

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A.MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

En vue de l'obtention du diplôme de
Master

en Génétique appliquée

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante d'un
extrait d'une plante médicinale locale ,
Pistacia lentiscus, sur un modèle animal**

Réalisé par :

M^{elle} Maddi katia
M^{elle} Ouali Noura

Devant le jury :

Présidente :	M^{me} Rahmani.M.	(MAA)
Examinatrice :	M^{elle} Sebaihi.S.	(MAB)
Examineur :	M^r Atmani.D.	(Pr)
Promotrice :	M^{me} Atmani.D.	(MCB)
Co-promotrice :	M^{elle} Tahiri. O.	(MAB)

Année 2011/2012

Remerciements

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères d'abord à notre promotrice ;
M^{me} Atmani.D pour nous avoir ouvert les portes de la recherche avec
l'encadrement de qualité qu'elle nous a assuré lors de la réalisation de ce travail.
Nous lui sommes très reconnaissantes pour ses conseils, sa patience et surtout son
sérieux dans le travail. Nous saisissons aussi l'occasion, pour lui exprimer notre
gratitude en tant que notre enseignante durant notre cursus universitaire.*

*Nous remercions s'adresse aussi à notre co-promotrice Tahiri.O pour sa
disponibilité, ses conseils.*

*Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux
membres du jury : M^{me} Rahmani. M qui nous fait honneur par sa présence en
qualité de présidente de jury, M^{lle} Sebaihi S et Pr Atmani.D qui ont acceptés
d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre technicienne de laboratoire M^{lle}
Saidenne.N pour nous avoir aidées, orienté et soutenus.*

*Comme nous sommes très reconnaissantes à tous les membres de l'équipe de
laboratoire de biochimie appliquée, leur qualités humaine et scientifique nous ont
été indispensables pour mener à bien ce travail
Sans leurs aides ce travail ne serait pas ce qu'il est.*

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail et ma profonde gratitude :

✎ À ma mère et mon père pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué; avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices qu'ils ont consenti à mon égard, et pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

✎ À mes frères Zahir, abd anour et hocine pour leurs aides, leurs conseils et leurs encouragements.

✎ À tous mes amis, et à tous ceux qui me sont chers.

Katia

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail et ma profonde gratitude :

*✶ A ceux qui sont mon exemple dans la vie, qui m'ont donné de l'amour ; de la tendresse et de la force, mes très chères **parents** ; que Dieu vous protège et vous procure bonheur, santé et longue vie.*

*✶ A mes adorables frères : **Abdenour,,Samir,,Riad,Hamza ,Karim et Yacine***

*✶ A ma très chère sœur **samira**, son mari et son fils **Rayane** pour leur soutien et leur aide qui m'ont toujours encouragés.*

✶ A mes deux grands mères et mn grand père

✶ a mes 2 belles sœurs

*✶ A mes cousins et cousines, en particulier **hnifa** et à toute ma famille.*

✶ a mes très chère ami (es).

✶ A mes chers oncles ainsi qu'à leurs femmes

*✶ A ma très chère **katia** et à toute sa famille.*

*✶ A tous la promotion de **Génétique***

✶ A mes amis (es) sans exception et à tous ceux qui me sont chers.

Noura

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

-Partie théorique-

Chapitre I : Le stress oxydatif

I.1. Les radicaux libres2

I.2. Sources des radicaux libres2

Chapitre II : La peroxydation lipidique

II.1. Facteurs influençant l'oxydation des lipides5

II.2. Mécanisme général de la peroxydation des lipides7

II.3. Méthode d'évaluation de la peroxydation lipidique8

Chapitre III : Les antioxydants

III.1. Définition10

III.2. Les antioxydants enzymatiques10

III.3. Les antioxydants non enzymatiques11

III.4. Les composés phénoliques13

III.5. Mécanismes d'inhibition de la peroxydation lipidique par les polyphénols14

-Partie pratique-

IV. Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal16

IV.2. Matériel animal18

IV.3. Test de toxicité18

IV.4. Test de TBA (acide thiobarbiturique)19

IV.5. Détermination de bilirubine totale20

IV.6. Poids relatifs des foies20

IV.7. Corrélation entre les poids des souris et la peroxydation lipidique20

IV.8. Analyse statistique20

V. Résultats et discussion

V.1. Le taux d'extraction	21
V.2. Toxicité.....	22
V.3. Test de TBA	23
V.4. Détermination de la bilirubine total	27
V.5. Poids relatifs des foies des souris	29
V.6. Corrélation entre le poids des souris avec la peroxydation lipidique.....	29
VI. Conclusion	30
Références bibliographique.....	31
Annexe	

Liste des abréviations

ADN:	Acide Désoxyribonucléique.
ADP :	Adinosine Di-Phosphate.
ATP :	Adinosine Tri-Phosphate.
BHA:	Butylhydroxyanisol
BR :	Bilirubine
BVR :	Biliverdine Réductase
CCl₄ :	Tétrachlorure De Carbone
CAT :	Catalase
COOH :	Carboxyle
ERO :	Espèces Réactives De L'oxygène
Fe³⁺:	Ions Ferriques
Fe²⁺:	Ions Ferreux
GC :	Chromatographie En Phase Gazeuse
OH·:	Radical Hydroxyle
GPx:	Glutathion Peroxydase
GR :	Glutathion Réductase
GSH:	Glutathion Réduit
H₂O₂ :	Peroxyde D'hydrogène
L· :	Radical Lipidique
MDA:	Malondialdéhyde (Beta-Dialdéhyde Tricarboné)
NADPH:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NO· :	Oxyde Nitrique
¹O₂:	Oxygène Singulet
O₂ :	Oxygène
O₂⁻ :	Anion Superoxide
ONOO· :	Anion Peroxynitrite

ONOO⁻ :	Anion Peroxynitrite
P_i :	Phosphore Inorganique
RL :	Radicaux Libres
RO :	Radical Alkoxy
ROO :	Radical Peroxyle
ROOH:	Hydroperoxyde
SOD:	Superoxyde Dismutase
TBA:	Acide Thiobarbiturique
TCA:	Acide Trichloracétique

Liste des figures :

Figure1 : Mécanisme de transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire	3
Figure 2 : Les différents radicaux libres résultants de l'activation du complexe NADPH oxydase.....	3
Figure3 : Mécanisme d'initiation de la peroxydation lipidique par l'activité lipoxygénasique	6
Figure4 : schéma général de l'oxydation des lipides	7
Figure5 : produits terminaux formés lors de la peroxydation	8
Figure 6 : systèmes antioxydants enzymatiques.....	10
Figure 7 : Structure chimique de la Vitamine E.....	11
Figure 8 : vitamine C (AscH ⁻) interagissant avec le radical peroxy (ROO [·]) et régénération de la vitamine E par la vitamine C	12
Figure 9 : structures de bases (A) acides benzoïques, (B) acides cinnamiques	13
Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 11 : structure primaire d'oxydation et produits de la β -carotène avec des espèces réactives de l'oxygène. O ¹ ₂ : O ₂ (1Δg).....	15
Figure 12 : Photographie des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	16
Figure 13 : formation du complexe chromogène par la réaction du TBA avec MDA	19
Figure14 : Taux des MDA (nmol/mg de protéines).	24

Liste des tableaux :

Tableau I : Les différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO)	4
Tableau II: Quelques caractéristiques de <i>Pistacialentiscus</i>	16
Tableau III : Taux d'extraction des feuilles de <i>Pistacialentiscus</i>	22
Tableau IV : tests de toxicité de l'extrait aqueux de l'acétate d'éthyle de <i>Pistacialentiscus</i> (125mg/Kg).....	23
Tableau V: Taux de la bilirubine totale chez les souris des groupes différents	27
Tableau VI : les poids relatifs des foies chez tous les groupes	29

Introduction

Introduction

Le stress oxydatif est un état pathologique où les systèmes de défense endogènes sont dépassés et un excès de radicaux libres sont produits. Ces derniers sont des molécules instables qui attaquent plusieurs macromolécules biologiques telles que les protéines, l'ADN et les lipides.

Les lipides membranaires sont la cible de l'attaque par les radicaux libres, ce qui déclenche une réaction en chaîne, appelée peroxydation lipidique. Celle-ci contribue à la dégradation de la membrane en libérant des produits tels que les malondialdéhydes qui sont dangereux car ils forment des adduits avec les protéines et l'ADN créant ainsi des mutations (Poon et *al.*, 2004). Les principales pathologies associées à la peroxydation lipidique sont les cancers, maladies cardio-vasculaires et l'alzheimer (Reed et *al.*, 2011).

Plus personne ne conteste aujourd'hui l'impact positif de la consommation de fruits et légumes sur la santé. Consommés en quantité suffisante, ils aident à contrer les effets du stress oxydant et plus spécifiquement la peroxydation lipidique (Genot et Michalski ., 2010)

Pistacia lentiscus est une plante qui est très répandue en Algérie, elle fait partie de la famille des anacardiaceae , utilisé localement comme remède contre de nombreuses pathologies telles que les ulcères d'estomac, les irritations et les affections de la gorge (Abdelwahed et *al.*, 2007).

Les travaux de Longo et *al* (2007) sur les anthocyanines, un groupe de flavonoïdes se trouvant dans *Pistacia lentiscus* ont démontré leur potentiel antioxydant, confirmé par les expériences de Atmani et *al.*, (2009) où une activité considérable contre la peroxydation lipidique a été constaté *in vitro* .

Ceci nous a amené à nous pencher sur l'étude des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* contre la peroxydation lipidique provoquée chez des souris de laboratoire. Cette étude vise donc à valider les résultats obtenus dans l'étude *in vitro*.

Etude bibliographique

I-Le stress oxydant

Dans des circonstances physiologiques normales, la cellule produit en permanence des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Le contrôle rigoureux de la formation et de l'élimination de ces ERO est parfaitement maîtrisé par le système de défense endogène antioxydant. Lorsque cet équilibre est rompu en faveur des radicaux libres, il survient un stress oxydant (Martinez-Outschoorn et *al.*, 2010). Le phénomène de stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies humaines entre autres les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le syndrome de détresse respiratoire aigüe, l'œdème pulmonaire (Ebrahimi et Schluesener., 2012) le diabète, le cancer et la cataracte (Johnson et *al.*, 2010).

I.1. Les radicaux libres

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités de dérivés réactifs de l'oxygène. Ceux-ci favorisent habituellement le bon fonctionnement de l'organisme, mais leur excès peut être néfaste (Montserrat et *al.*, 2010).

En effet, les radicaux libres sont des atomes, ou un groupe d'atomes, avec un nombre impair d'électrons sur l'orbite extérieure, qui se forment en excès comme résultat du stress oxydatif (Naskar et *al.*, 2010). Cette structure électronique déséquilibrée leur confère une grande réactivité qui peut causer des dommages sur les constituants organiques (Heuet et Periwal., 2010).

I.2. Sources des radicaux libres

On distingue deux sources de radicaux libres (RL), les sources exogènes et les sources endogènes.

I.2.1. Les sources exogènes

Les sources de production exogènes des RL peuvent être : l'exposition aux rayons UV, les radiations ionisantes, la pollution et la fumée de cigarettes (Sen et *al.*, 2010).

I.2.2. Les sources endogènes

Les voies les plus importantes de génération endogène des RL sont : la chaîne de transfert des électrons située au niveau des mitochondries, la flambée respiratoire des cellules phagocytaires, ces dernières étant indispensables à la défense immunitaire et l'activité des enzymes de type oxydase (Rodrigo et *al.*, 2011).

I.2.2.1. La chaîne respiratoire mitochondriale

Les mitochondries sont nécessaires pour la respiration cellulaire aérobie dont le but est d'assurer une production d'énergie sous forme de molécules d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique (Pi), mais conduisant en parallèle à la formation des ERO par une fuite d'électrons au niveau des complexe I et III de la phosphorylation oxydative (figure 1) (Brand., 2010, Montserrat et *al.*, 2010).

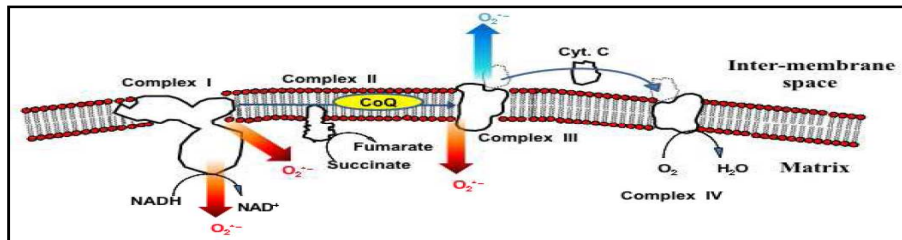


Figure 1 : Mécanisme de transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire (Matsuzaki et *al.*, 2009).

I.2.2.2. La réaction inflammatoire

L'inflammation est une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative et consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire (figure 2) (Mathioudakis et *al.*, 2011).

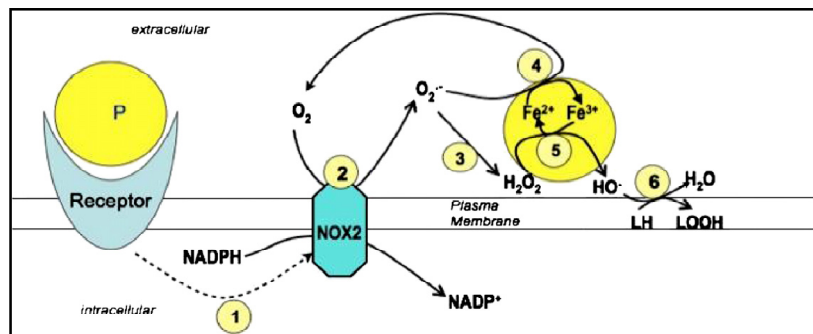


Figure 2 : Les différents radicaux libres résultants de l'activation du complexe NADPH oxydase (Premasekharan et *al.*, 2011).

Le tableau I suivant résume les différents types d'espèces réactives oxygénées, leurs rôles physiologiques et leurs cibles biologiques.

Tableau I : Les différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	Structures chimiques	Rôles physiologiques	Cibles biologiques
$^1\text{O}_2$ (oxygène singulet)	<O:	limite l'induction de l'expression des gènes dans les fibroblastes dermiques humains par les rayons ultraviolets A (UVA) (Klotz et <i>al.</i> , 1999).	Les lipides dans la peroxydation lipidique L'ADN (Flourie et <i>al.</i> , 2006).
O_2^- (l'anion superoxyde)	$\cdot\text{O-O:}$	intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions (Milane et <i>al.</i> , 2005).	Attaquent l'ADN, protéines, lipides (Gardès-Albert et <i>al.</i> , 2003)
H_2O_2 (le peroxyde d'hydrogène)	H:O-O:H	utilisé par la myéloperoxydase pour produire de l'hypochlorite qui permet de tuer les micro-organismes pathogènes (Goudable et <i>al.</i> , 1997).	Il cible toutes les molécules biologiques (Halliwell., 2006).
$\text{OH}\cdot$ (le radical hydroxyle)	$\text{H:O}\cdot$	Initiateur dans l'auto-oxydation lipidique (Milane et <i>al.</i> , 2005).	attaquent toutes les molécules biologiques (Gardès-Albert et <i>al.</i> , 2003).
$\text{ROO}\cdot$ (le radical peroxyde)	$\text{R-O-O}\cdot$	Produit de la deuxième étape de la peroxydation lipidique (Rock, 2003).	Attaque les protéines (Halliwell., 2006). Action sur les lipides (Valko et <i>al.</i> , 2006).
$\text{RO}\cdot$ (le radical alcoyle)	$\text{R-O}\cdot$	Provoque la peroxydation lipidique (Rock, 2003).	Alter les lipides (Valko et <i>al.</i> , 2007).

Comme l'indique le tableau ci-dessus les effets délétères des espèces réactives de l'oxygène sur les molécules biologiques sont divers et nombreux. La peroxydation lipidique est une conséquence de ces effets délétères et qui sera discuté dans le chapitre suivant.

II-La peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides peut générer de nombreuses maladies telles que la maladie d'Alzheimer ainsi que l'athérosclérose (Mense, 2009). C'est un mécanisme en chaîne qui mène vers une dégradation des acides gras membranaires et la formation d'hydroperoxydes instables (Partyka et *al.*, 2011). Différents facteurs sont responsables de ce phénomène.

II.1. Facteurs influençant l'oxydation des lipides

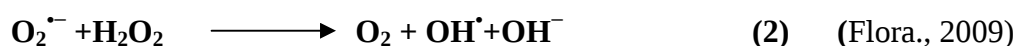
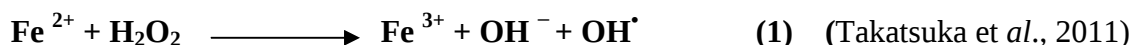
Ils peuvent être divisés en deux parties, facteurs intrinsèques et facteurs extrinsèques.

II.1.1. Les facteurs intrinsèques

Ce sont des facteurs cellulaires qui activent certaines réactions initiatrices de la peroxydation lipidique. On en cite :

II.1.1.1. Les métaux de transition

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération du radical $\text{OH}^\cdot$ par les réactions de Fenton (1) et Haber- Weiss (2) (Mattson., 2009). Ce dernier est considéré comme l'initiateur de la lipopéroxydation. Les principaux métaux de transition sont le fer et le cuivre (Brzonova et *al.*, 2011).



II.1.1.2. Les formes actives de l'oxygène

La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes :

- Voies d'auto-oxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs (Aranda et *al.*, 2009).
- La formation d'oxygène singulet capable de réagir directement avec les chaînes des acides gras (la photo-oxydation) (Zhang et *al.*, 2008).
- Action d'enzymes permettant la fixation de l'oxygène. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (Grassi et *al.*, 2010). La lipoxygénase catalyse l'interception de l' O_2 sur un acide gras insaturé. Son activité est souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases (figure 3) (Pokorny et *al.*, 2001, Dwiecki et *al.*, 2012). D'autre part la cyclooxygénase, une enzyme activant la voie de synthèse de l'acide

arachidonique et des prostaglandines, incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques (Wenjin et *al.*, 2010).

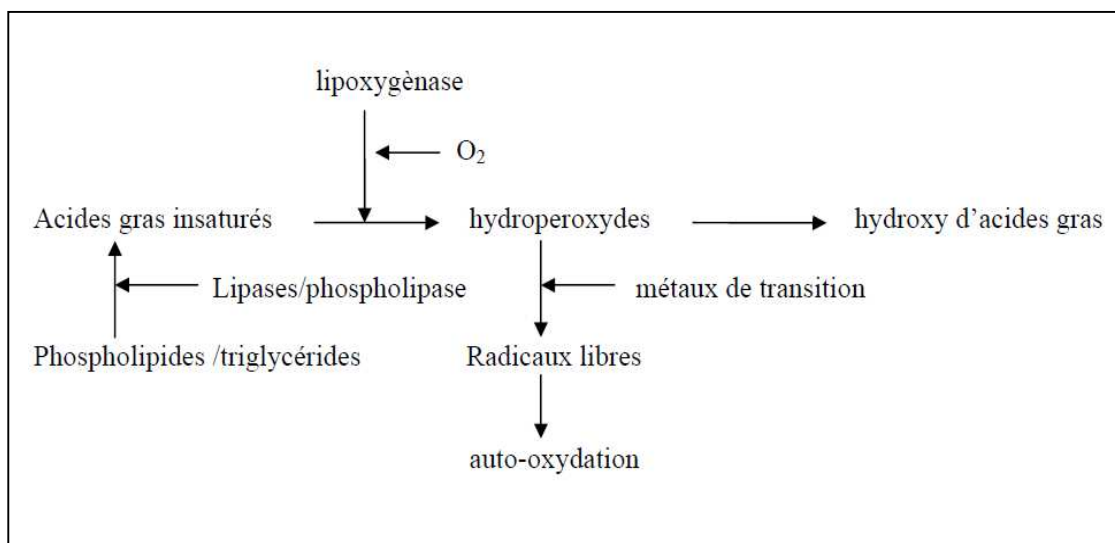


Figure 3 : Mécanisme d'initiation de la peroxydation lipidique par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsella., 1985)

II.1.2. Les facteurs extrinsèques

Ils sont divisés en plusieurs dont les plus importants :

II.1.2.1. Facteurs environnementaux

II.1.2.1. La température

L'oxydation des lipides est plus rapide avec l'augmentation de la température. En plus, à des températures élevées (de l'ordre de 70°C), il y a dénaturation des protéines, notamment la myoglobine qui relargue le fer et le rend disponible pour initier l'oxydation (Eymard, 2003 ; Grim et *al.*, 2010) .

II.1.2.2. L'activité de l'eau

L'eau permet la mobilisation de substances pro-oxydants ou antioxydants en interagissant avec les cations métalliques et les rendant plus ou moins disponibles pour la catalyse des réactions d'oxydation (Frankel, 1998).

II.2. Mécanisme général de la peroxydation des lipides

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enclenchement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes illustrées dans la figure 4 (Genot et *al.*, 2010).

II.2.1. Initiation

En présence d'un initiateur comme le radical OH, les lipides insaturés (LH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre lipidique (L[•]) ou radical alkyl (figure 4) (Catalá., 2009).

II.2.2. Propagation

Les radicaux libres formés dans la première étape (L[•]) fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (LOO[•]) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes (figure 4) (Fagali et *al.*, 2009).

II.2.3. Terminaison

Tous les radicaux formés dans les étapes précédentes réagissent entre eux et donnent un produit non radicalaire (figure 4) (Galleano et *al.*, 2010).

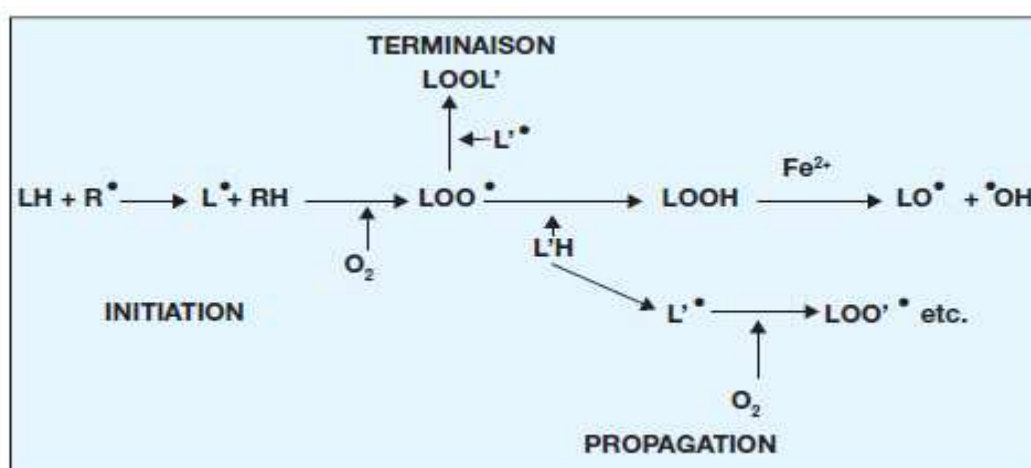


Figure 4 : schéma général de l'oxydation des lipides (Michel, 2008).

Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique. LH : acide gras polyinsaturé, L[•] : radical lipidique; LOO[•] : radical peroxyde ; LOOH: hydroperoxyde; LO[•]: radical alkoxyde; OH[•]: radical hydroxyle; O₂:oxygène.

II.3. Méthodes d'évaluation de la peroxydation lipidique

Dans une première étape l'oxydation des lipides conduit à la formation de produits primaires : les hydroperoxydes, diènes conjugués qui sont très instables et rapidement décomposés en produits secondaires: aldéhydes, alcools et cétones. La deuxième étape se traduit par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation, parmi lesquels on peut citer le dialdéhyde malonique (ou malondialdéhyde ou MDA), le 4-hydroxynonéal (4-HNE), ou aux isoprostanes (figure 5) (Michel., 2008). .

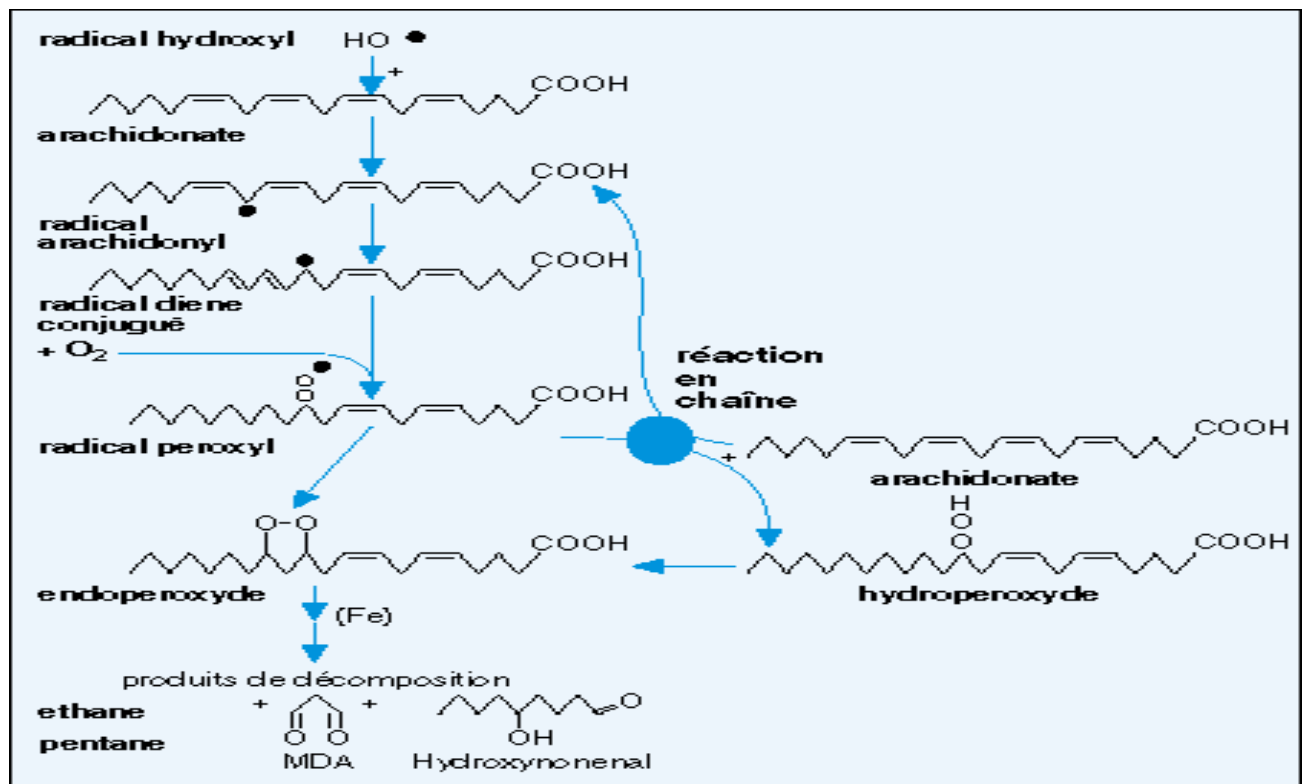


Figure 5 : produits terminaux formés lors de la peroxydation (Favier , 2003).

II.3.1. Mesure des produits secondaires

Ces méthodes sont basées sur les produits d'oxydation (Laguerre, 2007).

II.3.1.1. Test de l'acide thiobarbiturique (TBA)

Le MDA est le produit majeur de la peroxydation lipidique. Il est produit lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons comme l'acide arachidonique, et l'acide gamma-linolénique) (Chen et *al.*, 2011). La réaction de TBA avec le malondialdéhyde (MDA) résulte en la formation d'un chromophore rose détecté par un spectrophotomètre à une absorbance de 532 nm. Ce complexe coloré est le résultat de la

condensation de deux molécules de TBA et une molécule de MDA (Prasad et *al.*, 2011). Néanmoins cette méthode n'est pas totalement fiable car la réaction TBA-MDA n'est pas spécifique. La molécule de TBA peut réagir avec d'autres molécules carbonyles. D'où la nécessité de procéder à une chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) qui détecte seulement les complexes TBA-MDA (Poon et *al.*, 2004).

II.3.1.2. Test sur les hydrocarbures volatils

Mesurant les traces des hydrocarbures volatils, produits par voie de scission c'est une méthode totalement non envahissante pour mesurer la peroxydation lipidique chez les animaux et les humains. L'éthane et le pentane dérivés des hydroperoxydes peuvent être détectés par chromatographie en phase gazeuse (GC) avec un détecteur d'ionisation de flamme. Le problème majeur avec cette analyse est que les hydrocarbures volatils peuvent provenir de sources autres que le foie. En fait, certaines études ont suggéré que les bactéries intestinales peuvent produire des quantités significatives de ces hydrocarbures *in vivo* (Sorkhoh et *al.*, 2011).

II .3.1.3.Test révélateur des isoprostanes

Les isoprostanes F₂ appartiennent à la famille des eicosanoïdes. Ils résultent de l'oxydation de l'acide arachidonique. Le 8-épi-PGF₂a est l'isomère majoritaire. Il peut être mesuré notamment dans les urines et est considéré actuellement comme le marqueur de référence de la peroxydation lipidique *in vivo*. Pour être fiables ces marqueurs doivent être mesurés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Pour cela ils doivent être transformés en dérivés sous forme d'esters de pentafluorobenzyl, et d'ethers triméthylsilyl (Daughton ., 2012).

L'organisme dispose de systèmes de protection contre le stress oxydatif en général et la peroxydation lipidique en particulier : les antioxydants qui sont discutés dans le prochain chapitre.

III-Les antioxydants

Malgré d'énormes progrès dans la médecine moderne aucun traitement efficace n'est encore disponible, qui stimulerait les fonctions du foie et offrirait une protection contre les dommages oxydatifs ou l'aiderait à régénérer les cellules hépatiques. Seulement des défenses naturelles peuvent exister contre la peroxydation lipidique, parmi eux, les antioxydants naturels (Moselhy et *al.*, 2010).

III.1.Définition

Un antioxydant est une substance qui inhibe, à faible concentration, l'oxydation d'un substrat (Adil et *al.*, 2007, Nagababu et *al.*, 2010). On peut distinguer deux principaux groupes d'antioxydants, enzymatiques et non enzymatiques.

III.2. Les antioxydants enzymatiques

C'est un système de défense endogène réduisant les espèces réactives de l'oxygène (ERO) issues de réactions redox en molécules stables et moins réactives (Vamecq et *al.*, 2004). Les principaux constituants sont :

III.2.1. La superoxyde dismutase (SOD)

L'organisme dispose de la SOD pour lutter contre l'excès de l'anion superoxyde, suivant la réaction montrée dans la figure 6 (Mourao et *al.*, 2009).

III.2.2. La catalase (CAT)

C'est une enzyme qui agit en synergie avec la superoxyde dismutase (SOD) en éliminant le H_2O_2 le transformant en eau et oxygène (figure 6) (El-Beshbishy et *al.*, 2011).

III.2.3. La glutathion peroxydase (GP_x)

La glutathion peroxydase (GP_x) réduit le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques (figure 6). C'est une enzyme qui utilise le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Gudmundsdóttir et *al.*, 2008).

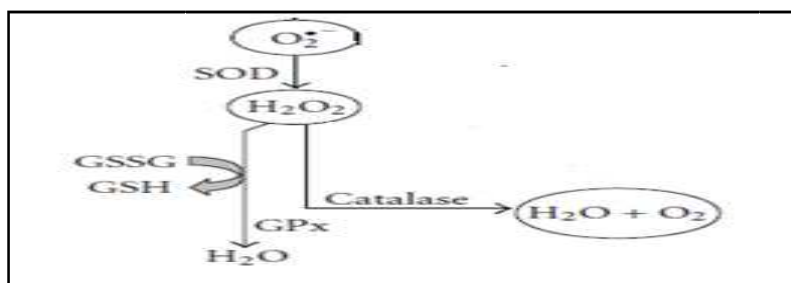


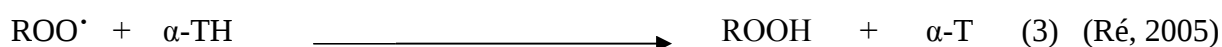
Figure 6 : systèmes antioxydants enzymatiques (Manna et *al.*, 2011)

III.3. Les antioxydants non enzymatiques

C'est un système exogène constitué de composés apportés en général par l'alimentation et ayant pour rôle essentiel la neutralisation des effets toxiques des ERO en captant l'électron radicalaire (Kaechlin-Ramonatxo, 2006).

III.3.1. La vitamine E

La vitamine E, (ou α -tocophérol) (figure 7) est une vitamine liposoluble qu'on trouve surtout dans les huiles végétales, les fruits, les légumes,...etc. Elle protège les acides gras insaturés au niveau des membranes cellulaires par le piégeage des radicaux peroxydes $ROO^{\bullet}$ suivant la réaction (3) (Sivam et al., 2010).



Elle fait aussi partie des tocophérols les plus efficaces *in vivo* car elle est capable de capter les radicaux superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), les radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$) ainsi que l'oxygène singulet ($O^{\bullet}$) (Cuvelier et al., 2003, Ting Lam et al., 2010).

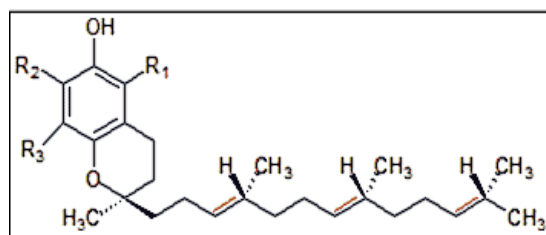


Figure 7 : Structure chimique de la vitamine E (Sivam et al., 2010)

III.3.2. La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est un antioxydant qui réagit directement avec les radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$), superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) et peroxydes ($ROO^{\bullet}$) formant ainsi un radical peu réactif (Meagher, 1999, Wambi et al., 2008) de plus la vitamine C inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E oxydée (figure 8), et peut devenir à forte concentration et en présence du fer, pro-oxydante (Rietjens et al., 2002, Ting Lam et al., 2010).

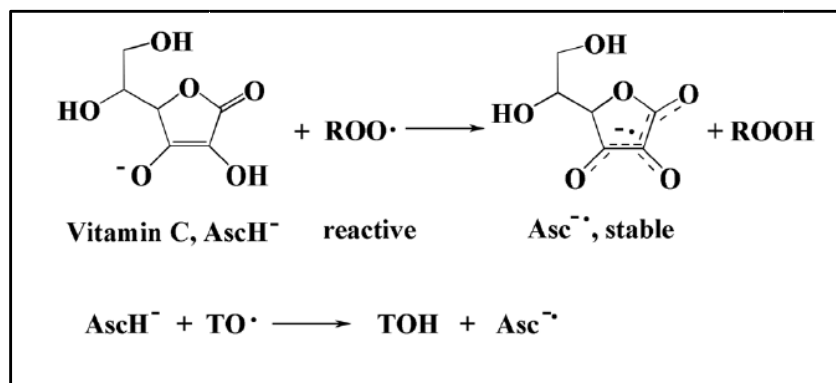
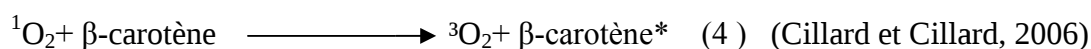


Figure 8 : vitamine C (AsCH⁻) interagissant avec le radical peroxy (ROO·) et régénération de la vitamine E par la vitamine C (Lü *al.*, 2010).

III.3.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles représentés principalement par les β -carotènes, le lycopène et la lutéine. Leur activité antioxydant s'exerce à travers leur habilité à inactiver l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) (réaction 4) qui est formé au cours d'une réaction photochimique, permettant ainsi une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Curtay et Robin, 2000, He et *al.*, 2012).



III.3.4. La bilirubine totale

La bilirubine (BR) est un pigment dérivé du catabolisme de l'hème. Dans ce processus, l'oxydation de l'hème, catalysée par l'hème oxygénase, conduit à la formation de mesohydroxy hème, qui, dans une série ultérieure de réactions est converti en fer, CO, et biliverdine (BV). Chez les mammifères et autres vertébrés certains BV sont réduites rapidement en BR par le NADPH / biliverdine réductase (BVR) (McDonagh., 2010).

Le BR est un antioxydant, potentiellement utile dans la protection cellulaire contre les ERO. A des concentrations élevées cet antioxydant est cytotoxique. En cas de lésions hépatiques, le taux de cette protéine doit augmenter (Richards et *al.*, 2010) Cependant, les mécanismes qui règlent les niveaux cellulaires de BR sont encore mal connus (Abu-Bakar et *al.*, 2011).

III.4. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites végétaux secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits (Tsao., 2010).

L'intérêt de ces composés pour notre organisme se base sur leurs propriétés antioxydants, anti-inflammatoires, antimutagènes et anticancéreuses (Singh et *al*, 2007).

Selon Bruneton (2008), les polyphénols sont divisés en plusieurs classes les plus représentés étant les acides phénols, les flavonoïdes, et les tanins.

III.4.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone et un groupement carboxylique (Balasundram et *al.*, 2006). Ils sont divisés en deux sous-classes les acides benzoïques et les acides cinnamiques, dont leurs structures de bases sont illustrées dans les figures 9 suivantes :

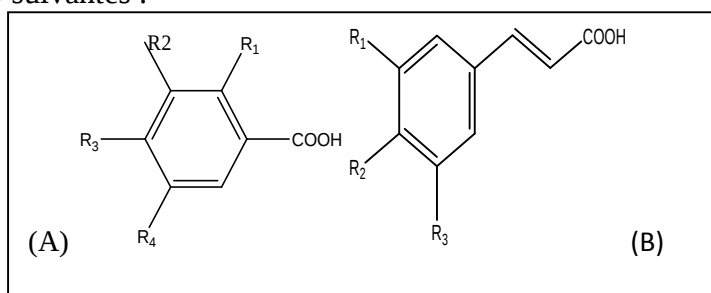


Figure 9 : structures de bases (A) acides benzoïques, (B) acides cinnamiques (Macheix et *al.*, 2006).

III.4.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux; Ils sont dissous dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (D'Archivio et al, 2007).

La structure de base des flavonoïdes est illustrée dans la figure 10.

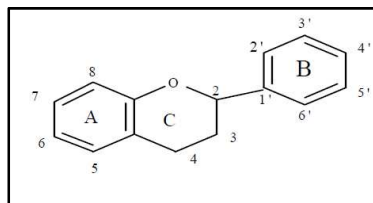


Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes (Bruneton., 2008).

III.4.3. Les tannins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques ainsi que leur degré d'oxydation (Bruneton, 2008).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères) (Bruneton, 2008).
- Les tanins hydrolysables sont constitués d'esters des acides phénols et de glucose (Macheix et *al.*, 2006).

III.5. Mécanismes d'inhibition de la peroxydation lipidique par les polyphénols

II.5.1. Les chélateurs du fer

Les polyphénols possèdent des groupes hydroxyles (OH) et carboxyles (COOH), capables de se lier en particulier à des ions de fer, cette capacité générale de chélation des composés phénoliques est probablement liée au caractère nucléophile élevé des cycles aromatiques (Kim et *al.*, 2011). Le fer étant un métal de transition, cette capacité de le chélater permet d'empêcher la réaction de Fenton et prévient ainsi la lipoperoxydation puisque cette réaction produit le radical OH, un des initiateurs principaux de cette réaction en chaîne (Takatsuka et *al.*, 2011).

II.5.2. Les antioxydants chain-breaking

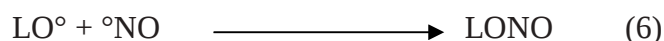
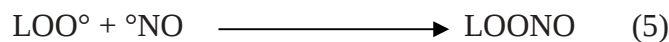
Ce sont des antioxydants qui réagissent le plus souvent avec les radicaux peroxydes (ROO $\cdot$) ou alcoxydes (RO $\cdot$), interrompant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Roginsky et *al.*, 2009). Ils peuvent agir selon deux mécanismes :

III.5.2.1. Les donneurs d'hydrogène

Ces antioxydants sont principalement susceptibles de céder un hydrogène au radical alcoyle ($\text{RO}^\cdot$) ou peroxy ($\text{ROO}^\cdot$). Le radical formé doit être suffisamment stable pour inhiber la propagation de la peroxydation lipidique tel que le tocophérol qui donnera un radical tocophéroyle après oxydation, ce dernier évoluera en tocophérylquinone qui est plus stable (Cicerale et *al.*, 2010).

III.5.2.2. Les antioxydants sacrifiés

Ils concernent des molécules elles même radicalaires qui réagissent avec le radicaux peroxy ($\text{ROO}^\cdot$) ou alcoyles ($\text{RO}^\cdot$) pour donner des produits non radicalaires. Deux radicaux sont connus pour se combiner avec les radicaux peroxy suivant les réactions (5) et (6) : le monoxyde d'azote (NO) et l'anion superoxyde ($\text{O}_2^\cdot$) (Cillard et Cillard, 2006).



III.5.3. Les désactivateurs de l'oxygène singulet

Ils peuvent agir par désactivation chimique en se fixant sur une molécule tel qu'un acide gras pour donner un hydroperoxyde ou encore par désactivation physique éliminant l'énergie d'excitation sans provoquer un changement chimique voire figure 11 (Bouayed et *al.*, 2010).

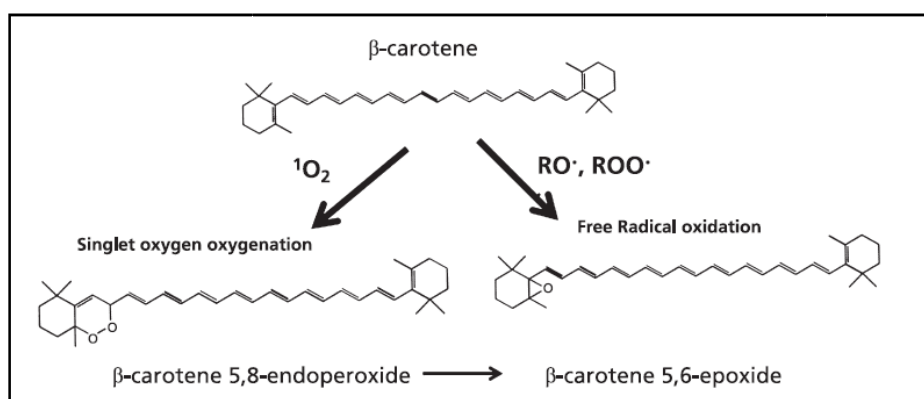


Figure 11 : structure primaire d'oxydation et produits de la β -carotène avec des espèces réactives de l'oxygène. O^1_2 : O_2 ($1\Delta\text{g}$) (Terao et *al.*, 2010) .

Partie expérimentale

IV- Matériels et méthodes

0IV. Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1. Récolte des feuilles de *Pistacia lentiscus*

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* (figure 12) ont été récoltées, en Juillet 2011, dans un endroit isolé loin de toute perturbation et de pollution situé dans la forêt d'Azru'n Bechar, Amizour, Wilaya de Bejaia. La classification et certaines caractéristiques de cette plante sont mentionnées dans le tableau II ci-dessous.

Tableau II: Quelques caractéristiques de *Pistacia lentiscus* (Baba- Aissa, 2002).

Nom scientifique Espèce	Parties utilisées et localisation	Nom local	Classification
<i>Pistacia lentiscus</i>	Fruits et feuilles Espèce méditerranéenne très commune dans les forêts de toute l'Algérie septentrionale	Amadagh, Thidekth	Division : Sapindales Ordre : Magnoliophyta Famille : Anacardiaceae Genre : Pistacia



Figure 12: Photographie des feuilles de *Pistacia lentiscus*

IV.1.2. Usage et effet thérapeutique des feuilles de *Pistacia lentiscus*:

Les feuilles du lentisque sont utilisées, en médecine traditionnelle pour leurs propriétés astringentes. Cependant, sa principale utilité vient de l'extraction de sa résine aromatique, qui est employée comme vernis, ciment dentaire, ainsi que gomme à mastiquer (Baba-Aissa, 2000).

Le lentisque a une large utilisation au Maghreb et depuis très longtemps par les populations rurales qui utilisent ses feuilles et ses fruits. En Algérie, il sert comme vulnérable, dans le traitement d'eczéma, la diarrhée, les infections de gorge, les calculs rénaux, l'ictère, l'asthme, l'ulcère d'estomac, et comme anti-inflammatoire (Djerrou et al., 2010; Bhouri et al., 2010).

IV.1.3. Séchage des feuilles

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été séchées pendant la période de juillet- Août 2011 à température ambiante dans un endroit ombragé et loin de la lumière vive.

IV.1.4. Broyage et tamisage

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été broyées par un broyeur de marque Ika Labortechnik et tamisées pour récupérer une poudre fine de diamètre $<63\mu\text{m}$.

IV.1.5. Extraction

Une extraction sélective à plusieurs solvants a été entreprise selon le protocole de Chiang et al. (1994) avec quelques modifications. La poudre fine de la plante *Pistacia lentiscus* (500g) a été macérée dans l'éthanol à 96% pendant 24h, avec un rapport de poudre : éthanol de 1:4. Après décantation de la solution pendant 24h, une centrifugation de 1500g/min a été effectuée, ensuite le surnageant a été versé dans des cristallisoirs afin de subir un séchage à l'air libre jusqu'à stabilisation du poids sec de l'extrait. La deuxième étape de l'extraction a été réalisée en mettant cet extrait dans un mélange d'acétate d'éthyle: eau (3 :1) (v/v). Après 24 heures de macération, la décantation subséquente a donné naissance à deux phases distinctes (organique et aqueuse). La troisième étape consiste en la macération de l'extrait organique de l'acétate d'éthyle dans un mélange de solvant (chloroforme/eau)(3 :1) (v/v), les phases résultantes ont été séparées et séchées.

Le pourcentage d'extraction de chaque étape est calculé par la formule suivante :

Taux d'extraction (%) = $[(P - P_0)/E] \times 100\%$ avec

P : poids de l'extrait après évaporation et séchage

P₀ : poids vide du cristalliseur ou boîte de pétri

E : poids de la poudre ou l'extrait de l'étape précédente

IV.2. Matériel animal

Les souris mâles albinos ont été fournies par l'institut Pasteur (Alger) et mises dans des cages. Les souris (17-35 g) ont été laissées pour une période d'adaptation de sept jours, gardées à une température de 25°C tout en respectant un cycle de 12 h de lumière et 12h d'obscurité. Les principes de l'éthique de l'expérimentation animale ont été respectés.

L'effet hépatoprotecteur de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle des feuilles de *Pistacia lentiscus* est réalisé selon le protocole de Naskar et ses collaborateurs (2010), avec quelques modifications. Les souris ont été séparées en lots de 5 individus et ont été maintenues avec accès libre à l'eau et à l'alimentation (aliment à bouchon) pendant une semaine avant le début de l'expérimentation.

Groupe I : lot témoin normal (contrôle négatif) administration d'eau physiologique (0,9% NaCl ; 0,3ml)

Groupe II : lot témoin CCl₄ (control positif) administration d'eau physiologique (0,9% NaCl)+ CCl₄

Groupe III : lot standard administration de α -tocophérol (50mg/Kg de souris;0,3ml) pendant 7 jours

Groupe IV : lot expérimental administration de l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus*(50mg/kg souris ; 0,3 ml) pendant 7 jours

Groupes II à IV ont reçu une solution de 1 ml/Kg de CCl₄ : paraffine (2 :1) 2 h après avoir été gavées par l'extrait et le standard le premier jour et chaque 72h après.

IV.3. Test de toxicité

Afin d'éviter l'éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité selon la méthode modifiée de Sosa-Sequera et al., (2010). Pour cela, un lot de quatre souris mâles et femelles ont reçu pendant trois jours et par voie intra-gastrique l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle (125 mg/kg de souris), solubilisé dans de

l'eau physiologique (0,9% NaCl), auquel on a comparé à un lot témoin qui a reçu de la même manière de l'eau physiologique (0,9% NaCl).

Lot I: extrait aqueux d'acétate éthylique (125mg/kg/jour).

Lot II : eau physiologique.

Les souris ont été pesées un jour avant et pendant les trois jours de l'expérience et observées pendant ces trois jours pour détecter des signes de toxicité tels qu'un changement de comportement, une perte de poids ou mortalité.

IV.4. Test de l'acide thiobarbiturique (TBA)

Cette technique est basée sur la révélation des malondialdéhydes (MDA) par l'acide thiobarbiturique (TBA), le complexe des deux mène à la formation d'un chromophore rose détecté par spectrophotométrie à 535 nm selon la figure 13.

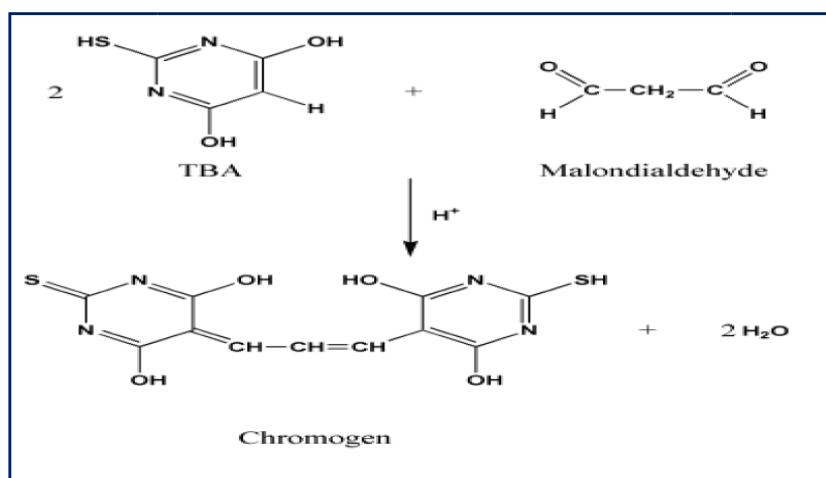


Figure 13: formation du complexe chromogène par la réaction du TBA avec MDA (Antolovich, 2001).

D'après la méthode modifiée de Harish et Shivanandappa (2006), le foie excisé a été lavé avec de l'eau physiologique glacée (0.9% NaCl). Après une homogénéisation manuelle du foie, un volume d'une solution tampon phosphate à 10% p/v (0.1M, pH de 7.2) a été ajouté suite à laquelle une centrifugation pendant 10 min à 4°C a été effectuée.

L'addition de 2 ml TCA/TBA (TBA 0.67% dans TCA) à 1 ml du surnageant récupéré et le chauffage pendant 15 min dans un bain-marie à 100°C a permis l'apparition d'une couleur rose dont l'absorbance a été mesurée à 535 nm.

Le taux de MDA est exprimé en nmoles/mg de protéines calculé en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA/TBA de $1,56 \times 10^5$. La concentration en protéines des homogénats de foie obtenus pour chaque échantillon après la centrifugation a été déterminée suivant la méthode de Bradford (1976) en utilisant la BSA (bovine serum albumin) comme standard (courbe d'étalonnage) (voir annexe 1).

IV.5. Détermination de la bilirubine totale

Le sang des souris sacrifiées a été prélevé et centrifugé à 4000 g pendant 10 min, le sérum récupéré a été testé pour déterminer la bilirubine totale en utilisant un kit commercial. Le taux de bilirubine est exprimé en mg/dl.

VI.6. Poids relatifs des foies

Les foies des souris ont été pesés après leur excision et la corrélation entre les poids relatifs des foies (poids du foie/ poids de la souris) a été déterminée afin de révéler si la peroxydation lipidique a causé une inflammation ou nécrose des foies des souris.

VI.7. Corrélation Entre les poids des souris et la peroxydation lipidique

Des corrélations entre les poids des souris et la peroxydation lipidique ont été réalisées afin d'établir si une augmentation de la LPO a causé une diminution des poids des souris.

VII .8. Analyse statistique

Les résultats des tests sont des moyennes de $n=5 \pm \text{SEM}$. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Statistica en appliquant le test «ANOVA-MANOVA» et la comparaison des données est considérée significative avec $p < 0,05$.

V-Résultats et discussions

V. Résultats et discussions

V.1. Les taux d'extraction

Les procédés d'extraction des antioxydants phytochimiques à partir des plantes médicinales constituent une étape cruciale, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité de principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités pharmacologiques (Ben Sghaier et *al.*, 2011). Plusieurs facteurs peuvent influencer les taux d'extraction: la structure chimique des composés, la granulométrie, le temps de macération, la température, la nature du solvant et les conditions de stockage (Wu et *al.*, 2011).

Donc, avant de procéder à l'extraction des feuilles de *Pistacia lentiscus*, elles ont été d'abord séchées à l'air libre dans un milieu ombragé afin de préserver les polyphénols de la dégradation par les hydrolases présentes dans le matériel végétal frais (Bruneton., 2008., Gulcin et *al.*., 2010).

De plus, le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de poudre fine ayant un diamètre inférieur à 63µm, car ce diamètre augmente la surface de contact du solvant avec la poudre pour un meilleur rendement (Chen et *al.*, 2012).

Les extraits obtenus ont été conservés à une température de -20°C afin de les préserver contre la dégradation.

La méthode d'extraction adoptée dans cette étude utilise plusieurs solvants pour assurer la séparation entre les composés polaires et non polaires (Atmani et *al.*, 2011). De plus, l'extraction par plusieurs solvants induit une meilleure séparation des composés à activité antioxydant (Spigno et *al.*, 2007).

L'éthanol est le premier solvant utilisé car il est moins altérant que le méthanol, qui peut exercer un effet de méthanolyse sur les tannins, pouvant perturber la teneur réelle des extraits en ces composés (Bruneton., 2008).

Le taux d'extraction de l'extrait éthanolique a été calculé par rapport à la poudre initiale, alors que les taux d'extraction des autres extraits ont été calculés par rapport aux poids de l'extrait issu de l'étape précédente. Les résultats sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Taux d'extraction des feuilles de *Pistacia lentiscus*

Extraits	%
Ethanolique	26,37
Acétate d'éthyle	33,32
Aqueux d'acétate d'éthyle	68,63
chloroforme	35,13
Aqueux du chloroforme	39,5

Le but de l'extraction sélective est de séparer les composés hydrosolubles et organiques dans des phases différentes.

D'après le Tableau III, on remarque que les taux d'extraction les plus élevés sont ceux des phases aqueuses notamment celle de l'acétate d'éthyle (68,63%), suivie par celle du chloroforme (39,5%) témoignant de la richesse des feuilles de *Pistacia lentiscus* en polyphénols polaires par rapport aux phases organiques correspondantes respectives.

Pour la dernière étape, on ne remarque pas une différence significative ($p > 0,05$) entre les deux phases aqueuse et organique du chloroforme avec (39,5%) et (35,13%) respectivement. Ceci révèle que les composés polaires et non polaires issus du chloroforme sont en quantités équivalentes dans ces deux extraits.

Il semble que le taux d'extraction de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle des deux dernières années (64,81 % et 57,20 % pour les années 2010 (Sebaihi ., 2010) et 2011 (Cheraft ., 2011) respectivement) est moindre que celui retrouvé cette année (68,63%) bien que le lieu de récolte soit le même, cette différence peut donc être attribuée aux changements climatiques et saisonnières, la pollution qui peut changer la composition chimique de la plante en induisant un taux de polyphénols élevés en réponse au stress (Nazck et Shahidi, 2006).

V.2. Test de toxicité

Les résultats observés lors du test de toxicité résumés dans le tableau IV montrent l'absence de mortalité pour les souris traitées avec l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle (sauf pour une souris malade pour des causes inconnues), comparable à celui des souris non traitées, où seulement une des souris est morte, sa mort étant due probablement à des blessures causées par des agressions par d'autres souris.

Ceci justifie le choix de l'utilisation de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle à une concentration de 50 mg/kg.

Tableau IV : tests de toxicité de l'extrait aqueux de l'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* (125mg/Kg)

	Souris	Poids des souris(g)				Etats des souris
			Jour 1	Jour 2	Jour 3	
Lot I	Souris 1	30	26,42	26,7	25,51	saine
	Souris 2	30	29,33	28	28,20	saine
	Souris 3	37	31,20	29	28,29	saine
	Souris 4	37	31,25	/	/	malade
Lot II	Souris 1	32	29,46	31	31,51	saine
	Souris 2	35	31,80	31	26,88	saine
	Souris 3	35	29,61	/	/	mort
	Souris 4	35	35	34	34,14	saine

/ : Pas de pesée.

V.3. Test de TBA

Diverses études expérimentales et épidémiologiques appuient la participation du stress oxydatif dans la pathogenèse et la progression de plusieurs maladies chroniques, comme le Parkinson, l'Alzheimer et l'athérosclérose (Reed et *al.*, 2011). La forte réactivité des ERO peut déclencher toute une série de troubles dans le corps entraînant des lésions tissulaires dans le cas de la peroxydation lipidique. La cible principale de cette peroxydation est le foie, l'organe responsable du métabolisme des médicaments et des produits chimiques toxiques (Leelaprakash et *al.*, 2011). Tout composé, naturel ou synthétique, ayant des propriétés antioxydantes pourrait ainsi contribuer à atténuer partiellement ou totalement ce type de dommages.

Le CCl₄ est un excellent modèle expérimental pour tester la LPO. Il a été établi que le CCl₄ est accumulé dans les cellules du parenchyme hépatique et métabolisé par le cytochrome P-450 monooxygénase, formant ainsi un radical libre trichlorométhyl (CCl₃•) qui provoque l'alkylation des protéines cellulaires et d'autres macromolécules avec une attaque simultanée sur les acides gras polyinsaturés, en présence d'oxygène pour produire des peroxydes lipidiques qui conduisent à des lésions hépatiques (Hundekari et *al.*, 2012).

Les travaux effectués par Atmani *et al.* (2009) *in vitro* sur les extraits de *Pistacia lentiscus*, portant sur l'inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique et le H_2O_2 , ce dernier étant un générateur du OH, ont montré des pourcentages d'inhibition importants de l'extrait aqueux de l'acétate d'éthyle sur ces deux activités (98% et 73% respectivement), dépassant même ceux du butylhydroxyanisole (BHA) (87% et 32% respectivement) utilisé comme référence. En outre, l'efficacité du α -tocophérol contre le H_2O_2 a été déterminée (28%) et s'est avérée être significativement inférieure à celle de l'extrait.

Ces résultats *in vitro* ont encouragé l'étude de l'évaluation de la protection contre la LPO par l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de feuilles de *Pistacia lentiscus* à une dose de 50mg/Kg, étant donné que les résultats d'une étude ne sont pas valables à moins qu'ils soient vérifiés *in vivo*.

Parmi les marqueurs de LPO, on cite les produits primaires comme les hydroperoxydes, ou les produits secondaires terminaux comme le malondialdéhyde (MDA) qui est un produit de décomposition oxydative de lipides insaturés (Michel., 2008).

Le test de TBA a été réalisé pour mesurer les taux de MDA comme indice de la peroxydation lipidique. Les résultats du traitement par le α -tocophérol et l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* sont illustrés dans la figure 14 suivante.

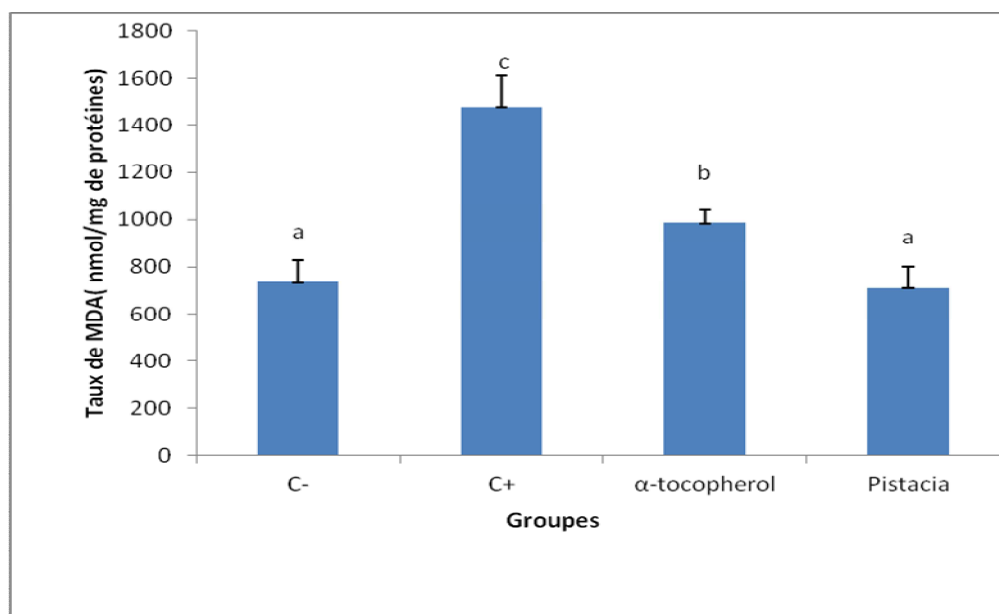


Figure 14 : Taux des MDA (nmol/mg de protéines). (C⁻) control négatif ; (C⁺) control positif ; (α -tocophérol) standard ; (Pistacia) extrait de *Pistacia lentiscus*. Les valeurs sont les moyennes $\pm$ SEM (n = 5).

D'après les résultats de la figure 14, on déduit une activation de la peroxydation lipidique (LPO) chez les souris qui n'ont reçu que le CCl_4 , se traduisant par une augmentation du taux de MDA de $736,1 \pm 92,6$ nmol/mg de protéines pour les souris de groupe I (non traitées avec le CCl_4) ou C⁻ à $1447,05 \pm 133,8$ nmol/mg de protéines pour les souris du groupe II (C⁺) ce qui est équivalent à 50,2 % d'augmentation.

D'autre part, l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* à une dose de 50 mg/kg révèle un effet hépatoprotecteur considérable, réduisant le taux de MDA à $712,72 \pm 90,2$ nmol/mg de protéines équivalent à une baisse de 51,7% tandis que le taux de MDA enregistré chez les souris traitées avec l' α -tocophérol ($891,84 \pm 55,7$ nmol/mg de protéines) correspondant à 39,6% de baisse. Donc la réduction de la lipopéroxydation exhibé par l'extrait de *Pistacia lentiscus* s'est avérée plus importante ($p < 0,05$) à celle obtenue chez les souris pré-traitées par l' α -tocophérol. Les résultats concernant le standard sont prévisibles vu que dans une étude précédente qui a utilisé le fer comme inducteur de la LPO et dans laquelle il a été constaté que l'injection de la vitamine E à une concentration de (110 mg/kg) par voie intra-péritonéale à des rats a donné une inhibition complète de la peroxydation lipidique (Joshi et al., 1995).

Aussi, les résultats de la présente étude concernant les extraits de *Pistacia lentiscus* sont appuyés par une étude sur des extraits obtenus en bouillant les feuilles de *Pistacia lentiscus* et dans laquelle un excellent effet hépatoprotecteur après l'induction de lésions par CCl_4 a été trouvé avec une baisse considérable des transaminases du foie et de la bilirubine totale (Janakat et Merie, 2002).

La plus forte inhibition de la LPO observée chez les souris gavées avec l'extrait de *Pistacia lentiscus* et celles qui ont reçu l' α -tocophérol peut être expliquée par le fait que le CCl_4 est hydrophile, donc plus facilement éliminé par l'extrait aqueux acétate d'éthyle, alors que l' α -tocophérol hydrophobe se partitionne plutôt dans la membrane cellulaire (Flourie et al., 2006).

Les expériences de Harish et Shivanandappa (2006), qui ont testé l'effet hépatoprotecteur des extraits de fruits de *Phyllanthus niruri* dans les mêmes conditions expérimentales que la présente étude, ont révélé une réduction de MDA de 50%, ce qui est très proche du potentiel d'inhibition de la lipopéroxydation exprimé par l'extrait de *Pistacia lentiscus*.

D'autre part, concernant un extrait hydrométhanolique de *Phoenix dactylifera*, dont l'activité hépatoprotectrice a été déterminée par Naskar et al (2010), un taux de réduction de MDA de 24 % a été constaté qui est considérablement plus bas que celui de *Pistacia lentiscus*.

La capacité des extraits d'une plante à atténuer les effets du CCl₄ est fortement associée à son potentiel antioxydant étant donné que les radicaux libres produits par ce composé sont neutralisés par les substances antioxydantes présentes dans les extraits de cette plante. La capacité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* a été prouvée et s'accorde parfaitement avec les données bibliographiques sur l'activité hépatoprotectrice et antioxydante des extraits de plantes du même genre tel que *Pistacia terebinthus* (Kavak et al., 2010).

Dans la présente étude la capacité de l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* à réduire le taux de MDA peut être attribuée à sa richesse en polyphénols à savoir les acides phénoliques, l'acide gallique et ses dérivés glycosylés, les flavonoïdes dont les flavones (López-Lázaro, 2009) les flavonols, les anthocyanines (Benhammou et al., 2008), et les tannins (Addelwaheb et al., 2007; Rogosic et al., 2008). Ces composés sont connus pour leur activité scavenging des ERO (Oyedemi et al., 2010), agissant ainsi comme des antioxydants « chain-breaking » et interrompant la réaction en chaîne de la LPO.

Cependant, il a été rapporté par Ljubuncic et al. (2005) que l'effet d'un extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* provenant d'Israël à une concentration de 15 mg/kg chez des rats qui ont été traités avec l'hépatotoxine thioacetamide pour induire des lésions du foie, pendant 5 semaines d'expérimentation a montré qu'à long terme *Pistacia lentiscus* cause des inflammations du foie et une fibrose. Pour cela, il est impératif de vérifier l'effet de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* utilisé dans la présente étude pour une durée plus longue.

V.4. Détermination de la bilirubine totale

La bilirubine est un produit métabolique final de la dégradation de l'hème. Récemment, les études sur la bilirubine ont suggéré que non seulement elle est un antioxydant efficace, mais également un cytoprotecteur (Zelenka et al., 2012). En effet, les individus atteints du syndrome de Gilbert (maladie se traduisant par une altération héréditaire multifactorielle associée à un niveau de bilirubine élevé) ont une prédominance réduite de développer une maladie cardiovasculaire, et ils présentent une augmentation des niveaux des antioxydants circulants et une résistance améliorée à l'oxydation de

sérum. D'ailleurs, les études épidémiologiques ont démontré que la bilirubine totale du sérum est inversement liée à un plus grand risque de la maladie de l'artère coronaire (Hwang et Kim., 2010).

Afin de déterminer si des dommages au niveau du foie ont été causés par le CCl₄, un paramètre biochimique qui est la bilirubine a été mesuré, et les résultats ont été déterminés pour ou moins deux souris de chaque lot et sont résumés dans le tableau V.

Tableau V: Taux de la bilirubine totale chez les souris des groupes différents

Groupe	C ⁻	C ⁺	α -tocophérol	<i>Pistacia lentiscus</i>
Bilirubine total (mg/dl)	0,10	0,47±0,01	0,85±0,17	0,16±0,04

Les valeurs sont la moyenne de 2 souris (n=2)

D'après le tableau V, le taux de bilirubine totale chez les souris du groupe II (C⁺) est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que celui du groupe I témoin (C⁻), ce qui est prévisible, vu le niveau élevé de MDA chez ces souris. En effet, le taux élevé de la BR constitue un signe de lésions hépatiques (Ito et al., 1995) qui devraient être confirmés par des analyses histopathologiques. Les études précédentes ont prouvé qu'il y a une association étroite entre la peroxydation des lipides et la dégradation enzymatique ou non-enzymatique de bilirubine dans les microsomes de foie *in vitro* (Joshi et al., 1995).

Toutefois, un niveau élevé de bilirubine a été aussi noté dans le groupe IV standard, ce qui ne reflète pas son effet hépato-protecteur révélé par la réduction du taux de MDA. En effet, la bilirubine est une molécule dont les effets sont controversés. A des petites concentrations, elle possède un effet antioxydant mais l'augmentation de son niveau dans le sang peut être néfaste voire neurotoxique (Almaas et al., 2012).

Les résultats de la bilirubine trouvés dans le cas du standard peuvent être expliqués par plusieurs suggestions :

-Des expériences de Joshi et al (1995), sur l'effet hépatoprotecteur du α -tocophérol ont démontré que l'administration des antioxydants pour empêcher la LPO, élèverait la BR du plasma, par un mécanisme inconnu et comme système de défense non enzymatique (BR) contre la formation excessive de radicaux libres en accord avec certaines études (Berrahal et

al, 2007) qui ont confirmé que la bilirubine possède un potentiel antioxydant contre des radicaux peroxydes générés lors de LPO.

-Une étude menée sur l'effet hépatoprotecteur du α -tocophérol a constaté que le taux de la bilirubine augmente par rapport à la dose normale 3 jours après l'administration du fer mais subit une baisse considérable 7 jours après suggérant une lenteur d'action de ce composé. D'autre part, cette même étude a constaté que l'activation des enzymes antioxydants tels que la superoxyde dismutase (SOD) par l' α -tocophérol empêche la dégradation de la bilirubine totale par un mécanisme inconnu (Joshi et al., 1995).

Concernant *Pistacia lentiscus*, le taux de la BR retrouvé chez les souris pré-traitées avec l'extrait de cette plante est comparable à celui retrouvé chez les souris du groupe I témoin ($p < 0,5$) qui représente la normale, ce qui confirme l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de feuilles de *Pistacia lentiscus* par sa prévention des dommages hépatiques. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Janakat et Merie (2002) mentionnés ci-dessus.

V.5. Poids relatifs des foies de souris

Dans le but de s'assurer si l'extrait ou le CCl_4 ont causé des inflammations ou des nécroses, les poids relatifs des foies ont été calculés et les résultats sont regroupés dans le tableau VI.

Tableau VI : les poids relatifs des foies chez tous les groupes

Groupe	Contrôle négatif	Contrôle positif	Standard	Pistacia
Poids relatifs	0,06	0,06	0,07	0,07

Poids relatif = poids du foie/poids de la souris

On remarque d'après le tableau VI un poids relatif assez rapproché ($p > 0,05$) pour tous les groupes. Ceci peut être expliqué par une absence d'inflammation ou de nécrose dans le groupe II dû au temps réduit de l'expérience (7 jours), car pour que le CCl_4 puisse induire une inflammation voire une fibrose ou cirrhose, la période d'administration doit être plus longue (Uzma et al., 2011).

V.6. Corrélation entre les poids des souris et la peroxydation lipidique

On a noté que pendant la période de l'expérimentation les poids des souris pré-traitées avec l'extrait de *Pistacia lentiscus* ont été stables comparés aux autres groupes. Aussi, une des souris pré-traitée avec l'extrait de plante a même perdu beaucoup de poids pour autant sans montrer des signes de faiblesse ou de maladie. Ceci nous a amené à chercher si une relation existe entre la peroxydation lipidique et une perte de poids. Les coefficients de corrélation entre les poids des souris et le taux des MDA sont assez variables. Au niveau des souris non traitées (contrôle négatif) on remarque un coefficient de corrélation négatif ($r = -0,96$) (annexe 2) suggérant que les poids des souris sont inversement proportionnels à la peroxydation lipidique.

Cette observation nous mène à la déduction que les grandes souris sont plus résistantes à la peroxydation lipidique que les petites souris.

Néanmoins, une absence de corrélation ($r = 0,05$) est observée chez les souris traitées avec le CCl_4 (contrôle positif) (annexe 3) indiquant que le CCl_4 a causé une perturbation du métabolisme des souris et l'équilibre entre le poids et la peroxydation lipidique. Il paraît que cet équilibre a été partiellement rétabli chez les souris traitées avec le tocophérol ($r = -0,82$) (annexe 4). Quand à l'extrait de l'aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* une corrélation négatif faible ($r = -0,37$) a été observé due à une petite perte de poids pour la plus part des souris et une perte accrue de poids d'une des souris (souris 2) (annexe 5).

Il est possible que l'extrait puisse agir sur le poids en influençant des stimuli métaboliques comme les cytokines causant ainsi une perte involontaire de poids (Dumas, 2004).

Conclusion

Conclusion et perspectives

La plante *Pistacia lentiscus* a été choisie dans cette étude sur la base de son utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle locale, pour le traitement de certaines maladies et aussi sur la base d'une étude *in vitro* qui a révélé une activité antioxydante considérable de cette plante (Atmani et al., 2009).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* contre la peroxydation lipidique à une concentration de 50 mg/kg a prouvé que l'inhibition exhibée par l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* est la plus vigoureuse dépassant même celui du standard, confirmant ainsi les résultats obtenus *in vitro*.

Nous concluons à partir de cette étude que l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus* constitue une source inestimable de divers composés phénoliques doués d'activités antioxydantes ce qui témoigne et justifie son utilisation en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies liées à la peroxydation lipidique.

Il serait intéressant à l'avenir d'isoler et d'identifier les composés phénoliques de cette plante qui sont responsables d'une activité hépatoprotectrice.

Ces résultats préliminaires pourraient constituer une base scientifique pour la recherche de nouveaux traitements contre les maladies notamment cardiaques et hépatiques.

Nous espérons par ce travail avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle en Kabylie et une meilleure connaissance scientifique de l'utilisation de *Pistacia lentiscus* dans l'inhibition de la peroxydation lipidique.

Des études complémentaires seront nécessaires pour rendre ce travail utilisable dans le cadre de la mise au point d'un phytomédicament.

Références bibliographiques

A

- **Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A., Ghedira, K., Laporte, F., Dijoux-Franca, M., and Chekir-Ghedira, L. (2007)** Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* Confirmation by microarray expression profiling. *Che-Bio Int* **165**. 1–13.
- **Abu-Bakar, A., Arthur, D., Simona, A., Jack, C., and Matti, A.(2011).** Lang. Inducible bilirubin oxidase: A novel function for the mouse cytochrome P450 2A5. *Tox & App Pha* p257.
- **Adil H.I., Cetin I.H., Yener, M., and Bayindirli, A.(2007).** Subcritical (carbon dioxide +ethanol) extraction of apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts *Jrnl of Sup Flu.* **43**. P: 55-63.
- **Almaas, R., Hankø, E., Mollnes ,T., and Rootwelt, T. (2012)** Dexamethasone reduces bilirubin-induced toxicity and IL-8 and MCP-1 release in human NT2-N neurons. *Br a .1 4 5 8*, 1 2 – 1 7.
- **Antolovitch, M., Prenzler, P., Patsalides, D., Mcdonald, S., and Robards, K.(2001).**Methods for testing antioxydant activity.*The roy Soc of Chem Ana*, **127**:183-192.
- **Aranda, R., Cai, H., Chad, E., Elena, J., Levin, Rong Li, John S., Olson George, N., Phillips, Jr., and Richards, P. (2009)** Structural analysis of fish versus mammalian hemoglobins: effect of the heme pocket environment on autooxidation and heme loss. *prot*; **75(1)**: 217–230
- **Atmani, D., Ruiz-Larrea, M., Ruiz-Sanz, J., Lizcan, L., Bakkali, F., and Atmani, D. (2011)** Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *Jrnl of Med Pla Res .Vol. 5(4)*, pp. 589-598,
- **Atmani, D., Chaher, N., Barboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009).** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Fd Che*, **112**: 303-309.

B

- **Baba-Aissa F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident. Librairie Moderne. *Roi Dép lég.* N°91, -294.
- **Bahorum T. (1997).** Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Fd and Agr Res Coun.* Thèse de doctorat de l'université de l'Ile Maurice. P: 83-9.4.
- **Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S. (2006)** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Fd Che* **99**. 191–203.
- **Ben Sghaier, M., Bhouiri ,W., Neffati, A., Boubaker, J., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Chekir-Ghedira, L., and Ghedira K. (2011)** Chemical investigation of different crude extracts from *Teucrium ramosissimum* leaves. Correlation with their antigenotoxic and antioxidant properties. *Fd and Chemi Toxic* **49**. 191–201.
- **Benhammou, N., Bekkara, A., and Panovska, T.(2008).** Antioxidant and antimicrobial ; activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr Jrnl of phar and Phar*, **2(2)**: 022-02.
- **Berrahal ,A., Nehdi, A., Hajjaji, N., Gharbi, N., and El-Fazâa S. (2007)** Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead C. R. *Biologies* **330** 581–588.
- **Bhouiri, W., Safa, D., Skandrani, J., Boubaker, I., Bouhlel, M., Sghaier , S., Kilani , A., Mariotte ,M., Dijoux-Franca, G., Ghedira, K., and Chekir-Ghedira, L (2010)** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Tox in Vitro* **24**. 509–515
- **Bouayed, J., and Torsten, B. (2010)** Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxi Med & Cel Lon.* **3**: 228-237.
- **Brand, M,D. (2010).** The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Exp Gerontol*; **45(7-8)**: 466–472.
- **Bruneton, J. (2008)** pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales.2-7430-0315-4 ,3 éme edition .

- **Brzonova, I., Steiner, W., Zankel, A., Nyanhongo, G., and Guebitz, M. (2011)** Enzymatic synthesis of catechol and hydroxyl-carboxic acid functionalized chitosan microspheres for iron overload therapy. *Eur Jnl of Phar and Biop.*

C

- **Catalá, A. (2009).** Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemi and Phy of Lip* **157** : 1–11
- **Chen, H., Inbaraj, B and Chen, B (2012)** Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. *Int. J. Mol. Sci.***13**: 260-285
- **Chen, Y., Huang, B., He, J., Han, L., Zhan, Y., and Wang, Y. (2011),** In vitro and in vivo antioxidant effects of the ethanolic extract of *Swertia chirayita*. *Jrnl of Ethn* **136**: 309–315.
- **Cheraft, N. (2011).** Activité biologique *in vitro* des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux ABTS^{•+}, O₂^{•-} et •NO et caractérisation des fractions actives. thèse magister. 53
- **Chiang, H., and Wen, P., and Lu, F. (1994).** Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *alsophila spinulosa* (Hook) tryon. *Jrnl of Enz Inhi*, **8** (1): 61-71.
- **Cicerale, S., Lucas, L., and Keast, R. (2010)** Biological Activities of Phenolic Compounds Present in Virgin Olive Oil. *Int. J. Mol. Sci*, **11**: 458-479
- **Cillard, J., et Cillard, P. (2006)** Mécanisme de la peroxydation lipidique et des antioxydants. revue OCL, **13**: 24-29.
- **Curtay, J., et Robin, J. (2000).** intérêt des complexes antioxydants. *Nitrothérapie info*.
- **Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003)** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E ; *Ann. Méd. Vét* : **147**, 315-324

D

- **D'Archivio, M., Filesì, C., Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., and Roberta Masella. (2007)** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità*. **43**: 348-361

- **Daughton, C. (2012)** Using biomarkers in sewage to monitor community-wide human health: Isoprostanes as conceptual prototype. *Sci of the Total Envi* **424** :16–38
- **Djerrou, Z., Maameri, Z., Hamdi-Pacha, Y., Serakta, M., Riachi, F., Djaalab, H., and Boukeloua, A. (2010)** effect of virgin fatty oil of *pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *Afr. J. Trad. CAM* . **7 (3)**: 258 – 263.
- **Dumas , J. (2004)** Metabolisme energetique mitochondrial dans des situations de perte de poids. these de doctorat. **18**
- **Dwiecki, K., Siger, A., Czubin'ski, J., Nogala-Kalucka, M., and Lampart-Szczapa, E. (2012)** The Interactions Between Rapeseed Lipoxygenase and Native Polyphenolic Compounds in a Model System. *J Am Oil Chem Soc* :**89**:379–387.

E

- **Ebrahimi, A., and Schluesener, H.(2012).** Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: Potentials and pitfalls. *Age Res Rev.* **11** : 329– 345.
- **El-Beshbishy, H., Ola, M., Tork , M., El-Bab , M.(2011)** Antioxidant and antiapoptotic effects of green tea polyphenols against azathioprine-induced liver injury in rats. *Path* **18** : 125–135
- **Eymard, S. (2003)** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : *cho des pro.* :28-38

F

- **Fagali, N., Catalá, A., (2009)** Fe²⁺ and Fe³⁺ initiated peroxidation of sonicated and non-sonicated liposomes made of retinal lipids in different aqueous media. *Chem and Phys of Lip* :**159**, 88–94.
- **Favier, A. (2003)** le stress oxydant interet conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .*l'act chim* : **112**.
- **Flora S.(2009)** Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxi Medi and Cell Long* **2(4)** :191-206;
- **Flourie, F., Arab, K., Rossary, A., et Steghens, J.P. (2006).** Effets de different antioxydants sur la lipoperoxydation in vitro initiée par le radical OH[•]. *Imm-anal et bios spéc* **21** : 229-233.

- **Fouché, J.G., Marquet, A., et Hambuckers, A. (2000)** ; Les plantes médicinales : de pla au médi.
- **Frankel, E.N. (1998)** .lipid peroxidation. *The Oily Press*,10 (10)

G

- **Galleano, M., Sandra, V., Verstraeten, b., Patricia, I., Oteiza, C., and Fraga G. (2010)** Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis. *Arc of Bio and Bio*.
- **Genot, C., Michalski, M.(2010)** , Impact métabolique des structures et de l'oxydation des lipides dans les aliments, *Inn Agro* : **10** , 43-67.
- **German, J.B., and Kinsella, J.E. (1985)**.lipid oxidation in fish tissue.Enzymatic initiation via lipoxygenase.*Jrnl of Agr and fd chem.*:**33**,680-683.
- **Goudable, J.,et Favier, A. (1997)** Radicaux libres oxygénées et antioxydants , *Nutr Clin Mdtabol* 1997; **11**:115-20
- **Grassi, D., Desideri,G., and Ferri, C. (2010)** Flavonoids: Antioxidants Against Atherosclerosis.*Nut*,2, 889-902; doi:**10.3390/nu2080889**
- **Grim, J. M., Miles, D. R. B., and Crockett, E. L. (2010)** Temperature acclimation alters oxidative capacities and composition of membrane lipids without influencing activities of enzymatic antioxidants or susceptibility to lipid peroxidation in fish muscle. *J Exp Biol.* 1; **213**(3): 445–452.
- **Gudmundsdóttir, K,B, J., Kristinsson,S., Sigurdarson,T., Eiríksson and Jóhannesson, T. (2008)** Glutathione peroxidase (GPX) activity in blood of ewes on farms in different scrapie categories in Iceland. *Act Vet Sca*, **50**:23
- **Gulcin_Ilhami , Ercan Bursal, M. Hilal S_ehitog_lua, Mine Bilsel, Ahmet C.(2010)** Goren Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Fd and Chem Tox*: **48**. 2227–2238.

H

- **Halliwell, B.(2006)** Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Pla Phy*, **Vol. 141**, pp. 312–322
- **Harish, R., and Shivanandappa, T. (2006)** Antioxydant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*.*Fd Chim* :**95**.180-185.

- **He, J., Huang, B., Ban, X., Tian, J., Zhu, L., Wang, Y. (2012)** In vitro and in vivo antioxidant activity of the ethanolic extract from *Meconopsis quintuplinervia*. *Jrnl of Eth*: **141**. 104– 110.
- **Heuett, W,J., and Periwal, V.(2010)** Autoregulation of Free Radicals via Uncoupling Protein Control in Pancreatic b-Cell Mitochondria. *Bio Jrnl*. **Vol 98** .207–217
- **Hundekari, G,I., Shahana, S., Shookur, M., Roohi, S., Farooqui, Z.(2012)** , Hepatoprotective Activity of Leaves of *Parkinsonia Aculeata* Linn Against Carbon - Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats. *RJPBCS Vol. 3* Issue 1 Page No. 880
- **Hwang, E., and Kim, G. (2007)** Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins *in vitro* and *in vivo* cancer research. *Tox*: **229** .1–10

I

- **Ito, B., Ando, H., Watanabe, Y., and Ito, T. (1995)** Serum Bilirubin Fractions in Cholestatic Pediatric Patients: Determination With Micronex High-Performance ,Liquid Chromatography. *Jrnl of Ped Sur*, **Vo130**, N ° 4, pp 596-599

J

- **Jnakata, S., and Al-Merie, H. (2002).**evaluation of hepato protective effect of Pistacia Lentiscus ,Phillyrea Latifolia and Nicotina lauca. *Jrnl of ethn.***83**:135-138.
- **Johnson,D., TadayoshiKanao, B., and Hedrich, S.(2012)** Redox transformations of iron at extremely low pH fundamental and applied aspects **Vol 3** | Article 96.
- **Johnson, J.J., Bailey, H.H., and Mukhtar, H.,(2010).** Green tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention: A translational perspective. *Phy*:**17**. 3–13
- **Joshi, M., Barbara, H., Billing., Hallinan, T.(1995).** Investigation of the roleof reactive oxygen species in bilirubin metabolism in the Gun rat. *Bio et Bio Act* .**1243** :2444-250.
- **Juddle, A. (2004)** prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : Mécanisme, conséquence , moyens de mesure , quels antioxydats pour quelles applications , *OCL* , **11 (6)** :414-417

K

- **Kavak, D., Altıok, E., Bayraktar, O., and Ulku, S. (2010)** Pistacia terebinthus extract: As a potential antioxidant, antimicrobial and possible _glucuronidase inhibitor. *Jrnl of Mol Cat B: Enzymatic*.

- **Kim, E., Ham, S., Bradke, D., Ma, Q., and Han, O. (2011)** Ascorbic Acid Offsets the Inhibitory Effect of Bioactive Dietary Polyphenolic Compounds on Transepithelial Iron Transport in Caco-2 *Intestinal Cells*1,2. *J. Nutr.* **141**: 828–834
- **Klotz, L.O., Pellieux, C., Briviba, K., Pierlot, C., Aubry, J.M. And Sies, H. (1999).** Mitogen-activated protein kinase (p38-, JNK-, ERK-) activation pattern induced by extracellular and intracellular singlet oxygen and UVA. *Eur. J. Biochem*, **260**: 917-922.
- **Koechlin-Ramonatxo, C.(2006).**oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, oranother way for nutrition in respiratory diseases. *Nut Cli and met*:**20**: 165-177.

L

- **Laguerre, M., Leconte, J., And Villeneuve, P. (2007)** evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation :Existing methods ,new trends and challenges.*pro in lip res*:**46**:249-250,269-273.
- **Lee, J., Koo, N. and Min, D.B. (2004).** Reactive oxygen species, aging and antioxidant nutraceuticals. *Fd Sci and Fd Saf*, **3**: 21-33.
- **Leelaprakash, G., mohan dass, S., and sivajothi V.(2011)** antioxidant and hepatoprotective activities of vernonia cinerea extract against CCL4 induced hepatotoxicity in albino rats. **Vol 10**, issue 2; *article-005* issn 0976 – 044
- **Ljubuncic, P., Sorg, H., Cogan, U., Azaizah, H., and Bomzon A.(2005)**The effect of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease.*Jrnl of Eth*.**100**:198-204.
- **Longo, L., Scardino, A., Giuseppe.(2007)** Vasapollo Identification and quantification of anthocyanins in the berries of Pistacian lentiscus L., Phillyrea latifolia L. and Rubia peregrina L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8**. 360–364^e effect of aqueous extracts prepared from the leaves of pistacia lentiscus in experimental liver disease. *Jrnl of Eth* :**100**,198-204.
- **López-Lázaro, M. (2009).** Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. *Mini-Rev in Med Chem*, **9**, 31-59.
- **Lü Jian-Ming, P., Qizhi Yaoa L,b., and Chen, C.(2010)** Chemical and molecular mechanisms of antioxidants:Experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*. doi:**10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x**.

M

- **Macheix, J.J., Fleuriet, A., et Sarni-Manchado, P. (2006).** Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et doc. Paris. P : 398 : ISBN : 2-7430-0805-9
- **Manna, P., Bhattacharyya, S., Das, J., Ghosh, J., and Parames C. Sil(2010)** Phytomedicinal Role of Pithecellobium dulce against CCl4-mediated Hepatic Oxidative Impairments and Necrotic Cell Death. *Ori Art*, Page 1 of 17.
- **Martinez-Outschoorn, R., Balliet, Rivadeneira, D., Barbara, C., Stephanos, P., Chenguang, W., Whitaker-Menezes, D., Kristin, M., Daumer., Lin, Z., Agnieszka, K., Witkiewicz, N., Flomenberg, Howell, A., Pestell, R., Knudsen, E., Sotgia, F., and Lisanti, M.(2010).** Oxidative stress in cancer associated fibroblasts drives tumor-stroma co-evolution. *Cell Cycle* **9 (16)**, 3256-3276.
- **Mathioudakis, J., Engel, I. D., Welters, M. G., Dehne, R., Matejec, H., Harbach, M., Henrich, T., Schwandner, M., Fuchs, K., Weismüller, G. J., Scheffer, Jörg Mußling. (2011).** Pyruvate: immunonutritional effects on neutrophil intracellular amino or alpha-keto acid profiles and reactive oxygen species production. *Ami Aci* **40**:1077–1090.
- **Matsuzaki, S., Szweda, P., Szweda, L., and Humphries, K.(2009)** Regulated Production of Free Radicals by the Mitochondrial Electron Transport Chain: Cardiac Ischemic Preconditioning. *Adv Drug Deliv Rev.* **30**; 61(14): 1324–1331.
- **Mattson, M.(2009)** Roles of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in obesity, the metabolic syndrome, and associated vascular and neurodegenerative disorders. *Exp Ger* **44** .625–633.
- **Mcdonagh, A. (2010)** The biliverdin–bilirubin antioxidant cycle of cellular protection: Missing a wheel? *Fre Rad Bio & Med* **49**. 814–820.
- **Meagher, E .J., (1999).** Antioxidant vitamins and Atherosclerotic Vascular diseases: A 1999 perspective. *ACC Cur jrnal rev*, 22-25.
- **Mense, S., Singh, B., Remotti, F., Liu, X., and Bhat, H. (2009)** Vitamin C and a-naphthoflavone prevent estrogen-induced mammary tumors and decrease oxidative stress in female ACI rats. *Car* **vol.30** no.7 pp.1202–1208;
- **Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Draï, J., Therond, P. (2008).** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique: aspects analytiques Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects, revue générale, *Ann Biol Clin*; **66 (6)**: 605-20.

- **Milane, H., Vandamme, T., Zhao, M., Kessler, M., Ubeaud, G., Ochandio, B., and Jung, L. (2005)** Free Radical Scavenging Activity of Hydroxyflavone Sodium Salts Compared to the Activity of Hydroxyflavones Themselves. *croa chem acta c*; **78 (1)** 35,41
- **Montserrat, M., Colell, A., Morales, A., Montfort, C., Garcia-Ruiz, C., and Ferná' ndez-Checa, J. (2010)** Redox Control of Liver Function in Health and Disease, Mary Ann Liebert, Inc. Volume 12, Number 11,
- **Moselhy, S., And Junbi, H.(2010)**Antioxidant properties of ethanolic and aqueous Cinnamon extracts against liver injury in rats. *Int Jrnl of Advs in Phar Sci.* **151-155**
- **Mouraˆo, M., Dinguirard, N., Glo' ria, R., Franco1, Timothy P. Yoshino.(2009)** Role of the Endogenous Antioxidant System in the Protection of Schistosoma mansoni Primary Sporocysts against Exogenous Oxidative Stress.*plos one .vol 3*,issue 11

N

- **Nagababu, E., Rifkind, J., Sesikera, B., and Lakshmaiah, N. (2010)** Assessment of Antioxidant Activities of Eugenol by *in vitro* and *in vivo* Methods. *Met Mol Biol* ; **610**: 165–180. Doi :10.1007/978-1-60327-029-8_10.
- **Naskar, S., Islam, A., Mazumder, U. K., Saha, P., Haldar, P. K., and Gupta, M. (2010)** *In Vitro* and *In Vivo* Antioxidant Potential of Hydromethanolic Extract of *Phoenix dactylifera* Fruits.*j.sci.res.2(1)*,144-157.

O

- **Oyedemi S. O., Bradley, G., and Afolayan, A. J.(2010)** *In -vitro* and *-vivo* antioxidant activities of aqueous extract of *Strychnos henningsii* Gilg. *Afr Jrnl of Phar and Phar*, **Vol. 4(2)** pp. 070-078.

P

- **Partyka, A., Łukaszewicz, E., Niz'an'skia, W., Twardon, J. (2011)** Detection of lipid peroxidation in frozen-thawed avian spermatozoa using C11-BODIPY581/591, *Ther* **75** , 1623–1629
- **Pokorny, J.,Yanishlieva N., and Gordon, H.(2001).**les antioxydants dans les aliments.les application pratiques.woodhead publishing limited.CRC Press.Cam Ang .
- **Poon, F. H., Calabrese, V., Scapagnini, G., and Butterfield, D. (2004)** Free Radicals: Key to Brain Aging and Heme Oxygenase as a Cellular Response to Oxidative Stress *Journal of Gerontology: med sci* **Vol. 59A**, No. 5, 478–493.

- **Prasad, A., and Pospíšil, P. (2011)** Linoleic Acid-Induced Ultra-Weak Photon Emission from *Chlamydomonas reinhardtii* as a Tool for Monitoring of Lipid Peroxidation in the Cell Membranes. *plos one* .Vol 6 | Issue 7 | e22345
- **Premasekharan, G., Contreras, K., Ramon, V., Jean Leppert, V., and Jay Forman, H. (2011)** Iron-mediated lipid peroxidation and lipid raft disruption in low-dose silica-induced macrophage cytokine production. *Free Rad Bio & Med* (51) 1184–1194.

R

- **Re, B.D., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L., Et Chad-aissouni, L. (2005).** stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? implication sur la survie neuronale. *Ann française et des réa.* 24 :502-509.
- **Reed, T. (2011)** Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Rad Bio & Med.* 51 .1302–1319.
- **Rietjens, I., Boersma, M.G., De Haan, L., Spenkelink, B., Award, H.M., Cnubben, N.H.P., Van Zanden, J.J., Van Der Woude, H., Alink, G.M., And Koeman, J.H. (2002).** The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *envi tox and pharm*, 11 : 321-333.
- **Rock, E. (2003).** Stress oxydant, micronutriments et santé. *INRA – CRNH*, 63: 37-42.
- **Rodrigo, R., Andrés, M., and Leonardo, V. (2011)** Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clin Chim Act.* 412, 410–424
- **Roginsky, V., Tashlitsky, V., and Skulachev, V. (2009)** Chain-breaking antioxidant activity of reduced forms of mitochondria-targeted quinones, a novel type of geroprotectors. *aging*, Vol. 1 No. 5
- **Rogosic, J., Estell, R.E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J. (2008)** Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems. *Sma Rum Res*, 74: 1–15

S

- **Sebaihi, S. (2010).** Activités anti-radicalaires des extraits de *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae): Caractérisation des fractions actives. *Thèse magister*. 51

- **Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar C., Reddy, Y. S. R., De, B. (2010)** free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. **Vol. 3**, Issue 1; Article 021 ISSN 0976 – 044X
- **Singh, R., Singh, S., Kumar, S and Arora, S.(2007)** Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn . *Fd and Chem Tox* **45**.1216–1223
- **Sivam Anusooya, S., Sun-Waterhouse, D., Quek, S and Perera, C.(2010)** Properties of Bread Dough with Added Fiber Polysaccharides and Phenolic Antioxidants: A Rev. **Vol. 75**, Nr. 8, 2010 _ Journal of Food Science
- **Sorkhoh, N.A., Al-Mailem, D.M., Ali, N., Al-Awadhi, H., Salamah, S., Elias, M., and Radwan, S.S. (2011)** Bioremediation of volatile oil hydrocarbons by epiphytic bacteria associated with American grass (*Cynodon* sp.) and broad bean (*Vicia faba*) leaves. *Int Bio & Bio.* **65**. 797e802
- **Sosa-sequera, M., Suarez, O., and L.Dalo, N. (2010)** kaurenic acid: an iv vivo experimental stady of its anti-inflammatory and antipyretic effects. *Resh edi med and non med pla.* **Vol.42**/issue:5/page:293-296.
- **Spigno, G., Trqmelli, L., and De Faveri D.M.(2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J. Food Eng.* **81(1)**: 200-208.

T

- **Takatsuka, M., Osada-Oka, M., Eisuke, F. S., Kitadokoro, K., Nishiuchi, Y., Niki, M., Inoue, M., Iwai, K., Arakawa, T., Shimoji, Y., Ogura, H., Kobayashi, K., Rambukkana, A., and Matsumoto, S.(2011)** A Histone-Like Protein of Mycobacteria Possesses Ferritin Superfamily Protein-Like Activity and Protects against DNA Damage by Fenton Reaction. *plos one*. Volume 6 | Issue 6 | e20985
- **Terao, J., Minami, Y., and Bando, N.(2010)** Singlet molecular oxygen_quenching activity of carotenoids: relevance to protection of the skin from photoaging. *J. Clin. Biochem. Nutr .* **vol. 48** | no. 1 | 57–62
- **Ting, L. Y., Stocker, R., Dawes, I.W.(2010)** The lipophilic antioxidants α -tocopherol and coenzyme Q10 reduce the replicative lifespan of *Saccharomyces cerevisiae*. *Free Rad Bio & Med*: **49**. 237–244

- **Tsao, R.(2010)**, Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. ISSN 2072-6643

U

- **Uzma, N., Kumar, S., and Anees, S .(2011)** Red wine ameliorates CCl₄ – induced acute liver injury in rats. *AJBS*: **1(1)** 1-7

V

- **Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M., Mazura, M., Telser, J. (2007)** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease .*The Intl Jrnl of Bio & Cel Bio*:**39** 44–84
- **Valko, M., Rhodes, C .J., Moncol,J., Izakovic, M., And Mazur, M.(2006)**.free radicals ,metals and antioxidantes in oxidative stress-induced cancer. *Chim-bio inte*, **160**:1_40.
- **Vamecq, j, L., Vallée, L., Storme, P., Gelé, R., and Bordet(2004)** Les acteurs immédiats du stress oxydatif Key players in oxidative stress. *La Let du Pharm* : **Vol 18** - n° 1.

W

- **Wambi, C., Sanzari, J., Wan, X. S., Nuth, M., Davis, J., Ko, Y., Sayers, C., Baran, M., Jeffrey, H., Ware., and Kennedy, A.(2008)** Dietary Antioxidants Protect Hematopoietic Cells and Improve Animal Survival after Total-Body Irradiation. *Radiat Res*. **169(4)**: 384–396.
- **Wenjin, L., Wu, S., Ahmad, M., Jiang, J., Liu, H., Nagayama, T., Rose, M., Tyurin, V., Tyurina, Y., Borisenko, G., Belikova, N., Chen, J., Kagan, V., and Graham, S.(2010)** The Cyclooxygenase Site, But Not the Peroxidase Site of Cyclooxygenase-2 Is Required for Neurotoxicity in Hypoxic and Ischemic Injury. *J Neurochem*: **113(4)**: 965–977.
- **Wu, X., Yu, X., and Jing, H. (2011)**.Optimization of Phenolic Antioxidant Extraction from Wuweizi (*Schisandra chinensis*) Pulp Using Random-Centroid Optimazation Methodology. *Int. J. Mol. Sci*, **12**, 6255-6266; doi:10.3390/ijms12096255.

Z

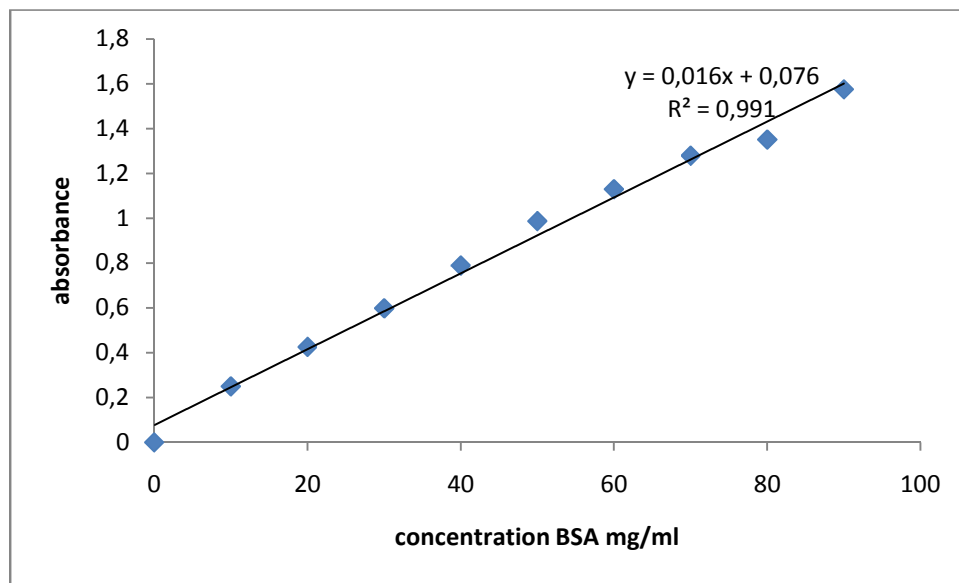
- **Zamora-Ros, R., Montserrat, R., Cherubinic, A., Urpi-Sardaa, M., Llorach, R., Bandinelli, S., Ferruccif, L., Andres-Lacueva, C.(2011)**. Comparison of 24-h

volume and creatinine-corrected total urinary polyphenol as a biomarker of total dietary polyphenols in the Invecchiare in chianti study. *Ana Chim Act* ; **110**– 115.

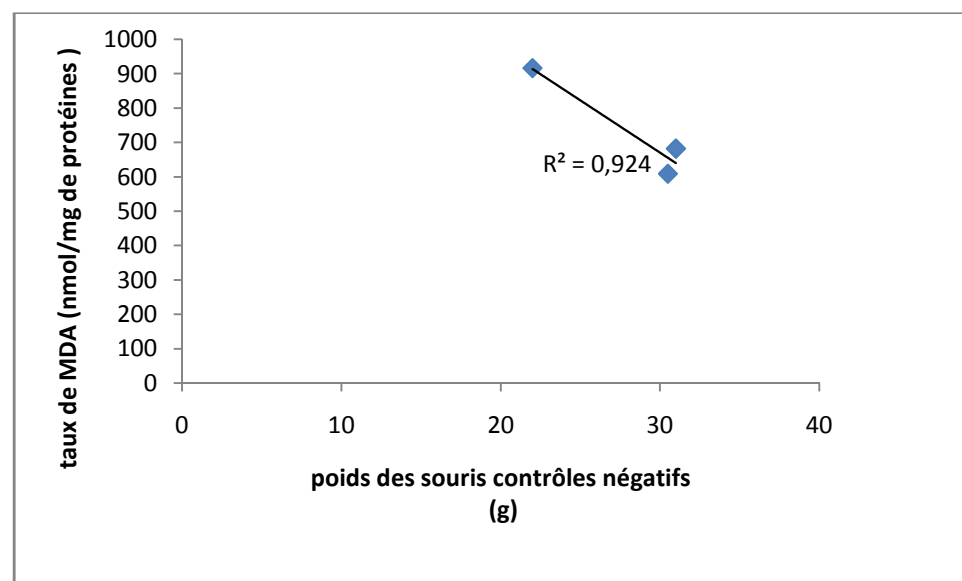
- **Zelenka, J., Muchova, L., Zelenkova, M., Vanova, K., Hendrik, J., Vreman, R J., Wong., Vitek, L.(2012)** Intracellular accumulation of bilirubin as a defense mechanism against increased oxidative stress, *Bio.* 1-7.
- **Zhang, D., Hernandez, B., and Selke, M. (2008)** Photooxidation of metal bound thiolates: reactivity of sulfur containing peroxidic intermediates. *J Sulphur Chem*; **29(3)**: 377–388.

Annexes

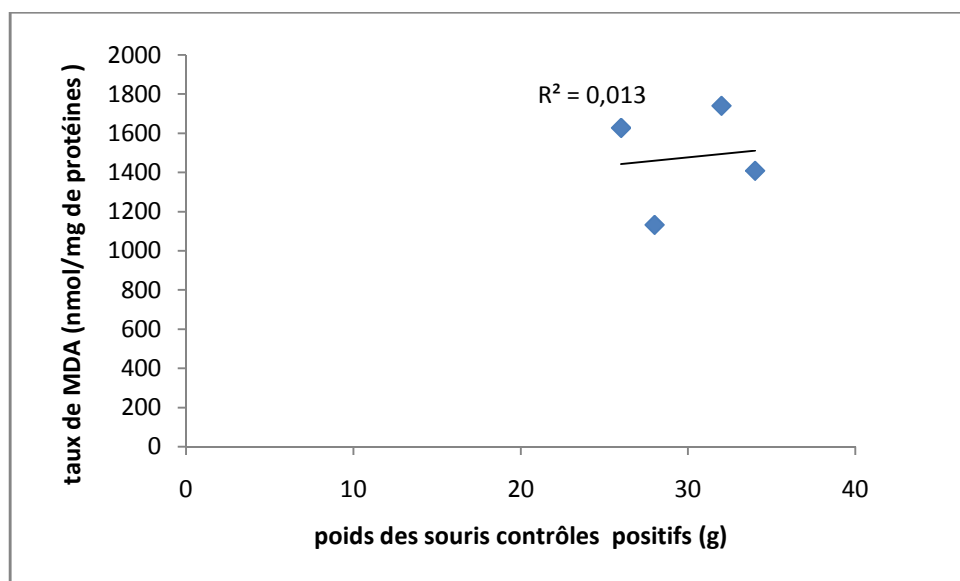
Annexe N°1 : courbe d'étalonnage des protéines par la méthode de BRADFORD fait par la BSA.



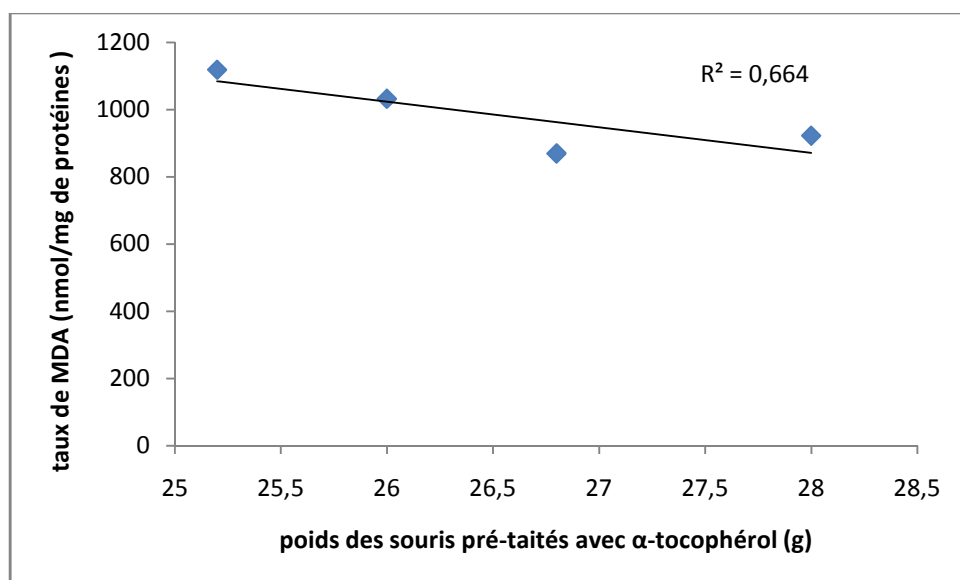
Annexe N°2 : Corrélation entre le poids des souris non traitées et le taux de MDA



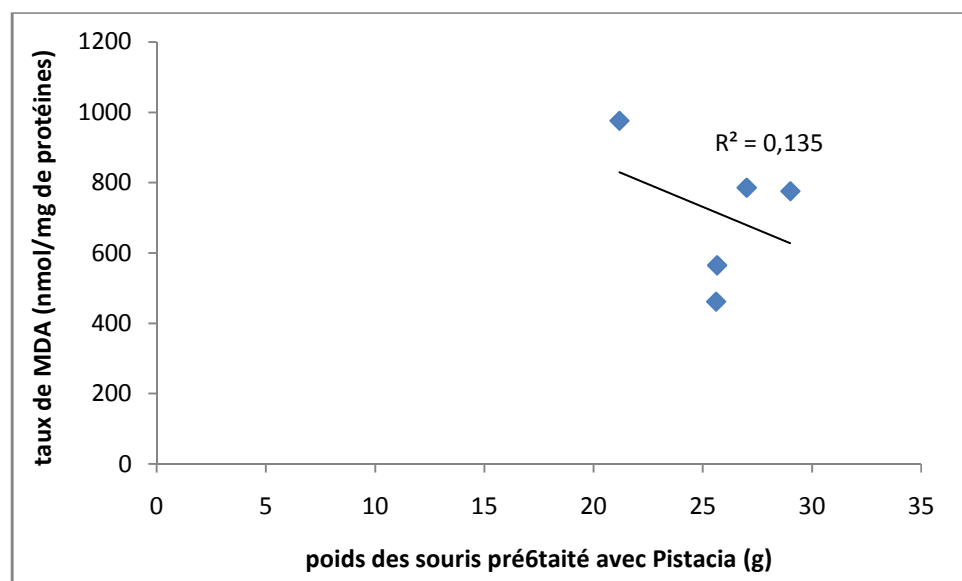
Annexe N°3 : Corrélation entre le poids des souris traitées avec le CCl₄ et le taux de MDA.



Annexe N°4 : Corrélation entre le poids des souris traitées avec α -tocophérol et le taux de MDA.



Annexe N°5 : Corrélation entre le poids des souris traités avec l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle et le taux de MDA



Annexe N°6 : concentrations des protéines chez les différentes souris.

Lots	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅
C -	49,79	52,92	/	39,17	/
C+	70,35	61,41	/	56,65	28,37
ST	71,24	54,34	41,65	45,53	38,99
PIS	45,29	52,9	40,91	52,72	76,6

T: test, C-: control negative, C+: control positive, ST: standard, PIS: extrait de *pistacialentiscus*.

Glossaire

Glossaire

Carcinogène : un carcinogène est un agent capable de provoquer un cancer.

Diurétique : une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisé notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque et certains œdèmes.

Cirrhose : maladie du foie, souvent due à l'alcoolisme, caractérisée par une altération des cellules.

Nécrose : mort d'une cellule ou d'un tissu à l'intérieure d'un organisme vivant

Effet méthanolyse : dissolution dans l'alcool méthylique permettant d'obtenir des alcools gras à partir de corps gras

Résumé

La présente étude visait à tester l'activité hépatoprotectrice *in vivo* de l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle des feuilles d'une plante médicinale locale, *Pistacia lentiscus*.

Les études ont été effectuées sur le foie des souris dont la peroxydation lipidique a été induite par le CCl₄. Le taux des malondialdéhydes (MDA) comme indice de la peroxydation lipidique a été mesuré par le test de l'acide thiobarbiturique (TBA). Aussi, le dosage de la bilirubine totale dans le sang des souris a été aussi réalisé pour détecter la présence de lésions hépatiques. Les résultats ont dévoilé une réduction des valeurs de MDA se rapprochant de celles de l'état physiologique normal qui est de 712±90,2 nmol/ mg de protéines (plus de 100% d'inhibition de la peroxydation lipidique) et une baisse de la bilirubine totale chez les souris pré-traitées avec l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle de *Pistacia lentiscus*. L'activité antioxydante de *P. lentiscus* peut être attribuée à sa richesse en composés phénoliques.

Les résultats obtenus dans la présente étude permettent de valider l'utilisation dans la médecine traditionnelle des feuilles de *P. lentiscus* contre les maladies hépatiques et comme source potentielle d'antioxydants naturels.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, antioxydant, peroxydation lipidique, α -tocophérol et *in vivo*.

Abstract

The present study aimed at testing the hepatoprotective activity *in vivo* of an aqueous ethyl acetate extract of the leaves of a local medicinal plant, *Pistacia lentiscus*.

The studies were carried out on the liver of mice after induction of lipid peroxidation by CCl₄. The amount of malondialdehydes (MDA) as an index of lipid peroxidation was measured by the test of the thiobarbituric acid (TBA). Equally, the total bilirubin in the serum of the blood of mice was quantified to detect the presence of hepatic lesions. The results revealed a reduction in the values of MDA approaching those of the normal physiological state which is of 712±90,2 nmol/Mg of proteins (more than 100% of inhibition of the lipidic peroxidation) and a decrease of the total bilirubin in the mice pre-treated with aqueous of ethyl acetate extract of *Pistacia lentiscus*. The antioxidant activity of *P.* may be attributed to its wealth in phenolic compounds.

The results obtained in the present study allow the validation of the use of *P. lentiscus* in traditional medicine against hepatic diseases and as a potential source of natural antioxidants.

Key words: *Pistacia lentiscus*, antioxidant, lipid peroxidation, α -tocopherol and *in vivo*.