.
- La variation des concentrations de l'extrait et de la curcumine.
- L'augmentation de la concentration de l' $H_2O_2$  pour confirmer si le mécanisme de l'AS est similaire à celui de l'extrait.
- Des études plus approfondies seraient nécessaires pour déterminer le mécanisme d'action de l'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* au niveau moléculaire.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Adelaida, D., Loewen, C., Ignacio, F. and Xavi, C.(2012).** Thirty years of heme catalases structural biology. *Archives of Biochemistry and Biophysics*,**525**:102-110.
- ❖ **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P. and Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, **74(7)** : 636-643.
- ❖ **Allgood, G. S. and Perry, J. J. (1986).** Characterization of a manganese-containing catalase from the obligate thermophile, *Thermoleophilum album*. *Journal of Bacteriology*, **168(2)**: 563-567.
- ❖ **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.
- ❖ **Barik, A., Mishra, B., Shen, L., Mohan, H., Kadam, R. M., Dutta, S., ... and Priyadarsini, K. I. (2005).** Evaluation of a new copper (II)–curcumin complex as superoxide dismutase mimic and its free radical reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, **39(6)**:811-822.
- ❖ **Barondeau, D. P., Kassmann, C. J., Bruns, C. K., Tainer, J. A . and Getzoff, E. D. (2004).** Nickel superoxide dismutase structure and mechanism. *Biochemistry*, **43(25)**: 8038-8047.
- ❖ **Baytop, T. (1984).** Teraphy with Medicinal plants in Turkey. *Istanbul Univ. Press*, Istanbul, p:409.
- ❖ **Beauchamp, C., and Fridovich, I. (1971).** Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, **44(1)**:276-287.
- ❖ **Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D. and Benboubetra, M. (2010).** Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *Journal of Medicinal Food*, **13(4)**: 896-904.
- ❖ **Borgstahl, G. E., Parge, H. E., Hickey, M. J., Beyer, W. F., Hallewell, R. A. and Tainer, J. A. (1992).** The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles. *Cell*, **71(1)**:107-118.
- ❖ **Bowler, C., Van Camp, W., Van Montagu, M., Inzé, D. and Asada, K. (1994).** Superoxide dismutase in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **13(3)**: 199-218.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72(1)**: 248-254.
- ❖ **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>e</sup> éd. *Technique et Documentation*. Paris,p: 261.
- ❖ **Buldak, L., Labuzek, K., Buldak, R. J., Kozłowski, M., Machnik, G., Liber, S., Suchy, D., Dulawa-Buldak, A. and Okopień, B. (2014).** Metformin affects macrophages phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacological Reports*, **66(3)**: 418-429.
- ❖ **Castaneda, C., Gordon, P. L., Parker, R. C., Uhlin, K. L., Roubenoff, R. and Levey, A. S. (2004).** Resistance training to reduce the malnutrition-inflammation complex syndrome of chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases*, **43(4)**: 607-616.
- ❖ **Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M. and Stocker, P.(2008).** Determination of the fatty acid composition of Acoïn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, **85**:921-924.
- ❖ **Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U. and Banerjee, R. K. (2004).** Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science-Bangalore*, **87**:44-53.
- ❖ **Chelikani, P., Fita, I. and Loewen, C.(2004).** Diversity of structure and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Science*, **61**: 192-208.
- ❖ **Cheyrier, V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **81(1)** : 223-229.
- ❖ **Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., ... and Berghe, D. V. (1998).** Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, **61(1)**: 71-76.
- ❖ **Devi, R. S., Narayan, S., Vani, G. and Devi, C. S. S. (2007).** Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chemico-Biological Interactions*, **167(1)**: 71-83.
- ❖ **Duke J.(1983).** Medicinal Plants of the Bible. *Trado-Medic Books*. New York,p: 90.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Durner, J. and Klessig, D. F. (1995).** Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2, 6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **92(24)**: 11312-11316.
- ❖ **Edeas, M. (2006).** La curcumine. *Phytothérapie*, **4(5)**: 230-233.
- ❖ **Enghild, J. J., Thogersen, I. B., Oury, T. D., Valnickova, Z., Hojrup, P. and Crapo, J. D. (1999).** The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase is proteolytically processed intracellularly during biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, **274(21)**: 14818-14822.
- ❖ **Esmat, A., Al-Abbasi, F. A., Algandaby, M. M., Moussa, A. Y., Labib, R. M., Ayoub, N. A. and Abdel-Naim, A. B. (2012).** Anti-inflammatory activity of *Pistacia khinjuk* in different experimental models: isolation and characterization of its flavonoids and galloylated sugars. *Journal of Medicinal Food*, **15(3)**: 278-287.
- ❖ **Faraci, F. M. and Didion, S. P. (2004).** Vascular Protection. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **24(8)**: 1367-1373.
- ❖ **Fattman, C. L., Schaefer, L.M. and Oury, T. D. (2003).** Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*, **35(3)**: 236-256.
- ❖ **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, **11(12)**: 108-115.
- ❖ **Foyer, C. H. and Noctor, G. (2005).** Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*, **17(7)** : 1866-1875.
- ❖ **Fridovich, I.(1997).** Superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup> radical anion), superoxide dismutases, and related matters. *Journal of Biological Chemistry*, **272**:18515-18517.
- ❖ **Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T. and Komaitis, M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, **107(3)**: 1120-1130.
- ❖ **Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z. and Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité Chimique*, **1**:91-96.
- ❖ **Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977).** Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, **59(2)**: 309-314.
- ❖ **Goldberg, I. and Hochman, A. (1989).** Three different types of catalases in *Klebsiella pneumoniae*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **268(1)**: 124-128.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Goudable, J. and Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Metabolisme*, **11(2)** : 115-120.
- ❖ **Gutteridge, J.M.C.(1995).** Lipid peroxidation and antioxydants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*,**41(12)**:1819-1828.
- ❖ **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C. and Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, **62(10)**: 628-638.
- ❖ **Halliwell, B.(1996).** Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*,**44**:3-6.
- ❖ **Halliwell, B. (2005).** Free radicals and other reactive species in disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, **(1)**:1-7.
- ❖ **Halliwell, B. and Chirico, S.(1993).** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, **57**: 715-725.
- ❖ **Halliwell, B., Clement, M. V. and Long, L.H.(2000).** Hydrogen peroxide in the human body.*FEBS Letters*,**486(1)**:10-13.
- ❖ **Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1990).** The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **280(1)** : 1-8.
- ❖ **Herbert, D. and Pinsent, J. (1948).** Crystalline bacterial catalase. *Biochemical Journal*, **43(2)**: 193.
- ❖ **Iauk, L., Ragusa, S., Rapisarda, A., Franco, S. and Nicolosi, V. M. (1996).** *In vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts: preliminary report. *Journal of Chemotherapy*, **8(3)**:207-209.
- ❖ **James, W.(2012).** Non-heme manganese catalase -the 'other' catalase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*,**525**:111-112.
- ❖ **Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M. and Sakariah, K. K. (2005).** Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends in Food Science & Technology*, **16(12)**: 533-548.
- ❖ **Kalmijn, S., Foley, D., White, L., Burchfiel, C. M., Curb, J. D., Petrovitch, H. and Launer, L. J. (2000).** Metabolic cardiovascular syndrome and risk of dementia in Japanese-American elderly men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **20(10)**: 2255-2260.
- ❖ **Klotz, M. G., Klassen, G. R., and Loewen, P. C. (1997).** Phylogenetic relationships among prokaryotic and eukaryotic catalases. *Molecular Biology and Evolution*, **14(9)**: 951-958.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **20(4)** : 165-177.
- ❖ **Kumar, S. V., Saritha, G. and Fareedullah, M. D. (2010).** Role of antioxidants and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Annals of Biological Research*, **1(3)**: 158-173.
- ❖ **Kumar, U., Mishra, M. and Prakash, V. (2012).** Assessment of antioxidant enzymes and free radical scavenging activity of selected medicinal plants. *Free Radicals and Antioxidants*, **2(3)**: 58-63.
- ❖ **Labieniec, M., Gabryelak, T. and Falcioni, G. (2003).** Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel *Unio tumidus*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **539(1)**: 19-28.
- ❖ **Liou, W., Chang, L. Y., Geuze, H. J, Strous, G. J., Crapo, J. D. and Slot, J. W. (1993).** Distribution of CuZn superoxide dismutase in rat liver. *Free Radical Biology and Medicine*, **14(2)**: 201-207.
- ❖ **Lushchak, V. I. (2012).** Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*, **2012**: 1-26.
- ❖ **Macheix, J. J. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?. *Acta Botanica Gallica*, **143(6)**: 473-479.
- ❖ **Maiorana, A., O'Driscoll, G., Dembo, L., Cheetham, C., Goodman, C., Taylor, R. and Green, D. (2000).** Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **279(4)**: 1999-2005.
- ❖ **Marklund, S. L. (1982).** Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **79(24)**: 7634-7638.
- ❖ **Markovics, A., Cohen, I., Muklada, H., Glasser, T. A., Dvash, L., Ungar, E. D., ... and Landau, S. Y. (2012).** Consumption of *Pistacia lentiscus* foliage alleviates coccidiosis in young goats. *Veterinary Parasitology*, **186(3)**:165-169.
- ❖ **Marner, F.J., Freyer, A. and Lex, J. (1991).** Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia Lentiscus*. *Phytochemistry*, **30(11)**:3709-3712.
- ❖ **Mayfield, J. E. and Duvall, M. R. (1996).** Anomalous phylogenies based on bacterial catalase gene sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **42**: 469-471.



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **McCord, J. M. and Fridovich, I. (1969).** Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, **244(22)** : 6049-6055.
- ❖ **McCord, J.(1993).** Human disease, free radicals and the oxidant, antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*,**26**:351-357.
- ❖ **Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, 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(3)**:653-669.
- ❖ **Menvielle-Bourg, F. J. (2005).** La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, **3(3)** : 118-121.
- ❖ **Messier, S. P., Loeser, R. F., Miller, G. D., Morgan, T. M., Rejeski, W. J., Sevick, M. A... and Williamson, J. D. (2004).** Exercise and dietary weight loss in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis: the Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial. *Arthritis & Rheumatism*, **50(5)**: 1501-1510.
- ❖ **Morris, C. J., Earl, J. R., Trenam, C. W. and Blake, D. R. (1995).** Reactive oxygen species and iron-a dangerous partnership in inflammation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **27(2)**:109-122.
- ❖ **Morten, K. J., Ackrell, B. A. and Melov, S. (2006).** Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Mice Lacking Superoxide Dismutase 2 attenuation via antioxidant treatment. *Journal of Biological Chemistry*, **281(6)**: 3354-3359.
- ❖ **Najjar, F. M., Ghadari, R., Yousefi, R., Safari, N., Sheikhasani, V., Sheibani, N. and Moosavi-Movahedi, A. A. (2017).** Studies to reveal the nature of interactions between catalase and curcumin using computational methods and optical techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, **95**:550-556.
- ❖ **Nakagawa, Y. and Imai, H. (2000).** Novel functions of mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) as an anti-apoptotic factor. *Journal of Health Science*, **46(6)**: 414-417.
- ❖ **Nicholls, P.(2012).** Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics* ,**525**:95–101.
- ❖ **Nordberg, J. and Arner, E. S. J.(2001).** Reactive oxygen species, antioxidants, and mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, **31**:1287-1312.
- ❖ **Okado-Matsumoto, A. and Fridovich, I. (2002).** Amyotrophic lateral sclerosis: a proposed mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99(13)**: 9010-9014.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Pal, S., Dey, S. K. and Saha, C. (2014).** Inhibition of catalase by tea catechins in free and cellular state: a biophysical approach. *PloS one*, **9(7)**: 1-9.
- ❖ **Papageorgiou, V. P., Bakola-Christianopoulou, M. N., Apazidou, K. K. and Psarros, E. E. (1997).** Gas chromatographic–mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. *Journal of Chromatography*, **769(2)**: 263-273.
- ❖ **Petersen, S. V., Oury, T. D., Valnickova, Z., Thogersen, I. B., Hojrup, P., Crapo, J. D. and Enghild, J. J. (2003).** The dual nature of human extracellular superoxide dismutase: one sequence and two structures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100(24)**: 13875-13880.
- ❖ **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. and Defraigne, J. O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **16(4)** : 233-239.
- ❖ **Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N. and Defraigne, J. O. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **21(2)** : 66-75.
- ❖ **Puppo, A. and Halliwell, B.(1988).** Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron Is haemoglobin a biological Fenton reagent (Printed in Great Britain). *Biochemical Journal*, **249(1)**: 185-190.
- ❖ **Rajapoor, B., Burkan, Z. E. and Kumar, R. S.(2010).** Oxidants and human diseases: Role of oxidant medicinal plants. *Pharmacology on Line*, **1**:1117-1131.
- ❖ **Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J. L., Azib, L., Richard, T. and Atmani, D. (2015).** Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, **7(3)**:274-286.
- ❖ **Richard, M. J., Belleville, F., Chalas, J., Ceballos-Picot, I., Vitoux, D., Boyer, M. J. ... and Favier, A. (1997).** Les glutathion peroxydases: intérêt de leur dosage en biologie clinique. In *Annales de Biologie Clinique*, **55(3)** : 195-208.
- ❖ **Roberts, C. K. and Sindhu, K. K. (2009).** Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life sciences*, **84(21)**: 705-712.
- ❖ **Rochette, L. (2008).** Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, **(3)**:1-4.
- ❖ **Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutierrez, A. (2013).** A metabolite-profiling

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **77**:167-174.
- ❖ **Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N. and Tattini, M. (2002).** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, **13(2)**: 79-86.
  - ❖ **Samejima, T. and Yang, J. T. (1963).** Reconstitution of acid-denatured catalase. *Journal of Biological Chemistry*, **238(10)**:3256-3261.
  - ❖ **Schmidt, K. N., Amstad, P., Cerutti, P. and Baeuerle, P. A. (1995).** The roles of hydrogen peroxide and superoxide as messengers in the activation of transcription factor NF- $\kappa$ B. *Chemistry & Biology*, **2(1)**: 13-22.
  - ❖ **Sharma, O. P.(1976).** Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochem Pharmacol.* ,**25(15)**:1811-1812.
  - ❖ **Sharma, R. A., Gescher, A. J. and Steward, W. P. (2005).** Curcumin: The story so far. *European Journal of Cancer*, **41(13)**: 1955-1968.
  - ❖ **Shen, L. R., Parnell, L. D., Ordovas, J. M. and Lai, C. Q. (2013).** Curcumin and aging. *Biofactors*, **39(1)**: 133-140.
  - ❖ **Sofidiya, M. O., Odukoya, O. A., Familoni, O. B. and Inya-Agha, S. I. (2006).** Free radical scavenging activity of some Nigerian medicinal plants. *Planta Medica*, **72(11)**: 171.
  - ❖ **Sofowora, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Karthala Editions*. Paris,p:17.
  - ❖ **Spanou, C. I., Veskoukis, A. S., Stagos, D., Liadaki, K., Aligiannis, N., Angelis, A., ... and Kouretas, D. (2012).** Effects of Greek legume plant extracts on xanthine oxidase, catalase and superoxide dismutase activities. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **68(1)**: 37-45.
  - ❖ **Spiteller, G. (2006).** Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology and Medicine*. **41**: 362-387.
  - ❖ **Sreejayan, N. and Rao, M.N. (1996).** Free radical scavenging activity of curcuminoids. *Arzneimittel-Forschung*, **46(2)**:169–171.
  - ❖ **Stookey L. L. (1970).** Ferrozine- A new spectrophotometric reagent for iron. *Analytical Chemistry*, **42(7)**: 779-781.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ❖ **Tainer, J. A., Getzoff, E. D., Beem, K. M., Richardson, J. S. and Richardson, D. C. (1982).** Determination and analysis of the 2 Å structure of copper, zinc superoxide dismutase. *Journal of Molecular Biology*, **160(2)**: 181-217.
- ❖ **Tessier, F. and Marconnet, P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, **10(1)**: 1-13.
- ❖ **Triantafyllou, A., Chaviaras, N., Sergentanis F.N., Protapapa, E. and Tsaknis, J.(2007).** Chio mastic gum modulates serum biochemical parameters in human population. *Journal of Ethnopharmacology*, **111**: 43-49.
- ❖ **Vajragupta, O., Boonchoong, P., and Berliner, L. J. (2004).** Manganese complexes of curcumin analogues: evaluation of hydroxyl radical scavenging ability, superoxide dismutase activity and stability towards hydrolysis. *Free Radical Research*, **38(3)**: 303-314.
- ❖ **Valéry, A., Romuald, C., Dragoslav, M., Pascal, C. and Abderrahim, L.(2007).** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*, **74**:636–643.
- ❖ **Vivancos, P. D., Wolff, T., Markovic, J., Pallardó, F. V. and Foyer, C. H. (2010).** A nuclear glutathione cycle within the cell cycle. *Biochemical Journal*, **431(2)**: 169-178.
- ❖ **Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M. and Carrell, R. W. (1975).** The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **85(2)**: 337-341.
- ❖ **Yaaqobi, A., El-Hafid, L. and Haloui, B.(2009).** Etude biologique de *pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc. *Biomatec Ech*,**3(6)**:39-49.
- ❖ **Zàmocky, M. and Koller, F. (1999).** Understanding the structure and function of catalase: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*,**72**:19-66.

# Glossaire

- ❖ **Anacardiaceae:** est une famille de plantes dicotylédones. Selon Watson & Dallwitz, elle comprend environ 600 espèces réparties en 70 genres. Ce sont des arbres ou des arbustes des régions tempérées à tropicales.
- ❖ **Arthrite:** une inflammation douloureuse. On appelle arthrite toute affection inflammatoire, aiguë ou chronique, qui touche les articulations. Cette maladie inflammatoire présente tous les symptômes classiques de l'inflammation.
- ❖ **Cataracte:** est une affection de l'œil, et plus précisément du cristallin, sorte de lentille naturelle, transparente et souple. Le cristallin subit alors une opacification progressive qui entraîne une baisse de la vision et une gêne éprouvée face aux sources lumineuses.
- ❖ **Coumarines:** la coumarine est une substance naturelle organique aromatique connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyrane-2-one qui peut être considéré en première approximation comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique.
- ❖ **Cyclooxygénase:** la cyclo-oxygénase, qu'on désigne également par l'appellation COX, est une enzyme capable de convertir l'acide arachidonique, qui participe à la formation des membranes cellulaires, en prostaglandines H<sub>2</sub>, responsables de nombreuses fonctions physiologiques, notamment au niveau musculaire.
- ❖ **dioïques:** en botanique, les plantes dioïques ont des structures reproductrices mâles et femelles sur des plantes séparées. Le sens de mâle et femelle dans le contexte de plantes est différent de l'usage dans les groupes d'animaux.
- ❖ **Fluide cérébro-spinal:** le liquide cérébro-spinal (LCS), également dénommé liquide céphalo-rachidien, correspond au liquide dans lequel se trouvent la moëlle épinière et l'encéphale. Ce liquide protège le système nerveux central des infections et des éventuels chocs qui pourraient endommager le cerveau.
- ❖ **Hyperoxie:** consiste en une augmentation anormale de la concentration d'oxygène dans l'organisme, c'est-à-dire à plus de 21%. Une pression artérielle normale se situe entre 170 et 500 hPa (hectopascal). Dès qu'elle est supérieure à 500 hPa à l'inspiration, on peut parler d'hyperoxie. L'hyperoxie provoque des spasmes musculaires violents, puis des convulsions, et enfin une reprise progressive de la conscience.
- ❖ **Jaunisse:** est un symptôme de nombreux problèmes médicaux, mais elle est le plus souvent associée à des affections du foie ou de la vésicule biliaire. La jaunisse provoque une coloration jaune de la peau et des yeux par l'accumulation excessive d'un pigment biliaire, la *bilirubine*, dans la couche grasse sous-cutanée, du fait d'une production trop importante ou d'une élimination insuffisante par l'organisme.
- ❖ **Lipoxygénase:** est une variété d'enzyme (une protéine) capable d'entraîner l'oxydation des acides gras. Il existe plusieurs variétés de lipoxygénases, certaines étant

présentes dans des végétaux. Elles interviennent dans la formation des globules blancs qui sont impliqués dans certaines réactions allergiques violentes (anaphylaxie).

- ❖ **Liquide synovial:** ou synovie, correspond au liquide qui se trouve au niveau des espaces articulaires. A la fois transparent et visqueux, le liquide synovial ressemble à la texture du blanc d'œuf cru. Son principal rôle est d'assurer la lubrification des articulations. Il sert également à nourrir le cartilage.
- ❖ **Œdème pulmonaire:** l'œdème aigu du poumon est une affection pulmonaire, se caractérisant par la présence dans les alvéoles des poumons de liquide, plus précisément de transsudat séreux provenant des capillaires, c'est-à-dire des tous petits vaisseaux des poumons.
- ❖ **Phylogénétiques:** est un système de classification des êtres vivants, issu d'une école de taxonomie appelée le cladisme (ou encore systématique cladistique), qui a pour objectif de rendre compte des degrés de parenté entre les espèces.
- ❖ **Pro-oxydant:** est une substance qui déclenche un stress oxydatif par l'augmentation des radicaux libres, des molécules réactives connus pour endommager les cellules.
- ❖ **Protoporphyrines:** sont les précurseurs des porphyrines, protéines extrêmement répandues et nécessaires à un grand nombre d'espèces, jouant un rôle majeur de transport de l'oxygène dans le sang ou en matière de photosynthèse chez les plantes.
- ❖ **Sapindales:** sont un ordre de plantes dicotylédones. Fleurs principalement pentacycliques, elles sont caractérisées par deux verticilles d'étamines, et un disque nectarifère en position variable, d'où son ancienne classification dans les « Disciflores ».
- ❖ **Sclérophiles:** en parlant d'un végétal persistant, avec des feuilles relativement petites, coriaces et assez épaisses.
- ❖ **sclérose latérale amyotrophique:** est une maladie chronique du système nerveux central, à évolution progressive. Elle est due à l'atteinte des neurones moteurs du cerveau et de la moelle épinière, touchant ainsi la partie du système nerveux responsable du contrôle des muscles squelettiques.
- ❖ **Syndrome de détresse respiratoire aigu:** le (SDRA), appelé également œdème aigu du poumon non cardiogénique, poumon de choc, est une forme très sévère de défaillance pulmonaire aiguë, consécutive à une altération de la perméabilité capillaire, et entraînant l'apparition d'une hypoxémie sévère.

## Résumé

*Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) est une plante utilisée localement à des fins thérapeutiques. Le but de notre étude était d'examiner l'interaction enzymatique et l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante comparée avec la curcumine avec la catalase et la superoxyde dismutase.

L'activité de ces enzymes en présence de l'extrait éthanolique de *P.lentiscus* et la curcumine a été déterminée en mesurant le taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène par la catalase et la capacité de la SOD à inhiber la réduction du nitro-bleu tétrazolium (NBT) par l'anion superoxyde. Le dosage de l'activité de ces deux enzymes dans les feuilles fraîches, la poudre obtenue après le broyage et l'extrait éthanolique nous a permis d'estimer leur activité dans les différentes étapes de l'extraction. Cette étude a révélé que la curcumine a activé la catalase de façon maximale (21,21%) à 50µg/ml, ainsi que la SOD (39,14%) à 100µg/ml. Le dosage de l'activité de ces deux enzymes dans la curcumine suggère que cette dernière active la catalase en agissant sur le site actif de l'enzyme alors que l'activité observée pour la SOD est une combinaison des potentiels enzymatique et scavenging de l'anion superoxyde. Cependant l'extrait de *P. lentiscus* a inhibé la catalase de façon maximale (25,04%) à la concentration de 12,5µg/ml ainsi que la SOD aux concentrations à 12,5 et 25µg/ml (74,61 et 32,45% respectivement), impliquant un effet pro-oxydant. Le dosage de l'activité des deux enzymes dans les feuilles, la poudre et l'extrait a montré des activités non-dose-dépendantes due au fait que l'extrait est un mélange de composés différents.

**Mots clés:** *Pistacia lentiscus*, curcumine, catalase, superoxyde dismutase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

## Abstract

*Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) is a plant locally used for therapeutic purposes. The aim of this study was to examine the enzymatic interaction between the leaf ethanolic extract of this plant compared to curcumin with catalase and superoxide dismutase.

The activity of these enzymes in the presence of *P. lentiscus* and curcumin, was determined by measuring the composition rate of hydrohen peroxide by catalase and the capacity of superoxide dismutase to inhibit the reduction of nitro blue tetrazolium (NBT) by the superoxide anion. The measurement of the activity of these two enzymes in fresh leaves, the powder obtained after grinding and the ethanolic extract allowed us catalase to estimate their activities in the different steps of the extraction. This study has revealed that curcumin has activated catalase to a maximum of 21.21% at 50µg/ml, as well as SOD (39.14%) at 100µg/ml. The measurement of the activities of these two enzymes in curcumin suggests that it acts on the active site of catalase while the observed activity on SOD might be a combination of both enzymatic and scavenging potentials. However, *P. lentiscus* extract had inhibited catalase to a maximum of 25.04% at 12.5µg/ml while inhibiting SOD by 74.61 and 32.54% at 12.5 and 25µg/ml respectively, implicating a pro-oxidant effect. The measurement of the activities of the two enzymes in leaves, powder and extract has demonstrated non-dose dependant activities probably related to the fact that the extract is a mixture of many compounds.

**Key words:** *Pistacia lentiscus*, curcumin, catalase, superoxide dismutase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## ملخص

البطم العدسي (الدر، فصيلة البطمية) هو نبات يستخدم محليا لأغراض علاجية. الهدف من عملنا هو دراسة التفاعل الإنزيمي بين مستخلص الايثانول لأوراق هذا النبات مع إنزيم الكاتالاز والسوبر أكسيد ديسميوتاز (SOD).

تم تحديد نشاط هذه الإنزيمات في وجود مستخلص الإيثانول لأوراق الدر والكرمين عن طريق قياس معدل تحلل H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> من طرف الكاتالاز، وقدرة السوبر أكسيد ديسميوتاز على تثبيط إرجاع NBT من طرف السوبر أكسيد (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). تحديد نشاط هذه الإنزيمات في الأوراق الطازجة، في المسحوق وفي مستخلص الايثانول للدر وسمح لنا بتقدير مدى نشاطها في مختلف مراحل الاستخراج.

لقد أظهرت الدراسة أن الكركمين قامت بتنشيط إنزيم الكاتالاز لحد أقصى (21,21%) عند التركيز (50 ميكروغرام/مل) وحتى إنزيم السوبر أكسيد ديسميوتاز (39,14) (SOD %) عند التركيز 100 ميكروغرام/مل. فحص نشاط هذه الإنزيمات داخل مادة تفاعل الكركم (الكرمين) يشير إلى أن هذه الأخيرة قامت بتنشيط إنزيم الكاتالاز وذلك بتأثيره على مركز تفاعل هذا الإنزيم، في حين أن تنشيط السوبر أكسيد ديسميوتاز (SOD) الملاحظ كان بسبب تداخل الإمكانات الإنزيمية مع القدرة على تعديل السوبر أكسيد (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). مستخلص الدر قام بتثبيط إنزيم الكاتالاز لحد أقصى (25,04%) عند التركيز 12,5 ميكروغرام/مل كما قام بتثبيط إنزيم السوبر أكسيد ديسميوتاز (SOD) عند التركيز 12,5 و 25 ميكروغرام/مل (74,61% و 32,45% على التوالي) مما يدل على وجود تأثير الأكسدة. أظهر فحص نشاط هذين الإنزيمين في الأوراق الطازجة، المسحوق و مستخلص الايثانول للدر وسمح لنا بتقدير مدى نشاطها في مختلف مراحل الاستخراج. ذلك إلى حقيقة أن المستخلص هو خليط من مركبات مختلفة.

**كلمات المفتاح:** البطم العدسي، كركمين، الكاتالاز، السوبر أكسيد ديسميوتاز، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>