### 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 Biologie Physico-Chimique

Filière : Sciences Biologiques Option : Biochimie Appliquée



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

### **MASTER**

## **Thème**

# Détermination du pouvoir antioxydant, *In vitro* des fruits de *Pistacia lentiscus*

### Présenté par : Sadi Celina & Moussaoui Thinhinane Soutenu le : 13 juillet 2022

Devant un jury composé de :

M<sup>me</sup> Benloukil M. MAA Présidente
M Atmani D. Professeur Encadrant
M<sup>me</sup> khireddine-Remila S. MCB Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

## Remerciements

Nos vifs remerciements au Dieu le tout puissant pour tout ...

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre promoteur **Mr Djebbar Atmaní**, qui nous a permis de bénéficier de son encadrement, ses conseils qu'il nous a prodigués, sa patience, sa confiance ; qu'il nous a témoignés et qui ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail.

Nos remerciements s'entendent également à Mr Aissat ghiles, Naima, Radia et Amina qui nous ont vraiment aidé.

Nous voudrons également remercier les membres de jury qui ont bien voulu juger ce travail :

Mme Benloukil M, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.

Mme khireddine-Remila S, qui a accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont plus particulièrement à nos familles qui ont su nous soutenir tout au long de nos études.



## Dédicace

A Dieu, le clément et le miséricordieux, pour sa grâce. Puisse Allah le tout puissant m'éclairer de sa lumière divine.

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

A mon chère père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifie ses conseils et ses encouragements.

A mes très chères frères: Hicham et Aghiles.

A l'âme de ma très chère grand-mère et mon cher grand père et ma très chère tante Djamila.

A ma grande famille, chacun avec son nom.

A tous mes chères amís et collègues : Sabrina, Amíne, Yamína, Kenza, Ríma, Samía, Yousra, Amel, Soundous...

A ma chère collège Tinhinan qui m'a accompagné durant ce travail et partagé avec elle des bons moments.

En fin à toute personne qui est chère au cœur et qui m'aidé de près ou de loin.



## Dédicace

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

A Ma raison de vivre, mes très chers parents Mourad & Rachida pour leur amour, leurs sacrifices, leur encouragement, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes sœurs : Sabrína, Nawel et Anía.

A mes frères : Djílalí, Yacíne, Younes, Amír et Samy.

A mes chers cousins et cousines : Sarah, katía, célina, Fatima.

A toute ma famílle paternelle Moussaouí, et à ma famílle maternelle Aoudí.

A la mémoire de mon grand-père Mekhlouf et ma grand-mère Zahra que dieu les accueille dans son vaste paradis.

A mes chers amís que j'aime beaucoup : Amíne, Aímad, Mohamed et Ghíles, Cylia , Síhem, Zahra, Fatíma, Nawel, Wezna, Thísírí, Hakíma et Meríem.

A ma chère collègue Celina avec qui j'ai partagé le travail et les bons moments.





Sommaire
Remerciements
Dédicace
Sommaire
Liste d'abréviation
Liste des tableaux
Liste des figures
Introduction générale1
Chapitre I
Synthèse Bibliographique
I.1. Pistacia lentiscus
I.1.1. Généralités
I.1.2. Classification taxonomique
I.1.3. Description botanique
I.1.4. Répartition géographique
I.1.5. Usage pharmaceutique et effet thérapeutique de <i>Pistacia lentiscus</i>
I.2. Généralités sur les métabolites secondaires
I.2.1. Caractéristiques des composés phénoliques
I.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques
I.2.3. Classification des composés phénoliques
I.2.3.1. Acides phénols simples
I.2.3.2. Flavonoïdes
I.2.3.3. Tanins
I.3. Activités antioxydants
I.3.1. Stress oxydatif8
I.3.2. Espèces réactives de l'oxygène
I.3.3. Principales sources des ERO
I.3.3.1. Sources endogènes des ERO
I.3.3.2. Sources exogènes des ERO
I.3.4. Défenses antioxydants

## Sommaire

### Chapitre II

#### Matériel et méthodes

II.1. Préparation de la poudre végétale	13
II.1.1. Récolte du matériel végétal	13
II.1.2. Séchage et broyage	13
II.1.3. Préparation des extraits	13
II.2. Dosage des composés phénolique	14
II.2.1. Dosage des phénols totaux	14
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	14
II.3. Détermination des activités antioxydants	15
II.3.1. Test de la capacité antioxydant totale (TAC)	15
II.3.2. Test du pouvoir réducteur	15
II.3.3. Test de blanchissement du $\beta-carot$ è $ne$ couplé à l'auto-oxydation de	l'acide
linoléique	16
Chapitre III	
Résultats et discussion	
III.1. Extraction	18
III.1.1. Taux d'extraction	18
III.2. Dosage des composés phénoliques	18
III.2.1. Dosage des polyphénols totaux	18
III.2.2. Dosage des Flavonoïdes	19
III.2.3. Mesure du Pouvoir Réducteur	21
III.2.4. Blanchissement du $\pmb{\beta}-\pmb{carot}$ è $\pmb{ne}$ couplé à l'auto-oxydation de l'acide line	léique
22	
Conclusion et perspectives	24
Références bibliographiques	27
Anneves	35

#### Liste d'abréviation

#### Liste d'abréviation

Al Cl<sub>3</sub> Chlorure d'aluminium

ERO Espèces réactives de l'oxygène

Fe Cl<sub>3</sub> Chlorure ferrique

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Peroxyde d'hydrogène

**HO**• Radical hydroxyle

K<sub>3</sub>fe (CN) 6 Hexacyanoferrate de potassium

LDL Low density lipoprotein

Mg EAG/g Milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme

Mg EQ/g Milligrammes équivalent de la Quercétine par gramme

NO Monoxyde d'azote

O<sub>2</sub>•- Anion superoxyde

OMS Organisation mondiale de la santé

**ONOO** Peroxynitrite

TAC Total antioxydant capacité

**UV** Ultraviolet

NADPH Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

## Liste des tableaux

### Liste des tableaux

Tableau I : Noms vernaculaires de Pistacia lentiscus	3
Tableau II: Taxonomie de Pistacia lentiscus	3
Tableau ■: Principales classes des acides phénols simples	7
Tableau IV: Principales classes des flavonoïdes	8
<b>Tableau V:</b> Principales classes des tanins	8

## Liste des figures

## Liste des figures

Figure 1: Photographie de Pistacia lentiscus
Figure 2: Répartition géographique de Pistacia lentiscus dans le monde5
Figure 3 : Teneur en phénols totaux de l'extrait de fruits de Pistacia lentiscus
Figure 4 : Teneur de flavonoïdes de l'extrait du fruit de <i>Pistacia lentiscus</i>
Figure 5 : Mesure de l'activité antioxydante totale de l'extrait de fruits Pistacia lentiscus.
Figure 6 : Mesure du pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de fruits de Pistacia
lentiscus21
Figure 7 : Courbe représente le pourcentage d'inhibition du $\beta$ -carotène (%) en fonction
des concentrations de l'extrait méthanolique de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> (µg/ml) 23



#### Introduction générale

Depuis des siècles, les plantes médicinales sont considérées comme une source majeure des produits utilisés en médecine alternative. Le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation, son efficacité ainsi que ses bienfaits incontestables. Ainsi on peut se soigner par les plantes et mettre au service ses propriétés préventives et curatives (**Chabrier**, **2010**). D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 65% de la population a recours à la médecine traditionnelle (**Nunes** *et al.*, **2020**).

Nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs sont souvent liés aux métabolites secondaires des plantes médicinales, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, mais essentiellement comme des antioxydants pour la lutte contre le stress oxydatif (**Bourgaud et al., 2001**).

Pistacia lentiscus est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiacées, et fait partie des plantes qui sont riches en composés phénoliques (**Brahmi** et al., 2020). Cette plante est largement utilisée par la population locale dans la médecine traditionnelle à des fins diverses antihypertenseur, gastro-intestinal, hépatique et urinaire (**Boutemine** et al., 2018; Pachi et al., 2020). Elle possède plusieurs activités pharmacologiques notamment hypoglycémiques, antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Bouyahya** et al., 2019).

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des fruits de *Pistacia lentiscus*. Cette étude est subdivisée en trois parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique regroupant la présentation botanique et phytochimique de la plante *Pistacia lentiscus*, et les principales informations sur les notions des composés phénoliques et l'activité antioxydant de cette plante.

La deuxième partie de notre mémoire décrit le matériel et les méthodes utilisées (extraction et l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante).

La troisième partie qui est la dernière expose l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion, et nous achevons notre travail par une conclusion générale.

# Chapitre I Synthèse Bibliographique

#### I.1. Pistacia lentiscus

#### I.1.1. Généralités

Le nom *Pistacia lentiscus* donné à cette plante lui vient du mot latin « pistakia », constitue une altération du mot « foustak », nom arabe de l'espèce principale, et lentiscus vient du mot latin « lentiscus » nom de l'arbre au mastic (**Garnier et al., 1961**). L'espèce *Pistacia lentiscus* possède plusieurs noms vernaculaires selon les langues (Tableau I).

Tableau I: Noms vernaculaires de Pistacia lentiscus (Bougherara, 2015).

Langue	Noms	
Berbère	Tidekth, amadagh	
Arabe	Edharw	
Français	Arbre au matisc, lentisque pistachier	
Anglais	Masctick tree	
Espagnol	Lentisco	
Italien	Lentischio	

#### I.1.2. Classification taxonomique

Le lentisque appartient à la famille des Anacardiacées qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces (**Bozorgi et** *al.*, **2013**),(tableau **I**I ).

Le lentisque est également appelé arbre au mastic en référence à la résine appelée mastic qui coule des troncs et branches de la plante (**Abdleldjelil**, **2016**).

Tableau II: Taxonomie de Pistacia lentiscus d'après Maameri, 2014.

Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Genre	Pistacia
Espèce	Pistacia lentiscus L

#### I.1.3. Description botanique

Pistacia lentiscus est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres d'hauteur, à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise. Selon More et White (2005) Pistacia lentiscus est caractérisée par :

Ecorce : rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps.

Branches: tortueuses et pressées, forment une masse serrée.

**Feuilles :** persistantes, composées avec 4 à 10 paires de folioles elliptiques et lancéolées, elles sont vertes foncées lavées de pourpre.

**Fleurs :** très petites de 2-3 mm de large, vertes ou rougeâtres, denses, unisexuées, elles sont déposées en épis cylindriques courts.

Fruits: petites drupes sèches de 4 mm de long, globuleuses, d'abord rouges puis noirs à la maturité, le noyau renferme une seule graine (Garnier et al., 1961; Bayer et al., 1987).

**Mastic :** un suc résineux nommé mastic qui une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie.





Figure 1 : Photographie de *Pistacia lentiscus* (Abdeldjallil, 2016).

#### I.1.4. Répartition géographique

Pistacia lentiscus se trouve couramment en sites arides d'Asie et les régions méditerranéennes de l'Europe et de l'Afrique, jusqu'aux Canaries (**Belfadel**, **2009**). Elle est largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, notamment dans les régions ensoleillées à basses altitudes (**Bhouri et al.**, **2010**).

Pistacia lentiscus pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche. Il se trouve sur tous les types de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne-liège (**Belfadel, 2009**).(figure 2)

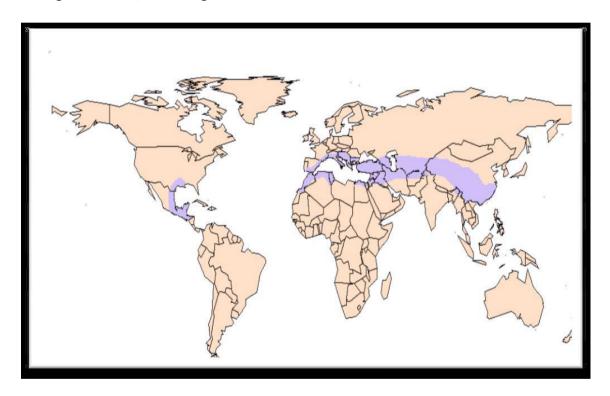


Figure 2 : Répartition géographique de Pistacia lentiscus dans le monde (Belfadel, 2009).

#### I.1.5. Usage pharmaceutique et effet thérapeutique de *Pistacia lentiscus*

Le pistachier lentisque est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et de l'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère. La partie aérienne de *Pistacia lentiscus* est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques (**Prichard**, 2004).

Les feuilles sont pourvues d'activité anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, hépato protective, expectorante et stimulante (**Kordali et** *al.*, **2003**).

Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, les infections buccales, les diarrhées, les lithiases rénales, la jaunisse, maux de tête, ulcère, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires. La résine obtenue de *Pistacia lentiscus* est connue par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (**Prichard, 2004**). Des travaux précédents sur les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* révèlent la présence de certaines activités antalgique, antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobienne (**Gardeli et al., 2008**).

#### I.2. Généralités sur les métabolites secondaires

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes (**Amlan et Jyotisna**, **2010**). Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, et le stress abiotique (**Greathead**, **2003**). Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles : les composés phénoliques (polyphénols), les composés azotés (alcaloïdes) et les terpénoïdes (**Lutge et al., 2002**).

#### I.2.1. Caractéristiques des composés phénoliques

Ils possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyle, et leurs structures peuvent aller d'une molécule phénolique simple à celle d'un polymère complexe (Ozcan et *al.*, 2014).

#### I.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies métaboliques; la voie la plus courante est celle de l'acide shikimique qui conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine), puis par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et leur dérivés (Richter, 1993; Martin et al., 2002).

En revanche la voix polyacétate participe d'une manière secondaire à leur biosynthèse (**Guignard**, 1996). La pluralité structurale des composés phénoliques dus à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité très fréquente d'une

participation simultanée de shikimate et de l'acétate à l'élaboration des composés d'origines mixtes des deux voies (Bruneton, 1999).

#### I.2.3. Classification des composés phénoliques

Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atome de carbone constitutif et la structure de base du squelette carboné.

#### I.2.3.1. Acides phénols simples

Dans cette classe les dérivés hydrobenzoïques à sept atomes de carbone (C6-C1) sont moins abondants par apport à leurs précurseurs (acide cinnamique). Les dérivés hydroxycinnamiques à neuf atomes de carbone (C6-C3) sont plus abondants présents sous forme d'ester ou d'autres molécules organiques et enfin les coumarines (**Ribéreau-Gayon**, 1968; Guignard, 1996; Bruneton, 1999), (Tableau III)

Tableau ■: Principales classes des acides phénols simples (Macheix et al., 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6-C1	Acide	p-hydroxybenzoïque	Épices, fraise
	hydroxybenzoïques		
C6-C3	Acide	Acide caféique,	Pomme de terre,
	hydroxycinnamiques	férulique	pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus

#### I.2.3.2. Flavonoïdes

Sont des pigments universels des végétaux, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (**croteau et al., 2000**). Leur structure est C6-C3-C6 comprend à lui seul 4000 molécules (**Havsteen, 2002**). Plusieurs classes de flavonoïdes sont retrouvées dans notre alimentation elles diffèrent par le degré d'oxydation du noyau hétérocyclique oxygéné, (Tableau **IV**).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol,	Fruit, légumes,
	-flavonols	quercétine	fleurs
	-anthocyanes	Cyanidine,	Fruit rouge, pomme
	-flavanols	pélargonodine	Raisin, citrus
	-flavanones	catéchine,epicatéchine	
		Naringénine	

Tableau IV: Principales classes des flavonoïdes (Macheix et al., 2005)

#### **I.2.3.3.** Tanins

Ces composés résultent généralement de la condensation des formes simples précédemment évoquées, ils existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles..., leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000 M. (Reed, 1995; Khanbabaee et Ree, 2001). Tableau V

Tableau V: Principale classe des tanins (Macheix et al., 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
(C6-C3-C6)	Tanins condensés	Procyanidol	Raisin rouge kaki

#### I.3. Activités antioxydantes

#### I.3.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers. Cette rupture d'équilibre peut provenir d'une surproduction énorme de radicaux libres ou d'une carence en un ou plusieurs des antioxydants endogènes ou exogènes (Favier, 2003).

#### I.3.2. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont une famille d'entités chimiques regroupant les radicaux libres oxygénés [anion superoxyde  $(O_2^{\bullet-})$ , radical hydroxyle  $(HO^{\bullet})$ , monoxyde d'azote  $(NO^{\bullet})$  ...] et les dérivés non radicalaires dont la toxicité est importante [anion peroxyde  $(O_2^{2-})$ , peroxyde d'hydrogène  $(H_2O_2)$ , peroxynitrite  $(ONOO^-)$ ].( **Novelli, 1997**).

#### I.3.3. Principales sources des ERO

Les ERO sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. Il existe donc des sources endogènes et des sources exogènes.

#### I.3.3.1. Sources endogènes des ERO

Dans les cellules, de nombreux systèmes enzymatiques sont capables de générer des oxydants : (Salvayre et al., 2003)

- Les NADPH oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent  $O_2^{\bullet -}$ , en utilisant le NADH ou NADPH comme substrat.
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ERO (particulièrement O<sub>2</sub>•- et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), lors de l'ischémie/reperfusion.
- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygenases, soit par les lipooxygenases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation. De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries par voie enzymatique en molécule non toxique comme H<sub>2</sub>O. Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde O<sub>2</sub>•-. Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance comme indiqué précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle HO•. Ces ERO mitochondriales pourraient intervenir dans l'oxydation des LDL (Valko et al., 2007).

#### I.3.3.2. Sources exogènes des ERO

Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant les molécules d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation des photosensibilisants.

Une large variété de xénobiotique (toxines, pesticides etc...) et médicaments (antibiotiques,anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ERO qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Valko et al., 2007).

#### I.3.4. Défenses antioxydants

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou inhibe l'oxydation de ce substrat, qu'elle soit de nature enzymatique ou non enzymatique (Halliwell et Gutteridge, 1990).

#### I.3.4.1. Antioxydants enzymatiques

Les organismes vivants disposent de systèmes enzymatiques de défense qui les protègent des dommages liés aux ERO. Ces défenses permettent de maintenir leur concentration à un taux basal. En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ERO, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser. Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les plantes sont le superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Sharma et al., 2012).

#### I.3.4.2. Antioxydants non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique) (Kohen et Nyska, 2002). Des protéines tel que la ferritine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettent ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle via la réaction de fenton (Martinez –Cayuela, 1995).

#### I.3.4.3. Antioxydants d'origine végétale

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydants remarquables. Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

#### I.3.5. Propriétés antioxydants de l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus*

Selon **Bhouri et** *al* (2011), l'extrait de fruit de *Pistacia lentiscus* contient les polyphénols, l'acide gallique et l'acide digallique. La haute capacité antioxydante fait de ces composants des facteurs clé importants impliqués dans la défense chimique des plantes contre les agents pathogènes et les prédateurs (**Ozcan et** *al.*, 2014). Cela est dû à la capacité de piégeage des radicaux et la capacité d'interagir avec les protéines.

Ce travail a pour objectif de déterminer et d'étudier l'activité antioxydante des fruits de *Pistacia lentiscus*, en utilisant différents tests et dosages.

# Chapitre II Matériel et méthodes

Chapitre II

Matériel et méthodes

#### II.1. Préparation de la poudre végétale

#### II.1.1. Récolte du matériel végétal

Les fruits de *Pistacia lentiscus* ont été cueillis dans la forêt de tizi neftah Province d' Amizour, Bejaia, Algérie (**GPS coordinates 36.644**° **N et 4.921**°**E**).

#### II.1.2. Séchage et broyage

Après la récolte, les fruits de *Pistacia lentiscus* ont été laissés sécher dans l'étuve, puis broyés en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. La pâte ainsi obtenue a été pesée et alors prête pour l'extraction.

#### II.1.3. Préparation des extraits

Dans notre étude deux etapes d'extraction ont été suivies afin d'obtenir l'extrait phénolique. Dans un premier lieu, une délipidation a été faite dont 62g de pate qui a été soumise à l'extraction par 200ml de l'hexane dans un soxhlet pendant 6h et puis elle a été récupérée. Dans un deuxième lieu, 10mg de cette pate récupérée a été dissoute dans 80ml de méthanol 80% (80ml de méthanol et 20ml d'eau distillée) et exposée dans un ultrason pendant 15min. L'extrait a été filtré par un vacuum pompe puis le filtrat a été centrifugé pendant 10min à 4000 rpm. Apres 5 cycles d'extraction, le méthanol a été éliminé dans un rotavapor. L'extrait méthanolique a été séché dans une étuve jusqu'à la stabilisation de son poids sec (Aissat et al., 2022).

Le pourcentage d'extraction est calculé selon la formule suivante :

Taux d'extraction(%)=  $[(P_1)-(P_0)/E]$  100

P<sub>1</sub>: poids d'extraits après évaporation (g)

**P**<sub>0</sub>: poids vide du cristallisoir ou boite de Pétri(g)

E : poids de la poudre ou de l'extrait sec de la phase précédente(g)

#### II.2. Dosage des composés phénoliques

#### II.2.1. Dosage des phénols totaux

#### A. Principe

Le dosage des phénols totaux est effectué suivant le procédé d'Owen et Johns (1999), son principe repose sur le fait que les ions phénolates formés par addition de carbonate de sodium à la solution d'extrait sont oxydés par le réactif de folin, donnant ainsi à la solution une couleur bleuâtre, dont l'intensité reflète la concentration des phénols totaux dans les extraits.

#### B. Mode opératoire

 $200\mu l$  de l'extrait a été mélangé avec  $1000\mu l$  de folin (1ml de folin dans 10ml du  $H_2O$ ). Après 2 à 3 min,  $800\mu l$  du carbone de sodium ont été ajouté et après 30min d'incubation à  $37^{\circ}C$ , l'absorbance a été mesurée à  $760\,nm$ .

Le même dosage a été réalisé sur une molécule de référence qui est l'acide gallique afin de réaliser une courbe d'étalonnage (Annexe1) pour calculer l'équivalence en mg de l'acide gallique par g d'extrait, tous les dosages ont été effectués en trois répliques.

#### II.2.2. Dosage des flavonoïdes

#### A. Principe

Les méthodes de dosage des flavonoïdes sont le plus souvent colorimétriques, le principe repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), qui donne à la solution une coloration jaunâtre et qui absorbe à 430 nm.

#### B. Mode opératoire

Les dosages des flavonoïdes a été effectué suivant la méthode développée par Maksimovic et al., (2004). Une méthode simple qui consiste, après 10min d'incubation, à la mesure de l'absorbance à 430nm de la solution jaunâtre contenant 2ml de l'extrait dissout dans du méthanol (1mg/ml) et 1ml du réactif de chlorure d'aluminium (133mg de chlorure d'aluminium avec 400mg d'acétate de sodium cristalline dans 100ml d'eau distillée).

Les calculs ont été réalisés par rapport à une courbe d'étalonnage (Annexe 2) réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant la Quercétine comme molécule standard.

#### II.3. Détermination des activités antioxydants

Les activités antioxydants de l'extrait de *Pistacia lentiscus* sont déterminées, en utilisant plusieurs tests :

#### II.3.1. Test de la capacité antioxydante totale (TAC)

#### A. Principe

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo présent sous forme d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> à molybdène MoO<sup>2+</sup> en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate /Mo à pH acide (**Prieto et al., 1999**).

#### B. Mode Opératoire

Le protocole expérimentale de cette méthode nécessite la préparation d'une solution qui contient 0.6 M d'acide sulfurique avec 28mM de sodium phosphate et 4 mM d'ammonium molybdate. Un volume de 2ml de cette solution a été mélangé avec 200µl de l'extrait (2mg de l'extrait dissout dans 2ml de méthanol 50%), au bout de 90 min d'incubation à 95°C, l'absorbance a été mesuré à 695nm.

Le même test a été réalisé sur une molécule de référence qui est l'acide ascorbique, afin de réaliser une courbe d'étalonnage (Annexe 3) pour calculer l'équivalence en mg d'acide ascorbique par mg d'extrait. Tous les tests ont été effectués en quatre répliques.

#### II.3.2. Test du pouvoir réducteur

#### A. Principe

Cette méthode est basée sur le principe d'augmentation de l'absorbance qui indique une augmentation de l'activité antioxydant. Dans ce procédé, l'antioxydant forme un complexe coloré avec ferricyanure de potassium, l'acide acétique et le chlorure ferrique, l'absorbance du complexe est mesurée à 695 nm. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique le pouvoir réducteur des échantillons (**Jayaprakash et** *al.*, **2001**).

#### B. Mode opératoire

Dans ce protocole expérimental 1ml de l'extrait a été mélangé dans un 1ml du tampon phosphate de 0,2 M (ph 6,6) et 2,5ml hexacyanoferrate de potassium [k<sub>3</sub>fe(CN) 6], après 30min d'incubation à 50°C, 1,5ml de trichloracétique acide a été ajouté. La solution a été centrifugée à 3000rpm pendant 10min. 2ml de surnageant a été prélevé est dilué dans 2 ml d'eau distillée, enfin 0,5ml FeCl<sub>3</sub> a été ajouté, l'absorbance a été mesure à 700nm.

Le même test a été réalisé sur une molécule de référence qui est l'acide ascorbique afin de réaliser une courbe d'étalonnage(Annexe4).

## II.3.3. Test de blanchissement du $\beta$ – carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

#### A. Principe

Dans ce test la capacité antioxydant de l'extrait est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$  – carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par **Turkoglu et al. (2006).** 

#### B. Mode opératoire

Le protocole expérimentale de cette méthode nécessite la préparation de l'émulsion de  $\beta$  – carotène /acide linoléique par solubilisation de 1mg de  $\beta$  – carotène dans 1ml de cholroforme, puis 40mg de l'acide linoléique et 400 mg de tween 20 sont additionnés par la suite, le chloroforme est complètement évaporé, par la suite 100 ml d'eau distillée sont ajoutés, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement. Dans une microplaque 50 $\mu$ l de l'extrait a été mélangé avec 200 $\mu$ l de l'émulsion précédente, l'absorbance a été mesuré dans un lecteur microplaque à T=0 min et après 120min d'incubation à 50°C (T=120min).

L'activité anti-oxydante des extraits est calculée selon l'équation suivante :

$$AA=100\times [1-(AE_0-AE_{120})/(AC_0-AC_{120})]$$

AA: Activité antioxydant.

**AE<sub>0</sub>:** Absorbance à 450nm d'échantillons testés à t=0 min

**AE**<sub>120</sub>: Absorbance à 450nm d'échantillons testés à t=120min

AC<sub>0</sub>: Absorbance à 450nm du contrôle à t=0 min

AC<sub>120</sub>: Absorbance à 450nm du contrôle à t=120min.

# Chapitre III Résultats et discussion

#### III.1. Extraction

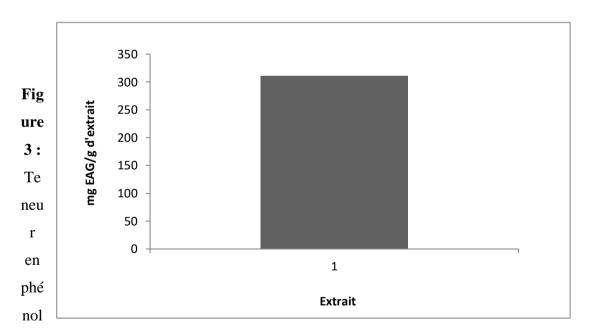
#### III.1.1. Taux d'extraction

Le taux d'extraction est calculé par rapport à la poudre initiale des extraits méthanoliques, celui-ci est de 25,4%. Le rendement obtenu dans cette présente étude est supérieur à ceux obtenus par **Remila et al.** (2015) sur les fruits de la même plante. Cette différence peut être expliquée par les conditions environnementales et la période de la récolte du matériel végétal qui peuvent influé sur les taux d'extraction **Svoboda et Hampson** (1999). Il est possible aussi que la méthode utilisée, la nature chimique des solvants et les conditions d'extraction aient exercé une influence significative sur le taux d'extraction.

#### III.2. Dosage des composés phénoliques

#### III.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats des dosages des polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques des fruits de *Pistacia lentiscus* ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 1).



s totaux de l'extrait de fruits de Pistacia lentiscus

Selon la figure 3, les résultats révèlent que la teneur des polyphénols totaux dans l'extrait de fruits de *Pistacia lentiscus* est de  $311,30 \pm 29,89$  (mg EAG / g d'extrait), en accord avec ceux obtenus par **Hemma et al.** (2018). De plus, les teneurs en composés phénoliques contenue dans les feuilles et le fruit de la même plante, qui sont estimées

respectivement de  $146,08 \pm 0,90 \text{(mg EAG/g d'extrait)}$ , et  $110,79 \pm 0,63 \text{ (mg EAG/g d'extrait)}$  (Barbouchi et *al.*, **2020**) est largement inférieur à celles obtenues dans cette présente étude.

Selon Lee et al (2005), cet écart de concentrations pourrait être expliqué par plusieurs facteurs : la partie de la plante (feuille et fruit) étudiée, la période de récolte, les facteurs climatiques ainsi que les méthodes d'extraction.

#### III.2.2. Dosage des flavonoïdes

La courbe d'étalonnage de la quercétine (Annexe 2) nous a permis d'illustrer les teneurs en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*, exprimés en mg EQ/g d'extrait (Figure 4)

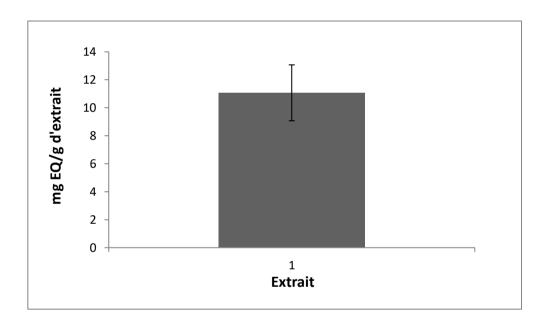


Figure 4 : Teneur en flavonoïdes de l'extrait du fruit de Pistacia lentiscus

Les résultats révèlent que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* est de 11,06±0,42 (mg EQ/ g d'extrait), supérieur à celui obtenu par **Remila et al. (2015)** et **Yemmen et al. (2017).** En plus d'être affecté par l'origine géographique de la plante, la teneur en flavonoïdes peut être fortement affectée par le solvant et la méthode utilisés pour l'extraction.

Les flavonoides présentent des activités anti-inflammatoire et des effets protecteurs dans les maladies cardiovasculaires (Romani et al., 2002).

#### III-3-Activités antioxydantes

#### III-3-1- Capacité Antioxydante Totale (TAC)

La figure 5 représente le résultat de la mesure de la capacité antioxydante totale, exprimée en mg EAA par 100g d'extrait (Annexe 3).

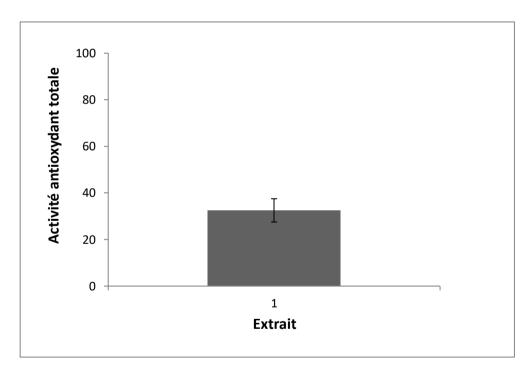


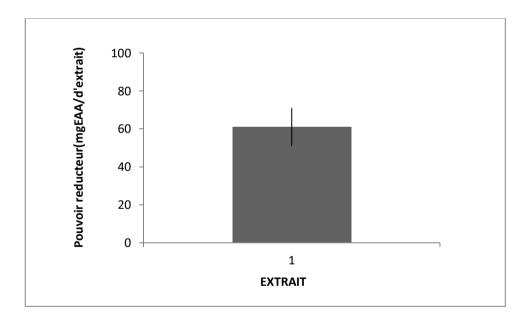
Figure 5 : Mesure de l'activité antioxydante totale de l'extrait de fruits *Pistacia lentiscus*.

L'extrait de fruits de *Pistacia lentiscus* a montré une capacité antioxydante totale de 32,51±2,21 mg EAA / 100 mg d'extrait. Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux rapporté par **Barbouchi et al. (2020)** dans leur étude consacrée à différentes parties de *Pistacia lentiscus L* en utilisant différents solvants. Ceci est probablement dû à la différence de l'origine géographique sachant que la plante utilisée par **Barbouchi et al. (2020)** est d'origine du Maroc.

Les travaux actuels ont prouvé que l'utilisation de différents solvants polaires dans l'extraction a exercé une grande influence sur le contenu phénolique total, et la capacité antioxydante totale (Barbouchi et al., 2020).

#### III.2.3. Mesure du Pouvoir Réducteur

La figure 6 représente le résultat de la a mesure du pouvoir réducteur, exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique par g d'extrait (mg EAA/100 mg d'extrait).



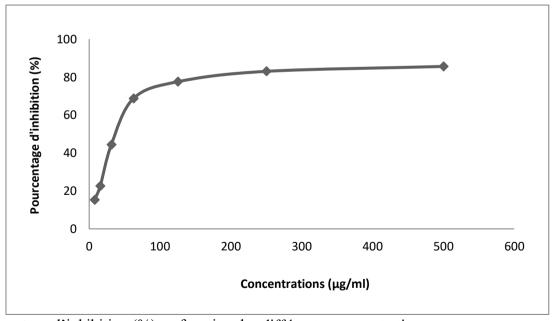
**Figure 6 :** Mesure du pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de fruits de *Pistacia lentiscus* 

Le fruit de *Pistacia lentiscus* a montré un potentiel réducteur de 60,99 ±0,85 (mg AA/100mg d'extrait). On constate que les résultats obtenus sont supérieur à ceux rapporté par **Atmani et al. (2009)** qui ont constaté que les feuilles de *Pistacia lentiscus* présentent un grand pouvoir réducteur dû à leur richesse en polyphénols comportant plusieurs groupements hydroxyles qui leur confèrent une forte activité réductrice du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Cet écart peut être expliqué par la différence du solvant utilisé, la molécule de référence et la partie étudiée de la plante.

Ce mécanisme de réduction est souvent un indicateur d'activité des donneurs d'électron qui jouent un rôle clé dans l'activité antioxydante des polyphénols (Yang et al., 2009). En effet, plusieurs études ont suggéré que la capacité réductrice des composés phénoliques est proportionnelle au nombre et à la position des groupements OH et que celle-ci augmente lorsque deux groupements OH sont orientés en position ortho ou para (Gardeli et al., 2008).

## III.2.4. Blanchissement de la $\beta$ – carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

La figure 7 représente la mesure du blanchissement de la β-carotène, exprimé en



pourcentage d'inhibition (%) en fonction des différentes concentrations.

**Figure 7 :** Courbe représente le pourcentage d'inhibition de β-carotène (%) en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique de fruits de *Pistacia lentiscus* (μg/ml).

Les résultats de la figure 7 indiquent que le pourcentage d'inhibition est proportionnel aux différentes concentrations. Ainsi, à la concentration 62,5ug/ml, le pourcentage d'inhibition est de 68,67% et à la concentration 250 ug/ml, il est de 85,54%. On constate que les résultats obtenus dans cette étude sont inférieures à ceux obtenue par **Atmani et al (2009).** Dans cette analyse, la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* a été déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-peroxydes conjugués diène résultants de l'oxydation de l'acide linoléique (**Tepe et al., 2006**).

Auparavant, il a été rapporté que les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont riches en composés polyphénoliques (**Lugiaet** *al.*, **2007**). Encore plus récemment, des recherches ont indiqué que les polyphénols trouvés dans les fruits de *Pistacia lentiscus* sont des flavonoïdes de type  $\alpha$ -aglycones et  $\beta$ -glycosides (**Hamad etal.**, **2011**). Takahama (1983) a montré que les flavonoïdes ont la capacité de terminer la réaction en chaine de la peroxydation des lipides par le piégeage du radical peroxyle LOH.

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du  $\beta$ -carotène peut être décrit comme un piégeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (**Liyanna-Pathirana et al., 2006**). Le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplé à celui du  $\beta$ -carotène parait très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (**Ferreria et al., 2006**).



#### Conclusion et perspectives

L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ces plantes sont utilisées en tant que traitements traditionnels pour de nombreuses maladies humaines, dont celles liées au stress oxydant. *Pistacia lentiscus* est une de ces espèces largement étudiées pour ses propriétés médicinales.

Notre étude a été réalisée sur un extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus* et qui a pour but d'évaluer les variations en composés phénoliques et l'activité antioxydant des fruits de cette plante par différents tests, *in vitro*.

Le potentiel antioxydant des extraits de *Pistacia lentiscus* a été déteminé premièrement, par leur capacité antioxydante totale (test TAC), dont les résultats sont de  $32.5 \pm 2.21$  (mg EAA/ 100 mg d'extrait), montrant que ces extraits possèdent une forte capacité antioxydante.

Deuxièmement, par la mesure du pouvoir réducteur qui a révélé un bon résultat de  $60,99\pm0,85$  (mg EAA/ 100 mg d'extrait).

Troisièmement, c'est par le blanchissement de la  $\beta$ -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique, dont le pourcentage d'inhibition est de 85,54% à une concentration de 250ug/ ml. Ce qui montre une bonne augmentation d'inhibition de blanchiment de  $\beta$ -carotène.

L'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adaptant la méthode de folinciocalteu, révèle la présence d'une quantité considérable en polyphénols qui est de 311,306± 29,89 (mg EAG/ g d'extrait). De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'Al Cl<sub>3</sub> qui nous mène à conclure que le fruit de cette plante contient une quantité moyennement importante de flavonoïdes.

En conclusion, les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais restent préliminaires. Cependant, il est souhaitable d'accomplir et d'enrichir d'avantages ce travail en :

Effectuant le dosage d'autres familles de composés phénoliques, tels que les tanins, les anthocyanes etc...

# Conclusion et perspectives

- Testant l'activité antioxydante des extraits de fruits du lentisque *in vivo*, pour affirmer ou rejeter la possibilité de leur emploi dans différentes industries (cosmétiques, pharmaceutique, agro-alimentaire etc ...).
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif de médicaments synthétiques.

.

# Références bíblíographíques

- 1- Abdleldjelil, M.C. (2016). Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (Pistacia lentiscus L.)Sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine 210p.
- 2- Aissat, A.K.; Chaher-Bazizi, N.; Richard, T.; Kilani-Atmani, D.; Pedrot, E.; Renouf, E.; Atmani, D.; and VallsFounayet, J. (2022). Analysis of individual anthocyanins, flavanols, flavonols and other polyphenols in *Pistacia lentiscus L*. fruits during ripenin. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106:104-286.
- 3- Amlan, K., & Jyotisna, P. S. (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolitesto inhibit methanogenesas in the rumen. *Phytochemistry*, 71:1198 -1222.
- 4- Atmani, D.; Chaher, N.; Berboucha, M.; Ayouni, K.; Lounis, H.; Boudaoud, H.; Debbache, N.; and Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112 (2): 303-309.
- 5- 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.
- 6- Bayer, E.; Buttler, K.P.; Finkenzeller, X. and Grau, J. (1987). Guide de la flore méditerranéenne, caractéristiques, habitat, distribution et particularité de 536 espèces. La Martinière Groupe, p: 94.
- 7- Belfadel, F.Z. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Université mentouri constantine faculté des sciences exacte département de chimie.
- 8- Bhouri, W.; Derbel, S.; Skandrani, I.; Boubaker, J.; Bouhlel, I.B.; Sghaier, M.; Kilani, S.; Mariotte, A.M.; Dijoux-Franca, M.G.; Ghedira, K.; and Chekir-Ghedira, L. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24: 509–515.
- 9- Bhouri Wissem, Ines Skandrani, Mohamed Ben Sghair, Marie-Geneviève Djoux Franca, Kamel Ghedira and Leila Chekir Ghedira (2011). Digallic acid from *Pistascia lentiscus* fruits induces apoptosis and enhances antioxidant activities. *Phytother Res*, Epub.

- 10- Bougherara, M.I. (2015). Thèse de doctorat : Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Biochimie Appliquée.
- 11- Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: à historical perspective. *Plant Science*. 161: 839-851.
- 12- Boutemine, I.M.; Amri, M.; Amir, Z.C.; Fitting, C.; Mecherara-Idjer, S.; Layaida, K.; Sennoun, N.; Berkane, S.; Cavaillon, J.M.; Touil-Boukoffa, C. (2018). Gastro-protective, therapeutic and anti-inflammatory activities of *Pistacia lentiscus L*. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. *Journal of Ethnopharmacology* .36p.
- 13- Bouyahya, A.; Assemian .I.C.; Mouzount, H.; Bourais, I.; 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.
- 14- 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.
- 15- 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 and products* .151:112-456.
- 16- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. *Technique et documentation Lavoisier*. 3:286-347.
- 17-Chabrier, J.Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en Pharmaceutiques, Université Henri Poincare, Nancy 1, 184 p.
- 18- Croteau, R.; Kutchan, T.M.; and Lewis, N.G. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). *American Society of Plant Physiologists*. 24:1251-1254.

- 19- Defraigne J and Pincemail C (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *RevMed Liège*. 63:10-19.
- 20- Favier, A. (2003). Les stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.14: 108-115.
- 21- Ferreira, A.; Proenc, C.; Serralheiro, M.L.M and Araujo M.E.M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacol*, 108: 31–37.
- 22- Gardeli, C.; Papageorgiou, V.; Mallouchos, A.; Theodosis, K.; and Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus L*. and Myrtuscommunis L.: Evaluation of antioxidant capacity of methalonic extracts. *Food Chemistry*. 107: 1120-1130.
- 23- Garnier, G.; Bézanger-Beauquesne, L.; and Debraux, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française. Edition, Vigot Frères Editeurs, p: 665-666.
- 24- Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*. 62: 279 290.
- 25- Guignard, J.L. (1996).Les composes phénoliques. Biochimie végétale. *Edition Masson*, *Paris*. p :167-231.
- 26- Halliwell, A.; Gutteridge, M.C. (1990). The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*. 280: 1-8.
- 27- Hamad, H.; Ibrahim, H.; Gonaid, M.; and Mojahidul, I. (2011). Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plants growing in al jabal alakhdar. *Journal National Product Plant Resour.* 1 (1):15-23.
- 28-Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96: 97-202.
- 29- Hemma, R.; Belhadj, S.; Ouahchia, C.; Saidi; F. (2018). Antioxidant Activity of *Pistacia lentiscus* Methanolic Extracts. *Revue Agrobiologia* .8(1): 845-852.

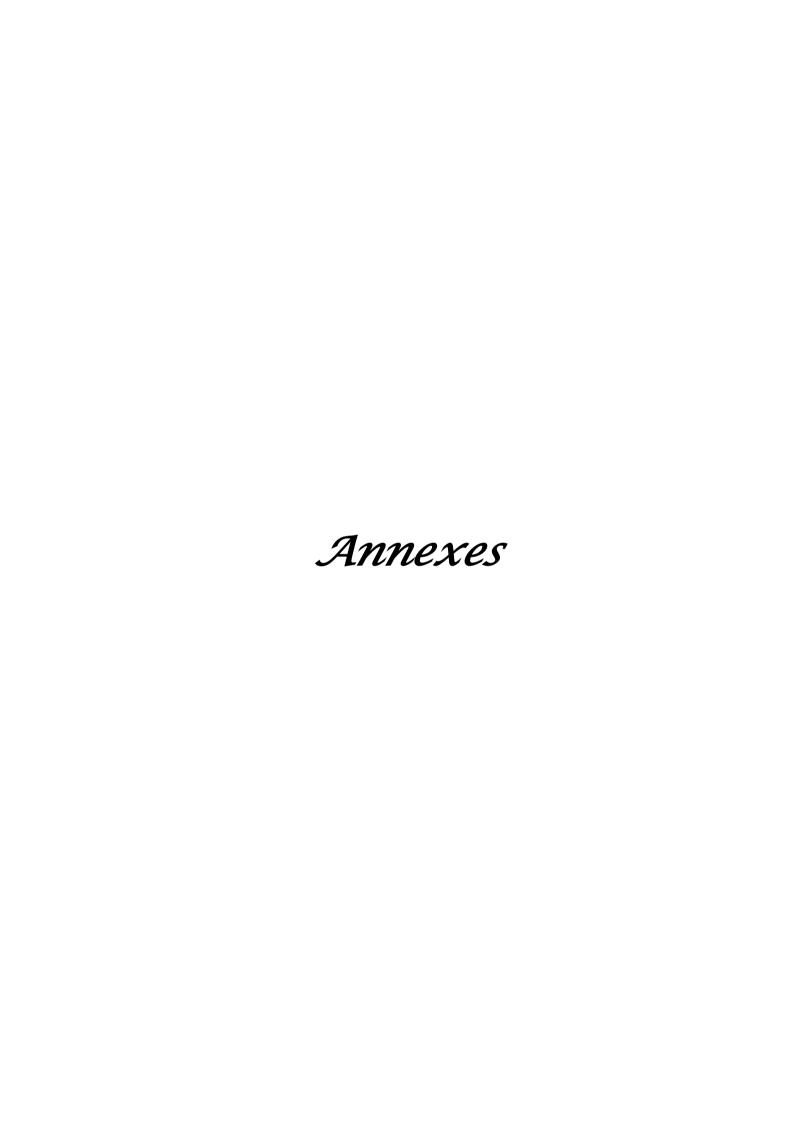
- 30- Igor, O.M.; Hector, A.G.; Chung, Y.O.C.; Giuseppina, P.P. (2016). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. *Biological Activity*. 10: 5772-66368.
- 31-Jayaprakash, G.K.; Singh, R.P.; and Sakariah, K.K.(2001). Antioxydant activity of grape seed extracts on peroxidation models in-vitro. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1(67):230-234.
- 32- khanbabaee, K.; and Ree, T.V. (2001). Tannins: Classification and definition. *Natural Product*. 18:641-649.
- 33- Kohen, R.; and Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*. 30(6):620-650.
- 34- Kordali, S.; Cakir, A.; Zengin, H.; and Duru, M. (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in turkey. *Fitoterapia*.74: 164-167.
- 35- Lee, J.; Barnes, K.W.; Eisele, T.; Giusti, M.M.; Haché, J.; Hofsommer, H.; Koswig, S.; Krueger, D.A.; Kupina, S.; Martin, S.K.; Martinsen, B.K.; Miller, T.C.; Paquette, F.; Ryabkova, A.; Skrede, G.; Trenn, U.; and Wightman, J.D. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. 88: 1269-1277.
- 36-Liyana-Pathirana, C.; and Shahidi, F. (2006). Antioxydant propreties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum Aestivium* L.) And their milling fractions. *Journal Sci Food Agric*. 86:477-485.
- 37- Luigia, L.; Scardino, A.; and Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L.and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8 (3): 360-364.
- 38- Lutge, U.; Kluge, M.; bauer, G. (2002). Botanique 3éme Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Pari: 211.
- 39- Maameri, Z. (2014). *Pistacia lentiscus L*.: Evaluation pharmaco- toxicologique. Thèse de Doctorat. Universite Constantine 1 .p 4.

- 40- Macheix, J.J.; Fleuriet, A.; et Jay-Allemand, C.H. (2005). Les composés phénolique des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, p : 1-31.
- 41- Maksimović, Z.; Malenčić, Đ.; And Kovačević, N. (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Bioresourcetechnology*. 96(8): 873-877.
- 42- Martin, S.; and Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et D'angéiologie*. 51:304-315.
- 43- Martínez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and humandisease. *Biochimie*. 77: 147-161.
- 44- More, D.; and White, J. (2005). Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, 18-24.
- 45- Novelli GP. (1997). Role of free radicals in septic shock . *Journal physiol pharmacol* 48: 517 -27.
- 46- Nunes, C.D.R..; Arantes, M.B.; Menezes de Faria Pereira, 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.
- 47- Owen, P.L.; and Johns, T. (1999).Xanthine oxidase inhibitory activity of northeasten north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 64:149-160.
- 48- Ozcan, T.; Akpinar, B.A.; Yilmaz, E.L.; Delikanli, B. (2014). Phenolics in Human Health. Nternational. *Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5: 393-396.
- 49- Prichard, A.J.N. (2004). The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research*.18: 696-699.
- 50- Prieto, P.; Pineda, M.; Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenumcomplex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal.Biochem.* 269: 337–341.
- 51- Reed, J.D. (1995). Nutritional Toxicology of Tannins and Relted Polyphenols in Forage Legumes. *Journal Animal Science*. 73:1516-1528.

- 52- Remila, S.; Atmani-Kilani, D.; Delemasure, S.; Connat, J.-L.; Azib, L.; Richard, T.; Atmani, D.(2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *Eur. J. Integr. Med.* 7: 274–286.
- 53- Ribéreau-Gayon, P. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques.In : Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, p : 12-27.
- 54- Richter, G. (1993). Les composés phénoliques métabolisme des végétaux, (physiologie et biochimie), Edition Dunod, p : 331-337.
- 55-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.
- 56- Salvayre, R.; Auge, N.; and Nègre-Salvayre, A. (2003). Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose*: *Physiopathologie*, *Diagnostic, Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, *14*, 269-290.
- 57- Sharma, P. A.B.; Jha, R.S.; Dubey.; and Pessarakli, M. (2012). "Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. 2012: 1-26.
- 58- Svoboda, K.P.; and Hampson, J.B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmaco- logical activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK.
- 59- Takahama, U. (1983). Redox reactions between kaempferol and illuminated chloroplasts. *Plant Physiol*.71 (3): 598–601.
- 60- Tepe, B.; Sokmen, M.; Akpulat, H.A.; and Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* Species from turkey. *Food Chem.* 95: 200-204.
- 61- Turkoglu, A.; Duru, M.E.; Marcan, N.; Kivrak, I.; Gezer, K. (2006). Antioxydant and antimicrobial activities of Laetiporus Sulphureus (Bull) Murrill. *Food Chemistry*. 101 (1):267-273.

- 62- Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.; Mazur, M.; and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39(1): 44-84.
- 63- Yang, X.M.; Yu, W.; Ou, Z.P.; Liu, W.M and Ji, X.l. (2009). Antioxidant and immunity activity of water extract and crude polysaccharide from *Ficus carica* L. fruit. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64: 167-173.
- 64- Yemmen, M.; Landolsi, A.; Ben Hamida, J.; Mégraud, F.; Trabelsi Ayadi, M.(2017). Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of Pistacia lentiscusfrom Tunisia. *Cellular and Molecular Biology*. 63(9): 87-95.

.



## Annexe N°1

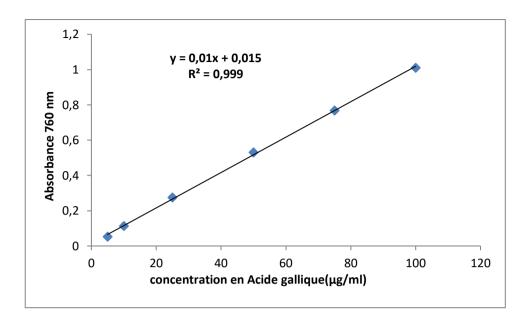


Figure 1: Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

## Annexe N°2

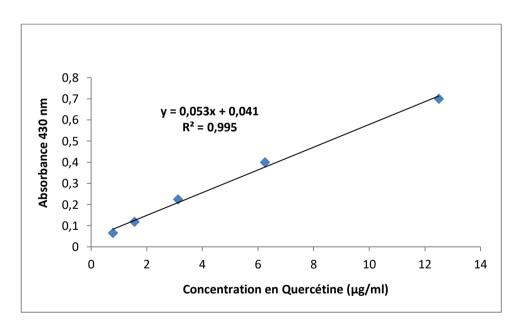
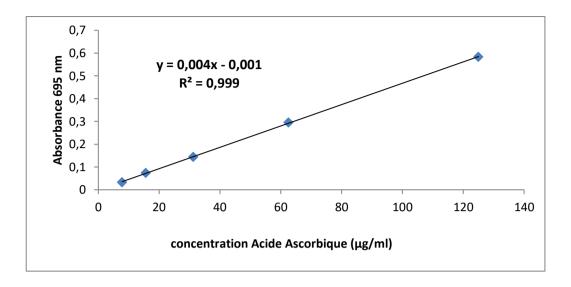


Figure 2: Courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

## Annexe N°3



**Figure 3:** Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique pour la mesure de l'activité antioxydant totale

#### Annexe N°4

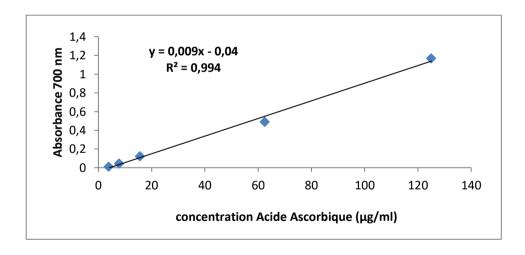


Figure 4: Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique pour mesure du pouvoir réducteur

## Résume

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne et méditerranéenne, on s'est intéressé à l'étude d'une espèce *Pistacia lentiscus*. C'est une plante médicinale de la famille des Anacardiacées. Le but de cette étude est de déterminer le pouvoir antioxydant des extraits des fruits de *Pistacia lentiscus*.

L'estimation quantitative des flavonoïdes en utilisant la méthode d'Al Cl<sub>3</sub> a révélé un résultat de  $11,06 \pm 42 \ (mg\ Q/\ g\ d'extrait)$ . La teneur en polyphénols totaux a été évalué en adaptant la méthode de folin- ciocalteu qui a montré une teneur de  $311,06 \pm 29,89 \ (mg\ EAG/\ g\ d'extrait)$ . L'évaluation de l'activité antioxydante par le test TAC a donné un résultat de  $32,51 \pm 2,21 \ (mg\ EAA/100\ mg\ d'extrait)$ . Le potentiel réducteur de cet extrait est de  $60,99 \pm 0,85 \ (mg\ AA/100\ mg\ d'extrait)$ . Cependant le blanchissement de la  $\beta$ -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique a montré un pourcentage d'inhibition de 85,54% à une concentration de  $250\ ug/\ ml$ .

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que l'activité antioxydante des extraits des fruits de *Pistacia lentiscus* est importante, ce qui montre que cette plante possède un large pouvoir d'utilisation dans le domaine pharmacologique.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus*, Blanchissement de la  $\beta$  – carotène, TAC, pouvoir réducteur, Activité antioxydant.

## Abstract

Within the framework of the valorization of the medicinal plants of Algerian and Mediterranean flora, we are interested to study of a species *Pistacia lentiscus*. It is a medicinal plant of the Anacardiaceae family. The aim of this study is to determine the antioxidant power of the fruit extracts of *Pistacia lentiscus*.

Quantitative estimation of flavonoids using the Al Cl<sub>3</sub> method revealed a result of  $11.06 \pm 42$  (mg Q/g of extract). The content of total polyphenols was evaluated by adapting the folin ciocalteu method which showed a content of  $311.06 \pm 29.89$  (mg EAG/g of extract). The evaluation of the antioxidant activity by the TAC test gave a result of  $32.51 \pm 2.21$  (mg EAA/100 mg of extract). The reducing potential of this extractis  $60.99 \pm 0.85$  (mg AA / 100 mg of extract). However, the bleaching of  $\beta$ -carotene coupled with the auto-oxidation of linoleic acids howed a percentage inhibition of 85.54% at a concentration of 500 ug/ml.

From these results, we can deduce that the antioxidant activity of the extracts of the fruits of *Pistacia lentiscus* is important, which shows that this plant has a wide power of use in the pharmacological field

**Key words**: *Pistacia lentiscus*,  $\beta$  – *carotène* bleaching, TAC, Reducing power, Antioxydant activity.