

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES SCIENCES DEL'ENVIRONNEMENT

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences nature et de vie (S.N.V)

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des plantes

Intitulé du thème :

**Activité antioxydant d'extrait de polyphénols du pistachier
lentisque (*Pistacia lentiscus L.*)**

Présenté par : MelleNaar Nabaouia

MelleChellali Nour Elhouda

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Présidente de jury : Mme Toumi F. (Professeur à l'université Djilali Liabès, Sidi Bel Abbès)

Examineur : Mme boudouya.(M.C.A à l'université Djilali Liabès, Sidi Bel Abbès)

Promoteur:MmeBELABBAS M.(M.A.A. à l'université Djilali Liabès, Sidi Bel Abbès)

Co-Promoteur : Mme BELAHCEN N. (Maitre de recherche à INRAA de Sidi Bel Abbès)

Année universitaire : 2019 -2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

Avec l'aide de Dieu tout puissant, on a pu achever ce travail que je dédie :

A la personne importante de ma vie dont l'affection, l'amour et les conseils m'ont toujours aidé et qui a sacrifié sa vie pour mon éducation ma mère : Mohamed B Fatima

A l'autre personne qui m'a toujours servi de modèle dans la vie, en témoignage de l'amour, du respect et de la gratitude que je lui porte et j'espère que par ce travail je pourrai l'honorer mon père : Naar Djillali

A mon cher mari : Nigar Mohamed : tes sacrifices et ton soutien moral m'ont permis de réussir mes études .

A mon frère et le deuxième père: «Mohamed» dont leur fraternité m'a toujours aidée.

A mon frère Ahmed

A ma belle-mère Yamina

A mes sœurs adorées : «Ikrame, Chaymae, fatima, assia et amina» dont leurs amitiés et complicités m'ont toujours servi

A tous les petits poussins : Abed El Hadi, Mounir, Amir, Iyad, Malek, Meriam, Anfel

A tous mes collègues qui ont partagé avec moi les plus belles années à l'université et exceptionnellement et a toute ma promotion 2019-2020.

N.N .NABAOUIA

DEDICACE

*Je dédie ce travail tout d'abord à ma chère mère bellouti fatna.
Merci de m'avoir soutenu tant moralement que matériellement
pour que je puisse attendre mon but, et de vos prières pour moi.*

*A mon cher père chellali djelloul khaled qui ont toujours
souhaité notre réussite et qui m'ont permis d'atteindre mes
objectifs dans mes études et dans ma vie.*

A l'esprit De Mes Belles Sœurs: Amina Chaïmae et Romaiïssa

A Mon PETIT frère Mohammed abd el hakim

A Toute Famille chellali

*A ma grand mère younes zineb, ma sœur bellouti farida et ses
enfants khadidja alae zineb tasnime et mounib*

A mes cousins youcef et ismail.

A ma belle famille B N

*A Mes Amies hajira hiba noria Que j'ai Vécus Avec Elles Des Beaux
Moments Au Cours De Mon Cursus A l'université*

*A Tous Mes Amies De La Promotion De Master En Biotechnologie et
valorisation des plantes*

*A Tous Ceux Qui Ont Pris Place Dans Mon Cœur Et A Tous Ceux Qui
m'ont Aidé De Près Ou De Loïn.*

NOUR EL HOUDA



Remerciement

AVANT TOUT, NOS REMERCIEMENTS INFINIS SONT ADRESSÉS À « DIEU LE TOUT PUISSANT » DE NOUS AVOIR DONNÉES LE COURAGE ET LA SANTÉ POUR ACHÉVER CE TRAVAIL.

NOUS TENONS TOUT D'ABORD À REMERCIER NOTRE PROMOTRICE : **MME .BELABBAS. M**

ENSEIGNANTE À LA FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE L'UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBÈS. D'AVOIR PROPOSÉ ET DIRIGÉ CE TRAVAIL, ON LA REMERCIE INFINIMENT POUR SES CONSEILS JUDICIEUX ET SON ATTENTION QU'ELLE A APPORTÉ, POUR L'AMBIANCE SYMPATHIQUE QU'ELLE A CRÉÉ ET POUR SON SUIVI REGULIER À L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL.

NOUS TENONS REMERCIER **MME BELAHCEN** QUI NOUS A AIDÉ DURANT NOTRE PARTIE EXPÉRIMENTALE.

C'EST AVEC UN GRAND PLAISIR QUE J'ADRESSE MES VIFS REMERCIEMENTS À **PROFESSEUR TOUMI F.** POUR L'HONNEUR QU'ELLE NOUS A FAIT EN ACCEPTANT DE PRÉSIDER LE JURY DE NOTRE SOUTENANCE.

MES VIFS REMERCIEMENTS VONT ÉGALEMENT À **MME BOUDOUAY A** FAIT L'HONNEUR D'EXAMINER CE TRAVAIL. NOUS LUI EXPRIMONS NOS SINCÈRES REMERCIEMENTS ET NOTRE PROFONDE GRATITUDE.

NOTRE PROFONDE GRATITUDE VA AUSSI À TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE DE L'INRAA DE SIDI BEL ABBÈS.

ENFIN À TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUÉ DE PRÈS OU DE LOIN À L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL.

Résumé

Pistacia lentiscus L. est une espèce végétale abondante dans toute la région méditerranéenne, notamment en Algérie. Cet arbrisseau est une espèce médicinale qui connaît une vaste utilisation en pharmacologie et en industrie justifiée par sa richesse en composants bioactifs.

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence la richesse de *Pistacia lentiscus L.* en composés phénoliques et l'évaluation de leur pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical libre DPPH

Les méthodes de dosage colorimétrique des composés phénoliques ont révélées une teneur de notre extrait en polyphénols totaux de 3,189 mg EAG/ g MF et une teneur en flavonoïdes de 1,917 mg EQ/g MF. L'extrait a montré une bonne activité antioxydant avec une réduction du radical DPPH supérieure à 1.29 mg/l à la concentration de 1 mg.mL⁻¹

Mots clés : *Pistacia lentiscus L.*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydant.

Abstract

Pistacialentiscus L. is an abundant plant species throughout the Mediterranean region, especially in Algeria. This shrub is a medicinal species which was widely used in pharmacology and industry justified by its richness in bioactive components.

The objective of this study is to highlight the richness of *Pistacialentiscus L.* in phenolic compounds and the evaluation of their antioxidant power by the method of trapping the free radical DPPH

The methods of colorimetric determination of phenolic compounds revealed a content of our extract in total polyphenols of 3,189 mg EAG/ g MF and a content of flavonoids 1,917 mg EQ/g MF. The extract showed good antioxidant activity with a reduction of the DPPH radical greater than 1,29mg/l at the concentration of 1 mg.mL⁻¹

Key words: *Pistacialentiscus L.*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.

الخلاصة

الضرو هو نوع من النباتات الوفيرة المتواجدة في جميع أنحاء منطقة البحر الأبيض المتوسط، وخاصة في الجزائر. هذه الشجيرة هي احد النباتات الطبية التي تم استخدامها على نطاق واسع في علم الأدوية والصناعة وهذا ما يبرره تراء هذه النبتة بالمكونات النشطة بيولوجيا. الهدف من هذه الدراسة هو إثبات ثراء هذه النبتة بالمركبات الفينولية وقدرتها المضادة للأكسدة عن طريق الجذور الحرة الراديكالية DPPH المركبات الفينولية وتقييم قوتها المضادة للأكسدة بطريقة الالتقاط.

كشفت طريقة الجرعات اللونية للمركبات الفينولية احتواء المستخلص على البوليفينول الإجمالي قدرت نسبته بـ 3.189 ملغ MF/g EAG ونسبة من الفلافونويد قدرت بـ 1.917 ملغ MF/g EQ، اظهر المستخلص نسبة جيدة لمضادات الأكسدة مع انخفاض للجذور الحرة أعلى من 1.29 مجم / لتر بتركيز 1 ملغ.مل⁻¹

الكلمات المفتاحية: الضرو، نشاط المضاد للأكسدة، بوليفينول، فلافونويد.

Liste des matières

Table des matières

Dédicace

Remerciements

Résumé

Table des matière

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction01

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Présentation du Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus L*) 03

I.1.Généralités sur le *Pistacia lentiscus L* 04

I.2. Etude botanique du *Pistacia lentiscus L*..... 04

I.3. Systématique du pistachier lentisque..... 08

I.4.Noms vernaculaire de l'espèce08

I.5. Exigences écologiques du pistachier lentisque09

I.6. effets thérapeutiques du *Pistacia lentiscus L*09

II. Les polyphénols

II.1. Différents types de polyphénols12

II.2 Intérêts santé des polyphénols15

1) Propriétés antioxydants15

2) Propriétés antimicrobiennes16

3) Polyphénols et maladies cardiovasculaires16

4) Polyphénols et cancer17

III. les antioxydants et antioxydants

III.1. radicaux libres18

III.2.Le stress oxydatif18

III.3Les antioxydants19

III.4. Les effets des antioxydants sur la santé	19
---	----

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

I. Matériel	21
II Méthodes	21
II.1. Extraction des polyphénols de lentisque	23
II.2. Le rendement de l'extraction	23
II.3. Dosage des polyphénols totaux	23
II.4. Dosage des flavonoïdes totaux	25
II.5. Détermination du potentiel antioxydant par le test de réduction du radical stable DPPH	25

Chapitre 3 Résultats et Discussion

I Résultats et discussion	28
I.1. Rendement de l'extraction	28
I.2. Dosage des polyphénols totaux	28
I.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes	29
I.4. Détermination du potentiel antioxydant par le test de réduction du radical stable DPPH.....	29
CONCLUSION	31
Références bibliographiques	33

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification taxonomique	07
02	Noms vernaculaires de Pistacia lentiscus	07
03	Les différentes méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant (Salah et al., 1995)	19

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Arbuste de pistachier lentisque(Julve, 1998)	04
02	représente la résine du tronc de pistachier lentisque(Tela Botanica, 2011)	04
03	Feuille, fleur, graine du Pistacia lentiscus (Tela Botanica, 2011)	05
04	représente les fruits de l'arbre à Mastique	06
05	représente la résine du tronc de pistachier lentisque	06
06	Fruits de pistachier lentisque (Bensalem, 2015)	06
07	Les principales classes de composés phénoliques (Ferrazzano et al. 2011)	12
08	Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants (Stocletet Schini-Kerth, 2011)	14
09	Polyphénols à effets santé	15
10	Principales étapes du protocole expérimental	22
11	courbe d'étalonnage d'acide gallique	25
12	courbe d'étalonnage de la quercétine	26
13	pourcentage d'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'acide ascorbique ; et extrait phénolique du pistachier lentisque	30

Liste des Abréviations

EAG: Equivalent en acide gallic

EP: Extrait phénolique

EQ: Equivalent en quercetin

DPPH: diphényle picryl-hydrazyle

Introduction

Introduction

Introduction

Au cours des dernières années, beaucoup de recherches ont été menées sur les substances naturelles en vue d'exploiter leurs propriétés biologiques dans des domaines divers tels que l'industrie pharmaceutique, agro-alimentaire ou encore cosmétique. Ces efforts de recherche ont été déployés pour répondre à la méfiance, de plus en plus grandissante, des consommateurs vis-à-vis des molécules de synthèse chimique utilisées à l'échelle industrielle par les acteurs de ces filières.

Les plantes constituent une source très riche en molécules bioactives dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Parmi ces substances naturelles, les métabolites secondaires comme les composés phénoliques, les alcaloïdes et les caroténoïdes sont connus pour leurs bienfaits sur la santé.

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité: on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles, les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale (**Rahali et Oukazi,2016**).

Le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiaceae, c'est une espèce médicinale qui se développe sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride. La vaste utilisation de cette plante de la pharmacopée arabe et européenne depuis les anciens temps en médecine traditionnelle (soigner quelques irritations de la peau, la chute de cheveux et certains malaises gastriques) est justifiée par sa richesse en composants chimiques ayant une odeur aromatique telle que les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins et les phénols(**Hamlat et Hassani, 2008**).

L'objectif de notre étude est d'estimer la teneur des composés phénoliques et des flavonoïdes dans l'extrait de feuille du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) et d'évaluer son activité antioxydant en utilisant le test DPPH

Ce travail est subdivisé en trois chapitres:

- Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique.
- Le deuxième chapitre décrit les techniques expérimentales utilisées au cours de ce travail.
- Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus et leur discussion.

Chapitre 1

Synthèse

bibliographique

I. Présentation du Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus L*)

I.1. Généralité sur le *Pistacia lentiscus L*

Le pistachier lentisque est aussi appelé, le lentisque ou arbre à mastic, en arabe locale «Derou» ou «Tadist». Le *Pistacia lentiscus L.* est un Arbuste dioïque, vivace, appartenant à la famille des Anacardiaceae qui regroupe 82 genres et plus de 700 espèces. D'après la littérature, parmi les genres les plus connues, le genre *Pistacia* qui est parfois considéré comme une famille à part. Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* sont:

Pistacia atlantica

Pistacia chinensis

Pistacia lentiscus L - Pistachier lentisque.

Pistacia Palaestina - térébinthe de Palestine

Pistacia terebinthus L - Pistachier térébinthe

Pistacia Vera L - Pistachier vrai (qui donne les pistaches)

Pistacia Vulgaris - Pistachier Vulgaris

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Quezel et Santa, 1962).

I.2. Etude botanique du *Pistacia lentiscus L.*

Pistacia lentiscus est un arbuste ou arbrisseau vivace ramifié (**Figure 1**), à petites feuilles elliptiques, coriaces et persistantes, à fleurs rougeâtres en grappes et à fruits ronds rouges qui noircissent en murissant est toujours verts, dioïque (Julve, 1998) (**Figure 3**). Le tronc étant court, a une hauteur de 1 à 3 mètres et dégage une odeur résineuse très prononcée. Il peut cependant atteindre la taille d'un arbre lorsqu'il est dans des sites humides et protégés (Munne-Bosch et Peñuelas, 2003).



Figure 1: Arbuste de pistachier lentisque (Julve, 1998).

L'écorce est résineuse, d'un brun rougeâtre lisse sur les jeunes branches virant au gris avec le temps. Le bois est blanc, puis jaune, puis rosé et parfois veiné de jaune. Les branches tortueuses et pressées, forment une masse serrée. Racines gagnant les couches profondes du sol.

La résine ou « mastic » est obtenu, en été, par l'incision répétée des tiges. La production peut, de cette façon, atteindre 4 à 5 kg par arbre de couleur jaune claire, irritante, ce produit résineux transparent émet une odeur balsamique relativement forte (Figure 2).



Figure 02 : représente la résine du tronc de pistachier lentisque (Tela Botanica, 2011)

Les feuilles ont une durée de vie de 2 ans (Ain-lhout et al., 2004) à rachis ailé, paripennées, composées de 2-3 paires de folioles coriaces, vert sombre qui sont largement

lancéolées, obtuses au sommet, brillantes eu dessus et de taille allant de 1.5- 3 cm. Ces feuilles persistent pendant l'hiver et qui rougit sous l'effet de la chaleur(**Figure 4**).

L'inflorescence est en grappes spiciforme, rameuses, denses et courtes ; leur longueur égale au plus la longueur d'une foliole ; elles apparaissent seules ou par deux à l'aisselle d'une feuille.

La fleur est unisexuée et sans pétales, petites, se montrent d'avril à juin et elles sont disposées en épis. Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents ; Les fleurs femelles sont de couleur vert jaune et les fleurs mâles sont rouge foncé (**Figure 5**).

D'après Somson (1987), la plante est dioïque :

- La fleur femelle ♀: à un calice comportant 3 ou 4 lobes et un 1 ovaire de 3 carpelles concrescents et 3 stigmates arqués en dehors.
- La fleur mâle ♂: à un calice comportant 5 sépales au fond duquel sont insérées 5 étamines, à filets courts soudés à la base et anthères rouges, tétragones.
- Le fruit est petit et globuleux ; c'est une drupe rouge, puis noire à maturité (**Figure 6**), mûrissent en novembre, comestible, arrondie, d'environ cinq millimètres qui renferme un seul noyau à une seule graine (**Ait Youssef, 2006**) les fruits du pistachier lentisque sont utilisés pour l'extraction d'une huile très recherchée comme médicament contre diverses maladies (**Abdelguerfi, 2003**) et utilisée dans le traitement de la gale, des rhumatismes et de la diarrhée (**El Hamrouni, 2001**).



Figure 3 : Feuille, fleur, graine du *Pistacia lentiscus* (Tela Botanica, 2011).



Figure 4 : Feuilles de pistachier lentisque (Bensalem G.,2015).

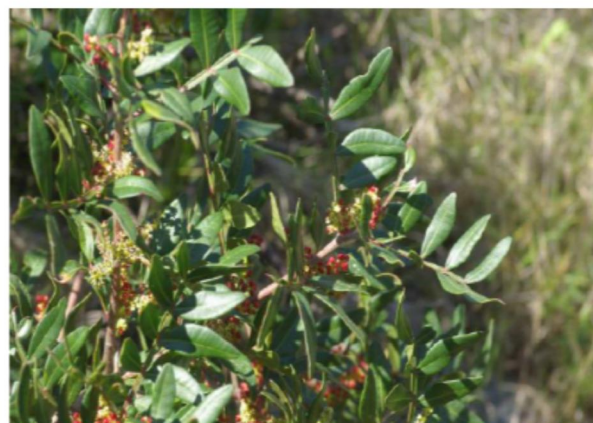


Figure 5 : Fleurs femelle à gauche et fleur mâle à droite de pistachier lentisque (Bensalem,2015).



Figure 6 : Fruits de pistachier lentisque (Bensalem,2015).

La phénologie au lentisque a fait objet d'étude par Castro-Diez et Montserrat-Marti, 1998 ;Martinez-Palle et Arone, 2000. Contrairement aux arbres femelles qui continuent à développer leur fruit durant la période hivernale, les arbres mâles en finissent précocement leur cycle phénologique, ont tout le temps pour durcir leurs tissus ce qui les rend à l'abri des premières gelées automnales.

I.3.Systématique du pistachier lentisque

Le nom pistachier vient du grec *pistakê*. Le nom lentisque vient du latin *lentus*(visqueux).La position systématique de *Pistacia lentiscus L.* est présentée dans le tableau 1

Tableau 1 :Classification taxonomique (DJEDAIA ,2017)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous-embranchement	<i>Angiosperme</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus L.</i>

I.4.Noms vernaculaire de l'espèce

Tableau 02 : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus L* (tela-botanica.2011)

Langues	Noms
Arabe	Edharw, Sareys
Français	Arbre au mastic, Pistachier lentisque, Restringer, Lentisque d'Espagne
Anglais	Mastic ou mastick tree

Espagnol	Lentisco, charneca comun
Allemand	Mastix baum
Italien	Lentischio, sondrio

I.5. Exigences écologiques du pistachier lentisque

Le pistachier lentisque situé dans une ambiance climatique subhumide, semi-aride et chaud. Dans les zones humides, cette espèce est plus abondante dans les plaines que sur les hauteurs, contrairement aux zones semi-arides où elle pousse plutôt sur les hauteurs. Dans des régions arides avec un climat sec, elle devient rare excepté dans certaines régions, où sont présents certains facteurs compensateurs (morceau temporairement humide, substratum argileux ou limon argileux). Pistachier lentisque est un arbrisseau qui préfère les sols siliceux et sec, il se développe sur des sols calcaires une plante considérée comme thermophile et xérophile. C'est une espèce indifférente aux propriétés physico-chimiques du sol mais préfère des sols à faible concentration en phosphore et potassium conjugués avec des concentrations différentes en carbonates de calcium et en azote (**Dogan et al.2003**). De part son houppier composé de branches imbriquées et dense, le lentisque assure la protection du sol et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques (**Diaz Barradas et Correia, 1999**).

Pistacia lentiscus Lest l'une des espèces rejetant des souches; c'est une espèce très inflammable et très combustible, et donc très vulnérable aux incendies. Ce taxon est caractérisé par une forte sélection écologique et donc un bon ajustement au stress hydrique estival pouvant durer de 1 à 6 mois. Cette adaptation s'associe à des possibilités d'installation et de maintien sur tous les types de sols. C'est une espèce indifférente aux variations du milieu ; sa dispersion indique son adaptation optimale aux conditions globales qu'offre son milieu environnant (**benmehdi, 2003**).

A l'étage thermo-méditerranéen (0 et 500-600 m), et en bioclimat humide et essentiellement Sub-humide, les structures dominantes sont constituées, sur calcaires surtout, par les brousses à Olivier, Caroubier et Lentisque (**Quezel, 2000**).

Selon Saadoun (2002). L'étude phytodermologique de *Pistacia lentiscus* L nous a permis de noter l'adaptation de cette espèce au manque d'eau par: une absence totale de stomates au niveau de la face supérieure des feuilles ; et la présence des stomates au niveau de la face inférieure de la feuille.

Son système racinaire est puissant et bien développé, s'accrochant sur les pentes rudes et lesterrains rocheux, c'est un couvre sol idéal.

I.6. effets thérapeutiques du *Pistacia lentiscus L.*

Le lentisque est un arbre aux usages multiples : s'il est essentiellement exploité pour la Résine qu'il secrète dans ses tiges, on se sert également de ses feuilles, de son bois et de ses fruits pour des usages alimentaires, domestiques ou médicaux. Quant aux racines, elles seraient capables d'émettre, lorsqu'elles sont vieilles, une certaine luminescence (**Rivera-Nuñez et Obón De Castro, 1991**).

La résine a été utilisée en Europe, au début du siècle, en médecine (comme anti diarrhéique pour les enfants, comme antiscorbutique ainsi que sous forme de cataplasme ou pour faire des fumigations), en dentisterie (pour l'occlusion des dents cariées) et pour la fabrication de vernis et de colles (**Dorvault, 1928**). Elle a été employée dans l'Antiquité comme cosmétique (**Hepper, 1990**).

En Afrique du Nord (Maroc) cette résine servait de parfum. En Orient, la résine est traditionnellement utilisée comme masticatoire parfumé pour protéger les gencives et rafraîchir l'haleine. Cette résine est connue par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithrombotique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (**Abdel Rahman et Soad, 1975 ; Magiatis et al. 1999 ; Dedoussis et al. 2004**), Par conséquent, cliniquement, le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, diarrhée, infections bactériennes, ulcères gastroduodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (**Baryton, 1984 ; Huez et Al-Haba, 1986 ; Al-Qaïda et al. 1986 ; Tuzla et al. 2001 ; Maronne et al. 2001**).

Dans le sud de l'Espagne, des branches de lentisque étaient mises dans l'eau et puis désinfectées par la chaux pour enlever le mauvais goût résultant de ce traitement. Les feuilles sont réputées posséder un pouvoir antiparasitaire : On en mettait dans des tas de blé ou d'orge pour éloigner les charançons et les teignes ; on en faisait également des infusions pour lutter contre les puces. En Afrique du Nord, cette infusion était utilisée pour chasser la mauvaise haleine ainsi que l'odeur de sueur. En Libye, les feuilles, riches en tannins, étaient utilisées pour le tannage (**Rivera-Nuñez et Obón De Castro, 1991**). Elles sont également utilisées, associées ou non aux galls qui se développent parfois dessus, pour teindre en noir la laine des

tapis (Macédoine, Tunisie, Maroc et Anatolie) (**Cardon et Chatenet, 1990**). Elles étaient également employées en Algérie pour la teinture en noir (**Boukef, 1986**).

Les feuilles sont toujours employées au Maroc sous forme de décocté comme diurétique et emménagogue, et sous forme de décocté ou réduites en poudre pour traiter les maladies ventre et de l'intestin (**Bellakhdar, 1997**).

En Tunisie, en usage interne sous forme de décocté, elles sont utilisées pour calmer les douleurs gastriques ou directement consommées pour apaiser le pyrosis (reflux du liquide acide gastrique de l'estomac vers l'oesophage) ; elles sont mastiquées pour combattre l'hypertension artérielle.

Les feuilles disposent d'une action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (**Villar et al. 1987; Magiatis et al. 1999; Paraschos et al. 2007; Janakat et Al-Meir, 2002; Kordali et al. 2003**).

Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires (**Villar et al. 1987 ; Ali-Shtayeh et al. 1999 ; Ali-Shtayeh et al. 2000 ; Lev et Amar, 2000 ; Lev et Amar, 2002 ; Said et al. 2002**).

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (**Ouelmouhoub, 2005**).

Le bois particulièrement dur de cet arbuste est utilisé en menuiserie et en ébénisterie mais il sert également comme bois de chauffage (**Bonnier et Douin, 1934**) ; il fournit d'ailleurs un excellent charbon. Ses cendres ont également été utilisées comme savon (**Rivera-Nuñez et Obón De Castro, 1991**).

Les fruits peuvent être consommés crus mais on les emploie plutôt sous forme de préparations alimentaires. Dans les pays arabes ; ils servent à confectionner une confiserie appelée *masticha* ainsi qu'une liqueur connue sous le nom de *mastiche*. En Espagne du sud, les baies étaient utilisées à l'état frais pour blanchir les dents, en revanche, elles produisent une encre indélébile lorsqu'elles sont cuites avec de l'alun (**Rivera-Nuñez et Obón De Castro, 1991**). Les baies sont essentiellement utilisées pour extraire une huile de couleur verte.

Les fruits non comestibles fournissaient une huile claire pouvant servir à l'éclairage ; ses fruits sont consommés en Tunisie pour apaiser le pyrosis (**Boukef, 1986**).

II. Les polyphénols

Les plantes sont connues pour produire un grand nombre de composés à faible poids moléculaire dont la structure ne fut que récemment déterminée ; et ceci malgré leur exploitation et leur utilisation ancestrale, comme médicaments ou aliments (**Garcia-Pérez, 2008**).

Parmi ces molécules, les polyphénols qui sont un groupe de composés phytochimiques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les produits naturels (**Vauzour, 2014**).

L'expression « composés phénoliques » est utilisée pour toute substance chimique possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles ($-OH$) (**Bloor, 2001, Bennetau-Pelissero, 2014**).

II.1. Différents types de polyphénols

Il existe plus de 8000 composés phénoliques classés en plusieurs classes dont les plus représentatives sont celles des acides phénoliques et des flavonoïdes (fig.6) (**Robardet *al.* 1999**).

1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques les plus courants ne sont pas présents dans les plantes à l'état libre, mais plutôt sous forme d'esters de glucose, d'acide tartrique ou d'acide qu'inique (**Herrmann, 1989 ; Vauzour, 2014**). L'acide caféique est l'acide phénolique le plus abondant et existe principalement sous forme d'ester quinique (e.g. acide chlorogénique) que l'on retrouve principalement dans les myrtilles, les kiwis, les prunes, les pommes et le café (**Macheix et Fleuriet, 1998; Manach et *al.* 2004; Grigoras, 2012; Vauzour, 2014**).

2. Les stilbènes

Les stilbènes sont synthétisés par l'addition de 1 à 3 molécules de malonyl-CoA aux acides cinnamiques, qui dérivent de la voie de biosynthèse des phénylpropanes. La forme monomère stilbène est, par définition, le 1,2-diphényléthène. Les stilbènes, quant à eux, représentent les dérivés hydroxylés ou autres du stilbène et sont fréquemment retrouvés dans les plantes. Le regroupement des stilbènes avec les bibenzyles, qui ont aussi un squelette C6-C2-C6, forme la famille des stilbénoides (**Shibutani et *al.* 2004; Stevanovic et Perrin, 2009; Vauzour, 2014**).

3. Les lignanes

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base lebenzo-2 pyrone. Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes.

Dans les plantes, on les rencontre chez les Apiacées, les Astéracées, les Fabacées, les Rosacées, les Rubiacées, les Rutacées et les Solanacées. Du point de vue structural, ils sont classés en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, furanocoumarines, pyranocoumarines, et en coumarines substitués en position 3 et/ou 4. Le dernier groupe serait celui des dimères (Sakagami et al. 2005 ; Muanda, 2010).

5. Les tanins

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leur structure chimique est, en effet, variable, et ils sont rassemblés en famille en fonction d'activités communes. De ce fait, toute classification chimique des tanins est forcément arbitraire (Nkhili, 2009). Cependant, on se réfère souvent à une distinction entre tanins hydrolysables et tanins condensés.

- Tanins hydrolysables : ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifiée par l'acide gallique ou l'un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

- Tanins condensés : ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de « tanins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides.

6. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés polyphénoliques les plus abondants contenus dans les végétaux. Leur structure comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (A et B) porteurs de plusieurs fonctions phénol et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone ; ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène (Stoclet et Schini-Kerth, 2011).

Il existe dans les aliments plusieurs centaines de polyphénols (plus de 500 y ont été caractérisés aujourd'hui), principalement des flavonoïdes (Scalbert et Williamson, 2000 ; Manach et al. 2004 ; Stoclet et Schini-Kerth, 2011). Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à

l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes. Dans les aliments, ils sont souvent présents sous forme d'hétérosides (**Guignard, 1996**).

Selon le nombre, la position et la nature des substituants des deux cycles aromatiques et du degré d'oxydation et de substitution de la position 3 du cycle C, on distingue six sous-groupes de flavonoïdes (**figure 8**) :

- Les flavonols (par ex. kaempférol, quercétine), qui sont abondants dans les oignons, les poireaux et le brocoli.
- Les flavones (par ex. apigénine, lutéoline), qui sont retrouvés dans le persil et le céleri.
- Les isoflavones (par ex. daidzéine, génistéine), majoritaires dans les produits issus du soja.
- Les flavanones (par ex. hespérétine, naringénine), qui sont particulièrement abondants dans les agrumes et les tomates.
- Les flavanols (par ex. (+)-catéchine, (-)-épicatéchin, épigallocatechine, épigallocatechine gallate (EGCG), qui sont retrouvés dans le thé vert, le vin rouge, le chocolat.
- Les anthocyanes (par ex. pélagonidine, cyanidine, malvidine), dont les sources incluent le vin rouge et les baies.

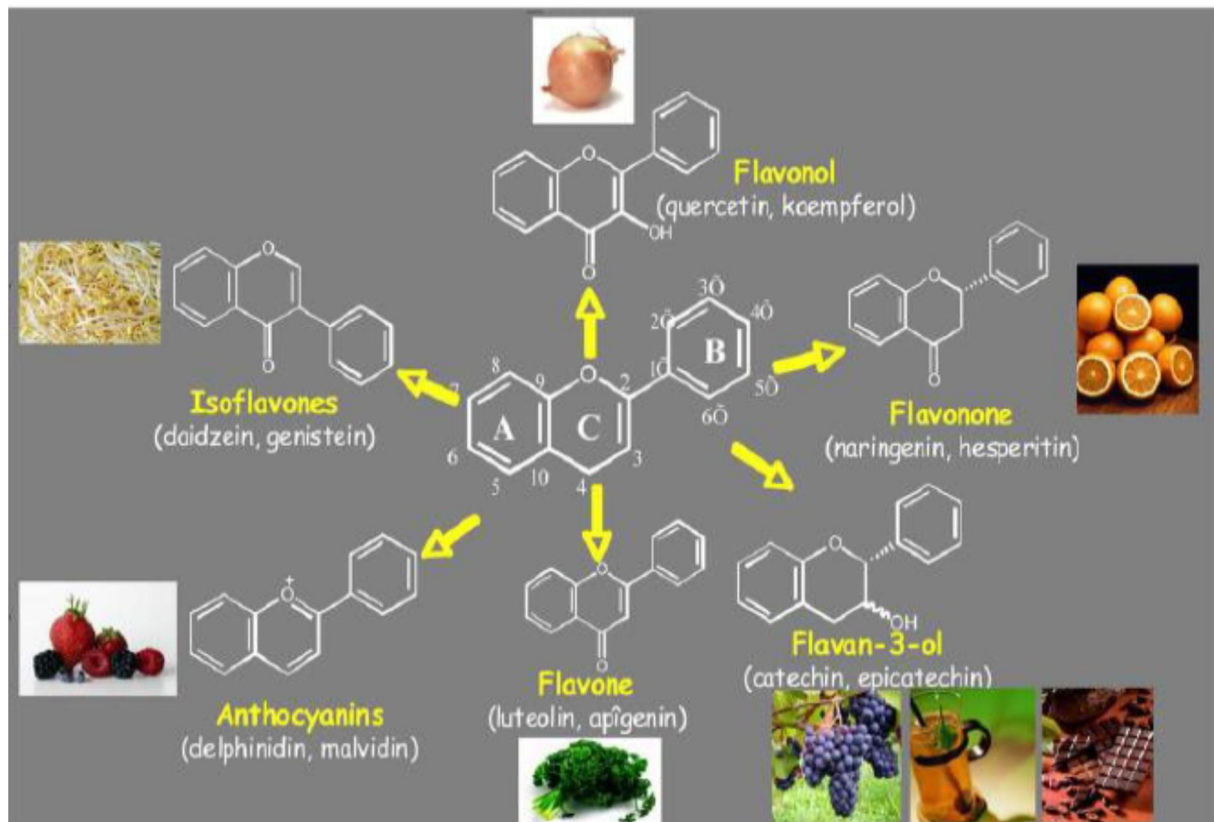


Figure 8 : Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants (**Stoclet et Schini-Kerth, 2011**).

II.2 Intérêts santé des polyphénols

Les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines thérapeutiques et pharmaceutiques (figure 9).

II.2.1. Propriétés antioxydantes

Historiquement, les actions biologiques des polyphénols ont été attribuées à leurs propriétés antioxydantes, que ce soit par leur capacité réductrice intrinsèque ou par leur influence sur le statut redox intracellulaire (Visioli *et al.* 1998 ; Halliwell, 2006). Les polyphénols, et, en particulier, les flavonoïdes sont d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène ($O_2\cdot$, $HO\cdot$, $NO\cdot$, H_2O_2 , $HOCl$, $RO\cdot$ et $ROO\cdot$) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN). Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (Quideau *et al.*, 2011).

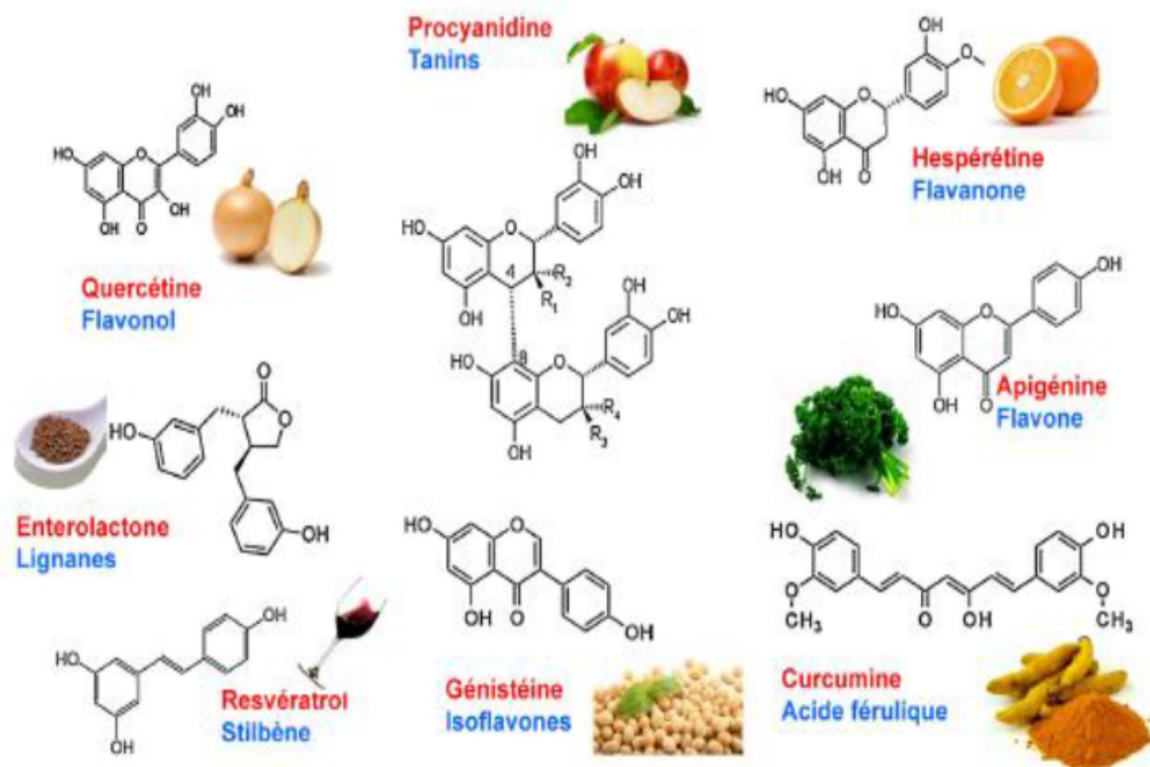


Figure 09 : Polyphénols à effets santé. **Quercétine** : anti-inflammatoire ; **procyanidine** : vasculoprotectrice; **hespérétine** : neuroprotectrice et vasculo-protectrice ; **entérolactone** : vasculo-protecteur et protecteur osseux ; **resvérol** : anticancéreux ; **génistéine** : anti-

bouffées de chaleur et protectrice osseuse ; **curcumine** : anticancéreuse (**Bennetau-Pelissero, 2014**).

II.2.2. Propriétés antimicrobiennes

La figure 12 représente les différentes classes des polyphénols à activité antimicrobienne. Les propriétés antimicrobiennes de certaines classes de polyphénols ont été proposées soit pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires naturels (**Rodriguez Vaquero et al. 2010**), soit pour la mise au point de thérapies innovantes en matière de traitement de diverses infections microbiennes (**Daglia, 2012 ; Kortei et al. 2014**).

II.2.3. Polyphénols et maladies cardiovasculaires

De nombreuses études épidémiologiques (**Lijima et al. 2000 ; Orallo et al. 2001 ; Lee et al. 2003 ; Schroeter et al. 2005 ; Perez-Vizcaino et al. 2006 ; Auger et Schini-Kerth, 2014**) ont montré qu'il existait une association inverse entre la morbi-mortalité cardiovasculaire et la consommation de produits riches en polyphénols tels que les fruits, les légumes, le vin rouge, le cacao et le thé.

L'effet bénéfique des polyphénols sur la santé cardiovasculaire a été attribué en partie à leur effet direct sur les vaisseaux sanguins et plus particulièrement sur l'endothélium. En effet, des études expérimentales et cliniques ont révélé que les polyphénols sont capables d'augmenter la formation endothéliale de facteurs vasoprotecteurs comme le monoxyde d'azote (NO), un puissant vasodilatateur et un inhibiteur de réponses pro-inflammatoires et pro-thrombotiques, et d'améliorer la dysfonction endothéliale et le stress oxydant vasculaire qui contribuent au développement des pathologies cardiovasculaires majeures comme l'hypertension artérielle (**Auger et Schini-Kerth, 2014**).

II.2.4. Polyphénols et cancer

Plusieurs études menées *in vitro* sur des lignées de cellules cancéreuses (**Yang et al. 2010 ; Tabaczar et al. 2014 ; Pan et al. 2015 ; Pavan et al. 2015**) ou *in vivo* à l'aide de modèles animaux (**Lee et al. 2006 ; Alonso-Castro et al. 2013 ; Thangavel et Vaiyapuri, 2013**) ont rapporté que les composés phénoliques possèdent une activité anti-carcinogène.

Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon (**Duthie, 2000 ; Nkhili, 2009**).

Plusieurs mécanismes d'action ont été identifiés : activité pro- ou anti oestrogénique, effets antiprolifératifs, induction de l'arrêt du cycle cellulaire ou de l'apoptose, prévention de l'oxydation, activité anti-inflammatoire, modification de la signalisation cellulaire (**Garcia La fuente et al. 2009**). Les études *in vitro* (**Lee et al. 2006 ; Chen et Chen, 2013**) ont montré que

les polyphénols pouvaient agir sur les voies de signalisation impliquées dans les phénomènes de prolifération et de différenciation.

III .Activité anti oxydante et antioxydants

III.1. radicaux libres

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins(GUILLOUTY A ,2016)

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde, car le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable(GUILLOUTY A ,2016). Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire.

Les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme. En effet, ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à l'apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes. (FAVIER A.,2003). L'organisme en produit en continu.

III.2.Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (Guillouty A.,2016). La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré (Belaïch R. and BoujrafS.,2016) Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose.

III.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives. Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète...) et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux (Naga A. et Boumeras A.,2018).

III.4. Les effets des antioxydants sur la santé

Nous avons vu que le stress oxydant avait un réel impact négatif sur la santé, notamment par la favorisation de la survenue de pathologies telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et les maladies rhumatismales. Ainsi, il est légitime de penser que si l'on supplémente la population en antioxydants, toutes ces pathologies pourraient tendre à disparaître.

Le régime méditerranéen riche en fruits et légumes a démontré ses effets sur le système cardiovasculaire. Une des hypothèses avancées pour justifier ce mécanisme protecteur est la richesse en antioxydants des fruits et légumes. En effet, de nombreuses études conseillent une alimentation variée riche en fruits et légumes afin de prévenir l'apparition de nombreuses pathologies, notamment les cancers, les maladies cardio-vasculaires et le diabète de type 2. Certaines études confèrent également un rôle important aux polyphénols dans ses effets bénéfiques, ceci étant lié au caractère antioxydant de ces molécules (Guillouty A ,2016).

Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus anti-vieillessement et leurs implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif (Naga A. et Boumeras A.,2018).

III.5. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Il existe différentes méthodes pour mesurer le pouvoir antioxydant d'un aliment ou d'un fluide biologique (tableau04) (Salah et al, 1995)

Tableau 04 : Les différentes méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant (Salah et al., 1995).

Tests en système modèle			
Tests du pouvoir antiradicalaire			
Tests	Avantage	Limites	Références
FRAP (37°)	Sensible, simple et rapide	Peu spécifique Ne mesure que le pouvoir réducteur	(Benzie et Strain, 1996)
DPPH (20°)	Rapide, Peu sensible	Ne mesure que le pouvoir antiradicalaire	(Brand-williams et al., 1995)
TEAC (37°)	Sensible, simple, répétable et rapide	Interférence	(Prior et Cao, 1999 ; Re et al., 1999)
Tests faisant intervenir une Co-oxydation de lipides			
AAPH (37°)	Stimulation d'un milieu alimentaire émulsionné	Long à mettre en œuvre	(Liegeois et al., 2000)
TAC (37°)	Sensible, simple répétable	[Substrat] élève	(Lussignoli et al., 1999)
TOSCA (35°)	Sensible	Méthode d'analyse lourde Interférence	(winston et al., 1998)
ORAC (37°)	Sensible, simple, répétable et spécifique	Bruit de fond	(De-lange et Glazer, 1990 ; Ghiselli, 2000)
Tests évaluant le pouvoir antioxydant dans une matrice			
TRAP (37°)	Sensible et répétable	Peu spécifique	(wayner et al., 1985)
LDL (30°± 37°)	Représente invité in vivo Sensible et répétable	Extraction longue Stabilité des LDL	(Ha-Khouw, 1993 ; Blache et Prost, 1992 ; valkonen et kusi, 1997)
Liposomes (37°± 50°)	Reprise activité <i>in vivo</i> Sensible et répétable	Préparation fastidieuse	(Van-der-Sluis et al., 2002)
Hématies			(Durand et Blache, 1996 ; Ko et al., 1997 ; Monna et al., 1999)

Chapitre 2

Matériels et Méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire de l'institut national de la recherche agronomique d'Algérie (INRAA), division agro-système Ouest (Sidi Bel Abbès).

I. Matériel

Des feuilles fraîches de *Pistacia lentiscus L.* en stade floraison ont été échantillonnées en Mars 2020 dans la wilaya d'Ain Temouchent. L'identification botanique de la plante a été réalisée par **Dr. SEKKAL F.Z.** du département de biologie, faculté des sciences de la nature et vie, université de Mostaganem.

II. Méthodes

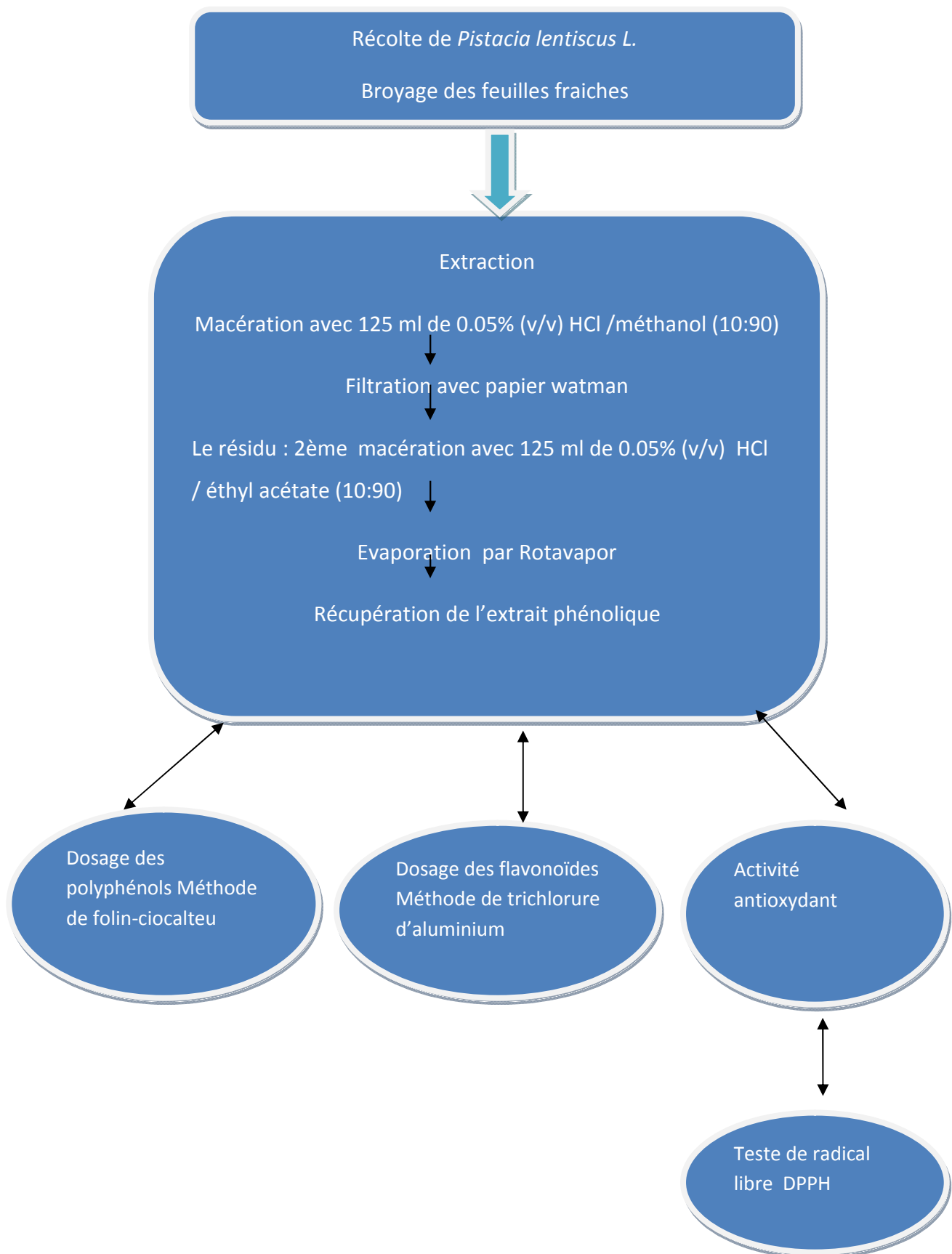


Figure 10 Principales étapes du protocole expérimental

II.1. Extraction des polyphénols

L'extraction a été effectuée selon la méthode de Mokhtar et al. 2015 avec quelques modifications. Un échantillon de 20g de *Pistacia lentiscus* L. broyé a été mis avec 125 ml de 0.05% (v/v) HCl/solvant, placé sous agitation à température ambiante pendant 30 min et à l'obscurité. L'extrait est ensuite filtré avec un papier Watman N°4. L'opération a été répétée deux fois, le solvant utilisé en premier est le méthanol ensuite l'éthyle acétate, et les deux extraits ont été combinés afin d'être évaporés à sec avec un évaporateur rotatif à une température réduite de 45°C. Cette opération a été répétée trois fois.

II.2. Le rendement de l'extraction

Les rendements des extractions ont été déterminés par la formule suivante:

$$R = (M / M1) * 100$$

R : Le rendement d'extraction en %.

M : masse en gramme des polyphénols extraits.

M1: masse en gramme de la matière végétale initiale.

II.3. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux des extraits de *Pistacia lentiscus* L. est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Gutfinger (1981)**. La procédure consiste à compléter 100 µl d'extrait de *Pistacia lentiscus* à un volume de 4,9 mL avec l'eau distillée et auxquels, on ajoute 500 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 1 ml de solution de carbonate de sodium à 20% (P/V). Le mélange a été laissé réagir pendant 1h à l'obscurité. Ensuite, l'absorbance est mesurée à 760 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique /g de matière végétale en se référant à la courbe d'étalonnage d'acide gallique.

- **Courbe d'étalonnage de l'acide galique**

Cette courbe d'étalonnage est réalisée dont le but de quantifier les polyphénols. Ainsi à partir d'une solution mère aqueuse préparée de 10 mg d'acide gallique dissout dans 10ml de

méthanol. la solution d'acide gallique est diluée 0,25 mg/ml à 0,01 mg/ml, ensuite le même protocole du dosage précédemment décrit est suivi.

Le coefficient de corrélation obtenu R^2 est de l'ordre de 0,9958 et l'équation $y = 0,001x + 0,0111$ (Figure 11).

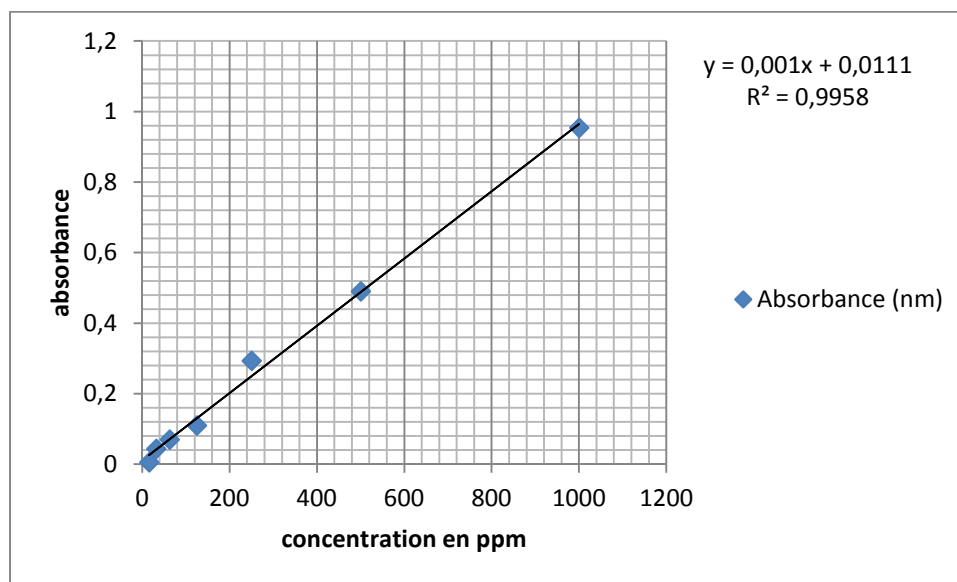


Figure 11: courbe d'étalonnage d'acide gallique.

II.4. Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Pistacia lentiscus* L. est réalisée par la méthode d'Arvouet-Grand et al. (1994). Un volume de 1 ml de l'extrait est mélangé avec 1 ml de solution de trichlorure d'aluminium à 2 %. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité pendant 10 min, ensuite l'absorbance est mesurée à 415 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine /g de matière végétale en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

- **Courbe d'étalonnage de la quercétine**

Cette courbe d'étalonnage est réalisée dont le but de quantifier les flavonoïdes. Des solutions de quercétine sont préparées à de différentes concentrations, ensuite le même protocole décrit précédemment est suivi.

L'équation de la courbe est $y = 0,0053x + 0,203$ et le coefficient de corrélation $R^2 = 0,9975$ (Figure 12).

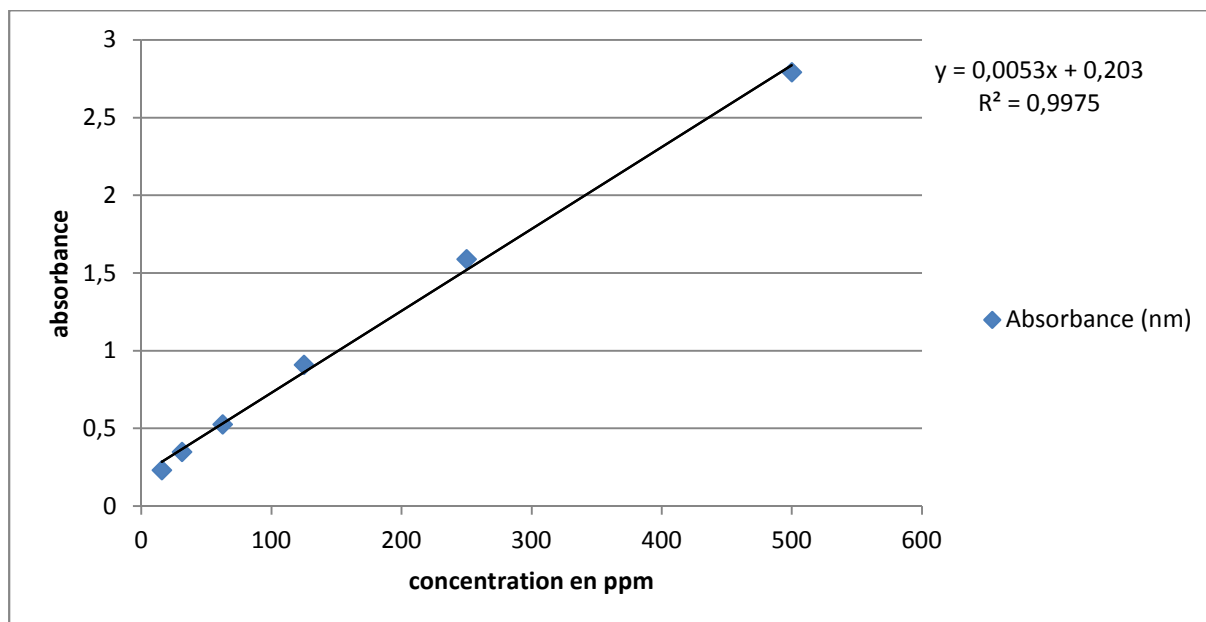


Figure12 : courbe d'étalonnage de la quercétine

II.5. Détermination du potentiel antioxydant par le test de réduction du radical stable DPPH°

L'activité anti oxydante d'extrait est mesurée par l'utilisation de la méthode de DPPH qui est un radical libre, stable, et possède une bande d'absorbance à 517 nm

• Principe

Le diphenyle picryl-hydrazyle (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphenyle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans les milieux à donner des protons)

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl-hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm

- **Mode opératoire**

Une gamme de concentrations de l'extrait de *Pistacia lentiscus L.* est préparée (0,125 à 2 mg/mL). Le DPPH est dilué dans du méthanol afin de préparer une solution avec une absorbance de $0,9 \pm 0,2$ à 517nm.

250µl des diverses concentrations de l'extrait ou du standard (Acide ascorbique) ont été ajoutés à 1ml de la solution de DPPH préparée, et on laisse agir 30 mn à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 517nm.

Le pourcentage de piégeage de radicaux est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{d'activité Anti-radicalaire} = [(A1-A2)/A1] \times 100$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait)

A2 : absorbance en présence d'extrait ou standard

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées à partir de la courbe [% inhibition=f(concentrations)]

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne et l'écart type.

Chapitre 3

Résultats et Discussion

I. Résultats et discussion

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de traitement la plus répandue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité biologique constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des substances bioactives.

Les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est loin de faire l'unanimité. De nombreux métabolites secondaires sont des « antioxydants » au sens large.

En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques dont la présente étude qui est consacrée à la recherche d'éventuel activité antioxydante à partir du pistachier lentisque.

I.1. rendement de l'extraction

Le calcul du rendement d'extraction repose sur plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. D'après nos résultats, le rendement d'extraction à partir du broyat des feuilles de la plante étudiée est estimé à ;...Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est qu'une grandeur relative et semble être lié aux propriétés génétiques des plantes, à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage et la date de récolte, à la variété et surtout le degré de maturité, ce qui a été confirmé par les travaux de Abiazar (2007).

I.2. Dosage des polyphénols totaux

Afin de caractériser l'extrait préparé à partir de notre plante, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués.

La teneur en polyphénols a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est considérée comme la meilleure méthode de détermination du taux des polyphénols totaux des extraits de plantes (Djeridane *et al.* 2010) car elle est standardisée, simple, reproductible (Huang *et al.* 2005). La teneur en polyphénols totaux était de l'ordre de **3,189 mg EAG/ g MF**.

Ce résultat peut être expliqué par la richesse de notre plante en contenu phénolique et aussi par l'utilisation du méthanol et l'acétate d'éthyle qui ont assuré une meilleure extraction de ces substances. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols (Sripad et al., 1982) par modulation de la polarité du solvant organique (Mohammedi et Atik, 2011).

La variabilité des teneurs en polyphénols des espèces végétales est due probablement à la composition en fractions phénoliques (Hayouni et al. 2007), aux facteurs génotypiques (El-Waziry, 2007), les conditions biotiques (organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (Ksouri et al. 2008), à la nature du sol et le type du microclimat (Atmani et al. 2009). Les résultats montrent une teneur moyenne en polyphénols totaux de 189 mg EAG/g MF, Cette valeur est inférieure à la teneur obtenue par Piluzza et al (2011) soit de 147.68 mg AG/g de matière sèche.

D'autres travaux réalisés par Iratni (2016) ayant étudié la teneur en PPT de *P. lentiscus*. L par extraction aqueuse, a obtenu une moyenne de $119,77 \pm 3,2$ mg EAG/g de MS. Atmani et al. (2009) ont confirmé que les feuilles de *P. lentiscus* sont plus riches en phénols totaux avec une valeur de 136.25 ± 18.9 mg /g.

En outre, Rached (2009) a trouvé que la teneur en PPT de l'extrait aqueux des feuilles de *P. atlantica* et *P. lentiscus* est respectivement de 391.93 mgEAG /g et 349.84mgEAG /g. Ces résultats sont largement plus élevés que ceux que nous avons obtenus.

Par ailleurs, des études réalisées par Djemai-zoughlache (2009), Zeghad (2009) et Benhammou (2011), sur différentes plantes dont les feuilles d'*Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* et les fruits de *Zizyphus lotus*, ont montré des valeurs respectives de : 10,127, 10,42 et 9,07 mg EAG/g de MS et 5 µg EAG/mg d'extrait. Ces résultats sont bien inférieurs à nos résultats cités précédemment.

Les résultats de ces études sont difficiles à comparer à cause des différences dans les méthodes d'extraction et de calcul (Modnicki et Balcerek, 2009). En outre, la température et le solvant d'extraction jouent un rôle dans le rendement en polyphénols obtenu (Sousa et al., 2008 ; Conde et al., 2009). Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges de solvants organiques appropriés avec de l'eau (Mahmoudi et al., 2012).

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales serait due au milieu où évoluent les plantes (Cioroi et Dumitriu, 2009), leur origine (Ebrahimzadeh et al., 2008), la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et

environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Park et Cha, 2003), les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques et climatiques) (Ksoury et al., 2008 ; Benhammou, 2011), et la durée de conservation (Özgüven et Tansi, 1998), la nature du sol et le type du microclimat (Atmani et al., 2009

I.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' $AlCl_3$ selon Arvouet-Grand et al. 1994, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 415 nm en utilisant comme standard la quercétine. La teneur en flavonoïdes est de l'ordre de **1,917 mg EQ/g MF**. Cela prouve encore une fois de la richesse de notre plante en polyphénols.

Les résultats montrent une teneur moyenne en flavonoïdes 1,917 mg EQ/g MF, Cette valeur est inférieure à la teneur obtenue par (Djedaia, 2017) soit de $75,28 \pm 0,23$ mgE/gMS

I.4. Détermination du potentiel antioxydant par le test de réduction du radical stable DPPH

Les résultats présentés dans la figure de l'activité anti radicalaire de l'extrait phénolique du pistachier lentisque.

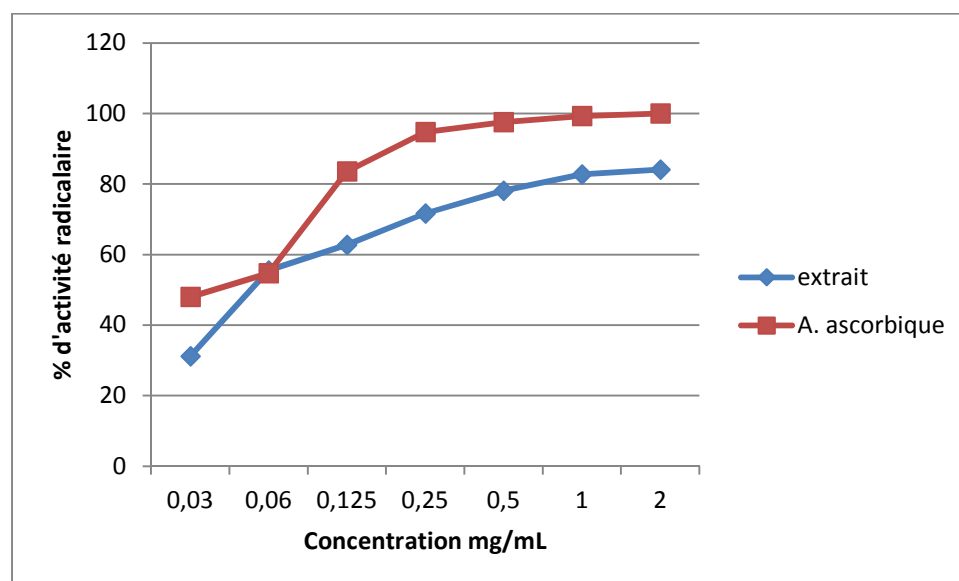


Figure 13: pourcentage d'activité anti radicalaire en fonction de la concentration de l'acide ascorbique ; et extrait phénolique du pistachier lentisque.

Les résultats montrent que l'extrait phénolique *Pistacia lentiscus L.* à une activité radicalaire de 55,5% à une concentration de 0,0625mg/ml. Ce résultat est similaire à celui de l'acide ascorbique à cette concentration. L'acide ascorbique réduit le radicale libre DPPH à 99,3% à une concentration de 1mg/ml par contre notre extrait pour la même concentration inhibe seulement à 82,7%. Mais néanmoins, la concentration de notre extrait nécessaire à la réduction de 50% du radicale DPPH reste relativement faible **1,29 mg/ml**. La IC 50 de l'acide ascorbique est inférieure à celle de notre extrait **1,12 mg/ml**.

CONCLUSION

L'objectif de notre travail a porté sur l'extraction et le dosage des polyphénols totaux, par le réactif du Folin-ciocalteu à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* puis à l'évaluation de l'activité antioxydant d'extraits méthanoliques de cette plante.

Dans le cadre de notre travail, on est intéressés à l'étude du pouvoir antioxydant d'extrait phénolique de *Pistacia lentiscus L.* Le dosage des polyphénols a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, la teneur en polyphénols totaux de notre extrait était de l'ordre de 3,189 mg EAG/ g MF. Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium, la teneur en flavonoïdes est de l'ordre de 1,917 mg EQ/g MF.

Les polyphénols du pistachier lentisque sont de bons antioxydants qui pourraient être utilisés pour lutter contre les radicaux libres et les problèmes de santé qui peuvent résulter de leur présence.

La richesse des feuilles de *Pistacia Lentiscus.L* en composés phénoliques permet d'expliquer l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. En effet, ces composés sont largement connus par leurs activités antivirales, antispasmodiques, anti tumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes

Afin de comprendre l'activité antioxydant des composés phénoliques de l'extrait phénolique de *Pistacia lentiscus L* par la méthode du piégeage des radicaux libre du DPPH, il serait nécessaire de :

- Déterminer l'activité antioxydant avec d'autre test (FRAP, ABTS,...)
- Identification et quantification du polyphénol par HPLC
- Dans le but d'employés de nouveaux composés naturels comme des antioxydants, complémenté cette étude par des tests In vivo.

Références bibliographiques

Liste des références

- Abdel-Rahman, A.H.Y., Soad, A.M.Y., (1975). Mastic as antioxydant. Journal of the American Oil Chemists Society 52, 423.
- Aït youssef, M. (2006). Plantes médicinales de cabylie, Paris, pp : 260-262.
- Ali-Shtayeh, M.S., Abu Ghdeib, S.I., (1999). Antifungal activity of plant extract against dermatophytes. Mycoses 42, 665-672.
- Ali-Shtayeh, M.S., Yaniv, Z., Mahajna, J., (2000). Ethnobotanical survey in the palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 73, 221-232.
- Baytop, T., (1984). Therapy with medicinal plants in turkey (past and present). Vol. 3255, 1st ed. Istanbul:Publications of the Istanbul university. pp 305
- Benmehdi I., 2003 - Etude écologique de deux espèces caractéristiques des matorrals de la région de Tlemcen le cas de Pistacia lentiscus et Lavandula dentata. Mém. D'Ing. Ecol. Vég. Univ. Tlemcen. 164 p.
- BENSACI et HADJ MOKHNACHE, (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile fixe de Pistacialentiscus. Mémoire du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.P12
- Ben Salem G, (2015). L'HUILE DE LENTISQUE (Pistacia Lentiscus L.) DANS L'EST ALGERIEN : CARACTERISTIQUES PHYSICO - CHIMIQUES ET COMPOSITION EN ACIDES GRA. Diplôme Magister. UNIVERSITE CONSTANTINE 1.P 32-40
- Bellakhdar, J., (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris, P. 764

- Bloor S.J. (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods Enzymol*, 335 :3-14
- 6- Bonnier G. et Douin R., (1934). Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique. Librairie Générale de l'Enseignement. Paris. 12 tommes. 120 fasc., 721 p.
- BOUGHERARA MERZOUGUI I, (2015). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de Pistacia Lentiscus et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. THESE de Doctorat. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA .P 08
- Boukef, M. K. (1986). Les plantes dans la médecine traditionnelle, Tunisie. A.C. C. T. Paris
- BoukelouaA, (2009). CARACTERISATION BOTANIQUE ET CHIMIQUE ET EVALUATION PHARMACO-TOXICOLOGIQUE D'UNE PREPARATION TOPIQUE A BASE D'HUILE DE Pistacialentiscus L. (ANACARDIACEAE). MEMOIRE de MAGISTER. UNIVERSITE MENTOURI – CONSTANTINE.P 09 ; 19
- BELAÏCH, R. and BOUJRAF, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), p.38
- Cardon D. et Chatenet G. du, (1990). Guide des teintures naturelles. PlantesLichens, Champignons, Mollusques et insectes. Les Guides du Naturaliste. Delachaux & Niestlé éd. Neuchâtel. 400 p.
- DJEDAIA S, (2017). ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE ET CARACTERISATION DU FRUIT DE LA PLANTE LENTISQUE (Pistacia Lentiscus L.). THESE de Doctorat. UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA.P 07
- DFAVIER A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, l'actualité

chimique, P 108- 115. AnielJ, (2019). Grand manuel de phytothérapie. 1^{er} édition
Dnod2019. P12-13

- Dorvault F.L.M., (1928). L'officine ou répertoire général de pharmacie pratique. 17^{ème} édition. Vigot frères éd. Paris. 2012 p.
- El Hamrouni A. (2001). Projet de conservation des Zones Humides Littorales et des Ecosystèmes côtiers du Cap-Bon
- . Ferrazzano, G.F., Roberto, L., Amato, I., Cantile, T., Sangianantoni, G., Ingenito, A. (2011). Antimicrobial properties of green tea extract against cariogenic microflora: An in vivo study. J Med Food, 14:907–11
- François N M, (2010). IDENTIFICATION DE POLYPHENOLS, EVALUATION DE LEUR ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ETUDE DE LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES. THESE de Doctorat.L'Université Paul Verlaine-Metz.P56-74
- Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L. and Debraux, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française. Edition, Vigot FrèresEditeurs, p: 665-666.
- . Garcia-Perez, M.E. (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. UniveLava rsité l.
- GUILLOUTY A, (2016). Plantes médicinales et antioxydants. THESE de Doctorat. UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER. P14 ; 18; 26
- Guignard, J.L. (1996). Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160
- Hamlat, N., Hassani, A., 2008. Analyse des flavonoïdes présents dans les feuilles du lentisque par les méthodes chromatographiques.Biotech 2008, XI^{es}Journées Scientifiques du réseau «Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire» de l'Agence universitaire de la Francophonie. 30 juin-3 juillet 2008, Agrocampus Rennes, France. Page 46.

- Hepper F.N. (1990). Pharaoh's Flowers. The Botanical Treasures of Tutankhamun, Ed. HSMO, Londres. 80 p.
- Herrmann, K. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compound in food. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 28: 315
- Huwez, F.U., Al-Habbal, M.J., (1986). Mastic in the treatment of benign gastric ulcers. *Gastroenterologia Japonica* 21, 273
- Jean-Jacques M, Annie F, Christian J-A, (2005). Les composés phénoliques des végétaux. 3^{ème} éditions Presses polytechniques et universitaires Romandes 2005. P vii, 1-13
- Janakat, S., Al-Merie, H., (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology* 83, 135-138
- Kordali. S., Cakir, A., Zengin, H., Duru, M.E., (2003). Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia* 74,
- Lev, E., Amar, Z., (2000). Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *Journal of Ethnopharmacology* 72,
- Liming Z., (2015). Étude de la composition macromoléculaire du raisin et des vins : impact sur la qualité sensorielle. THESE de Doctorat. L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX. P7-11
- Livre publié sur le site web : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/be/> (15/02/2020)
- Lucienne D (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. 1^{ère} édition Berti 2007. P35
- Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A.L., Chinou, I.B., Mitaku, S., (1999). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Planta Med.* 65, 749-751.

- Marone, P., Bono, L., Leone, E., Bona, S., Carretto, E., Perversi, L., (2001). Bactericidal activity of Pistacia lentiscus mastic gum against Helicobacter pylori. Journal of Chemotherapy 13, 611-614
- Michel P(2013). GUIDEDEPOCHE DE PHYTOTHÉRAPIE.1ér édition Quotidien Malin 2013.P13-20
- Midani M et MessaoudiN, (2018). Caractérisation biochimique des feuilles de PistaciaLentiscus. Mémoire du Diplôme de Master. UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS – MOSTAGANEM.P 13
- Moss, G.P. (2000). Nomenclature of lignans and neolignans. Pure Appl. Chem. 72
- Naga A et Boumeras A, (2018). Ation de l'activité biologique de Passiflora incarnata L. in vitro. Mémoire de master. Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi .P19
- Newman D.J., Cragg G.M., & Snader K .M. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. Natural product reports, 17(3), 215-234.
- Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de l'Université Cadi Ayyad, Mrrakach.
- Ouelmouhoub, S. (2005). Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie).
- Paul I, (2001).la rousse Encyclopédie des plantes médicinale.2em éditions Dorling Kindersiey Limited, Londres 2001.P289
- Piluzza G., & Bullitta S. (2011). Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. Pharmaceutical biology, 49(3), 240-247.
- Quezel P., 2000 - Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen. Ed. Ibis. Press. Paris. Pp : 13-117.

- Quezel P.S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- RAHALI M et OUKAZI A.R, (2016). Activité antimicrobienne d'extrait des polyphénols de l'ortie *Urtica dioica* L. mémoire de master. UNIVERSITE HASSIBA BENBOUALI CHLEF .P09-11
- Rivera-Nuñez D. et Obón de Castro C., (1991). La guía de incafo de las plantas utiles y venenosas de la peninsula Iberica y baleares (excluidas medicinales). Incafo éd. Madrid. 1257
- Robards, K., Antolovich, M. (1997). Analytical chemistry of frit bioflavonoids—a review. *Analyst* ,122 : 11R–34R
- Sato, M., Fujiwara, S., Tsuchiya, H., Fujii, T., Iinuma, M., Tosa, H., Ohkawa, Y. (1996). Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 54
- Sebai M et Boudali M, (2012).La phytothérapie entre la confiance et mefiance .memoire de profetionnel infirmier de la santé publique.institut de formation paramédical de Chettia.P13-16
- Sonia C et Jean C ;(2011).Polyphénols et procédés. Édition Tec & Doc 2011.P05-23
- Tuzlaci, E., Aymaz, P.E., (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: (Gonen (Bahkesir). *Fitoterapia* 72
- Villar, A., Sanz, M.J., Payo, .M. (1987). Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L. *Int J Crude Drug Res* 25, 1-3
- Volker F et rudolf F W, (2004).Manuel pratique de phytothérapie.1ér édition Vigot 2004.P04
- Vauzour, D. (2014). Effect of flavonoids on learning, memory and neurocognitive performance: relevance and potential implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *J Sci Food Agric*, 94.