

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 : Pharmaco-Toxicologie



Réf :

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

MASTER

Thème

*Activité anti-hémolytique des extraits de
fruits de Pistacia Lentiscus*

Présenté par :

Mr MOUHOUBI Yacine et Mr AZZI Hassine

Soutenu : 27 / 06 / 2023

Devant le jury composé de :

M^{me} KARA S

M^{me} MOULAOU K.

M^{me} SADAOU K.

MCA

MCA

MCA

Présidente

Encadrant

Examinatrice

Année universitaire : 2022 / 2023

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant, pour la volonté, la santé, et la patience qu'il nous a donnée durant toutes ces années d'études, pour qu'on puisse en arriver là.

Nous voudrions témoigner notre sincère gratitude à notre *promoteur Mme MOULAOUI KENZA*, pour la confiance qu'elle nous a accordé, son assistance, sa disponibilité, sa compréhension et ses conseils qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier *Mr Zaidi Sidali*, pour son aide précieuse tout au long de la réalisation de ce mémoire, et pour ses conseils et sa disponibilité, malgré sa préparation pour sa thèse de doctorat.

Sans oublier toute l'équipe du laboratoire génétique, qui nous ont orientés et aidés avec leurs précieux conseils.

Nous remercions l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : *Mme Saadaoui, et Mme Kara*.

Nous tenons à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie qui nous ont suivis et guider durant nos années de formation.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Merci pour tout.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma très chers Maman, Je ne pourrai jamais assez te dire merci pour, le soutien, tes conseils et tes encouragements et pour tes prières qui m'ont accompagné tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous tes sacrifices, que mieux que des mots, ils traduisent tout l'amour que je ressens pour toi. Que Dieu te garde et te préserve.

A toi papa, Tu n'es plus parmi nous, mais c'est grâce à toi que j'ai pu en arriver là, que je n'ai pas abandonné, grâce à ton éducation, à tes conseils, surtout grâce à tes mots qui résonne tous les jours dans ma tête. Que dieu t'ouvre les portes du paradis, merci pour tout.

A mes chères sœurs : Amel et Chahinez

Pour votre soutien inconditionnel, pour m'avoir guidé et encouragé tout au long de mon parcours.

A mes petits neveux : Wissem, Issam et Islem

A mon binôme Hassine, avec qui j'ai eu l'honneur de travailler, et avec qui j'ai passé de supers moments.

A ma très chère Maissa pour tous tes encouragements, tu m'as poussé à toujours me dépasser, et de ne jamais baisser les bras, dans le seul but que je réussisse, merci d'avoir été ma source d'inspiration, et mon pilier.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail au nom d'Allah, le tout puissant et le très
miséricordieux :*

*À Ma mes très chers parents Rabie & Sakina pour leur amour, leurs
sacrifices, leur encouragement, leur soutien et leurs prières tout au long de mes
études*

À mes sœurs : Wafa et Asma.

À mon petit frère : Hamza.

À ma chère tante : Kamila.

À mon oncle : Oualid

À ma grand-mère : Noira

À toute ma famille paternelle : Azzi

*À la mémoire de mon grand-père Rachid e que dieu le accueille dans son vaste
paradis.*

*À mes chers amis que j'aime beaucoup : Kader, Ahmad, , et Kwadro
, Malik, Akram, Taher, Massiva, , À mon chère collègue Yacine avec qui
j'ai partagé le travail et les bons moments.*

Liste des abréviations :

ANOVA : Analysis Of Variance

ABTS : 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AAPH : 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride; 2,2'-Azobis(isobutyramidine)

AG : Acide gallique

CO₂ : Dioxyde de carbone

DPPH: 2, 2-Diphenyl 1 -picrylhydrazyl

DO : Densité Optique

EqAG : Equivalent d'Acide Gallique

EqQ : Equivalent de Quercétine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ExMe : Extrait méthanolique

GR : Globule Rouge

G6PD : Glucose 6-Phosphate Déshydrogénase

Hb : Hémoglobine

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène

IC50 : concentration inhibitrice à 50% d'hémolyse.

NaCl : Chlorure de sodium

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

OH- : Le radical hydroxyle

PH : Potentiel hydrogène

P. Lentiscus : *Pistacia lentiscus*

SEM : Erreur standard de la moyenne

Liste des figures et tableaux

Figures	Titre	Page
01	Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> en Algérie	02
02	Photo originale Arbrisseau de <i>Pistacia lentiscus</i> , Feuilles de <i>Pistacia Lentiscus</i>	04
03	Globules rouges	08
04	Structure de la membrane érythrocytaire	09
05	Représentation de la structure tridimensionnelle de la molécule d'hémoglobine	10
06	La complexation métallique par les flavonoïdes	14
07	Localisation géographique de la zone de récolte des fruits de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	16
08	Photographie original des Fruits noirs de <i>Pistacia lentiscus</i> (A) : Fruits séchés ; (B) : Fruits broyés.	17
09	Schématisation de l'appareil de Soxhlet	18
10	Extraction de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> par l'appareil de Soxhlet	18
11	Étapes de la préparation de l'extrait méthanolique	19
12	Procédure Pour déterminer la concentration de NaCl nécessaire pour induire la lyse des globules rouges	22
13	Schéma récapitulatif du protocole du test anti hémolytique induit par hypotonicité	24
14	Réduction du 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle en diphényle picryl hydrazine	25

15	L'acide 2,2'- azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•)	26
16	Effet de l'acide gallique sur l'hémolyse des globules rouges en fonction des concentrations	31
17	Effet de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'hémolyse des globules rouges en fonction des concentrations	31
18	Taux d'hémolyse induite par différentes concentrations du NaCl	33
19	Effet de l'extrait Méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> et de l'acide gallique sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par hypotonie, en fonction des concentrations	34
20	Effet de l'extrait Méthanolique des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par un stress thermique, en fonction des concentrations	35
21	Activité antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits <i>Pistacia lentiscus</i> et l'acide gallique contre le radical DDPH	36
22	Activité antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits <i>Pistacia lentiscus</i> et l'acide gallique contre le radical ABTS	38

Liste des tableaux

<i>Tableau</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
I	Les principales classes des composées phénoliques avec leur structure de base	07
II	Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-hémolytiques.	11
III	Rendement, teneurs en phénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des fruits de Pistacia lentiscus	28
IV	Valeurs de l'IC 50 de l'extrait methanolique du fruit de Pistacia lentiscus et de l'acide gallique	37

Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations

Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

Etude bibliographique

I. Le Pistachier lentisque (<i>Pistacia lentiscus</i>).....	2
I.1. Généralités.....	2
I.2. Répartition géographique	2
I.3. Systématique et nom commun	3
I.4. Description botanique	3
I.4.1. Les feuilles	4
I.4.2. Les fleurs	4
I.4.3. Les fruits	4
I.5. Utilisation traditionnelle de <i>Pistacia lentiscus</i>	5
I.6. Activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	5
I.7. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce	6
I.7.1. Les métabolites secondaires.....	6
I.7.2. Classification des composés phénoliques de <i>Pistacia lentiscus</i>	6
II. L'hémolyse	8
II.1. Structure, fonction et biosynthèse du globule Rouge	8
II.1.1 Structure et fonction des globules rouges	8
II.1.2. Composition de la membrane érythrocytaire	9
II.1.3. L'hémoglobine	9
II.2. Hémolyse et anémie hémolytique	10
II.3. Les anti-hémolytiques	10
II.4. Phytothérapie anti-hémolytique	11
II.5. Stress oxydant et globules rouges	11
II.5.1 Les antioxydants	12
II.5.2 Mécanisme antioxydant	13
II.5.3. Effet scavenger des composés phénoliques	13

II.5.4. Inhibition enzymatique	15
--------------------------------------	----

Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal	16
I.1.1. Zone d'étude et période de récolte	16
I.1.2. Préparation du matériel végétal	16
II. Méthodes	17
II.1. Préparation de l'extrait des fruits de Pistacia lentiscus	17
II.1.1. Dilapidation par Soxhlet	17
II.1.2. Préparation de l'extrait méthanolique	18
II.2. Dosage des composés phénoliques	20
II.3. Dosage des flavonoïdes	20
II.4. Echantillons de sang humain	20
II.5. Evaluation de l'activité anti-hémolytique, in vitro, des extraits des fruits de Pistacia	21
II.5.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains	21
II.5.2. Evaluation de la cytotoxicité des extraits méthanolique du fruit de Pistacia lentiscus vis-à-vis des globules rouges	21
II.5.3. Induction du stress par le chlorure de Sodium	22
II.5.4. Evaluation de l'effet des extraits de Pistacia lentiscus sur la stabilisation de la membrane des globules rouges.	23
II.5.4.1. Mesure de l'effet anti-hémolytique des extraits de Pistacia lentiscus induite par un stress osmotique ..	23
II.5.4.2. Mesure de l'effet anti-hémolytique des extraits de Pistacia lentiscus induite par un stress thermique	24
II.6. Activité antioxydante des différents extraits de Pistacia lentiscus	25
II.6.1. Activité scavenging du radical DPPH	25
II.6.2. Activité scavenging du radical ABTS	26
II.7. Traitement statistique des résultats	27

Chapitre II : Résultats et discussions

III.1. Teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique	28
---	----

III.2. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de fruits de Pistacia lentiscus vis-à-vis des globules rouges	30
III.3. Evaluation de l'effet des extraits méthanolique des fruits de Pistacia lentiscus sur la stabilisation de la membrane des globules rouges	32
III.3.1. Activité anti-hémolyse hypotonique	32
III.3.2. Activité anti-hémolyse induite par le stress thermique	35
III.4. Activité antioxydante	36
III.4.1. Effet scavenging du radical DPPH	36
III.4.2. Activité de piégeage du radical ABTS	38
Conclusion.	

Introduction

Introduction

Introduction :

Malgré le développement remarquable des conditions de vie durant ces dernières années, l'anémie demeure un sujet complexe sur la santé publique qui affecte la performance humaine, ce qui nécessite des investigations spécialisées pour déterminer les traitements appropriés (Agrwal *et al.*, 1991).

L'hémolyse pathologique se présente le plus souvent comme une anémie, elle se définit comme l'élimination ou la destruction exagérée par éclatement des globules rouges. Elle peut être héréditaire ou acquise. Ces dernières ont principalement des causes immunologiques, infectieuses et même toxicologique comme l'effet des radicaux libres (Gurpreet *et al.*, 2004).

L'utilisation des plantes médicinales remonte à l'histoire même de l'humanité et est étroitement liée à l'évolution des civilisations à travers le monde. Elles sont universellement reconnues comme une source primordiale de produits utilisés dans le domaine de la médecine alternative (Tyler, 1999). Le traitement à base de plantes bénéficie d'une popularité croissante en raison de sa facilité d'utilisation, de son efficacité éprouvée et de ses bienfaits indéniables (Nunes *et al.*, 2020).

La compréhension actuelle met en évidence l'importance des composés phénoliques présents dans les plantes médicinales en tant que principes actifs. Ces composés sont utilisés de manière répandue dans le domaine thérapeutique pour leurs propriétés préventives. Cependant, leur rôle majeur réside dans leur capacité antioxydante, essentielle pour combattre le stress oxydatif (Furusaw, 2005).

Pistacia lentiscus, un arbuste de la famille des Anacardiaceae, largement utilisée dans la médecine traditionnelle par les populations locales (Brahmi *et al.*, 2020). D'un point de vue phytochimique, elle est caractérisée par la présence de substances phénoliques, qui sont douées d'activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire (Atmani *et al.*, 2009).

L'objectif de la présente étude est l'évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus*, via le test de stabilisation de la membrane des érythrocytes.

Pour ce faire, un test de cytotoxicité a été réalisé dans un premier temps, afin de cibler les concentrations à utiliser. L'activité anti-hémolytique de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* a été évaluée, dans un deuxième temps, par le test de stabilisation des membranes des globules rouges, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique et un stress thermique et au final deux tests antioxydants.

I. Le Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*)

I.1. Généralités

Pistacia lentiscus est une plante décrite pour la première fois par le botaniste Linné en 1753 (Zohary *et al.*, 1952), le nom pistacia vient du grec pistakê et lentisque vient du latin lentus, qui signifie visqueux. Cet arbre est appelé ainsi car il est cultivé pour sa résine aromatique, et connue aussi par le nom mastic, c'est une plante médicinale appartenant à la famille Anacardiaceae d'origine méditerranéenne (Bouyahya *et al.*, 2019), elle est largement répandue en Algérie et utilisée surtout par la population rurale (Rodríguez *et al.*, 2013).

I.2. Répartition géographique

Pistacia lentiscus est une plante thermophile qui pousse naturellement dans divers types de sols, en particulier dans les zones subhumides et semi-arides. Elle préfère les sols siliceux et montre une préférence pour les environnements pauvres en potassium et en phosphore. On le trouve généralement dans les régions arides, de la région méditerranéenne, avec une répartition le long des côtes et une adaptation à différents habitats en fonction des variations de rayonnement solaire, de température et de précipitations. En Algérie, il est présent dans l'étage thermo-méditerranéen, en association avec des espèces telles que le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne-liège, notamment dans le bassin du Soummam (Belfadel, 2009 ; Ait said, 2011 Djerrou, 2011 ; Maamari--Habibatni, 2014).

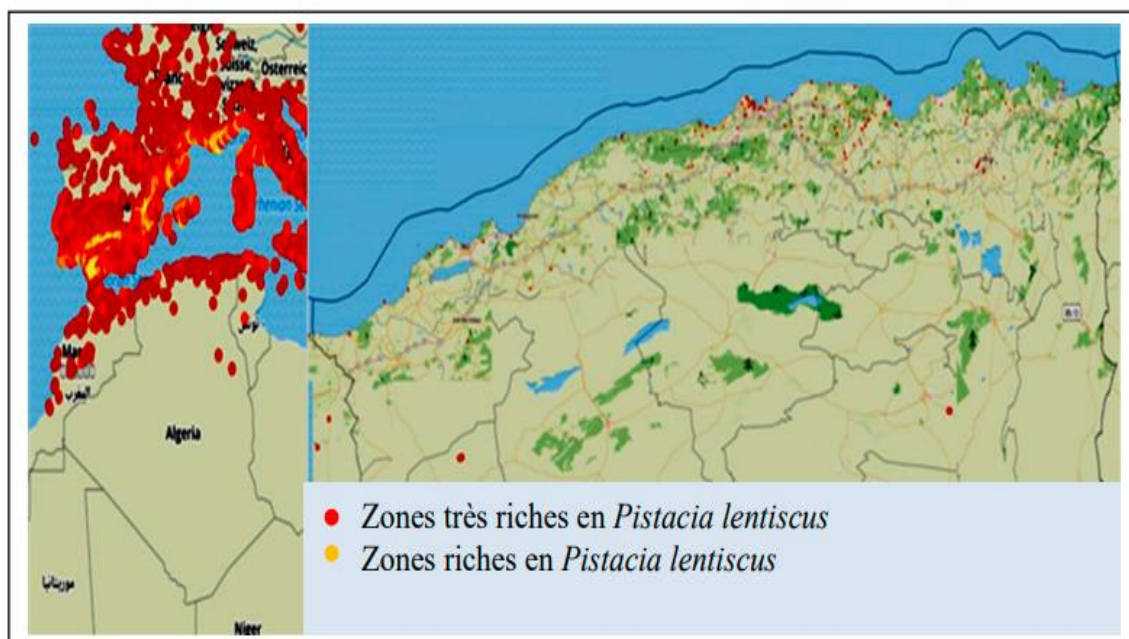


Figure 1 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* en Algérie (Seigue, 1985)

Etude bibliographique

I.3. Systématique et nom commun

Le genre *Pistacia* se compose de 11 espèces d'arbres et d'arbustes (Aouar et Benrokia, 2015). 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).

Pistacia lentiscus possède plusieurs noms : en berbère, cette plante est appelée selon les différentes régions, amadhagh, imdhek, imidh mais le plus utilisé est le nom de thidhekt (Ait Youssef, 2006). En arabe, il est nommé edharw (Bellakhdar, 1997) ou même oum ennas (Ait Youssef, 2006), en langue anglaise il est appelé cyprus sumac, lentisk (Benoit, 2009) ; en français, arbre au mastic, pistachier lentisque, le lentisque (Ait Youssef, 2006).

Selon Guignard (2001) et Spichiger et al. (2004), *Pistacia lentiscus* se classe comme suit :

Règne : Plante

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Apétale

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiacees

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia lentiscus*

I.4. Description botanique

Arbuste ou arbrisseau dioïque, vivace (Iserin, 2001) et aromatique à croissance lente (Tassin, 2012), peut atteindre de 1 à 3 mètres de hauteur (Rameau et al., 2008), dégage une odeur résineuse très prononcée, dont l'écorce est d'un brun rougeâtre et devient avec l'âge rugueuse et écailleuse (figure 2 A) (Mathieu, 1860).

Le lentisque se caractérise par une ramification dense à partir de la base de la plante. Il présente des individus mâles et femelles séparés. Il possède un feuillage persistant et produit

Etude bibliographique

une sève ainsi qu'une résine transparente. Cette résine est utilisée dans la composition de vernis, de mastic et de colles pour les pansements (Alloune et al., 2012).

I.4.1. Les feuilles : Sont persistantes, composées de plusieurs paires de folioles ovales, au nombre de 6 à 12. Ces folioles sont coriaces, sans bord denté. Le rachis des feuilles est caractérisé par des ailes prononcées, et il n'y a pas de foliole terminale. Les feuilles ont une couleur verte sombre et une texture brillante sur leur face supérieure, tandis qu'elles sont de couleur pâle en dessous (figure 2B) (Annie et Pierre, 2014).

I.4.2. Les fleurs : Se présentent sous forme de grappes denses et allongées, apparaissant à raison d'une ou deux fleurs à l'aisselle d'une feuille. Leurs tailles n'excèdent pas celle d'une foliole et elles mesurent environ 3 mm de largeur. Les fleurs sont unisexuées et dégagent un arôme très aromatique. Elles présentent une couleur rougeâtre distinctive (Djerrou, 2011). La période de floraison s'étend généralement de mars à juin (Annie et Pierre, 2014).

I.4.3. Les fruits : Elles sont des drupes de petite taille d'environ cinq millimètres, globuleux qui renferment un seul noyau à une seule graine contenant une pulpe de bon goût et d'une odeur embaumée. Ils présentent plusieurs couleurs aux différents stades de maturité, en effet ils sont de couleur verte, au début, puis se transforment en rouge à mi-maturité et à la maturité ils sont noirâtres (Figure 2C) (Maamari-Habibatni, 2014).



A



B



C

Figure 2 : Photographie originale d'Arbrisseau de *Pistacia lentiscus* (A), ainsi que ces Feuilles (B) et ces fruits (C).

Etude bibliographique

I.5. Utilisation traditionnelle de *Pistacia lentiscus*

D'après **Dogan et al. (2003)**, *Pistacia lentiscus* est une source significative de composés actifs. En effet, depuis l'époque de la civilisation grecque, plusieurs parties de cette plante sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les feuilles sont couramment utilisées pour traiter un large éventail de troubles de santé, tels que l'eczéma, les infections buccales, les lithiases rénales, la jaunisse, les maux de tête, l'herpès, l'asthme et les problèmes respiratoires (**Mostafa et al., 2014**).

La résine est réputée pour ses propriétés diurétiques, ainsi que pour son utilisation dans le traitement de l'hypertension, des douleurs gastriques, les troubles intestinaux, le diabète et les douleurs abdominales et des calculs rénaux (**Dellai et al., 2013 ; Chekchaki et al., 2015**).

Les fruits sont utilisées pour les rhumatisme, l'eczéma, la diarrhée et les infections de gorge (**Bozorgi et al., 2013**).

I.6. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus*

Plusieurs études ont été apportées sur les propriétés pharmacologiques de *Pistacia lentiscus*, citant en titre d'exemple :

- **Activités anticancéreuses** : La gomme du mastic de *Pistacia lentiscus* contient des composés qui inhibent la prolifération et induisent l'apoptose des cellules cancéreuses (**Balan et al., 2007**).
- **Activités antimicrobiennes et antivirales** : Les composés phénoliques de *Pistacia lentiscus* sont un moyen de défense contre les micro-organismes. Le nombre de groupement hydroxyle augmente la toxicité contre les micro-organismes soit par la chélation des ions métallique, soit par des interactions non spécifiques, telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires, afin d'inactiver l'adhésion des micro-organismes (**Cowan, 1999 ; Lin et al., 2005**).
- **Activité Antimutagène** : Les polyphénols isolés de *Pistacia lentiscus* (acide gallique, acide et digallique et 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose), ont une activité inhibitrice de la mutagénicité et la génotoxicité (**Bozorgi et al., 2013**).
- **Activité antioxydante** : La richesse des différentes parties de *Pistacia lentiscus* en polyphénols et en flavonoïdes lui confère une activité antioxydante et cela par le piégeage

Etude bibliographique

direct des ERO (Espèces réactives de l'oxygène), l'inhibition des enzymes génératrices d'ERO et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (**Atmani et al., 2009 ; Bozorgi et al., 2013**).

- **Activité anti-inflammatoire** : La présence de flavonoïdes dans les différentes parties de la plante lui confère cette activité anti-inflammatoire, cela par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 (**Manthey, 2000 ; Bozorgi et al., 2013**).

I.7. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce

En raison de l'utilisation étendue de *Pistacia lentiscus* dans la médecine traditionnelle, de nombreuses études phytochimiques ont été menées afin de découvrir les principes actifs présents dans ses différentes parties (**Bensaci Hadj Mokhnache, 2015**).

I.7.1. Les métabolites secondaires

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents chez les plantes. Ces composés se caractérisent par la présence de groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques. Parmi ces métabolites, on trouve les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins, qui constituent les principales classes de polyphénols. Ces composés sont regroupés en fonction des différents substituants présents sur les noyaux aromatiques et de leur degré de saturation (**Ben Amor, 2008**).

I.7.2. Classification des composés phénoliques de *Pistacia lentiscus*

Les composés phénoliques dans les feuilles et fruits de *Pistacia lentiscus* sont très divers et leurs structures sont très variables. D'abord selon la complexité du squelette de base (allant de simple C6 à des formes très polymérisées, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydroxylation ...), enfin par les liaisons possible de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines ...) peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**Rahou, 2017**). (**Tableau I**).

Etude bibliographique

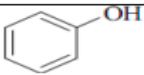
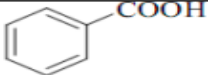
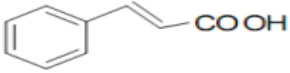
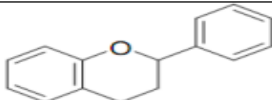
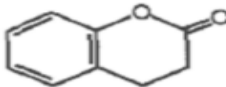
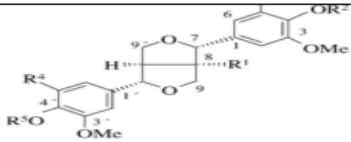
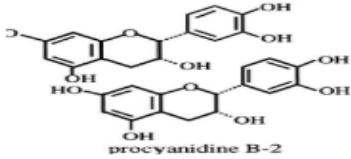
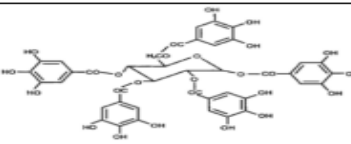
Squelette carbonée	Classe	Structure de base
C6	Phénol simple	
C6-C1	Acide hydroxy-benzoïque	
C6-C3	Acide hydroxy-cinnamique	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
C6-C3	Coumarines	
(C6-C2) ₂	Lignanes	
C15	Tanins hydrolysables	
C15	Tanins condensés	

Tableau I : Les principales classes des composées phénoliques avec leur structure de base
(Bravo, 1998 ; Freitas1995).

II. L'hémolyse

II.1. Structure, fonction et biosynthèse du globule Rouge

Le sang est un liquide essentiel, visqueux et fluide, avec un pH compris entre 7,35 et 7,45. Il circule à travers les artères et les veines, et représente environ 8% du poids corporel humain. Le volume sanguin varie de 5 à 6 litres chez les hommes et de 4 à 5 litres chez les femmes. Il est composé de cellules, appelées éléments figurés du sang, qui sont en suspension dans un liquide extracellulaire appelé plasma. Le plasma représente environ 55% du volume sanguin total, tandis que les cellules sanguines occupent environ 45% du volume chez les adultes. Les cellules sanguines peuvent être divisées en trois catégories distinctes en termes de morphologie et de fonction : les thrombocytes (plaquettes), les leucocytes (globules blancs) et les érythrocytes (globules rouges) (Béraud, 2014).



Figure 3 : Globules rouges (Portier et *al.*, 2007)

II.1.1 Structure et fonction des globules rouges

Les globules rouges, également connus sous le nom d'hématies ou d'érythrocytes, sont de petites cellules sans noyau qui présentent une forme biconcave. Ils renferment principalement de l'hémoglobine, un pigment respiratoire essentiel qui assure le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus, ainsi que du dioxyde de carbone (CO₂) des tissus vers les poumons. Ces cellules ont un diamètre d'environ 7 µm et une épaisseur de 2 µm. Elles se trouvent en suspension dans le sang à une concentration d'environ 5 millions de cellules par mm³. Leur nombre constant dans la circulation sanguine est maintenu grâce à un équilibre dynamique

Etude bibliographique

entre leur production dans la moelle osseuse et leur élimination à la fin de leur cycle de vie, qui dure approximativement 120 jours (**Girasole et al., 2012**).

II.1.2. Composition de la membrane érythrocytaire

Les globules rouges sont constitués d'une membrane érythrocytaire et d'hémoglobine. La membrane joue un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité du milieu intérieur, qui abrite les principales enzymes métaboliques. Elle est composée de protéines et de lipides, formant une structure complexe. Les lipides représentent environ 65 % de phospholipides, 25 % de cholestérol non estérifié et 10 % de glycolipides. Au sein de la bicouche phospholipidique, se trouvent des protéines de grande taille, enchevêtrées plus ou moins profondément dans les deux couches lipidiques (**Borochov et al., 1977**). Le cytosquelette des globules rouges est constitué de plusieurs protéines qui forment un réseau de filaments situé sous la membrane lipidique. Ce réseau comprend notamment la spectrine, l'ankyrine et l'actine. Les protéines du cytosquelette interagissent avec les protéines intégrales et les lipides de la membrane pour assurer son intégrité (**Lux, 1983**). Il existe également trois protéines transmembranaires qui jouent un rôle dans la stabilité de la forme des globules rouges en se liant aux protéines intrinsèques du cytosquelette : la protéine 3, la glycophorine A et la glycophorine C (**Figure 07**).

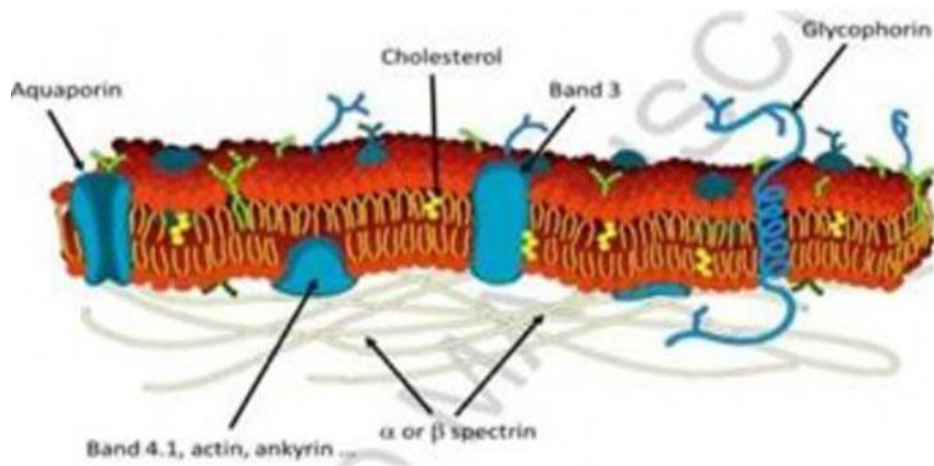


Figure 4 : Structure de la membrane érythrocytaire (**Dodge et al., 1963**).

II.1.3. L'hémoglobine

Une des protéines humaines les plus étudiées, est également un composant essentiel des globules rouges, représentant 33% de leur poids. Cette molécule est composée de quatre sous-unités. Chaque sous-unité se compose d'une partie protéique appelée globine et d'une partie non-protéique appelée protoporphyrine, qui est l'hème illustré dans la figure 08 (**Labie et Elion, 2005**).

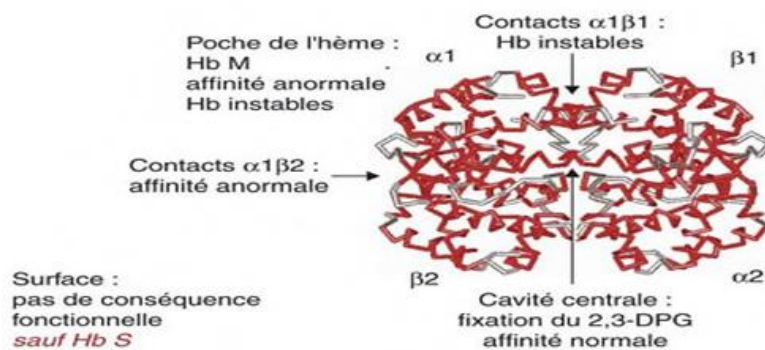


Figure 05: Représentation de la structure tridimensionnelle de la molécule d'hémoglobine (Labie et Elion, 2005).

II.2. Hémostase et anémie hémolytique

L'hémolyse fait référence à l'ensemble des processus qui conduisent à la destruction des globules rouges et à leur mort après environ 120 jours de circulation, avec une production équivalente par la moelle osseuse. Cela devient pathologique lorsque cette destruction se produit de manière précoce (Burnat, 1998). L'anémie hémolytique, quant à elle, est une anomalie de la membrane des globules rouges qui peut être observée lors d'un frottis sanguin. Elle se manifeste le plus souvent par une hémolyse chronique, caractérisée par un taux d'hémoglobine inférieur à 130 g/l chez les hommes et 120 g/l chez les femmes, ou par un déficit enzymatique tel que le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) (Costello, 2010). On trouve plusieurs types d'anémies hémolytiques par exemple :

- **L'anémie hémorragique** : Se réfère à la perte d'environ 10% du volume sanguin circulant, ce qui équivaut à environ 500 ml chez un adulte.
- **L'anémie auto-immune** : Causée par la fixation d'auto-anticorps à la surface des globules rouges.

II.3. Les anti-hémolytiques

Le traitement des anémies hémolytiques nécessite inévitablement de traiter les causes sous-jacentes de cette condition. Il existe une variété de traitements en fonction des différentes causes. Plusieurs médicaments anti-hémolytiques sont disponibles, ayant la capacité de retarder ou d'inhiber la destruction des globules rouges. Certains traitements courants comprennent l'administration d'acide folique, de suppléments de fer, de vitamine B, ainsi que l'utilisation de corticoïdes tels que le Solupred, le Célétasone, le Huppomedrol, généralement

Etude bibliographique

sous forme de comprimés. Dans certains cas où la prise en charge est initiée ou en présence d'une anémie sévère, des corticoïdes à des doses plus élevées peuvent être administrés par injection intraveineuse (Bachy *et al.*, 2015).

II.4. Phytothérapie anti-hémolytique

Source végétal	Partie	Teste utilisé (Hémolyse induite par)	Activité anti - hémolytique	Référence
<i>Pandanous odorus pandanus</i>	Feuille	l'ion Ferreux	83,25 ± 3.66 % à 3,125 µg/ml.	(Thephinlap <i>et al.</i> , 2013)
<i>Acalypha indica Acalyphie</i>	Feuille	H ₂ O ₂	54% pour 20 mg/ml	(Kadali <i>et al.</i> , 2016)
<i>Mentha Longifolia Menthe</i>	Feuille Fruit	H ₂ O ₂	IC50 =951,4 ± 36 µg/ml.	(Magalhães <i>et al.</i> , 2009)
<i>Piber betel Bétel</i>	Feuille	H ₂ O ₂	40,6% à 5mg/ml	(Chakraborty <i>et Shah</i> , 2011)
<i>Gymnema sylvestre Gymnéma</i>	Fleur	H ₂ O ₂	IC50 =140±29,83µg/ml	(James <i>et Alewo</i> , 2014)
<i>Brun</i>	Graine	AAPH(2,2'-Azobis 2-amidinopropane dihydrochloride)	91,7% à 4mg/ml	(Yuan <i>et al.</i> , 2005)

Divers extraits de plantes ont démontré des effets bénéfiques en tant qu'agents anti-hémolytiques. Le tableau I présente un résumé de certaines plantes ayant montré une activité anti-hémolytique.

Tableau II : Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-hémolytiques.

II.5. Stress oxydant et globules rouges

Dans la circulation, les globules rouges sont continuellement exposés aux sources endogènes et exogènes ERO, qui peuvent endommager la membrane des érythrocytes et détériorer leur fonction. Pour minimiser l'effet de ces ERO et le stress oxydatif, les globules rouges sont dotés d'un système antioxydant non enzymatique comme le glutathion et enzymatique tels que la superoxyde dismutase (SOD), la peroxiredoxine-2, le glutathion peroxidase et la catalase (Mohanty *et al.*, 2014). ERO et le stress oxydant peuvent modifier les propriétés chimiques et physiques des membranes cellulaires des érythrocytes en modifiant la composition, la protection et la distribution de leurs lipides. Ceci aboutit à une altération

Etude bibliographique

structurale de la membrane cellulaire du globule rouge, ce qui se manifeste par une réduction de sa fluidité, qui peuvent modifier l'activité des protéines membranaires, augmentant ainsi sa rigidité (Portier et al., 2007). Les érythrocytes sont particulièrement vulnérables, car ces cellules anucléées ne possèdent pas la capacité de réparer leur membrane ni de se régénérer. Cependant, en comparaison aux autres cellules, l'érythrocyte présente de grandes activités d'enzymes antioxydantes les plus importantes. De plus, la plupart de la capacité antioxydante non enzymatique du sang y est localisée. Les globules rouges se comportent comme des pièges à radicaux libres circulants et protègent ainsi les autres tissus et organes (Portier et al., 2007). L'oxydation par la NADPH oxydase est considérée comme la source interne majeure du superoxyde (O_2^-) qui est converti en eau oxygénée, moins toxique (H_2O_2), par l'action de l'enzyme antioxydante, superoxyde dismutase. Par la suite le H_2O_2 produit le radical hydroxyle toxique (OH^\cdot) via la réaction de Fenton menant ainsi à la diminution de la rigidité cellulaire des globules rouges (Bhattacharjee et al., 2016). De plus, la catalase peut réagir rapidement avec l'eau oxygénée (H_2O_2) supplémentaire dans les globules rouges et le convertir en oxygène (Mohanty et al., 2014). Au cours de l'hémolyse, l'hémoglobine extracellulaire provoque l'accumulation des radicaux libres à partir du fer de l'hème par la production de radicaux hydroxyles via la réaction de Fenton (Haber et Weiss, 1934 ; Sadrzadeh et al., 1984).

II.5.1 Antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme une substance qui aide à réduire la gravité du stress oxydatif soit en formant un radical moins actif, soit en désactivant la réaction des ERO nuisibles sur des substrats et par conséquent, la prévention des différentes maladies. Selon leurs modes d'actions, les antioxydants peuvent être classés : en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (Carocho et Ferreira, 2013 ; Godic et al., 2014).

- **Antioxydants enzymatiques**

Les cellules sont disposées d'un système antioxydant enzymatique qui joue un rôle important dans l'inactivation des ERO et le contrôle du stress oxydatif. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde), de catalase (Métabolise le H_2O_2) et de glutathion peroxydase (Action réductrice sur H_2O_2 et assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type ROOH en ROH. De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à

Etude bibliographique

partir des lipides membranaires et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Azadmanesh et Borgstahl, 2018).

- **Antioxydants non enzymatiques**

Contrairement aux enzymes antioxydants, cette seconde ligne de défense comprend des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. Comme les vitamines E (α -tocophérol) et les vitamines C (Acide ascorbique) et les polyphénols issus des végétaux (Kamal-Eldin et Budilarto, 2014 ; Pisoschi et Pop, 2015).

Les polyphénols attirent de plus en plus l'attention des chercheurs et des industriels en raison de leur importance. En effet, jusqu'à maintenant, on considérait ces molécules comme intéressantes pour l'organisme, tant au niveau nutritionnel que pour la santé (Charrouf et al., 2007).

II.5.2 Mécanisme antioxydant

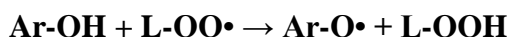
Les polyphénols sont parmi les divers agents antioxydants dotés de pouvoirs qui les rendent capable d'éliminer les radicaux libres (Balsundram et al., 2006). L'activité antioxydante des composés phénoliques est attribuée à leur effet scavenger des radicaux libres, leur pouvoir chélateur des ions métalliques, leur pouvoir réducteur et leur capacité d'inhiber des enzymes productrices de radicaux libres (Geckil et al., 2005).

II.5.3. Effet scavenger des composés phénoliques

Les antioxydants scavenger éliminent rapidement les radicaux libres avant que ces derniers attaquent les molécules biologiques. Les composés phénoliques et les amines phénoliques agissent principalement comme des antioxydants scavenger des radicaux libres (Rudneva, 2014).

1. Les groupements hydroxyles

Les polyphénols possèdent des groupes hydroxyles phénoliques (Ar-OH). Ils peuvent donc fournir des hydrogènes aux radicaux peroxydes L-OO• (très instable) et les neutraliser. Le radical ArO• étant assez stable et moins réactif va briser la chaîne :



Etude bibliographique

Les composés phénoliques peuvent transférer un hydrogène du noyau phénol à un radical de haute énergie, comme par exemple les radicaux peroxydes, produits lors de l'auto-oxydation des lipides (Dangles *et al.*, 2001). Le composé phénolique « radicalaire » résultant est stabilisé par la délocalisation des électrons sur le cycle benzénique. Cette réaction entraîne donc la conversion d'un radical peroxyde très réactif en un radical phénoxyde moins réactif. Cette capacité antioxydante (capture des ERO) est encore accrue, pour les composés phénoliques possédant deux groupes hydroxyles. Ces groupements sont, par ailleurs, de bons donateurs d'hydrogènes pour la formation de liaisons hydrogènes (Bors *et al.*, 1990).

2. La O-méthylation et la glycosylation

La substitution des groupements hydroxyles du noyau B par des groupements O-méthyle supprime l'activité antioxydant et la glycosylation des flavonoïdes diminue leur activité (Heim *et al.*, 2002 ; Cai *et al.*, 2006).

3. La double liaison entre C2-C3 et la fonction 4-oxo

Des études ont indiqué que la double liaison C2-C3 et la fonction 4-oxo sont nécessaires pour l'activité inhibitrice des flavonoïdes. La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3 a un effet positif sur l'activité (Heim *et al.*, 2006).

4. Chélation des métaux de transition

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques peut s'exercer par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet, ces derniers accélèrent la formation des ERO. Pour les flavonoïdes, les deux points d'attache des ions de transition sont le groupe O-diphénolique dans la position 3', 4' dihydroxy du cycle B (Figure 09 a), et entre la fonction 4 cétone et l'hydroxyle 3 (Figure 09 b) ou la fonction cétone et l'hydroxyle 5 du cycle A (Figure 09 c) (Laguerre *et al.*, 2007).

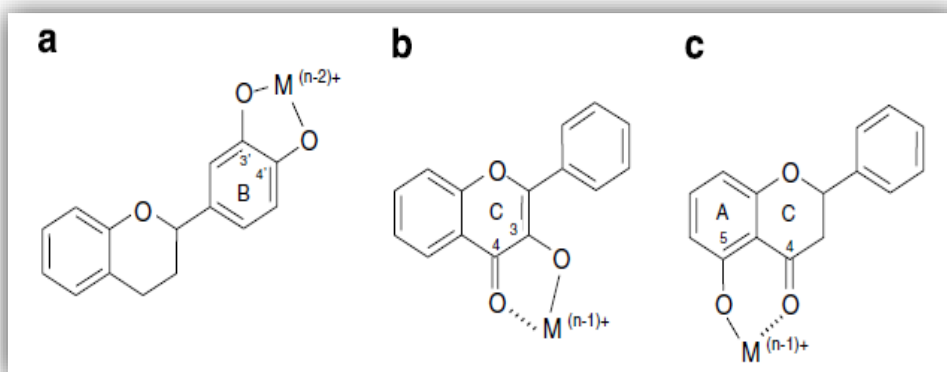


Figure 06 : La complexation métallique par les flavonoïdes (Laguerre *et al.*, 2007).

II.5.4. Inhibition enzymatique

Les flavonoïdes sont connus par leur pouvoir d'inhibition d'enzyme, en particulier, les oxydo-réductases qui font intervenir au cours de leur cycle catalytique des espèces radicalaires (lipoxygénase, cyclo-oxygénase, monooxygénase, xanthine oxydase, phospholipase A2 et protéine kinase) (**Ghedira, 2005**).

Chapitre I

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

Le matériel végétal est composé des extraits de fruits de *Pistacia lentiscus*. Le choix de cette plante n'était pas arbitraire mais basé sur l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies causées par le stress oxydatif.

I. Matériel :

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Zone d'étude et période de récolte

Le choix de la plante, *Pistacia lentiscus*, comme sujet d'étude dans le présent travail a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et très étudiée en Algérie. Sur cette base, nous avons utilisé l'extrait méthanolique des fruits. La sélection des fruits a été basée sur des arbustes à pigmentation noire des baies, évitant la pigmentation verte et rouge. Cette collecte s'est faite le mois de novembre 2022, au niveau du village Tizi N'ftah situé à Amizour, dans la wilaya de Bejaia. Cette zone est caractérisée par un climat méditerranéen avec un sous-type subhumide.

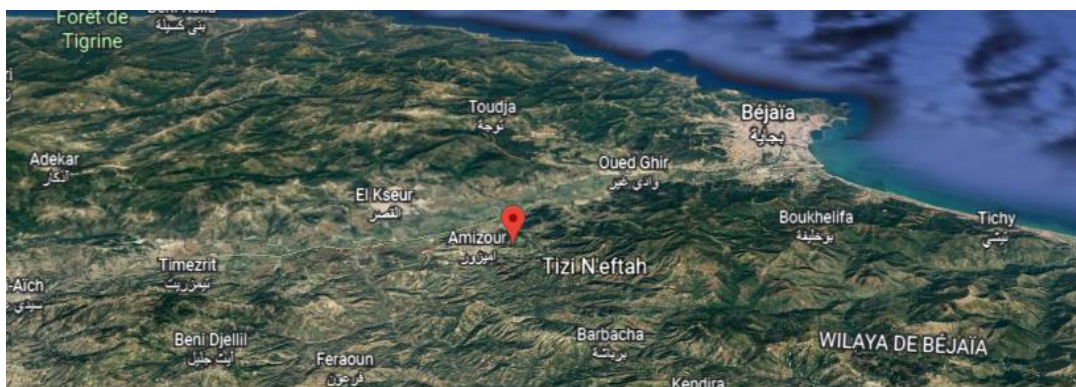


Figure 07 : Localisation géographique de la zone de récolte des fruits de *Pistacia lentiscus L.*

I.1.2. Préparation du matériel végétal

◆ Séchage et broyage

Les fruits de *Pistacia lentiscus* fraîchement récoltés ; ont été séchés à l'air libre et à l'obscurité pendant 2 à 3 semaines dans une pièce aérée. Ils ont été broyés à l'aide d'un moulin à café pour les transformer en une pâte.

La pâte obtenue a été ensuite conservée hermétiquement dans des récipients en verre fermés et stockés au frais à l'abri de la lumière pour des utilisations ultérieures.

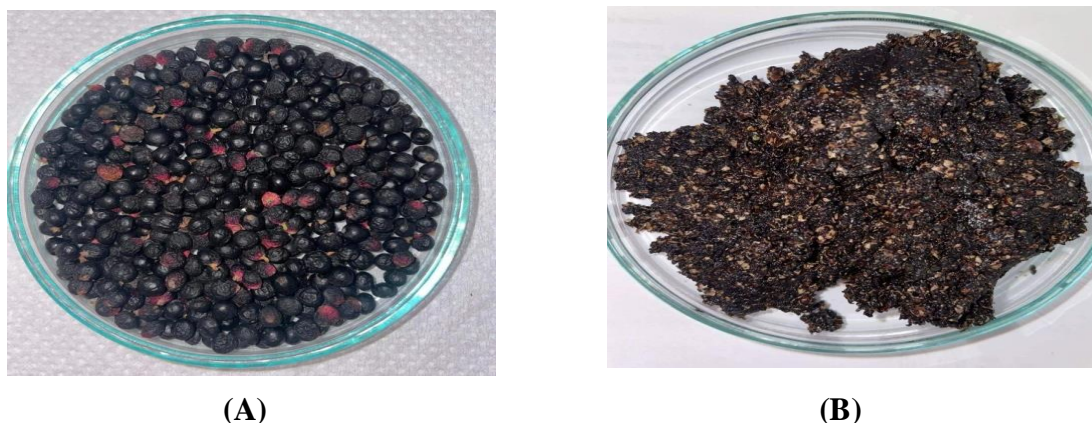


Figure 08 : Photographie originale des Fruits noirs de *Pistacia lentiscus* (A) : Fruits séchés ; (B) : Fruits broyés.

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus*

Le but de cette extraction est d'éliminer le maximum des huiles contenues dans les graines pistachier, afin d'utiliser les tourteaux delipidés pour l'extraction des métabolites secondaires.

II.1.1. Délipidation par soxhlet

L'extraction par soxhlet a été réalisée, pour cela 60 g de la pâte des fruits de *P. lentiscus* est introduite dans des cartouches en cellulose ; avant de placer cette dernière au niveau de l'extracteur de l'appareil. Un volume de 250 ml d'hexane a été mis dans un ballon à fond rond puis placé sur la plaque chauffante du soxhlet à une température de 40-50°C, jusqu'à l'épuisement de la coloration caractéristique de l'extrait. Une fois l'extraction terminée, le ballon à fond rond et la cartouche en cellulose ont été retirés et placés sous rotavapeur et hotte respectivement pour l'évaporation du solvant. L'extrait l'huileux a été conservé dans des flacons en verre ambré à -20°C jusqu'à utilisation. Par contre la poudre dilapidée par l'hexane a été utilisée pour l'extraction des polyphénols.

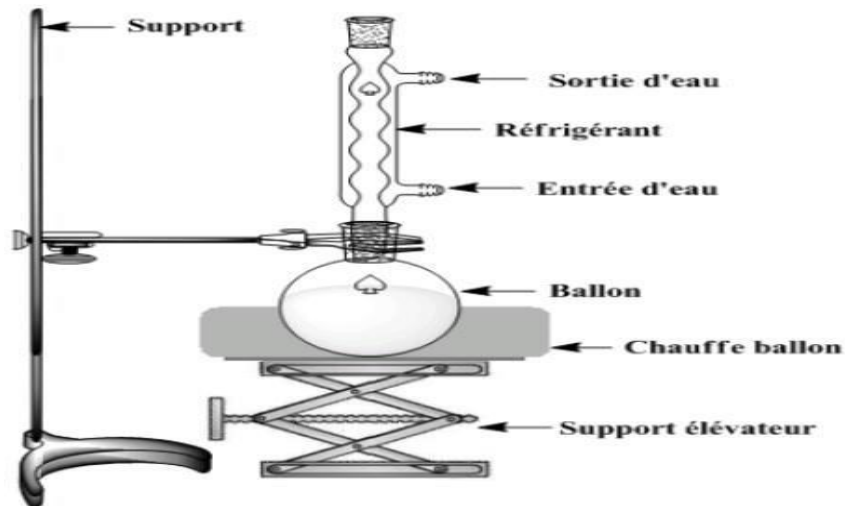


Figure 09 : Schématisation de l'appareil de Soxhlet



Figure 10 : Extraction de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* par l'appareil de Soxhlet (photo originale)

II.1.2. Préparation de l'extrait méthanolique

100 g de poudre delipidés de *Pistacia lentiscus* ont été soumises à une extraction par macération et sonication. Elle est mélangée à 500 ml du méthanol 80% (V/V) dans un rapport de solide/liquide de (1/5 ; P/V). Le mélange a été placé sur un agitateur magnétique à température ambiante pour favoriser l'extraction des composés phénoliques (Aissat et al., 2022). Ensuite, le mélange a été soumis à une sonication de 30 minutes à l'aide d'un sonicateur afin de renforcer l'extraction des composés phénoliques. La méthode d'extraction a

Chapitre I : Matériel et méthodes

été répétée cinq fois jusqu'à épuisement de la poudre. L'extrait obtenu a été ensuite filtré et le solvant a été éliminé par évaporation à l'aide d'un rota vapeur. Les extraits ont été séchés à 37°C dans une étuve, puis placés dans des boîtes de pétries en verre et conservés au réfrigérateur 4 °C jusqu'à ce qu'ils soient utilisés.

Le rendement d'extraction a été calculé en utilisant la méthode de **Stanojevic et al. (2009)**, qui consiste à diviser le poids de l'extrait obtenu après évaporation du solvant (g) par le poids de l'échantillon initial en poudre (g). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction} = \frac{P_f}{P^o} \times 100$$

Où : P_f : Poids de l'extrait sec (g)

P^o : Poids de la poudre du fruit initial (g)



Figure 11 : Etapes de la préparation de l'extrait méthanolique .

Chapitre I : Matériel et méthodes

II.2. Dosage des composés phénoliques

La quantité totale des composés phénoliques présente dans les extraits a été évaluée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, comme décrit précédemment par **Mocan *et al.*, (2016)**. En résumé, 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (1:10 avec de l'eau distillée) ont été mélangés avec 20 µl de chaque échantillon dans une plaque de culture à 96 puits, puis incubés à température ambiante. Après 3 minutes, une solution 80 µl de carbonate de sodium (7,5% P/V) a été ajoutée aux puits, suivie d'une nouvelle incubation. Après 30 minutes, l'absorbance du mélange a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

Afin de déterminer la teneur des extraits en phénols totaux, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme référence et les concentrations en phénols totaux sont exprimées en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait)

II.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en appliquant la méthode du chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) selon le protocole de **Maksimovič *et al.*, (2005)**. En résumé, 100 µl de l'échantillon ont été ajoutés à 100 µl d'une solution aqueuse d' $AlCl_3$ à 2% dans une plaque à 96 puits. Après une incubation de 15 minutes dans un endroit sombre à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec la quercétine, les teneurs en flavonoïdes ont été exprimées en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg eq EQ/g d'extrait).

II.4. Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais (environ 6 ml) ont été récupérés dans des tubes héparinés, au sein du laboratoire Central de Biologie au CHU Khalil Amrane de Bejaia, où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires (20-45 ans) n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

Chapitre I : Matériel et méthodes

II.5. Evaluation de l'activité anti-hémolytique, *in vitro*, de l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus* :

II.5.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min. Le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10 % (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique.

II.5.2. Evaluation de la cytotoxicité des extraits méthanolique du fruit de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis des globules rouges

Avant d'entreprendre le test de l'activité anti-hémolytique de l'extrait des fruits *Pistacia lentiscus*, un test de cytotoxicité est nécessaire, afin de cibler les concentrations à utiliser. En effet, 1,6 ml de différentes concentrations de l'extrait à tester (2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,06 ; 0,03 ; 0,01 mg/ml) ainsi que l'acide gallique, pris comme molécule de référence de composés phénoliques, ont été mélangées avec 0,4 ml de la suspension de globules rouges à 10 %.

Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 min, puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été effectuée à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 0,4 ml de la suspension de globules rouges et 1,6 ml d'eau physiologique (Contrôle -) ou de l'eau distillé (Contrôle +), à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse. (Shobana et Vidhya, 2016).

Le pourcentage d'hémolyse est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'hémolyse } = \frac{At}{Ac} \times 100$$

At : Absorbance de l'échantillon (test)

Ac : Absorbance de control (100 % d'hémolyse)

Chapitre I : Matériel et méthodes

II.5.3. Induction du stress par le chlorure de sodium

- **Mode opératoire**

Afin de déterminer la concentration de NaCl nécessaire pour induire la lyse des globules rouges, une procédure expérimentale a été suivie. Une suspension érythrocytaire de 100 μ l (10%) a été mélangée à 5 ml de solutions de NaCl à différentes concentrations allant de 0,3 ; 0,5 et 0,7. Ainsi qu'à un témoin négatif contenant une solution isotonique de NaCl à 0,9% et un témoin positif contenant de l'eau distillée. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante, le mélange a été soumis à une centrifugation de 30 minutes à une vitesse de 3000 tours par minute. Ensuite, 200 μ l du surnageant ont été mis dans une microplaque et la lecture d'absorbance est faite à 540 nm, à l'aide d'un lecteur microplaque (Louerrad *et al.*, 2016).

Cette méthode expérimentale permet de déterminer la concentration de NaCl requise pour provoquer la lyse des globules rouges en observant les variations de densité optique.

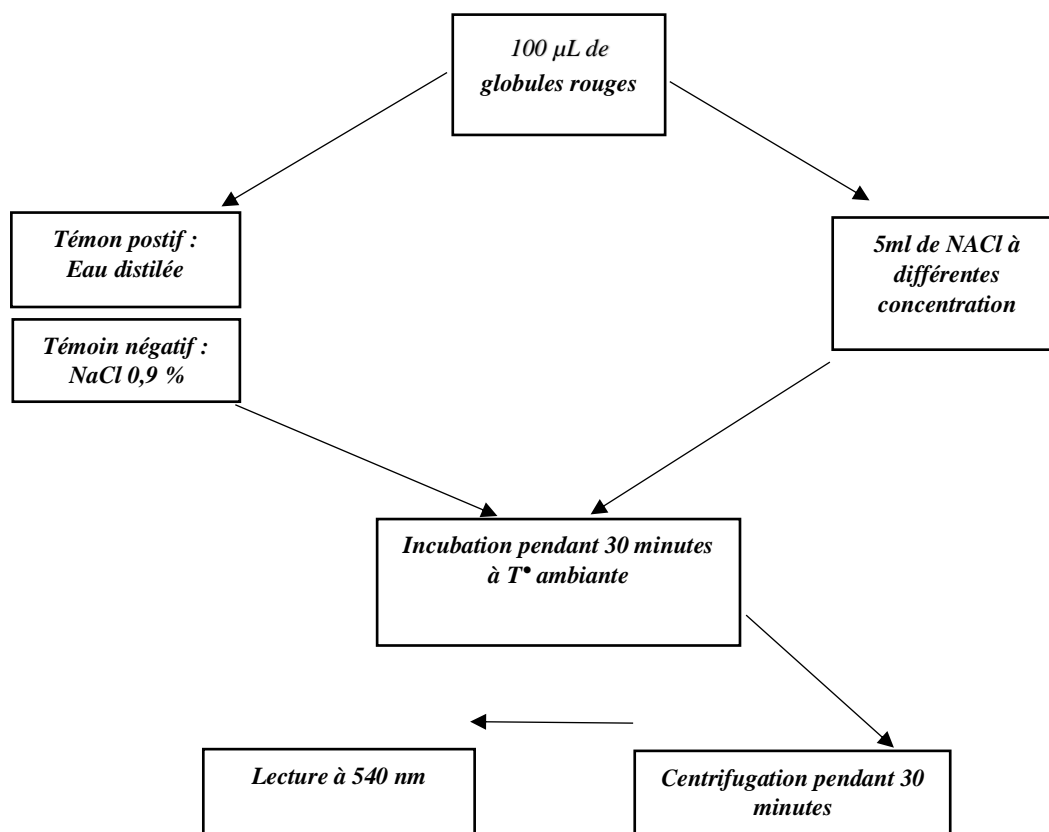


Figure 12: Procédure pour déterminer la concentration de NaCl nécessaire pour induire la lyse des globules rouges

Chapitre I : Matériel et méthodes

II.5.4. Evaluation de l'effet de l'extrait de *Pistacia lentiscus* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Cette technique repose sur la capacité de l'extrait à prévenir la destruction des globules rouges et la libération d'hémoglobine.

II.5.4.1. Mesure de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de *Pistacia lentiscus* induite par un stress osmotique

Le test se base sur l'effet de l'extrait de la plante étudiée sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique, selon le protocole de **Ganesh Gadamsetty et al. (2013)**. Dans des tubes à hémolyse, 0,5 ml de différentes concentrations de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* (2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,06 ; 0,03 ; 0,01 mg/ml) dissoutes dans de l'eau physiologique (pH 7.4 ; NaCl 0.9 %), 1,5 ml d'eau physiologique (NaCl, 0,9%) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0,35 %) ont été mélangés et incubés, à 37 °C pendant 30 min. Par la suite, un volume de 0,5 ml de la suspension des érythrocytes (10 %) a été rajouté pour chaque tube, enchainé d'une incubation à 37 °C pendant 30 min. Ensuite les tubes ont été centrifugés, à 3000 rpm pendant 5 min ; 200 µl du surnageant ont été mis dans une microplaque et la lecture d'absorbance est faite à 560 nm, à l'aide d'un lecteur microplaque.

L'acide gallique est utilisé comme molécule de référence, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% D' inhibition de l'hémolyse = [(Ac - At)/Ac] \times 100$$

Ac : absorbance de control

At : absorbance de l'échantillon (test)

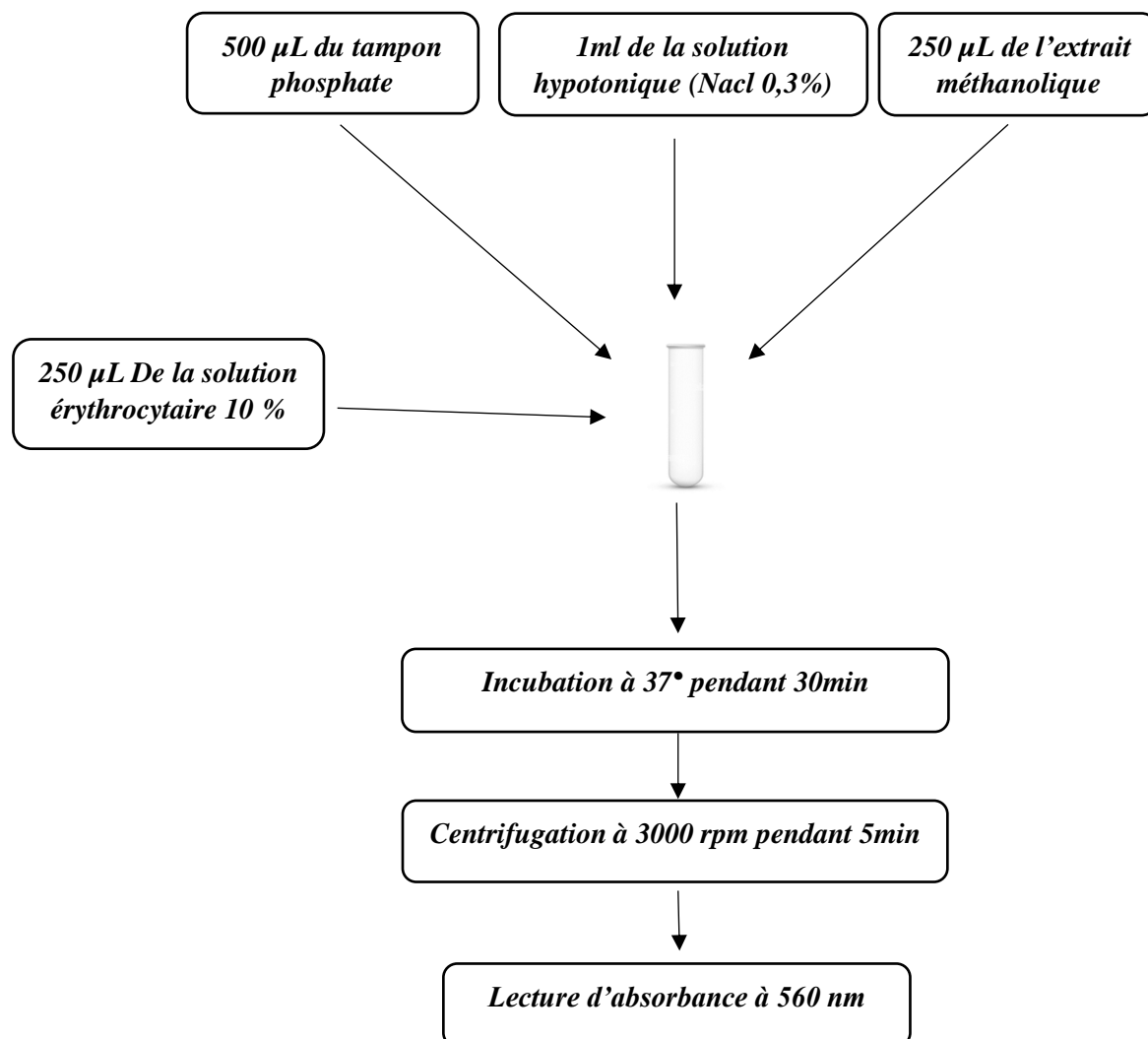


Figure 13 : Schéma récapitulatif du protocole du test anti hémolytique induit par hypotonie

II.5.4.2. Mesure de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de *Pistacia lentiscus* induite par un stress thermique

L'évaluation de l'activité protectrice de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis de l'hémolyse induite par un stress thermique est réalisée *in vitro* par la méthode décrite par **Sakat et al. (2010)**. 1ml d'extrait à différentes concentrations (2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,06 ; 0,03 ; 0,01 mg/ml) dissoutes dans de l'eau physiologique (pH 7.4 ; NaCl 0.9 %) est mélangé avec 1 ml de la suspension des globules rouges (10%). Le mélange réactionnel est

Chapitre I : Matériel et méthodes

incubé dans un bain-marie à 56°C pendant 30 minutes. Après incubation, les tubes sont immédiatement refroidis à l'eau froide, puis centrifugés pendant 10 minutes à 4°C et l'absorbance du surnageant est estimée à 540 nm avec un lecteur microplaque. La détermination du pourcentage de protection s'est faite en utilisant l'acide gallique comme anti-hémolytique de référence. L'évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'acide gallique a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour l'échantillon de plante. Parallèlement, un control positif a été réalisé en remplaçant l'eau physiologique par 1 ml d'eau distillée provoquant ainsi une hémolyse totale (100 %). Le pourcentage inhibition de l'hémolyse induite par la chaleur est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = (\text{Do1} - \text{Do2}/\text{Do1}) \times 100$$

Do1= Densité optique de la contrôle positive

Do2 = Densité optique de la solution test (extrait)

II.6. Activité antioxydante des différents extraits de *Pistacia lentiscus*

II.6.1. Activité scavenging du radical DPPH

- Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, également connu sous le nom de DPPH, est un radical libre violet stable en solution, présentant une absorbance caractéristique entre 512 et 517 nm. Lorsqu'il est réduit par un composé ayant des propriétés anti-radicalaires, il se transforme en diphényle picryl hydrazine de couleur jaune, ce qui entraîne la disparition rapide de sa couleur violette. L'intensité de cette couleur jaune est directement liée à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. Pour mesurer cette réduction, la spectrométrie UV-Visible est utilisée en suivant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Hara *et al.*, 2018).

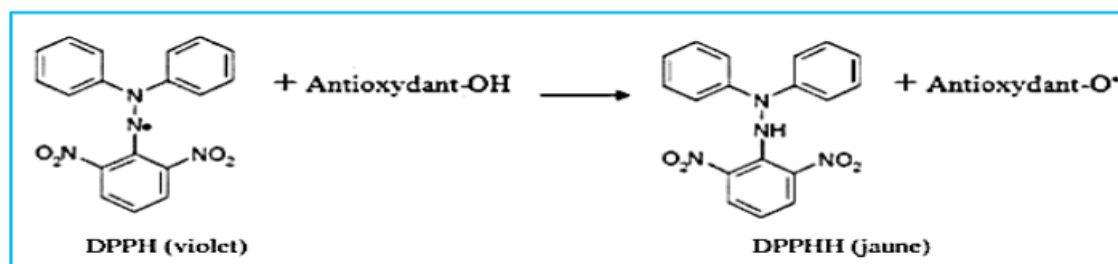


Figure 14 : Réduction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle en diphényle picryl hydrazin.

Chapitre I : Matériel et méthodes

• Protocole

La méthode DPPH a été réalisée selon le protocole décrit par **Ambarwati et al. (2018)**. Pour cela, 180 μl d'une solution de DPPH à 150 mM dans du méthanol ont été ajoutés à 20 μl de la solution d'échantillon ou de la solution standard préalablement dissoutes dans du méthanol à différentes concentrations (200, 100, 50, 25 $\mu\text{g/ml}$). Ce mélange a été agité pendant une minute dans une microplaque à 96 puits. Ensuite, les mélanges ont été incubés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à température ambiante.

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques à une longueur d'onde de 517 nm.

L'activité de capture du radical DPPH a été mesurée à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ DPPH} : \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100\%$$

A_c = Absorbance du contrôle

A_t = Absorbance de l'échantillon.

II.6.2. Activité scavenging du radical ABTS

• Principe

Le test de piégeage du radical ABTS est largement utilisé pour quantifier la concentration de radicaux libres. Il repose sur la neutralisation d'un radical-cation généré par l'oxydation du chromophore synthétique appelé acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•) (Figure 20). Cette réaction est surveillée par spectrophotométrie en mesurant les changements dans le spectre d'absorption (**Re et al., 1999**).

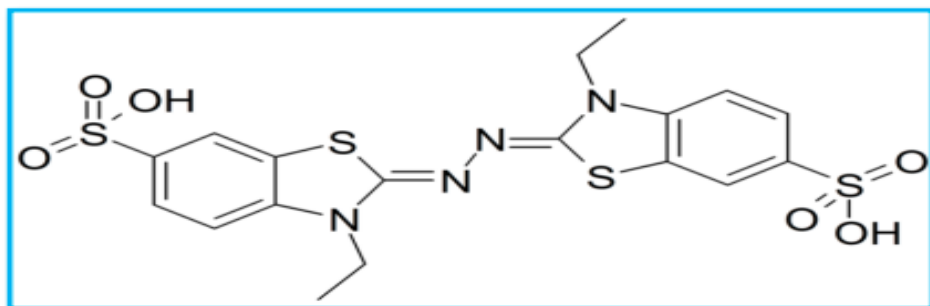


Figure 15 : L'acide 2,2'- azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•).

Chapitre I : Matériel et méthodes

• Préparation de la solution d'ABTS

Une solution d'ABTS a été préparée en dissolvant de l'ABTS dans de l'eau à une concentration de 7 mM. Pour générer le cation radical ABTS^{•+}, la solution d'ABTS a été mélangée avec du persulfate de potassium à une concentration finale de 2,45 mM. Le mélange a ensuite été laissé réagir dans l'obscurité à température ambiante pendant une durée allant de 12 à 16 heures. Cependant, en raison du rapport stœchiométrique de 1: 0,5 entre l'ABTS et le persulfate de potassium, l'oxydation de l'ABTS était incomplète. Il a fallu plus de 6 heures pour que l'absorbance atteigne son maximum et se stabilise. Le radical ABTS^{•+} ainsi formé était stable dans cette forme pendant plus de deux jours lorsqu'il était conservé dans l'obscurité à température ambiante.

• Protocole

La méthode ABTS décrite par **Roberta *et al.***, (1998), a été utilisée pour réaliser ce test. Pour cela, 180 µl de solution d'ABTS préparée ont été ajoutés à 20 µl de la solution d'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* ou de la solution standard (Acide gallique) dans une solution de NaCl à 0,9%. Différentes concentrations de l'extrait (200, 100, 50, 25 µg/ml) ainsi que de l'acide gallique (100, 50, 25, 12,5 µg/ml) ont été testées dans une microplaque à 96 puits, agitée pendant une minute. Les mélanges ont ensuite été incubés à l'abri de la lumière pendant 5 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques à une longueur d'onde de 734 nm.

II.7. Traitement statistique des résultats

Les résultats *in vitro* ont été présentés sous forme de moyenne ± l'écart type (SD) et moyenne ± SEM respectivement. Pour l'évaluation statistique, une analyse de la variance à sens unique (ANOVA) a été effectuée, suivie du test *t* de Dunnett's et tukey pour des comparaisons multiples des données non appariées. La signification statistique est exprimée comme **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; ns : non significatif. Les concentrations inhibitrices 50% (IC50) ont été calculées en utilisant le logiciel GraphPad Prism 9.1.0

Chapitre II

Résultats et discussions

Dans cette étude l'effet anti-hémolytique *in vitro* des fruits de *Pistacia lentiscus* a été testé dans le but de valider l'utilisation de ces derniers en médecine traditionnelle. Pour cela, l'extraction est une méthode préliminaire très importante. Le solvant d'extraction est le paramètre qui conditionne le type d'éléments qui vont être extraits. Si le solvant est polaire (comme l'eau), il va extraire les éléments hydrophiles comme : les sels minéraux, les composés ioniques, les composés organiques polaires et les polyphénols. A l'inverse, s'il est apolaire, il va extraire les éléments hydrophobes.

III.1. Teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique

La quantification des phénols totaux a été effectuée à l'aide de la méthode spectrophotométrique du Folin-Ciocalteu. La teneur en composés phénoliques des extraits a été calculée en utilisant une courbe d'étalonnage d'acide gallique et une équation de régression linéaire (**Annexe 1**) Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait). Quant au dosage des flavonoïdes, il a été réalisé à l'aide du chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) par une méthode colorimétrique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait brut (mg EQ/g extrait) en utilisant une équation de régression linéaire basée sur une courbe d'étalonnage de la quercétine. (**Annexe 2**)

	Rendement	Phénols totaux (mg Eq AG/g Extrait)	Flavonoïdes (mg Eq Q /g Extrait)
Extrait méthanolique	42,22 %	324,91±6,02	11,06±0,42

Eq : Equivalent, AG : Acide Gallique, Q : Quercétine. Les valeurs sont exprimées Moyenne \pm SD, (n=3).

Tableau III : Rendement, teneurs en phénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*.

L'étape d'extraction des composés phénoliques à partir du matériel végétal revêt une importance cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, et cela dépend du choix adéquat du solvant et de la méthode d'extraction qui préservent leurs propriétés biologiques (**Mahmoudi et al., 2013**). La structure chimique des composés, la taille des particules de l'échantillon, la durée d'extraction, les conditions de stockage et la présence d'interférents peuvent également influencer le processus d'extraction (**Naczka et Shahidi, 2004**).

Les résultats illustrés dans le **Tableau 2**, nous révèlent une forte teneur en composés phénoliques avec $324,91 \pm 6,02$ mg Eq AG /g d'extrait pour le fruit de *Pistacia lentiscus*. Ce résultat est plus élevé que ceux trouvés chez une autre espèce du genre *Pistacia* ayant donné $40,27$ mg Eq AT/g d'extrait (**Li et al., 2008**).

Aussi en comparaison avec d'autres études menées sur la même plante, la teneur en composés phénoliques que nous avons mesurée est plus élevée que celle rapportée par **Benhammou (2006)** et **Arab et al. (2014)**, qui ont démontré que le taux de phénols totaux dans l'extrait brut de *Pistacia lentiscus* peut atteindre jusqu'à $65,5$ mg EAG/g d'extrait sec.

Toutefois, il est important de noter que le réactif de Folin-Ciocalteu utilisé dans le dosage colorimétrique présente une spécificité limitée. Il est extrêmement sensible non seulement à la réduction des groupes hydroxyles des composés phénoliques, mais aussi à certains sucres et protéines, ce qui pourrait expliquer les différences significatives observées entre les extraits des différentes parties de la plante (**Vuorela et al., 2005**).

La méthode de chlorure d'aluminium est la plus utilisée pour le dosage des flavonoïdes.

L'incubation de l'extrait en présence du chlorure d'aluminium montre une coloration jaunâtre dont l'intensité varie en fonction de la concentration de l'extrait en flavonoïdes. L'extrait méthanolique a montré une concentration de $11,06 \pm 0,42$ Eq Q/g extrait. Ce résultat est comparable à ceux obtenus par **Luximon-Ramma et ses collaborateurs (2005)** ($6,02 \pm 3$ mg Eq quercétine/g extrait), suggérant ainsi la richesse de cette extrait en flavonoïdes.

Selon les résultats de **Zitouni et al. (2016)**, les extraits méthanoliques des feuilles, des tiges, des fruits et des racines de *Pistacia lentiscus* présentaient respectivement une teneur en phénols totaux de $216 \pm 20,6$ mg GAE/g MS, $121 \pm 3,3$ mg GAE/g MS, $103 \pm 2,3$ mg GAE/g MS et $30 \pm 1,2$ mg GAE/g MS. Les flavonoïdes totaux étaient quant à eux de $19 \pm 0,4$ mg CE/g MS, $16 \pm 0,7$ mg CE/g MS, $4 \pm 0,3$ mg CE/g MS et $4 \pm 0,1$ mg CE/g MS pour les mêmes organes, respectivement.

Quant à l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*, il a montré une teneur en phénols totaux de $93,53 \pm 1,68$ mg GAE/g extrait et une teneur en flavonoïdes totaux de $9,2 \pm 1,19$ mg CE/g extrait (**Azib et al., 2019**) ; ces valeurs sont plus faibles que celles de notre extrait méthanolique, et presque similaire de l'extrait méthanolique rapportées par **Hemma et al. (2018)**, qui indiquent une teneur en phénols totaux de $318,99 \pm 1,02$ mg GAE/g d'extrait et une teneur en flavonoïdes totaux de $30 \pm 0,04$ mg QE/g d'extrait.

Les variations des teneurs en polyphénols entre les différentes parties de la plante peuvent s'expliquer par une distribution inégale de ces composés. De plus, les conditions

d'extraction, les méthodes de conservation et l'exposition des extraits des différentes parties de la plante à la lumière peuvent également influencer la concentration en polyphénols (**Li et al., 2006**).

III.2. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de fruits de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis des globules rouges

Les résultats du test de cytotoxicité présentant l'évolution des pourcentages d'hémolyse des globules rouges, en fonction des concentrations de l'acide gallique et des extraits méthanoliques des fruits de *Pistacia lentiscus*, sont illustrés dans les **Figures 21 et 22**. Le taux d'hémolyse a été évalué pour chaque concentration, en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine échappée des (GRH), en comparaison au contrôle positive (solution de GR dans eau distillée).

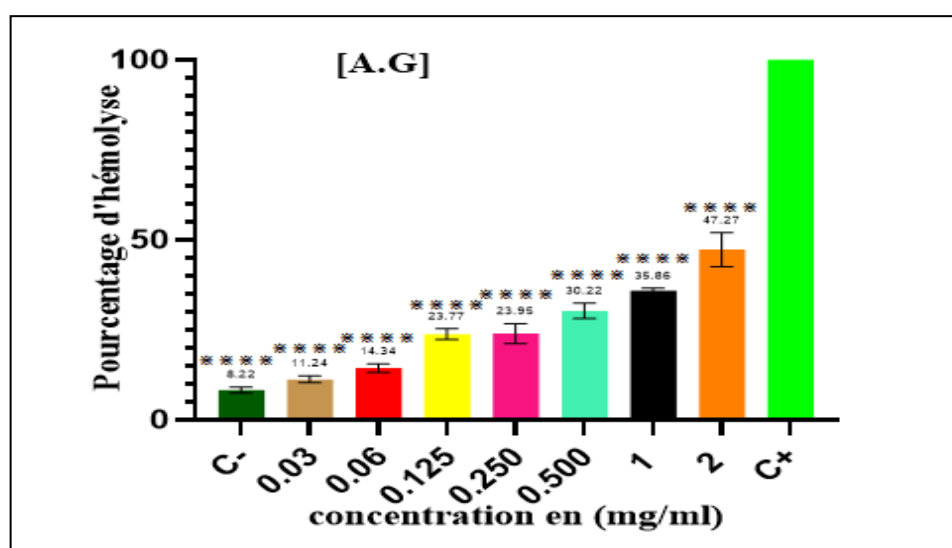


Figure 16: Effet de l'acide gallique sur l'hémolyse des globules rouges en fonction des concentrations. Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne \pm SEM (n=4). ****P<0,0001 comparé au contrôle positif (préparé avec de l'eau distillée, présente le taux d'hémolyse à 100%). One-way ANOVA, suivie par le test *t* de Dunnett's a été utilisé pour l'analyse statistique.

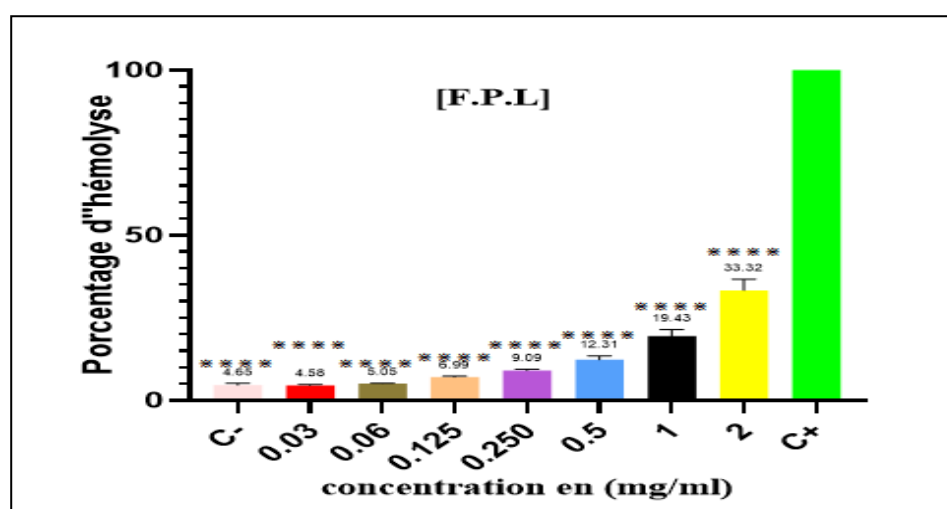


Figure 17 : Effet de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* sur l'hémolyse des globules rouges en fonction des concentrations. Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne \pm SEM (n=4). ****P<0,0001 comparé au contrôle positif (préparé avec de l'eau distillée, présente le taux d'hémolyse à 100%). One-way ANOVA, suivie par le test *t* de Dunnett's a été utilisé pour l'analyse statistique.

Ces résultats révèlent que le traitement des globules rouges par l'acide gallique provoque une augmentation très hautement significative du taux d'hémolyse, en fonction des concentrations. Cette molécule de référence présente un effet hémolytique significatif à

partir de 0.03 mg/ml avec un pourcentage d'hémolyse de 11,24 %. L'effet hémolytique maximum est aux alentours de 47,27 % à une concentration de 2mg/ml, qui reste inférieur comparativement à l'hémolyse totale, induite par l'eau distillée.

L'effet de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* sur les hématies a été évalué jusqu'à une concentration maximale de 2 mg/ml pour déterminer sa cytotoxicité.

D'après la **Figure 22**, il est évident que la présence des hématies en contact avec les différentes concentrations de l'extrait méthanolique ne provoque qu'une hémolyse modérée, comparé a acide gallique. Les pourcentages d'hémolyse obtenus montre des différences très hautement significative ($P < 0.0001$) entre les différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* et le contrôle+. En effet, l'extrait des fruits exhibe un taux d'hémolyse de 4,38 % à 0,03 mg/ml pour atteindre l'hémolyse maximale (33,32 %) à 2 mg/ml.

III.3. Evaluation de l'effet des extraits méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Afin d'évaluer l'effet anti-hémolytique des extraits méthanolique des fruits *Pistacia lentiscus*, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Deux tests ont été sélectionnés, le premier qui consiste à incuber une suspension de globules rouges humains, traitée avec une solution hypotonique, et le deuxième qui consiste à les incuber à une température élevée, avec les extraits ou la molécule de références l'acide gallique.

III.3.1. Activité anti-hémolyse hypotonique

Les résultats de l'expérience d'hémolyse *in vitro* effectuée sur les globules rouges humains par les différentes concentrations de NaCl (**Figure 23**) indiquent que le niveau maximum d'hémolyse a été observé dans une concentration de 0,3 %, avec un pourcentage de $94,37 \pm 6,68\%$.

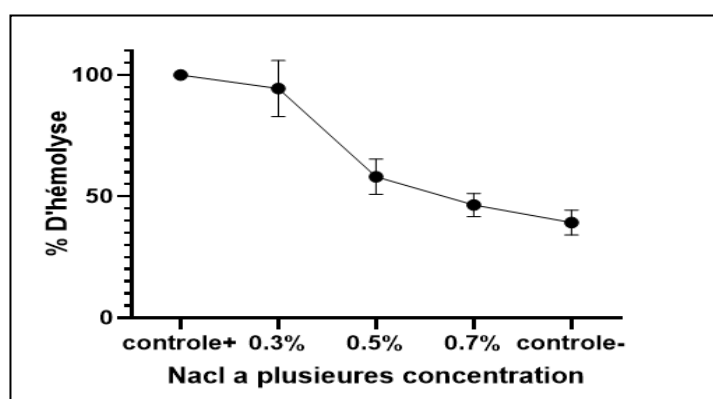


Figure 18 : Taux d'hémolyse induite par différentes concentrations du NaCl.

La concentration de NaCl influence le taux d'hémolyse des globules rouges, avec une activité hémolytique maximale observée dans un milieu hypotonique à 3 mg/ml. En revanche, dans un milieu isotonique, à partir d'une concentration de 5 mg/ml, le taux d'hémolyse diminue jusqu'à atteindre un minimum à une concentration de 7 mg/ml. Lorsqu'un érythrocyte est exposé à un milieu hypotonique, l'eau pénètre dans la cellule, provoquant progressivement une déformation des érythrocytes. Au-delà d'un certain seuil, la membrane se rompt, entraînant la libération de l'hémoglobine intracellulaire dans le milieu environnant (hémolyse) (**Barascud et al., 1998**).

Les taux de protection des cellules érythrocytaires par l'extrait méthanolique contre l'hémolyse ont été évalués en utilisant la densité optique (DO) pour mesurer la libération d'hémoglobine dans le surnageant. **La figure 24** présente les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse induite par un stress hypotonique en fonction des différentes concentrations de l'extrait méthanolique.

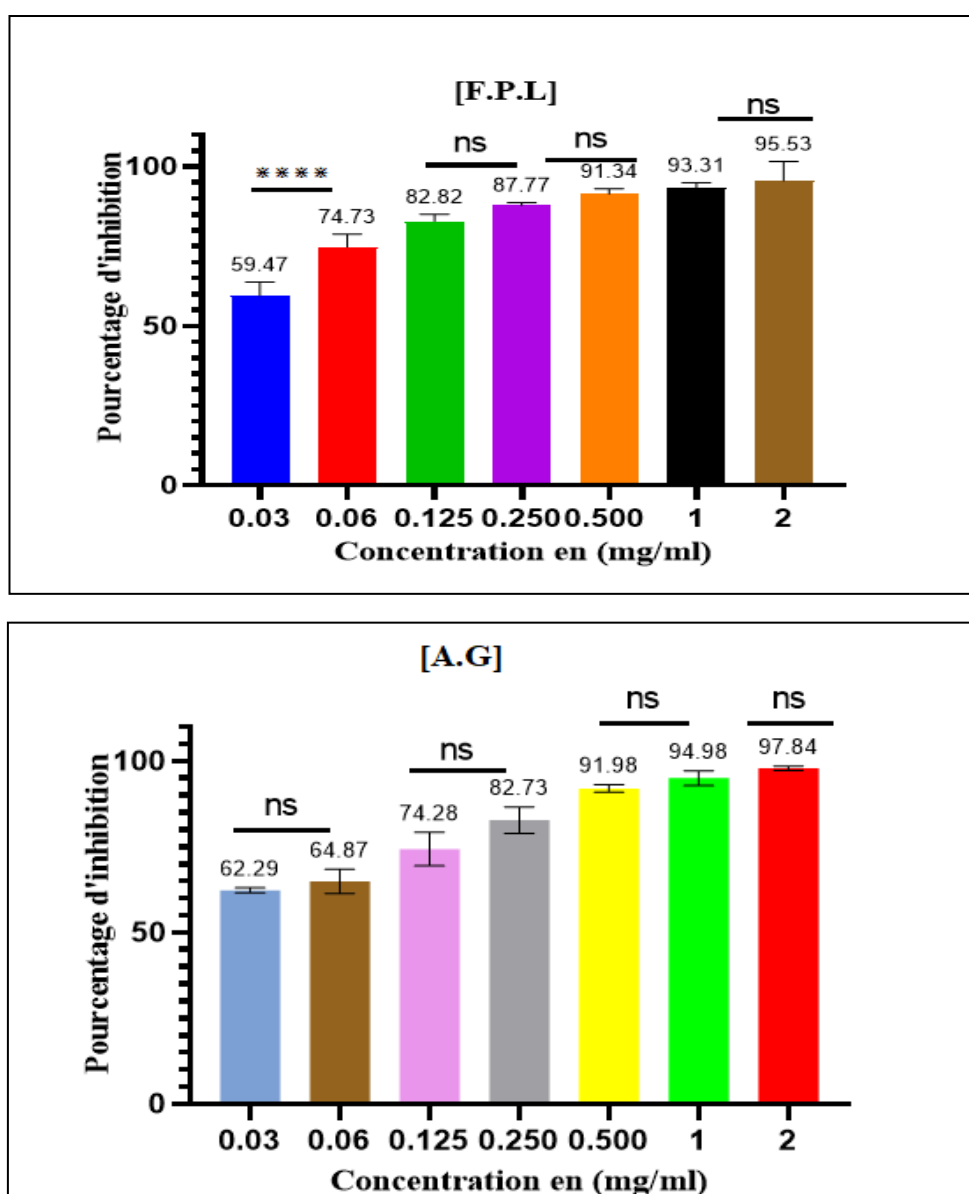


Figure 19 : Effet de l'extrait éthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* et de l'acide gallique sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par hypotonie, en fonction des concentrations. Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne \pm SEM (n=4). ns : Non significatif, *P<0,05 ****P<0,0001 (comparaison de chaque concentration à la précédente) présente la différence significative entre les pourcentages de protection. One-Way ANOVA, suivie par le test de comparaison multiple Tuckey a été utilisé pour l'analyse statistique.

Par ailleurs, l'effet protecteur de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*, contre l'hémolyse des globules rouges, provoqué par hypotonie, est significatif à la concentration de 0,03 mg/m (59,47 %) et atteint un pourcentage maximum de 95,53 % à une concentration de 2 mg/ml (**Figure 24**) avec une $IC_{50} = 11,2 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$.

En comparaison, l'acide gallique utilisé comme référence, il montre une différence non significatif entre toutes les concentration et une augmentation similaire du taux d'inhibition

d'hémolyse, avec des valeurs allant de $62,29 \pm 0,35 \%$ à $0,03 \text{ mg/ml}$ et $97,84 \pm 0,64 \%$ à 2 mg/ml , avec une $IC_{50} = 8,6 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$.

On constate clairement que l'extrait méthanolique des fruits et l'acide gallique présentent des effets inhibiteurs d'hémolyse des globules rouges, presque semblables aux différentes concentrations utilisées.

III.3.2. Activité anti-hémolyse induite par le stress thermique

L'étude de l'activité anti-hémolytique *in vitro* a été réalisée selon la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains. L'évaluation de la stabilité membranaire induite par un stress thermique a été déterminée par la mesure de la libération d'hémoglobine à 560 nm pour chaque concentration d'extrait méthanolique. Les résultats obtenus sont présenté selon les graphes suivant :

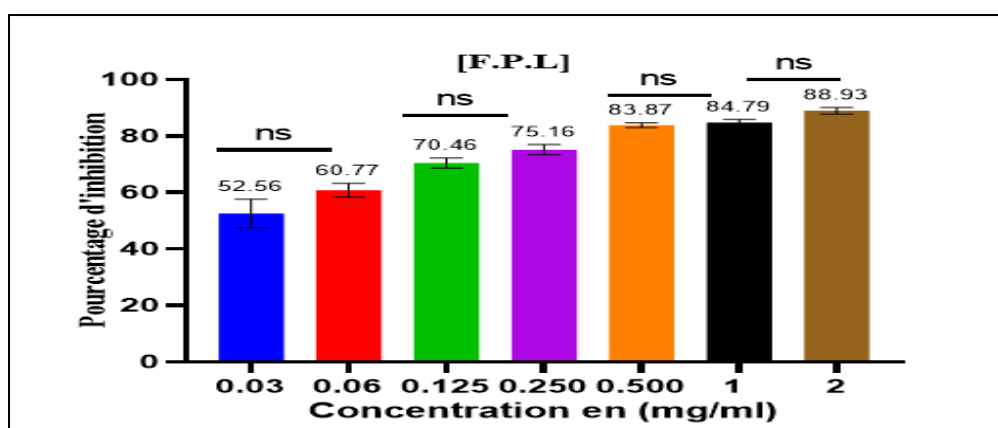


Figure 20: Effet de l'extrait éthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par un stress thermique, en fonction des concentrations. Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne \pm SEM ($n=4$). ns : Non significatif ; $**P < 0,001$ (comparaison de chaque concentration a la précédente) présente la différence significative entre les pourcentages de protection. One-Way ANOVA, suivie par le test de comparaison multiple Tuckey a été utilisé pour l'analyse statistique.

L'analyse statistique des résultats de l'activité hémolytique induite par la chaleur à 56°C , montre une différence non significative entre les différentes de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*. Les résultats déduisent que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse augmente en fonction des différentes concentrations de l'extrait. En effet à la concentration $0,03 \text{ mg/ml}$ le taux d'inhibition d'hémolyse est de $(52,56 \pm 5,77\%)$ pour atteindre un taux maximal de $(88,93 \pm 1,16\%)$ à la concentration 2 mg/ml , avec un $IC_{50} = 20,81 \pm 3,98 \mu\text{g/ml}$.

III.4. Activité antioxydante

III.4.1. Effet scavenging du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2,diphényl-1picrylhydrazyle (DPPH). Son principe est de mesurer l'absorbance et la réduction de DPPH en présence d'un antioxydant à une longueur d'onde de 515 nm. Les résultats obtenus de l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique du fruit de *Pistacia lentiscus* et de l'acide gallique sont présentés dans la **figure 26**.

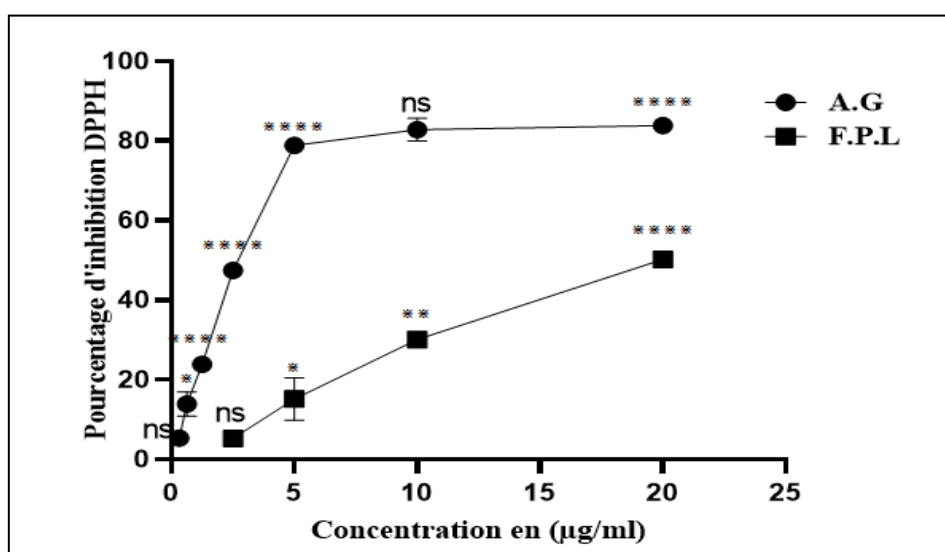


Figure 21: Activité antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits *Pistacia lentiscus* et l'acide gallique contre le radical DPPH. FPL : Fruits *Pistacia lentiscus* AG : Acide gallique. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm écart type (n=3). ns : Non significatif ; *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ****P<0,0001 (comparaison de chaque concentration à la précédente) présente la différence significative entre les pourcentages de protection. One-Way ANOVA, suivie par le test de comparaison multiple Tuckey a été utilisé pour l'analyse statistique.

En analysant les courbes présentées dans la figure ci-dessus, nous observons une augmentation de l'activité antioxydante de l'extrait testé en fonction des concentrations utilisés. Afin de comparer les échantillons, nous avons déterminé les valeurs d'IC50 de l'extrait et du standard. Ces valeurs sont exprimées en µg/ml (**voir le tableau 3**).

Une valeur d'IC50 plus faible indique une plus grande puissance antioxydante de l'extrait (**Hebi et Eddouks, 2016**).

	L'extrait methanolique du fruit de <i>Pistacia lentiscus</i>	Acide Gallique
IC50 (µg/ml)	24.21± 0,149	3.127 ±0,303

Tableau IV : Valeurs de l'IC 50 de l'extrait methanolique du fruit de *Pistacia lentiscus* et de l'acide gallique.

L'extrait méthanolique du fruit de *Pistacia lentiscus*, présente une bonne activité anti-radicalaire avec un pourcentage d'inhibition contre le radical DPPH de 50,22% à une concentration de 20 µg/ml (IC50 = 24,21 µg/ml). Cependant, cette activité est inférieure à celle de l'acide gallique, qui présente un pourcentage de piégeage des radicaux de 82,78% à une concentration de 10 µg/ml (IC50 = 3,127 µg/ml).

Dans notre étude, l'extrait méthanolique s'est avéré plus efficace que celui issu des feuilles de *Pistacia lentiscus*, qui présentait un IC50 de 0,166 ± 0,001 mg/ml (**Zitouni, 2017**).

Dans une étude réalisée par (**Atmani et al., 2009**), il a été démontré que la fraction aqueuse des feuilles de *P. lentiscus* L. récoltées à Bejaia présente une activité antioxydante puissante en termes de neutralisation du radical DPPH. La concentration IC50 obtenue était de 0,004 mg/ml.

III.4.2. Activité de piégeage du radical ABTS

La figure suivante illustre les pourcentages d'activité antioxydante de l'extrait de *Pistacia lentiscus* et du standard.

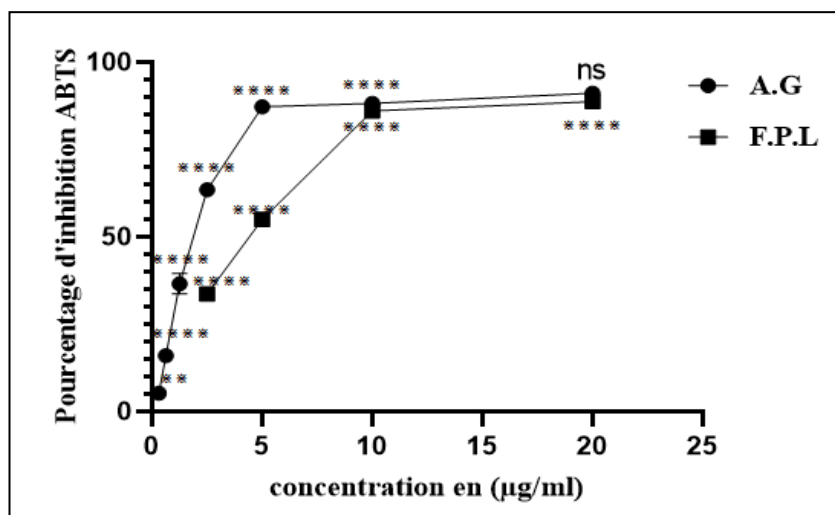


Figure 22 : Activité antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits *Pistacia lentiscus* et l'acide gallique contre le radical ABTS. FPL : Fruits *Pistacia lentiscus* AG : Acide gallique. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm écart type (n=3). **P<0,01, ****P<0,0001 (comparaison de chaque concentration à la précédente) présente la différence significative entre les pourcentages de protection. One-Way ANOVA, suivie par le test de comparaison multiple Tuckey a été utilisé pour l'analyse statistique.

L'activité de piégeage du radical ABTS augmente proportionnellement à la concentration croissante de l'extrait testé. L'extrait étudié a démontré une efficacité remarquable dans la neutralisation du radical libre ABTS, même à de faibles concentrations. En effet, l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* et l'acide gallique montrent une différence hautement significatif entre toutes concentrations et présente une activité antioxydante presque similaire entre eux ; avec un pourcentage d'inhibition de $86,08 \pm 1,54\%$ et une $IC_{50} = 1,541 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$ à une concentration de $10 \mu\text{g/ml}$. De même, l'extrait lui-même affiche un pourcentage d'inhibition de $88,19 \pm 0,84\%$ avec une $IC_{50} = 1,901 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$ à la même concentration.

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable des substances à activités biologiques et pharmacologiques très variées (Hirasa et Takemasa, 1998). Les extraits bruts, naturels isolés à partir des plantes utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être des ressources de nouveaux médicaments (Karmakar et al., 2011). Une plante médicinale locale (*Pistacia lentiscus*) a fait l'objet de cette étude. C'est une plante largement utilisée dans le

traitement de la grippe, les douleurs abdominales, l'infection de la gorge, l'eczéma, l'herpès, le rhumatisme, ulcère de l'estomac,... (**Bozorgi et al., 2013**). *Pistacia lentiscus*, comme toutes les plantes utilisées à des fins thérapeutiques, peuvent à fortes doses présenter une menace pour la santé de l'homme. Pour déterminer ces doses, un test de cytotoxicité a été réalisé sur les globules rouges humains.

Les globules rouges sont couramment utilisés comme modèle en biologie cellulaire et moléculaire pour étudier la cytotoxicité *in vitro* en raison de leur facilité d'isolement et de leur simplicité. Ils offrent une précieuse opportunité d'étudier les transports ioniques transmembranaires à travers leur membrane érythrocytaire (**Wajeman et al., 1992**).

Les résultats obtenus en présence de l'acide gallique, ont présenté un pourcentage d'hémolyse des érythrocytes qui ne dépassé pas ~ 50% en fonction des concentrations. L'acide gallique, comme exemple de molécule de composés phénoliques, a présenté un effet hémolytique aux concentrations élevées. Cela pourrait être incité par son comportement auto-oxydatif. En effet, des études ont indiqué que l'acide gallique à de fortes concentrations pourrait être rapidement oxydé, *in vivo* (37°C et pH 7.4), induisant l'augmentation de l'intensité radicalaire et le changement du potentiel redox à un état plus oxydatif. L'acide gallique produit alors une grande quantité d'espèces réactives oxygénées (ERO), qui peuvent endommager la membrane plasmique des globules rouges et détériorer sa fonction (**Mohanty et al., 2014 ; Hsieh et al., 2015**).

La toxicité des fruits de *Pistacia lentiscus* observée, pourrait être expliquée par la présence de l'acide gallique, qui est l'un des constituants essentiel et majoritaire de cette plante, que ça soit sous sa forme libre ou liée (sous formes de dérivés galloyls liés au glucose ou à l'acide quinique) (**Romani et al., 2002**).

Les concentrations de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*, n'ont pas révélé d'effet hémolytique, ils ont été testés pour leur efficacité anti-hémolytique via le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains.

Cependant, certaines études, telles que celle de **Remila et al. (2015)**, n'ont pas révélé de toxicité des extraits des fruits de *Pistacia lentiscus* sur la lignée cellulaire THP-1. Ces résultats pourraient s'expliquer par la présence de molécules encombrantes dans l'extrait brut, mais lorsqu'elles sont dissociées, certaines fractions ont présenté une cytotoxicité.

Selon **Gangwar et al. (2014)**, cet effet protecteur contre l'hémolyse est attribué à la capacité des composés bioactifs d'interagir avec les lipides présents dans la monocouche

externe de la membrane érythrocytaire, sans pénétrer profondément dans la partie hydrophobe de la membrane. D'autres études ont également signalé un effet protecteur contre l'hémolyse associé à l'incorporation de composés bioactifs d'origine végétale dans la partie hydrophobe de la membrane érythrocytaire (**Bonarska-Kujawa et al., 2011**).

L'activité anti-hémolytique *in vitro* de nos extraits a été évaluée en utilisant un modèle érythrocytaire, qui présente des similitudes membranaires avec d'autres membranes cellulaires, facilitant ainsi leur isolement à partir du sang (**Shobana et Vidhya, 2016**).

De nombreux rapports précédents prouvent que des enzymes lysosomiales s'échappent de l'intérieure de leurs limites et pénètrent dans l'environnement extracellulaire pendant l'inflammation aiguë et chronique. Il est apparu qu'une approche simple à l'interruption du processus inflammatoire pourrait être l'utilisation des agents stabilisant la membrane du lysosome, en empêchant la libération des enzymes hydrolytiques par les lysosomes, qui causent la dégradation tissulaire et l'augmentation du stress oxydatif au sein des organes, des tissus. Ces enzymes endommagent les macromolécules des membranes cellulaires et induisent la peroxydation lipidique, aboutissant à la destruction de ces membranes, menant ainsi à l'activation de protéines responsables de l'inflammation, provoquant alors la production des espèces oxydatives (**Oyedapo et al., 2015**).

Les membranes plasmiques demeurent des structures fluides et le maintien de la fluidité est un pré requis, pour la fonction, la viabilité, la croissance et la reproduction des cellules (**Portier et al., 2007**). De ce fait, des modèles divers ont été proposés et employés pour examiner l'efficacité anti-hémolytique des extraits de plantes, notamment le test de stabilisation de la membrane de globule rouge, via l'exposition des érythrocytes à une solution hypotonique, ainsi qu'à une température élevée, en raison de la ressemblance de la membrane de lysosome avec celle du globule rouge (**Reshma et al., 2014 ; Oyedapo et al., 2015**). Le test de fragilité osmotique, basé sur la résistance des globules rouges à la lyse suite à une diminution de la concentration de NaCl, est utilisé pour diagnostiquer certaines maladies hématologiques telles que l'anémie hémolytique et la sphérocytose (**Aiche-Iratni, 2016**). L'exposition des érythrocytes aux substances nuisibles, comme le moyen hypotonique aboutit à la lyse de sa membrane accompagnée par l'hémolyse et l'oxydation d'hémoglobine. Dans un milieu isotonique, les hématies tentent de maintenir un équilibre entre la concentration ionique du milieu extracellulaire et celle du milieu intracellulaire. Dans une solution hypotonique, l'afflux d'eau est plus grande que la fuite ainsi, l'eau pénètre dans l'hématie (selon son gradient de concentration), qui se gonfle et devient sphérique. La

membrane cellulaire est relativement inélastique et rompt après seulement une augmentation de volume très légère, l'hématie subit ainsi l'hémolyse, qui provoque l'ouverture des pores membranaires, dénommés pores d'hémolyse, laissant la membrane cellulaire (le fantôme) vide (**Habibur Rahman et al., 2015**).

Ce phénomène a été observé à des concentrations de NaCl inférieures à 0,3%. Des résultats similaires ont été obtenus avec des extraits de Citrus (**Larab et Makhoulf, 2017**) et de la mauve (**Aberrane et Mehalla, 2019**) montrant une inhibition de l'hémolyse hypotonique. (**Chopade et al., 2012**) ont démontré que l'incorporation de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, dans la membrane des érythrocytes améliore leur stabilité contre la lyse hypotonique.

Le maintien de la forme de disque des globules rouges est important pour leur fonction. D'après **Ham et Shen, (1948)**, les érythrocytes exposés à des températures élevées, se divisent progressivement et changent leur morphologie pour devenir sphériques. Sous ces conditions, les hématies perdent leur capacité à résister à l'hémolyse en perturbant leurs membranes plasmiques. En effet, la température élevée favorisera un taux accru de glycolyse, qui accélérera la baisse du pH et ainsi, l'inhibition de synthèse de l'ATP, qui est utilisé pour le transport d'ions à travers la membrane cellulaire (principalement Na⁺, K⁺ et Ca²⁺), la phosphorylation des protéines membranaires et les principales réactions de la glycolyse (**Majester-Savornin, 1991**).

Les globules rouges matures sont particulièrement vulnérables aux dommages oxydatifs en raison de leur exposition constante à des niveaux élevés d'oxygène. De plus, le fer libéré de l'hémoglobine peut être nocif car il agit comme un catalyseur dans la production de radicaux hydroxyles par les réactions de Fenton (**Aiche – Itratni, 2016**).

L'inhibition de l'hémolyse peut également être attribuée à l'interaction des protéines de l'extrait avec celles des érythrocytes, qui jouent un rôle biologique important. Cette interaction peut avoir un effet protecteur sur les érythrocytes en raison de l'interaction entre les protéines de l'extrait et les lipides membranaires des érythrocytes, qui sont une cible d'oxydation. Ainsi, les protéines de l'extrait peuvent contribuer à protéger les érythrocytes contre la destruction et l'oxydation (**Chaudhuri et al., 2007**). Les travaux de (**Fiorentini et al., 2015**) ont mis en évidence l'implication des polyphénols dans le traitement des affections liées à une perturbation de l'expression des aquaporines.

De nombreuses études ont mis en évidence l'impact des composés phytochimiques sur le complexe membranaire, révélant un site de liaison des polyphénols sur le site actif de la NADH-cytochrome réductase. Cette interaction entraîne l'activation du complexe, comme démontré par **Kesharwani et al. (2012)** et **Fatima et al. (2013)**. Ces travaux ont également exploré le mécanisme réactionnel de l'action des polyphénols, tels que le resvératrol et la quercétine, sur les complexes membranaires impliqués dans le maintien de l'équilibre oxydatif.

Dans une étude portant sur l'effet protecteur des polyphénols sur les érythrocytes hypercholestérolémiques, **Duchnowicz et al. (2012)** ont observé une modulation de la concentration de cholestérol membranaire, conduisant directement à une amélioration de la fluidité membranaire.

Les polyphénols peuvent également se localiser dans la couche lipidique externe de la membrane. Cette interaction entraîne une réorganisation des lipides membranaires et une modification du degré de déshydratation. La présence des polyphénols dans la phase lipidique hydrophile de la membrane induit une modulation de la fluidité membranaire, comme décrit par **(Bonarska-Kujawa et al., 2014)**. **(Pawlikowska-Pawlega et al., 2003)** ont proposé un modèle de liaison de la génistéine, un flavonoïde (A), avec la tête hydrophile des phospholipides membranaires.

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait de notre plante est meilleur que celui de l'extrait aqueux de la plante *Haloxylon scoparium* **(Louerrad et al., 2016)**. Cette dernière donné un pourcentage d'inhibition de 39,85% pour une concentration de 1 mg/ml. Donc l'extrait aqueux de cette plante possède une capacité faible pour protégé la membrane contre les dommages causés par l'agent oxydant NaCl.

Les résultats de l'activité anti-hémolytique en présence des extraits méthanolique de pistacia lentiscus contre la chaleur indiquent que quelque soient les dilutions de l'extrait, à la température 56C° la protection est améliorée.

La dénaturation des protéines est un phénomène où les protéines subissent la perte de leur structure tertiaire et secondaire en réponse à un stress externe ou à l'exposition à des composés tels que des acides forts, des bases, des concentrations élevées de sels inorganiques, des solvants organiques ou la chaleur. La dénaturation conduit généralement à la perte de la fonction biologique des protéines dénaturées **(Marliyah et Ananthi, 2015)**. *Malva silvestris*, plante médicinale avec un effet protecteur contre la lyse érythrocytaire

induite par la chaleur, qui peut s'expliquer par l'interaction de l'extrait avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation (**Lepock et al., 1989**). D'après **Gershfeld et Murayama, (1988)** les érythrocytes exposés à des températures relativement élevées, se déforment progressivement pour devenir sphériques. Ainsi la perturbation de leurs membranes diminue leur capacité à résister à l'hémolyse.

Le DPPH• (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyle) est fréquemment utilisé pour évaluer la capacité des substances à agir comme des piègeurs de radicaux libres ou des donneurs d'hydrogène, permettant ainsi d'évaluer leur activité antioxydante (**Milardović et al., 2006**). La capacité de piégeage de ces radicaux libres est directement liée à la concentration de la substance antioxydante présente (**Luis et al., 2006**).

Le radical cation ABTS•+ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) est généré par l'oxydation de l'ABTS en présence de persulfate de potassium. Ce radical présente une couleur bleu-vert et absorbe la lumière à une longueur d'onde de 734 nm (**Re et al., 1999**).

L'un des avantages de l'ABTS réside dans sa capacité à être solubilisé à la fois dans des milieux aqueux et organiques. Par conséquent, l'activité antioxydante de l'échantillon étudié peut être attribuée à la présence de molécules hydrophiles ou lipophiles, en fonction du solvant utilisé (**Arnao, 2001**). L'ajoute d'un antioxydant, qui agit en tant que donneur de H• (hydrogène), à une solution du radical cation ABTS•+ entraîne sa réduction. L'atome d'azote concerné piège un H•, formant ainsi l'ABTS+, ce qui entraîne une diminution de la couleur et de l'absorbance du mélange (**Lien et al., 1999**).

Notre résultat est bien meilleure que l'extrait éthanolique de l'espèce *Scabiosa comosaa* un faible pouvoir anti radicalaire avec une valeur d'IC50 de 223,5 mg/ml (**Ma et al., 2016**)

Cette activité n'est pas spécifique à un composé phénolique particulier, mais elle est largement répartie parmi les différentes familles de polyphénols, notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques. Ces composés sont responsables de la capacité antioxydante, qui s'explique par leur structure chimique contenant un nombre élevé d'atomes d'hydrogène, de groupements hydroxyles et de noyaux phényles. Ces caractéristiques leur permettent de capturer les radicaux libres en neutralisant leurs électrons célibataires (**Calliste et al., 2001 ; Torres de Pinedo et al., 2007 ; Wojdyło et al., 2007**).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la protection contre certaines maladies en raison de leur capacité à interagir avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Fleuriet *et al.*, 2005**). Selon les résultats de **Barbouchi *et al.*, (2020)** obtenus à partir de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* par la méthode de réduction des radicaux libres DPPH, il a été observé que l'extrait aqueux présentait la plus grande activité de piégeage des radicaux libres. Les extraits méthanoliques, quant à eux, avaient une activité de piégeage des radicaux libres moins importante que celle de l'extrait aqueux (**Barbouchi *et al.*, 2020**). Cependant, d'autres chercheurs ont montré que l'extrait méthanolique présentait une activité de piégeage des radicaux libres plus élevée par rapport à l'extrait aqueux (**Topçu *et al.*, 2007**).

La richesse des extraits de *Pistacia lentiscus* en composés phénoliques notamment l'acide gallique et les flavonoïdes à savoir la quercétine et la myricétine, pourrait contribuer à l'effet anti-hémolytique prouvé dans cette étude. Plusieurs recherches ont rapporté l'effet de quelques molécules appartenant à la famille des flavonoïdes et rapportée dans la composition chimique des fruits de *Pistacia lentiscus*, sur l'inhibition de la réaction inflammatoire par la inhibition de la cyclooxygénase et la lipooxygénase comme la quercétine et la myricétine, l'inhibition de l'expression d'iNOS ainsi que la production de l'oxyde nitrique (**Hwang *et al.*, 2009**). D'une autre part, les flavonoïdes sont connus par leur activité antioxydante grâce à leurs groupements hydroxyles fortement réactifs. Ils exercent cette activité en provoquant l'arrêt de l'augmentation de la microviscosité des membranes des érythrocytes, induite par la peroxydation lipidique.

En effet, ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres, susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement (C-H) situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés de la membrane, en piégeant, inactivant et stabilisant les radicaux libres (radicaux hydroxyles (OH·), anions superoxydes (O·) et radicaux peroxylipidiques), formant ainsi des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques qui peuvent renforcer les effets délétères, par la production des radicaux hydroxyles (OH·) (**Ghedira, 2005 ; Chaudhuri *et al.*, 2007 ; Mladěnka *et al.*, 2011**). Ces antioxydants naturels possèdent aussi un effet anti-hémolytique, en stabilisant la membrane des globules rouges contre la lyse hypotonique, maintenant ainsi leur intégrité membranaire (la distribution asymétrique des phospholipides) (**Chaudhuri *et al.*, 2007**).

Conclusion générale

Conclusion

Conclusion :

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules bioactives, ayant montré leurs efficacités dans le traitement de diverses pathologies, tout en prévenant l'apparition des effets secondaires observés, lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Pistacia lentiscus possède un pouvoir pharmacologique, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. L'activité anti-hémolytique de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* a été évaluée, via le test de stabilisation de la membrane des globules rouges, par induction de l'hémolyse en exposant ces derniers à un milieu hypotonique et à un stress thermique.

Les résultats des tests hypotoniques et du stress thermique ont démontré l'efficacité de l'extrait de fruits de *Pistacia lentiscus* dans la protection des globules rouges contre l'hémolyse. Cette activité anti-hémolytique peut être attribuée à la présence des composés bioactifs, tels que les polyphénols et les flavonoïdes.

De plus, les tests antioxydants (ABTS et DPPH) ont révélé une forte capacité de l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus* à neutraliser les radicaux libres, démontrant ainsi leur potentiel en tant qu'agents antioxydants puissants. Cette capacité antioxydante est essentielle pour lutter contre les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène, contribuant ainsi à la prévention de diverses maladies liées au stress oxydatif.

Cette étude a démontré que les fruits de *Pistacia lentiscus* présentent un potentiel prometteur en tant que source naturelle d'agents anti-hémolytiques et antioxydants. Ces résultats suggèrent que l'inclusion de ces fruits dans l'alimentation pourrait offrir des bienfaits pour la santé en prévenant les dommages oxydatifs et en préservant l'intégrité des globules rouges.

Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action des composés actifs et leur impact sur d'autres processus biologiques. De plus, des études *in vivo* sont nécessaires pour valider ces résultats préliminaires et évaluer l'applicabilité potentielle des extraits de *Pistacia lentiscus* dans des applications thérapeutiques.

**Référence
bibliographique**

A

- **Ait Said S., (2011).** Stratégies adaptatives des deux espèces du genre Pistacia (P-lentiscus et P- atlantica Desf). Aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité : Approches morpho-anatomique, phytochimiques et écophysiological. Thèse de Doctorat en biologie végétale. Université de Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou ,180.
- **Aouar, K., Benrokia, H., (2015).** Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de Pistacia lentiscus Mémoire de Master en analyses Biologiques et Biochimiques. Isolés à partir d'une plante médicinale Mémoire de Master en Toxicologie et Santé Université des Frères Mentouri Constantine, 2.
- **Alloune, R., Liazid, A. Tazerout, M., (2012).** Etudes comparatives de deux plantes oléagineuses locales pour la production du biodiesel en Algérie. Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa, 19 – 22.
- **Annie., Pierre J. (2014).** Guide des arbres et arbustes de France .éditions sud-ouest. Loire offset titoulet à Sainte–Etienne 42, 78-80.
- **Agarwal, A., Narain, S. (1991).** Global Warming in an Unequal World : A Case of Environmental Colonialism . New Delhi: Centre for Science and Environment. Reproduced with permission from the Centre for Science and Environment. India in a Warming World. Oxford University Press.
- **Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D., (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry. 112: 303–309.
- **Ait Youssef M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Edition ibis Press. Science et Technique. PP: 261
- **Azadmanesh, J., Borgstahl, G. (2018).** A Review of the Catalytic Mechanism of Human Manganese Superoxide Dismutase. 7(2) : 25.
- **Ambarwati, N.S.S., Elya, B., Malik, A., Hanafi, M., Omar, H. (2018).** Antibacterial Activity Against Bacillus subtilis and Antioxidant Properties of Methanol Extracts from Garcinia Latissima Miq . Leaves Int. J. Appl. Pharm. 10 1–4.
- **Arnao, M.B., Canoa, A., Acosta, M. (2001).** The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry, 73, 239-244.

B

- **Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews* 56, 317-333.
- **Brahmi, F., Haddad, S., Bouamara, K., Yalaoui-Guellal, D., Prost-Camus, E., Pais de Barros, J-P., Prost, M., Atanasov, A.G., Madani, K., Boulekbache-Makhlouf, L., Lizard, G. (2020).** Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops & Products*. 151.
- **Bouyahya, A., Assemian, I.C.C., Mouzount, H., Bourais, I., Et-Touys, A., Fellah, H., Benjouad, A., Dakka, N., Bakri, Y. (2019).** Could volatile compounds from leaves and fruits of *Pistacia lentiscus* constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs. *Industrial Crops & Products* 128:62-69.
- **Belfadel F. (2009).** Huil de fruits de *Pistacia lentiscus*, caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire de Magister en chimie organique. Université Mentouri Constantine, 8-11.
- **Ben Amor B. (2008).** Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs, texturation par détente instantanée contrôlée, Thèse d'obtention du diplôme de doctorat, 207 p.
- **Béraud J. (2014).** Le technicien d'analyses biomédicales, 2ème édition, P. 628-650, ISBN: 978-2-7430-1299_1.
- **Borochoy, H., Zahler, P., Wilbrandt, W., and Shinitzky, M. (1977).** The effect of phosphatidylcholine to sphingomyelin mole ratio on the dynamic properties of sheep erythrocyte membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 470, 382-388.
- **Burnat, P., Ceppa, F. (1998).** Les anémies hémolytiques. *Lyon pharmaceutique* 49:10-22.
- **Bellakhdar J. (1997).** contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au maroc : la situation actuelle, les produits' les sources du savoir. Tome I.
- **Benoît B. (2009).** La forêt mise en scène. Attente des publics et scénarios de gestion de la forêt. Coll. Questions contemporaines, L'Harmattan, Paris, 290 p.

- **Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M-H., Shams-Ardekani, M-R., Rahimi, R. (2013).** Five Pistacia species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*. 33p.
- **Balan E., Lazzeri M., Delattre S., Méheut M., Refson K. and Winkler B. (2007)** Anharmonicity of inner OH-stretching modes in hydrous phyllosilicates: assessment from first-principles frozen phonon calculations. *Physics and Chemistry of Minerals* 34 621-625.
- **Balasundram N., Sundram K., and Samman S. , 2006.** Phénolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential use Analytical, Nutritional and Clinical Methods. *Food Chemistry*. vol. 99. P : 191 - 203.
- **Bors, W., Heller, W., Michel, C., Saran., M. (1990).** Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*. 186 : 343-355.
- **Bachy, E., Houot, R., Dony, A. (2015).** Hématologie adulte et pédiatrique, *OncoHématologie (Ellipses)* 9,44-46.
- **Barbouchi, M.; Elamrani, K.; Elidriss, M.; and Choukrad, M. (2020).** A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus*. *Journal of king saud university*, 32:302-306

C

- **Chekchaki, N., Boumendjel, A., Debabi, S.H., Salem, L. Messarah, M., (2015).** Effets anti- inflammatoires de *Pistacia lentiscus* dans un modèle d'asthme expérimental, *Thérapeutiques / Revue française d'allergologie* 3, 266–273.
- **Costello, R., Costellor, V.B. (2010).** Anémie hémolytiques en réanimation chez adulte. Springer verlag. France, Paris.
- **Chakraborty, D., and Shah, B. (2011).** Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity of Piper betel leaf extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 192-199.

- **Cai, Y. Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q., and Corke, H. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 2872-2888.
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.
- **Carocho, M., Ferreira, I. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 51: 15-25.
- **Charrouf, Z., Hilali, M., Jauregui, O., Soufiaoui, M., Guillaume, D. (2007).** Separation and characterization of phenolic compounds in argan fruit pulp using liquid chromatography– negative electrospray ionization tandem mass spectroscopy. *Food Chem.*, 100, 1398- 1401.
- **Calliste, C. A., Trouillas, P., Allais, D. P., Simon, A., & Duroux, J. L. (2001).** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(7), 3321–3327.
- **Chaudhuri, S., A. Banerjee, K. Basu, B. Sengupta, and P. K. Sengupta. (2007).** Interaction of flavonoid with red blood membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic activity. *Int. J. Biol. Macromol.* 41: 42–48.

D

- **Djerrou Z. (2011).** Etude des effets pharmaco-toxicologique de plante médicinales d'Algérie : l'activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri Constantine, 156.
- **Dogan, Y., Baslar, S., Aydin, A., Mert, A.H. (2003).** A Study Of The Soil-Plant Interactions Of *Pistacia Lentiscus* L. Distributed In The Western Anatolian Part Of Turkey. *Acta Bot. Croat* 62 (2), 73–88.
- **Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A., Chouchane, N. (2013).** Anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts, *Industrial Crops and Products* 49, 879– 882.

- **Dodge, J.T., Mitchell, C., and Hanahan, D.J. (1963).** The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Archives of biochemistry and biophysics* 100, 119-130.
- **Dangles, O., Dufour, C., Manach, C., et al. (2001).** Binding of flavonoids to plasma proteins. *Methods in Enzymology*. 335: 319-333.

F

- **Furusawa, M., Tanaka, T., Ito, T., Nishikawa, A., Yamazaki, N., Nakaya, K.N., Matsuura, M., Tsuchiya, H., Nagayama, M. (2005).** Antioxidant activity of hydroxyflavonoids. *J.Health. Sci.* 51(3): 376-378, 2005.
- **Fleuriet, A., Jay-Allemand C., Macheix, J.J., (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et Universitaires Romandes* .121-216.
- **Freitas, V.d. (1995).** Recherches sur les tanins condensés: application à l'étude des structures et propriétés des procyanidines du raisin et du vin. (Bordeaux 2). 48, 909-930.

G

- **Gurpreet, D.M.D., Patricia, A., Cornett M.D., Lawrence M., Tierney M.D. (2004).** Hemolytic Anemia. *Am Fam Physician*, 69(11): 2599-2606.
- **Girasole, M., S, Dinarelli., G, Boumis. (2012).** "Structure and function in native and pathological erythrocytes: a quantitative view from the nanoscale." *Micron* 43(12) : 1273- 1286.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169.
- **Guignard J-L. (2001).** Botanique : systématique moléculaire. Collection Abrégés de pharmacie. Edition Paris : Masson.
- **Godic, A., Poljšak, B., Adamic, M., Dahmane, R. (2014).** The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014.

- **Geckil, H., Ates, B., Durmaz, G., Erdogan, S., Yilmaz, I. (2005).** Antioxidant, Free Radical Scavenging and Metal Chelating Characteristics of Propolis. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1(1), 27-31.
- **Gadamsetty, G., Maru, S., Sarada, N.C. (2013).** Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi*L. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 5(6):125 – 130.

H

- **Hatano, (2005).** *Encyclopédie de botanique et d'horticulture* (éd. française). Paris: éd Placedes victoires (sous licence de Random House Australia).
- **Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. (1993).** The correlation between active Oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med.* 16: 845- 850.
- **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002).** Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- **Haber, F. and Weiss, J. (1934).** The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 147, 332-351.
- **Hara K., Someya T., Sano K., Sagane Y., Watanabe T., Wijesekara R.G.S. (2018).** Antioxidant activities of traditional plants in Sri Lanka by DPPH free radical-scavenging assay. *Data in Brief.* 17, 870-875.
- **Hwang, H.W., Wentzel, E.A., Mendell, J.T. (2009).** Cell-Cell Contact Globally Activates Microrna Biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106(17): 7016--7021.

I

- **Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins.* 2ième édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296

J

- **James, O., and Alewo, I.M. (2014).** In vitro antihemolytic activity of gymnema sylvestre extracts against hydrogen peroxide (H₂O₂) induced haemolysis in human erythrocytes. *Am. J. Phytomed. Clin. Ther* 2, 861-869.

K

- **Kadali, V.N., Ramesh, T., Pola, S.R., Sandeep, B., and Divakar, T. (2016).** Evaluation of Anti hemolytic activity, antibacterial activity and phytochemical investigation of *Acalypha indica* methanolic leaf extract. *Evaluation* 1. 47, 3954-3962.
- **Kamal-Eldin, A., Budilarto, E. (2014).** Antioxidant activities and interactions of α - and γ -tocopherols within canola and soybean emulsions. *European journal of lipid science and technology*. Volume 116, Issue 7. 781-782.

L

- **Lux S. (1983).** Disorders of the red cell membrane skeleton: Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. *Metabolic basis of inherited disease*/[edited by] John B. Stanbury. 1573-1605.
- **Labie, D., and Elion, J. (2005).** Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC-Hématologie* 2, 220-239.
- **Lin, M.J., Tang, L.Y., Reddy, M.N., Shen, C.K.J. (2005).** DNA methyltransferase gene dDnmt2 and longevity of *Drosophila*. *J. Biol. Chem.* 280(2): 861--864.
- **Lepock J., Frey H.E., Bayne H.E. et Markus J. (1989).** Relationship of hyperthermia-induced hemolysis of human erythrocytes to the thermal denaturation of membrane proteins. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)*; 980(2), 191-201.
- **Laguerre, M., Mestres, C., Davrieux, F., Ringuet, J., Boulanger, R. (2007).** Rapid discrimination of scented rice by solid-phase microextraction, mass spectrometry, and

multivariate analysis used as a mass sensor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (4) : p. 1077-1083.

- **Lourrard, Y., Haddi, R., Harche, M.K. (2016).** Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale *Haloxylon scoparium* POMEL. *Journal of Bioresources Valorization* 1, 28.
- **Lien, E.J., Ren, S., Bui, H. H., Wang, R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 285–294.

M

- **Maamari--Habibatni Z. (2014).** *Pistacia lentiscus* L : Evaluation pharmacotoxicologique. Thèse de Doctorat en sciences. Université de Constantine I, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine, 138.
- **Mostafa, E., Mohammed, B., Mubarak, C., Mezni, F., Labidi, A., Msallem, M., Boussaid, M., Khouja, M.L., Khaldi, A. (2014).** Influence of harvest date on fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oils, *J. Mater. Environ. Sci* 5 (6). 1703-1708.
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, 192 p.
- **Magalhães, A.S., Silva, B.M., Pereira, J.A., Andrade, P.B., Valentão, P., and Carvalho, M. (2009).** Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology* 47, 1372-1377.
- **Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leurs réactivités avec les radicaux libres issus des alcools. Formation des depsides. Thèse doctorat, université de Limoges, p : 40-43.
- **Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Smolčić-Bubalo, A., Mornar, A. (2004).** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica Chemica ACTA, CCACAA*. 77 (1-2):361-366.
- **Manthey J-A. (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation* (New York, N.Y. : 1994) vol. 7,6 Pt 2 (2000): S29-34.

- **Muanda, F.N. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55-86.
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, collection biologie, Lausanne. In: *Le Journal de botanique*, n°33, 2006. *Le journal de botanique*. p. 94
- **Mohanty, J.G., Nagababu, E., Rifkind, J.M. (2014).** Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Frontiers in physiology*. 5 : article 84.
- **Mocan, A., Zengin, G., Crişan, G., Mollica, A. (2016).** Enzymatic assays and molecular modeling studies of Schisandra chinensis lignans and phenolics from fruit and leaf extracts. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 31, 200–210.
- **Maksimović, Z., Malencić, D., & Kovacević, N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Bioresource technology*, 96(8), 873–877.
- **Milardović, S., Ivekovic, D. and Grabarić, B. S. (2006).** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry* 68: 175–180.
- **Ma, J. N., Bolraa, S., Ji, M., He, Q. Q., & Ma, C. M. (2016).** Quantification and antioxidant and anti-HCV activities of the constituents from the inflorescences of *Scabiosa comosa* and *S. tschilliensis*. *Natural product research*, 30(5), 590–594.
- **Mladěnka, P., Macáková, K., Filipský, T., Zatloukalová, L., Jahodář, L., Bovicelli, P., Silvestri, I. P., Hrdina, R., Saso, L. (2011).** In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. *Journal of inorganic biochemistry*, 105(5), 693–701.

N

- **Nunes, C.D.R., Arantes, M.B., Menezes de Faria, P.S., Leandro da Cruz, L., Passos, M.D.S., Pereira de Moraes, L., Vieira, I.J.C., Barros de Oliveira, D. (2020).** Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules* 25 :3725 1-22.
- **Naczka, M., Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *J of Chromatography A*, 1054: 95–111.

P

- **Pisoschi, A.M., Pop, A. (2015).** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 97. P : 55-74.
- **Portier, K., Kirschvink, N., Fellmann, N., Coudert, J., Lekeux, P. (2007).** *Annals of medicine*. 151, 101-106

Q

- **Quezel, P., Santa, S. (1962-1993).** *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales*. Paris C.N.R.S 2, 1170.

R

- **Romani, P., Pinelli, C., Galardi, N., Mulinacci, M and Tattini. (2002).** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus L.* *Phytochem Anal.* 13(2), 79-86.
- **Reed, J. D. (1995).** Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. *J Animal Science*, 73:1516-1528.
- **Richter, G. (1993).** Les composés phénoliques. Métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie). Edition DUNOD: 317-339.
- **Rodríguez-Rodríguez., M.F., Sánchez-García, A., Salas, J.J., Garcés, R., Martínez-Force, E., (2013).** Characterization of the morphological changes and fatty acid profile of developing *Camelina sativa* seeds. *Ind. Crops Products*, 50: 673-679
- **Rameau J.C., Mansion, D., Dumé, G. (2008).** *Flore forestière française : région méditerranéenne (Vol.3)*. Forêt privée française. 2432P.
- **Rahou H. (2017).** Estimation quantitative des polyphénols totaux et évaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de *Lavandula* de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat
- **Roberta, Re., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, Issues 9–10, 1231-1237.

S

- **Spichiger, R-E., Savolainen, VV., Figeat-Hug, M., Jeanmonod, D., Perret, M. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes. 1 : 413 p.
- **Stocker, R., Keaney Jr, J-F. (2004).** New insights on oxidative stress in the artery wall. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 3, Issue 8. 1825-1834.
- **Sadrzadeh, S. M. H., Graf, E., Panter, S. S., Hallaway, P. E. & Eaton, J. W. (1984).** *J. Biol. Chem.* 259, 14354-14356.
- **Stanojević, L.; Stanković, M.; Nikolić, V.; Nikolić, L.; Ristić, D.; Čanadanovic-Brunet, J.; Tumbas, V. (2009)** Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Hieracium pilosella* L. Extracts. *Sensors*. 9, 5702-5714.
- **Sakat, S.S., Juvekar, A.R., Gambhire, M.N. (2010).** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 2, Issue 1. 146-155.

T

- **Tyler.V.E. (1999).** Phytomedicines: Back to the Future. *J. Nat. Prod* 62: 1589-1592.
- **Tahiri O. (2008).** Caractérisation de l'activité anti-bactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* et de *Fraxinus angustifolia*, Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER En Biologie Moléculaire. Université A. MIRA de Bejaia.
- **Thephinlap, C., Pangjit, K., Suttajit, M., and Srichairatanakool, S. (2013).** Antioxidant properties and anti-hemolytic activity of *Psidium guajava*, *Pandanous odoros* and *Rhinacanthus nasutus*. *Journal of Medicinal Plants Research* 7, 2001-2009.
- **Tassin C. (2012).** Paysages végétaux du domaine méditerranéen. IRD Éditions Marseille. 421 p.
- **Torres De Pinedo, A., Pen alver, P., & Morales, J. C. (2007).** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. *Food Chem*, 103, 55–61.

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

V

- **Vaya, J., Mahmood, S. (2006).** Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *Biofactors. IUBMB journals*. 28. Issue 3-4. 169-175

W

- **Wojdylo, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R. (2007).** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in 32 Selected Herbs. *Journal of Food Chemistry*, 105, 940-949.

Y

- **Yuan, X., Wang, J., Yao, H., and Chen, F. (2005).** Free radical-scavenging capacity and inhibitory activity on rat erythrocyte hemolysis of feruloyl oligosaccharides from wheat bran insoluble dietary fiber. *LWT-Food Science and Technology* 38, 877-883.

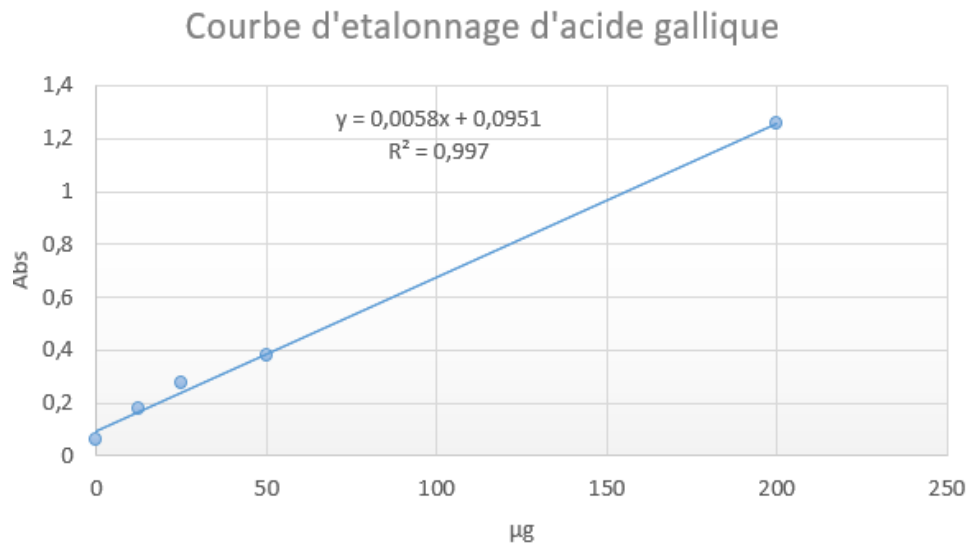
Z

- **Zohary M. (1952).** A Monographical Study of The Genus *Pistacia*, *Palestine Journal of Botany*. Jerusalem. Serie V. 187-228.

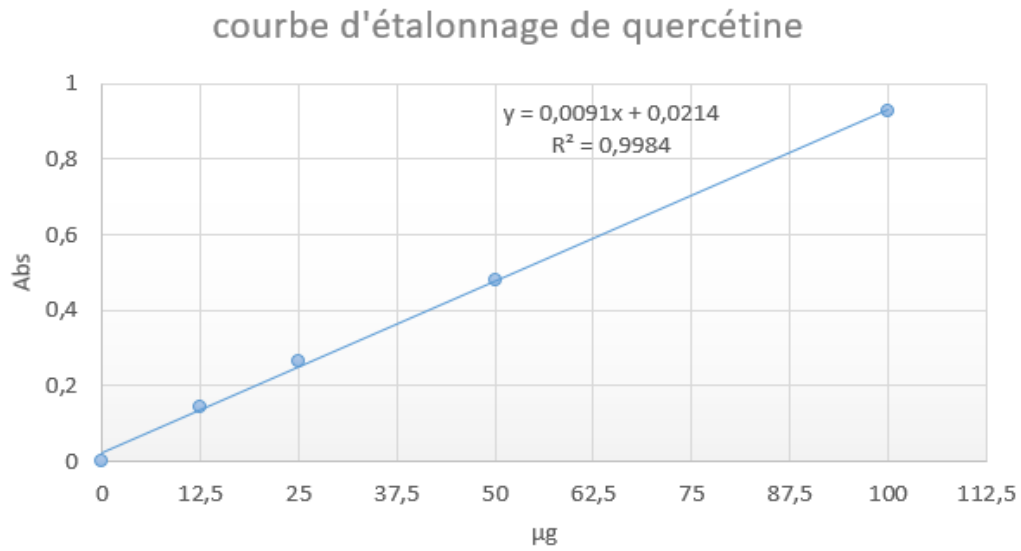
Annexes

Annexes :

Annexes 1 : Courbe d'étalonnage de l'AG



Annexes 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine



Résumé

Pistacia lentiscus est une plante médicinale appartenant à la famille des anacardiacees. L'extrait methanolique a été obtenus par macération jusqu'à l'épuisement en utilisant le méthanol a 80%. Les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes ont été déterminées par la méthode colorimétrique, ils ont montré la richesse de l'extrait méthanolique en ces composés. L'activité antioxydant *in vitro* évaluée en utilisant le test de l'activité scavenger du radical libre DPPH et ABTS^{°+}, qui varie considérablement ; l'extrait méthanolique présente un meilleur effet anti-radicalaire avec une IC50 de 24,21± 0,14 (µg/ml) et de 1,541 ± 0,36 (µg/ml) respectivement. L'activité anti hémolytique a été évaluée par la mise en contact des globules rouge humaine avec l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus*, le test de cytotoxicité réalisé à différentes concentrations a montré que ces derniers représentent un faible effet toxique. Le test anti hémolytique indique que l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* exerce un effet protecteur sur la membrane érythrocytaire contre le stress oxydant induit par hypotonie et le stress thermique.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, activité anti-hémolytique, stress thermique, hypotonie, cytotoxicité

Abstract

Pistacia lentiscus.L is a medicinal plant belonging to the family Anacardiaceae. The extracts were obtained through maceration until exhaustion using 80% methanol. The levels of total phenols and flavonoids, determined by the colorimetric method, have shown the richness of the methanolic extract in these compounds. The *in vitro* antioxidant activity, evaluated using the DPPH and ABTS^{°+} radical reduction methods, varies considerably; the methanolic extract exhibits a good anti-radical effect with an IC50 of 24.21± 0.149 (µg/ml) and 1.541 ± 0.368365 (µg/ml), respectively. The anti-hemolytic activity was evaluated by exposing human red blood cells to the extract derived from *Pistacia lentiscus* fruits. The cytotoxicity test conducted at various concentrations showed that they have a low toxic effect. The anti-hemolytic test indicates that the methanolic extract of *Pistacia lentiscus* fruit exerts a protective effect on the erythrocyte membrane against oxidative stress induced by hypotonicity and thermal stress.

Key words : *Pistacia lentiscus.L* , methanolic extract, thermal stress, oxidative stress, cytotoxicity

Pistacia lentiscus هو نبات طبي ينتمي إلى فصيلة Anacardiaceae. تم الحصول على المستخلص الميثانولي عن طريق النقع حتى الاستنفاد باستخدام 80% ميثانول. تم تحديد محتوى الفينولات والفلافونيدات الكلية بالطريقة اللونية، حيث أظهرت ثراء المستخلص الميثانولي في هذه المركبات. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر باستخدام مقايضة نشاط كاسح الجذور الحرة DPPH و ABTS^{°+}، والتي تختلف بشكل كبير؛ يقدم المستخلص الميثانولي تأثيراً أفضل مضاداً للجذور مع IC50 يبلغ 24.21 ± 0.14 (ميكروجرام/مل) و 1.541 ± 0.36 (ميكروجرام/مل) على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للانحلال عن طريق ملامسة خلايا الدم الحمراء البشرية لمستخلص ثمار *Pistacia lentiscus*، وأظهر اختبار السمية الخلوية الذي تم إجراؤه بتركيزات مختلفة أن الأخير يمثل تأثيراً سميّاً منخفضاً. يشير اختبار مضاد الانحلال إلى أن المستخلص الميثانولي لثمار *Pistacia lentiscus* له تأثير وقائي على غشاء كريات الدم الحمراء ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن نقص التوتر والإجهاد الحراري.