



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Aicha CHENNI et Rania HACHELAF

Le : mardi 9 juillet 2019

Évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire (*in vitro*) de deux extraits des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. et essai (*in vivo*) de la toxicité aigüe de l'un de ses extraits.

Jury :

M	Nasser BELOUCIF	M.A.A	Université de Biskra	President
M ^{elle}	Fatima Zohra BENABDALLAH	M.A.A	Université de Biskra	Promoteur
M ^{me}	Fadjria YAKOUB	M.A.A	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

*Merci **ALLAH** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

Avant d'aborder l'exposé de mes résultats, qu'il me soit permis de remercier toutes les personnes qui, à des degrés divers, ont contribué à faciliter l'élaboration de ce modeste travail

*En premier lieu nos vifs remerciements s'adressent à M^{elle} **Ben abdallâh Fatima Zohra** ; nous avons très reconnaissant pour le temps qu'à pris pour nous aidons à réaliser notre projet. Nous n'aurions pas avancé aussi rapidement si tu n'avais pas été là*

Nous tenons à remercier le président et l'examiner de nous avoir fait honneur de jury la soutenance.

*Un remerciement particulier à M^{eme} **Bengueraichi Fatiha** à son aide lorsqu'on est besoin*

*Mes sincères remerciements vont également à tous les ingénieurs de laboratoire et spécialement à M^{elle} **Alima**, M^{eme} **Saliha**, Monsieur **Abdallah**, et les assistants de scolarité **Zoubir**, **Mouhssin** et **Sameh**.*

Le grand remercie va à tous les enseignants de notre carrière éducatif du primaire à l'université.

Dédicaces

Merci *Allah* de m'orienté à la chemin et de m'avoir donné la santé, le courage
merci ,merci ,merci .

Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chères
parentes, pour leurs sacrifices et leurs soutiens permanents pendant mes années d'études

A mon amour père *Bachbouche* Qui a été le premier à m'encourager à aller si loin dans
mes études. J'ai voulu mener ce travail à terme pour que tu sois fier de moi.

A ma chère mère *Nadoucha* durant mon enfance et même à l'âge adulte Tu représentes
pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du
dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta
bénédictioin m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon marie *Messaoud*; pour l'encouragement, la confiance, le soutien un grand merci
pour votre présence et la sympathie que j'ai reçu a l'occasion de soutenance et un dédicace
exceptionnel pour sa famille en particulier ses parents *Slimane* et *Khaira*

Avec vos mes sœurs *Kinza, Samira, Fatiha, Habiba* et *Ahlem* avec ces enfants
et mes frères *Khaled, Hakim* et *Saleh* la vie de famille est un paradis je t'aime d'un
amour infini vous avoir dans ma vie d'une chance inouïe

J'adresse aussi mes dédicaces à mes amis avec les quelles j'ai passé
des moments agréables

Amani, ton aide a ce moment si particulier de ma vie est un véritable cadeau. Mon cœur
t'en est profondément reconnaissant une chose est sure: je n'oublier jamais.

Roumíla, merci d'avoir pensé à moi d'avoir pris le temps d'être si gentille tu as un grande
cœur.

A mon binôme *Aicha*, merci de m'avoir aidé lorsque j'avais besoin d'aide. Tu as toujours
été un cadeau dans ma vie je te remercie grandement pour l'aide que tu m'as apporté pour
finir ce travail pénible. Avec toi tous semble plus facile

Je dédie encore mes tantes et mes oncles
En particulier *Linda* , *Souda* et *Souad* .

Un dédicace spéciale pour *yama Aziza* et *yama Zoulikha*
Finalement je dédie *ami Mohamed* et l'agent *Khaled* et ces collègues

Rania

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude à *Dieu* de tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé, et m'accordés on soutien durant les périodes les plus difficiles.

Je dédie ce modeste travail à :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma très chère mère *Rahma*; tu représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

À mon père *Hafnaoui* pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.

À mes adorables sœurs *Halima* et *Samia* et son marie *Abed Arrahmen* pour ses efforces, présence à mes cotés et ses conseilles tous le tems.

À mes frères *chaabane* et *Islem* et sa femme *Asma* pour leurs tendresse et leurs permanentes présence à mes cotés pour leurs soutient et encouragement.

Je le dédie spécialement aux mes sœurs d'éducation *Roumíla* et *Amani* pour leurs présence à mes cotés à l'adversité et à la prospérité.

Une dédicace particulière à mon binôme *Rania* qui a été toujours présente dans ma vie avec sec encouragements et aides dans le temps de mièvrerie.

À ma tante *Souad* et son marie *Bechir* et ses enfants *Abed Assatar*, *Oussama*, *Ayoub*, *Houssine* et surtout sa fille ma petite sœur *Khadidja*.

À mes oncles et ses familles.

Un dédicace spéciale à *amou Mohamed*, *Khaled* et *Moustafa*.

Je le dédie tous mes amies de la promotion biochimie appliquée : *Ibtissem*, *Mériem*, *Safa*, *Salima*, *Rabouha*, *Nousiba*, *Asma*, *Ikram*, *Hana*, *Aicha*, *Nour*, *Marwa*, *Fatima*, *Amel* et *Fatima*, je vous souhaite, à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.

Aicha

Sommaire

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	IV
Introduction	1

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1: Espèce de *Pistacia atlantica* Desf.

1.1. Généralité.....	2
1.2. Espèce de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	2
1.2.1. Taxonomie.....	2
1.2.2. Caractéristiques botaniques	3
1.2.3. Utilisation traditionnelle et médicinale de la <i>Pistacia atlantica</i>	3

Chapitre 2: Métabolites secondaires

2.1. Généralité.....	4
2.2. Polyphénols	4
2.2.1. Flavonoïdes.....	5
2.2.2. Tannins	5
2.3. Alcaloïdes	6
2.4. Terpènes.....	7

Chapitre 3: Quelques effets biologiques des plantes médicinales

3.1. Activité anti oxydantes	8
3.2. Activité anti inflammatoire.....	8
3.2.1. Inflammation	8
3.2.2. Toxicité.....	9

Partie expérimentale

Chapitre 4: Matériel et méthodes

4.1. Matériel biologiques	10
4.1.1. Matériel végétal	10
4.1.2. Matériel animale	10
4.1.3. Le sang.....	10
4.2. Méthodes	11
4.2.1. Préparation des extraits de <i>Pistacia atlantica</i>	11
4.2.2. Calcul de rendement	12

4.2.3. Dosage des composées phénoliques	12
4.2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de <i>Pistacia atlantica</i>	14
4.2.5. <i>In vitro</i> , évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	18
4.2.6. <i>In vivo</i> , évaluation de la toxicité aigue d'extrait méthanolique de <i>P. atlantica</i>	23
4.2.7. Analyse statistique.....	23
Chapitre 5 : Résultats et discussions	
5.1. Rendement.....	24
5.2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux	24
5.3. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	27
5.3.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH	27
5.3.2. Test de Ferric Reducing Power	30
5.3.3. Test d'activité antioxydante totale.....	31
5.4. <i>In vitro</i> , évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	33
5.4.1. Activité anti-dénaturante des protéines	33
5.4.2. Activité hémolytique	33
5.4.3. Activité anti-hémolytique	34
5.5. <i>In vivo</i> , évaluation de la toxicité aigue d'extrait méthanolique de <i>P. atlantica</i>	35
Conclusion.....	36
Références bibliographique.....	37
Annexes.....	
Résumés	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Classification botanique	2
Tableau 2. L'aspect, la couleur et le rendement des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	10
Tableau 3. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits des feuilles de <i>P. atlantica</i> Desf.....	25
Tableau 4. Le taux d'hémolyse de l'EAq et l'EMet des feuilles de <i>P. atlantica</i> en comparaison avec l'aspégic.....	34

Liste des Figures

Figure 1. <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	2
Figure 2. Structure chimique du phénol simple.	4
Figure 3. Structure chimique de base des flavonoïdes	5
Figure 4. Structure générale des Tannins hydrolysables (A) et Tannins condensés (B).....	6
Figure 5. Structure chimique de quelques alcaloïdes.	7
Figure 6. Structure chimique d'un isoprène	7
Figure 7. Les feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	10
Figure 8. Schéma de macération.	11
Figure 9. Protocole illustratif de dosage des polyphénols totaux.....	13
Figure 10. Protocole représentant le dosage des flavonoïdes.....	14
Figure 11. Modification de radical DPPH lors du transfert électronique.....	15
Figure 12. Protocole expérimentale représentant le test DPPH.	16
Figure 13. Schéma représentant le protocole de la réduction du fer (test FRAP).....	17
Figure 14. Schéma représentant le protocole du test de TAC.	18
Figure 15. Schéma illustratif de l'activité anti-dénaturante des protéines.....	19
Figure 16. Schéma représentant le protocole de l'activité hémolytique.....	21
Figure 17. Schéma représentant le protocole de l'activité anti-hémolytique	22
Figure 18. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	25
Figure 19. Courbe d'étalonnage de la quercétine.	26
Figure 20. Droite de régression des pourcentages d'inhibition de DPPH par l'EAq et l'EMet	27
Figure 21. Droite de régression des pourcentages d'inhibition de DPPH par le BHA	28
Figure 22. Droite de régression des pourcentages d'inhibition de DPPH par le BHT	28
Figure 23. Valeurs d'IC ₅₀ des extraits Aq et Met des feuilles de <i>P. atlantica</i> avec les standards BHA et BHT.....	29
Figure 24. Les pouvoirs réducteurs du fer de l'EAq et l'EMet avec les standards BHA et BHT µg/ml.	30
Figure 25. Les valeurs de PR 0.5 de l'EAq et l'EMet avec les standards BHA et BHT (µg /ml)	31
Figure 26. Les pouvoirs réducteurs de phosphomolybdène des extraits Aq et Met avec les standards BHA et BHT (µg /ml)	31
Figure 27. Les valeurs PR 0.5 des extraits Aq et Met avec les standards BHA et BHT (µg / ml)	32

Figure 28. Les pourcentages de la dénaturation de BSA par l'EAq et l'EMet des feuilles de *Pistacia atlantica*..... 33

Figure 29. Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse par l'EAq et l'EMet des feuilles de *Pistacia atlantica* et par l'acide gallique 35

Liste des abréviations

AAR : Activité Anti-radicalaire

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif

Abs test : Absorbance de l'échantillon

Ac.gall: Acide gallique

AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires Stéroïdiens

Asp: Aspégic

BHA : Hydroxyanisole butylé

BHT : Hydroxytoluène butylé

BSA : Bovine Serum Albumin

CRSTRA : Centre de Recherche Scientifique et Technique des Régions Arides

Desf. : Desfontaine

Dic: Diclofénac

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil

EAA: Équivalent d'acide ascorbique

EAG: Équivalent d'acide gallique

Eaq : Extrait aqueux

ECat: Équivalent de catéchine

EMet : Extrait méthanolique

EQ: Équivalent de quercétine

ER: Équivalent de rutine

FRAP : Ferric Reducing Ability of Plasma

HDL : High Density Lipoprotein

I% : Pourcentage d'inhibition

J₁₄: le jour 14

LDL : Low Density Lipoprotein

MS: Matière sèche

P. atlantica : *Pistacia atlantica*

P. lentiscus: *Pistacia lentiscus*

PA: poids de la plante sèche en gramme.

PBS : Phosphate Buffered Saline

PE : poids de l'extrait en gramme

PR 0,5: Pouvoir réducteur à l'absorbance 0,5

R% : Rendement en %

TAC : Activité Antioxydante Totale.

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

Introduction

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du «stress oxydant», une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques (Sebaihi, 2010).

La surproduction de ces derniers au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Dont L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Cependant, l'utilisation des substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires ou antioxydantes est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation des composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires (Ferradji, 2011).

L'objectif de la présente étude est l'évaluation *in vitro* du potentiel antioxydant, anti-inflammatoire des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. et une étude préliminaire *in vivo* de la toxicité aigüe de l'extrait méthanolique.

Pour atteindre ce but, on a réalisé les étapes suivantes :

- Quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf.
- Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. vis-à-vis : le test de piégeage du radical

DPPH (2,2-Diphényl-1-picryl-Hydrazil), le test de FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) et TAC (activité antioxydante totale).

- Mis en œuvre l'activité anti inflammatoire des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. par trois tests : Activité dénaturante des protéines, activité hémolytique et l'activité anti hémolytique.
- Un test préliminaire de la toxicité aigüe d'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. sur les rats Wistar albinos.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1
Espèce de *Pistacia*
***atlantica* Desf.**

1.1. Généralité

La phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes dite plantes médicinales qui ont définies comme une “ drogue végétale dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ”. Une drogue végétale est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais (Mohammedi, 2013).

1.2. Espèce de *Pistacia atlantica*

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) appelée aussi “ Betoum ”, fait partie de la famille des Anacardiacees. Elle peut être classé en quatre sous-espèces, à savoir *mutica*, *cabulica*, *kurdica* et *atlantica* ; cette dernière est présente en Afrique du Nord (Yaquobi et al., 2009).



Figure 1. *Pistacia atlantica* Desf.

1.2.1. Taxonomie

Tableau 1. Classification botanique (Bahmani et al., 2015).

Reine	Plantae
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiacees
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i>

1.2.2. Caractéristiques botaniques

Les caractéristiques botaniques de *P. atlantica* sont décrit par (Belhadj, 2001 ; Belhadj *et al.*, 2008) :

Catégorie : Espèce dioïques

Feuilles: Constituées de sept à neuf folioles

Fleurs : Grappes lâches

Fruits : Gros comme un pois, sont des drupes sont appelée *ElKhodiri*

Hauteur : 10-15 mètres

Diamètre : 5 mètres

Pays d'origines : Régions méditerranéenne et irano-touranienne.

En Algérie, *P. atlantica* est très répandue dans le sud (régions semi-arides et arides) et trouvée en association avec *Ziziphus lotus* (Belhadj *et al.*, 2001)

1.2.3. Utilisation traditionnelle et médicinale de *Pistacia atlantica*

D'après Belhadj (2001) l'huile des fruits a un goût très proche de celui du beurre et souvent mélangée aux dattes écrasées et peut être consommée avec du petit lait pendant la journée. Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes. L'écorce produit une résine-mastic qui exsude naturellement de façon abondante par temps chaud. Les populations locales s'en servent pour usage médical.

Le fruit et la résine de *P. atlantica* ont des effets bénéfiques dans les troubles gastro-intestinaux supérieurs et inférieurs. La résine est un tonique pour l'estomac et il est utilisé pour la dyspepsie, l'estomac ulcère, œsophagite et gastrite. Oléorésine est un apéritif, un laxatif, et il est avantageux pour les fissures anales. Le fruit est carminatif et efficace dans les nausées et vomissements, les coliques, hémorroïdes, fissures anales et vers intestinaux.

Les recherches sur les animaux ont révélé que l'huile de fruit de *P. atlantica* diminue du cholestérol LDL, VLDL, triglycérides et augmente du cholestérol HDL. Dans une étude, les différentes formes des lipides ont été réduites chez les rats femelles atteints d'hypothyroïdie qui ont reçu de l'huile de pistache sauvage. En plus *P. atlantica* influe sur différents parties de l'organisme par des effets bénéfiques parmi les quelles : effets hépatiques et spléniques, effets neurologiques, avantages respiratoires, usages du cœur et psychologiques, effets urogénitaux et des bienfaits dermatologiques (Mahjoub *et al.*, 2018).

Chapitre 2

Métabolites secondaire

2.1. Généralité

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires qui sont classées en plusieurs grands groupes : parmi ceux ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Kreif, 2004).

2.2. Polyphénols

Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires. Ils sont très largement représentés dans le règne végétal et donc dans notre alimentation “ qui fournit environ 1g des polyphénols par jour (Haleng, 2007) ”. Nous les consommons sous forme de fruits ou de légumes, Leur structure comporte un ou plusieurs groupes phénoliques. Leur étude a été croissante ces dernières décennies en raison de leurs bienfaits sur la santé, notamment grâce à leur pouvoir antioxydant mais aussi dans la prévention ou le traitement de nombreuses pathologies comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives. Ils sont également utilisés en agroalimentaire, en cosmétique ou dans l'industrie pharmaceutique comme additifs (Desmier, 2016), Ce groupe comporte deux classes : les flavonoïdes et les tannins.

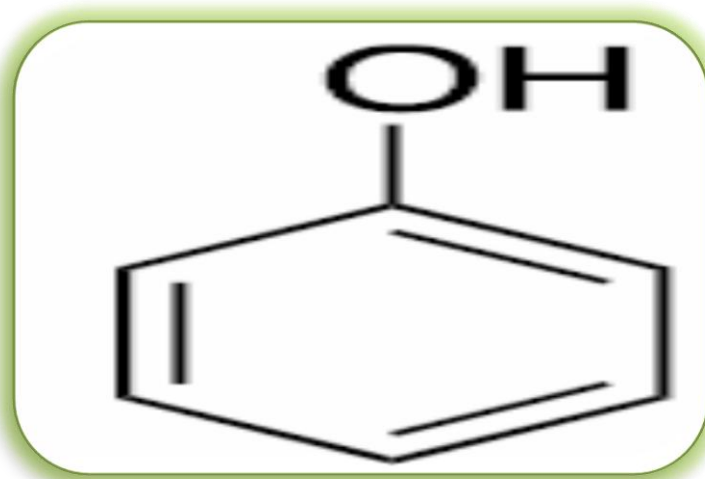


Figure 2. Structure chimique du phénol simple (Desmier, 2016).

2.2.1. Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante. Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques, dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance.

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes. (Benhammou, 2011).

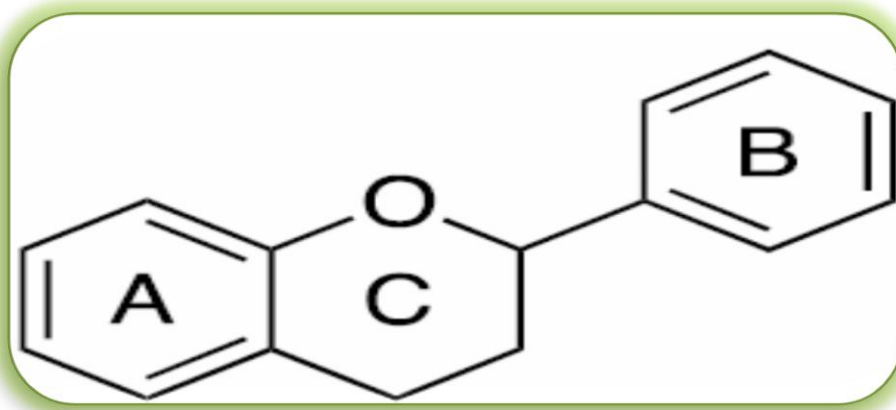


Figure 3. Structure chimique de base des flavonoïdes (Desmier, 2016).

2.2.2. Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines.

On distingue deux groupes de tannins différents : Tannins hydrolysables et Tannins condensés (Benhammou, 2011).

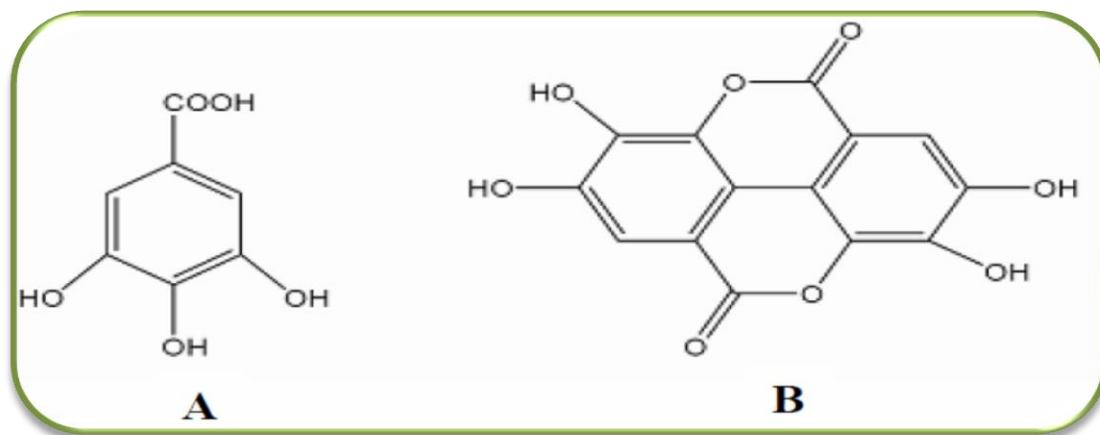


Figure 4. Structure générale des Tannins hydrolysables (A) et Tannins condensés (B)
(Benhammou, 2011).

2.3. Alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative qui ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée. La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis ils se concentrent dans la vacuole. Les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines (Krief, 2003).

Les alcaloïdes ont des propriétés biologiques bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain. La cocaïne est un alcaloïde peu abondant présent dans les *Erythroxylum*. La source la plus importante de ce composé est l'*Erythroxylum coca*, utilisé depuis l'antiquité comme anesthésique local.

Aujourd'hui, en raison de ses propriétés neurotoxiques elle a été remplacée par d'autres drogues moins toxiques mais au cours des interventions chirurgicales des yeux, de l'appareil auditif, du nez et de la gorge, la cocaïne est encore largement utilisée. Associée à l'héroïne, elle est également efficace pour soulager la douleur chez les patients atteints d'un cancer, en phase terminale (Mohammedi, 2013)



Figure 5. Structure chimique de quelques alcaloïdes.

2.4. Terpènes

Les terpénoïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires, formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), le nombre d'unités isopréniques définit les différentes classes de terpènes : monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀) et tétraterpènes (C₄₀).

Les monoterpènes existent dans les huiles essentielles qui possèdent de nombreuses activités biologiques. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite. (Mohammedi, 2013).

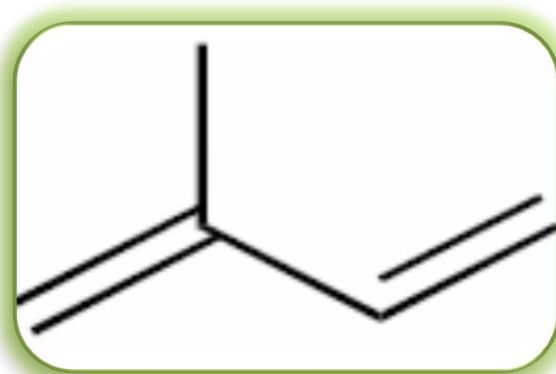


Figure 6. Structure chimique d'un isoprène (Desmier, 2016).

Chapitre 3
Quelques effets
biologiques des plantes
médicinales

3.1. Activité anti oxydantes

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Le piégeage des radicaux libres est probablement la propriété antioxydante la plus étudiée (Desmier, 2016) ; les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, se sont des antioxydants agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (favier, 2003).

3.2. Activité anti inflammatoire

3.2.1. Inflammation

L'inflammation avec ces types aigue et chronique est un processus universel, ubiquitaire et stéréotypé du système immunitaire qui protège l'organisme des agressions (Dorsemans, 2018). Ce phénomène fait intervenir le processus d'immunité qui peut-être naturelle (phagocytose par exemple) ou spécifique (cellulaire ou humorale) qui est causée par différents facteurs : Une agression physique ou chimique, une infection due à des bactéries ou à des virus, une réaction immunitaire primaire ou secondaire (Desmier, 2016). Les anti inflammatoires existent sous trois formes :

- Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), sont des médicaments aux propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires.
- Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol.
- Anti-inflammatoires naturels, comment Catéchine, acide gallique et huile essentielle.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes médicinales réalisée par différentes méthodes :

- Inhibition de l'activité des protéases (Govindappa et Poojashri, 2011).
- Inhibition de la dénaturation des protéines "albumine bovine" (Karthik *et al.*, 2013).
- Test de stabilisation des membranes d'érythrocytes via l'induction d'hémolyse des globules rouges par hypotonie et par chaleur (Sakat *et al.*, 2010) ; (Chippada *et al.*, 2011).

3.2.2. Toxicité

La toxicité est définie comme le potentiel d'une substance d'exercer un effet nocif sur les humains ou animaux, ainsi qu'une description de l'effet et des conditions ou de la concentration dans laquelle l'effet se produit. Les effets toxiques aigus et chroniques diffèrent principalement l'un de l'autre en ce qui concerne la quantité de composé chimique en cause et le temps qui s'écoule avant l'apparition de l'effet.

- **Toxicité aigue**

C'est la capacité d'une substance à causer des dommages biologiques graves ou la mort peu de temps après une exposition ou une dose unique (Tshikosa, 2005).

- **Toxicité chronique**

La toxicité chronique regroupe l'ensemble des effets délétères qui touchent un organisme vivant suite à une exposition ou à une administration réitérée d'un toxique à des doses multiples non létales (Bensakhria ,2018).

Partie

Expérimentale

Chapitre 4

Matériel et méthodes

4.1. Matériel biologiques

4.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. sont récoltées au mois de juillet 2018 de la région d'Ouled Djellel de la wilaya de Biskra. L'identification de l'espèce est validé par le Centre de Recherche Scientifique et Technique des Régions Arides (CRSTRA) de l'université Mohamed Khaider " Biskra ".



Figure 7. Les feuilles de *Pistacia atlantica* Desf.

4.1.2. Matériel animale

L'étude *in vivo* est réalisé sur des rats mâles, de la variété Wistar albinos dont le poids varie entre [210 - 343 g], procurés aux prés de l'institut Pasteur d'Alger. Les animaux sont mis en place dans des cages étiquetées par le nom du lot. Les rats utilisés sont déjà adaptés, dans des conditions favorables.

4.1.3. Le sang

Le sang prélevé pour réaliser les deux tests, hémolytique et anti-hémolytique, est récupéré à partir des personnes volontaires seins qui ne sont pas pris des médicaments anti-inflammatoires depuis 21 jours.

4.2. Méthodes

4.2.1. Préparation des extraits de *Pistacia atlantica*

Les feuilles de *P. atlantica* sont mises à sécher à température ambiante dans un endroit aéré et à l'ombre afin de mieux conserver les molécules sensibles. Puis sont broyées en poudre à l'aide d'un mortier pour qu'elle soit prête à l'utilisation. La poudre obtenue est soumise à une extraction par macération par deux solvants (eau distillée et méthanol) afin d'obtenir deux extraits, aqueux et méthanolique (Falleh *et al.*, 2008)(Fig.8).

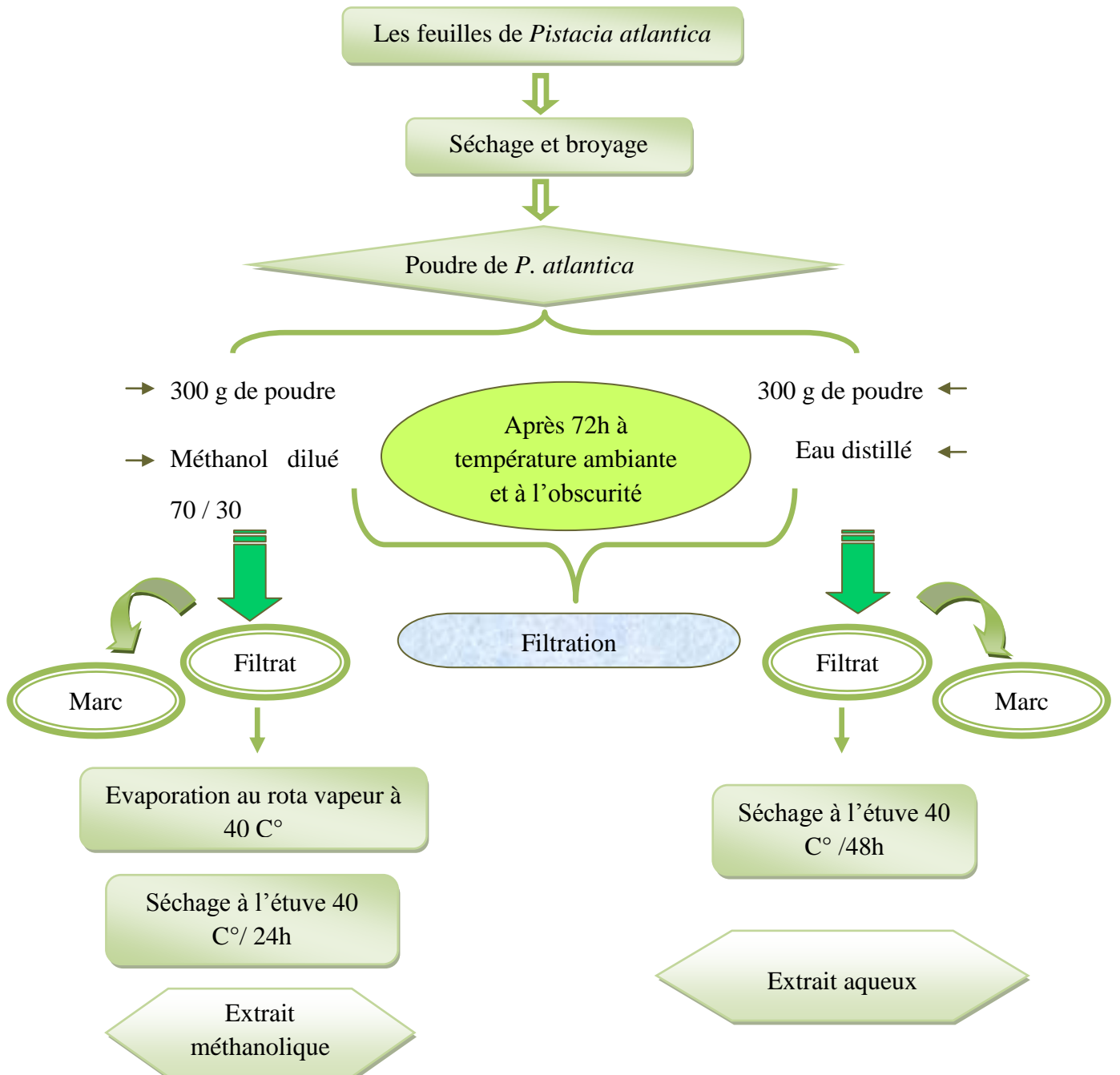


Figure 8. Schéma de macération (Falleh *et al.*, 2008).

4.2.2. Calcul de rendement

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$R \% = (PE / PA) * 100$$

Où

R: rendement de l'extrait en pourcentage;

PE: poids de l'extrait en gramme;

PA: poids de la plante sèche en gramme.

4.2.3. Dosage des composés phénoliques

4.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des différents extraits de *P. atlantica* Desf., est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (H3PW12O40) phosphomolybdique (H3PMO12O40) du réactif de Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables des composés polyphénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu (Ziane, 2014).

- Mode opératoire

Un volume de 100 µl des solutions méthanolique des extraits de la plante est introduit dans des tubes à essai, le mélange (500 µl du réactif de Folin- Ciocalteu dilué 10 fois et 1000 µl d'eau distillée) est additionné, agité puis incubé pendant 1 min à la température ambiante. Après 1 min 1500 µl de carbonate de sodium à 20% est ajouté. Les tubes sont agités et conservés durant 1 heure à la température ambiante et à l'obscurité ; où l'acide gallique est utilisé comme un standard avec différents concentrations (1- 0,8 - 0,6 - 0,4 et 0,2 mg /ml). L'absorbance est mesuré à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Singleton et Rossi, 1965 ; Müller *et al.*, 2010) (**Fig.9**).

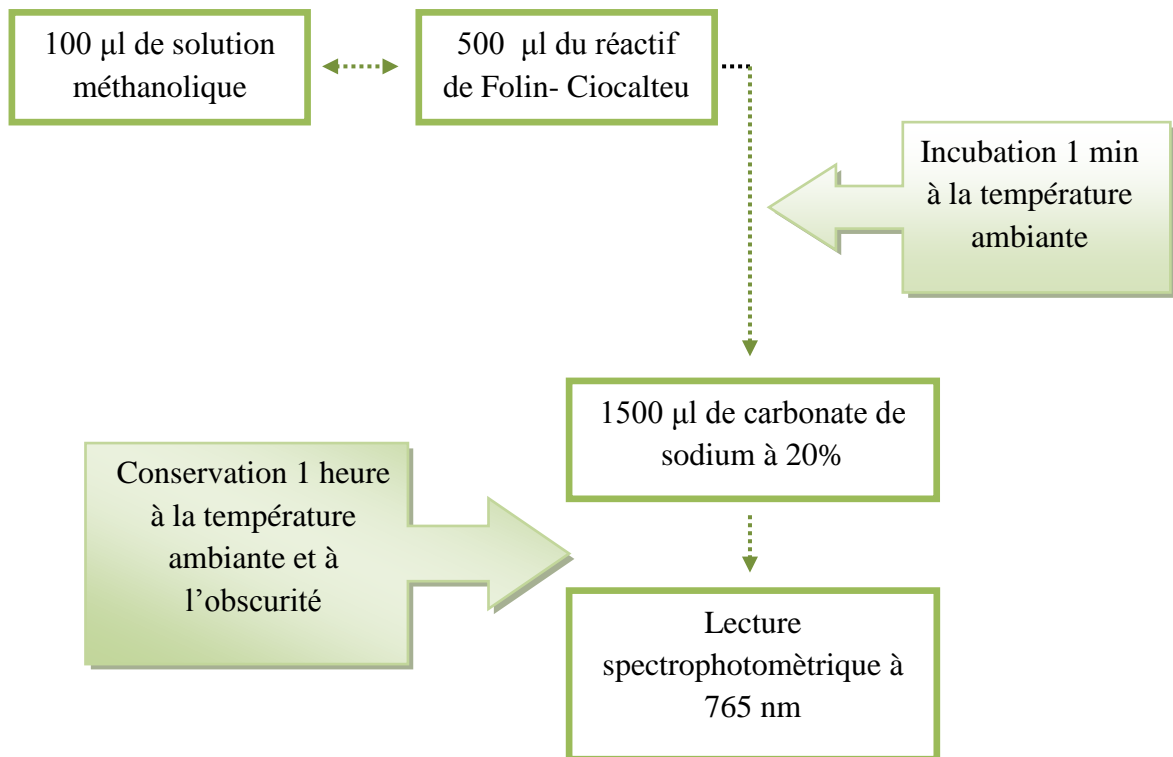


Figure 9. Protocole illustratif de dosage des polyphénols totaux

(Singleton et Rossi, 1965 ; Müller *et al.*, 2010).

4.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de *P. atlantica* Desf.

- Mode opératoire

500 µl des solutions méthanolique des extraits est mélangé avec 1500 µl d'eau distillé suivis de 150 µl de nitrite de sodium à 5% après 5 min 150 µl de trichlorure d'aluminium à 10% est ajouté au mélange, après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium à 4% est additionné immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu ; où le quercétine est utilisé comme un standard avec différentes concentrations (0,5- 0,45 - 0,40 - 0,35 et 0,3 mg /ml), l'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Topçu *et al.*, 2007) (**Fig.10**).

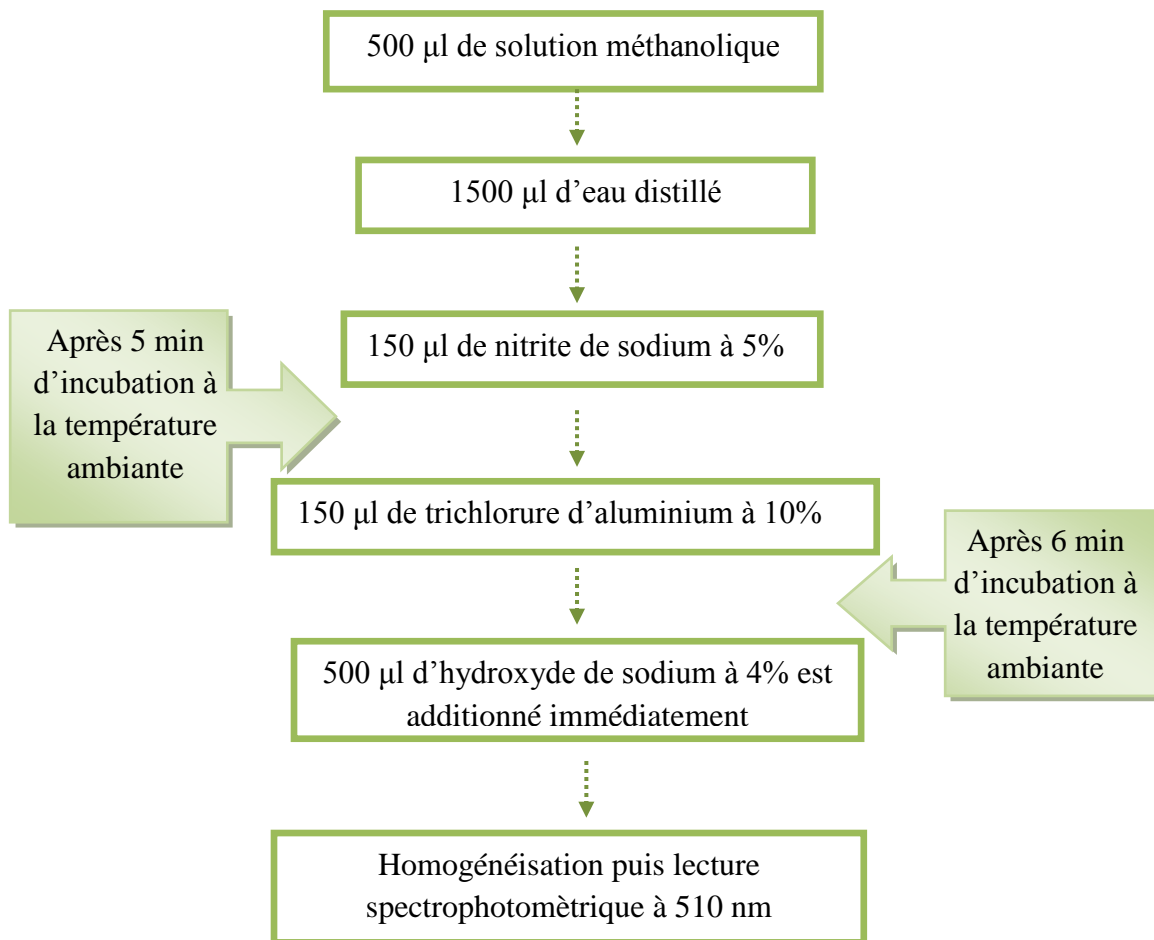


Figure 10. Protocole représentant le dosage des flavonoïdes (Topçu *et al.*, 2007).

4.2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Pistacia atlantica*

Trois tests différents sont utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *P. atlantica*: le test de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil), le test de FRAP (Ferric Reducing Power) et TAC (activité antioxydante totale).

4.2.4.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH

Le DPPH est un radical stable à température ambiante et de couleur bleue caractéristique. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède dans sa structure un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical. Ceci s'observait par le changement de couleur allant de la bleu-violet forme oxydée au jaune forme réduite (Desmier, 2016).

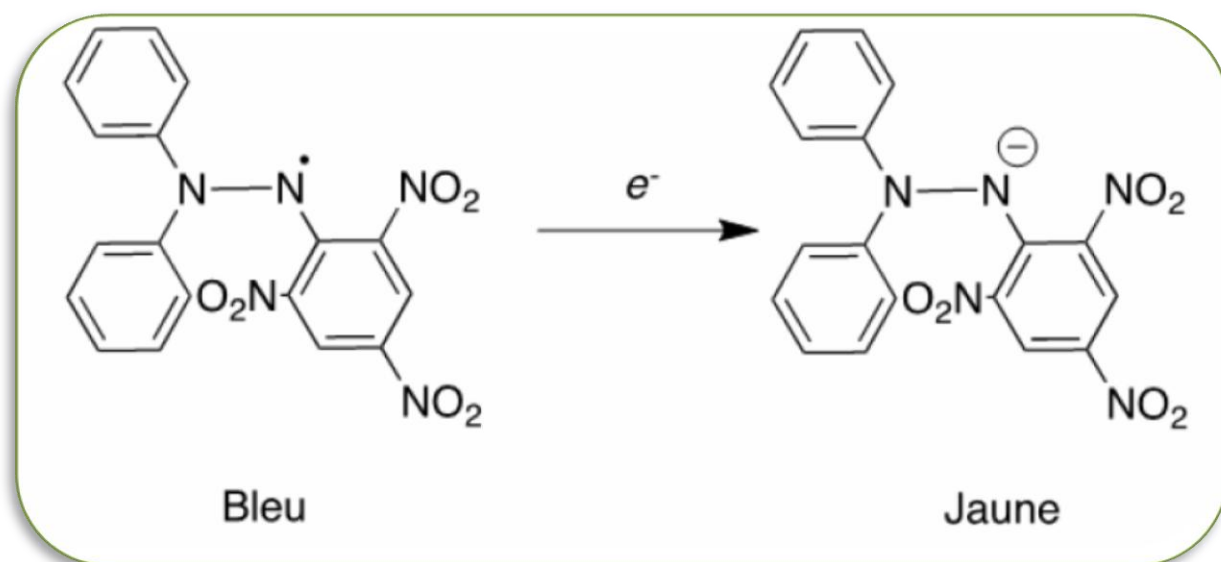


Figure 11. Modification de radical DPPH lors du transfert électronique (Desmier, 2016).

- Mode opératoire

L'activité du piégeage du radical DPPH est mesurée selon le protocole décrit par Lopes-Lutz et al. (2008). 50 μ l de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (200 à 12,5 μ g/ml) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 μ l de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par deux solutions d'antioxydants standards; BHA (200 à 12,5 μ g /ml) et BHT (3200 à 200 μ g /ml) dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (Bougandoura, 2013) (**Fig.12**). Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante:

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

Abs test : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif

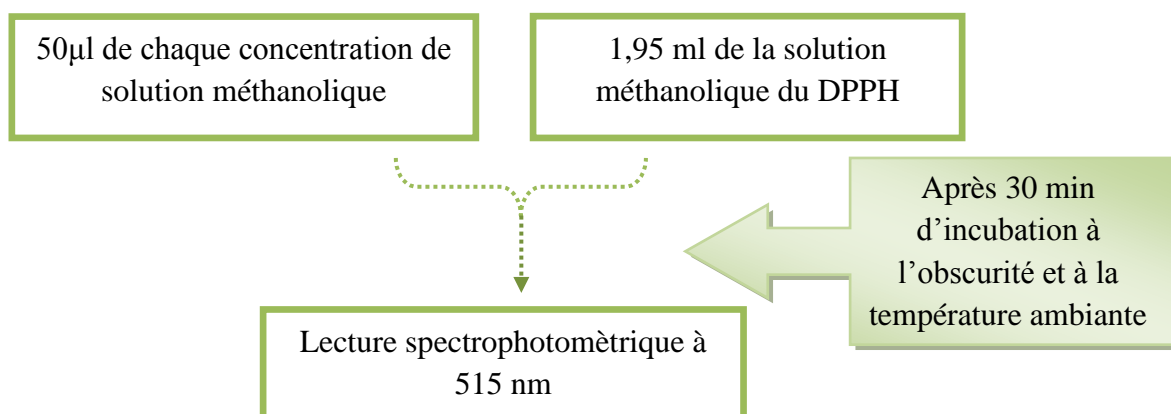


Figure 12. Protocole expérimentale représentant le test DPPH (Bougandoura, 2013).

4.2.4.2. Test de Ferric Reducing Power

Connue sous le nom du test FRAP est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer, de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant (Desmier, 2016).

- Mode opératoire

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 800 à 6,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) (**Annexe 1**) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min.

Un aliquote (2,5 ml) de surnageant est combiné avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par deux standards d'antioxydants; BHA et BHT dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les extraits (**Fig.13**).

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur. 0,5 des extraits testés qui représente la concentration qui réduit le fer à l'absorbance 0,5 (Singleton et Rossi, 1965).

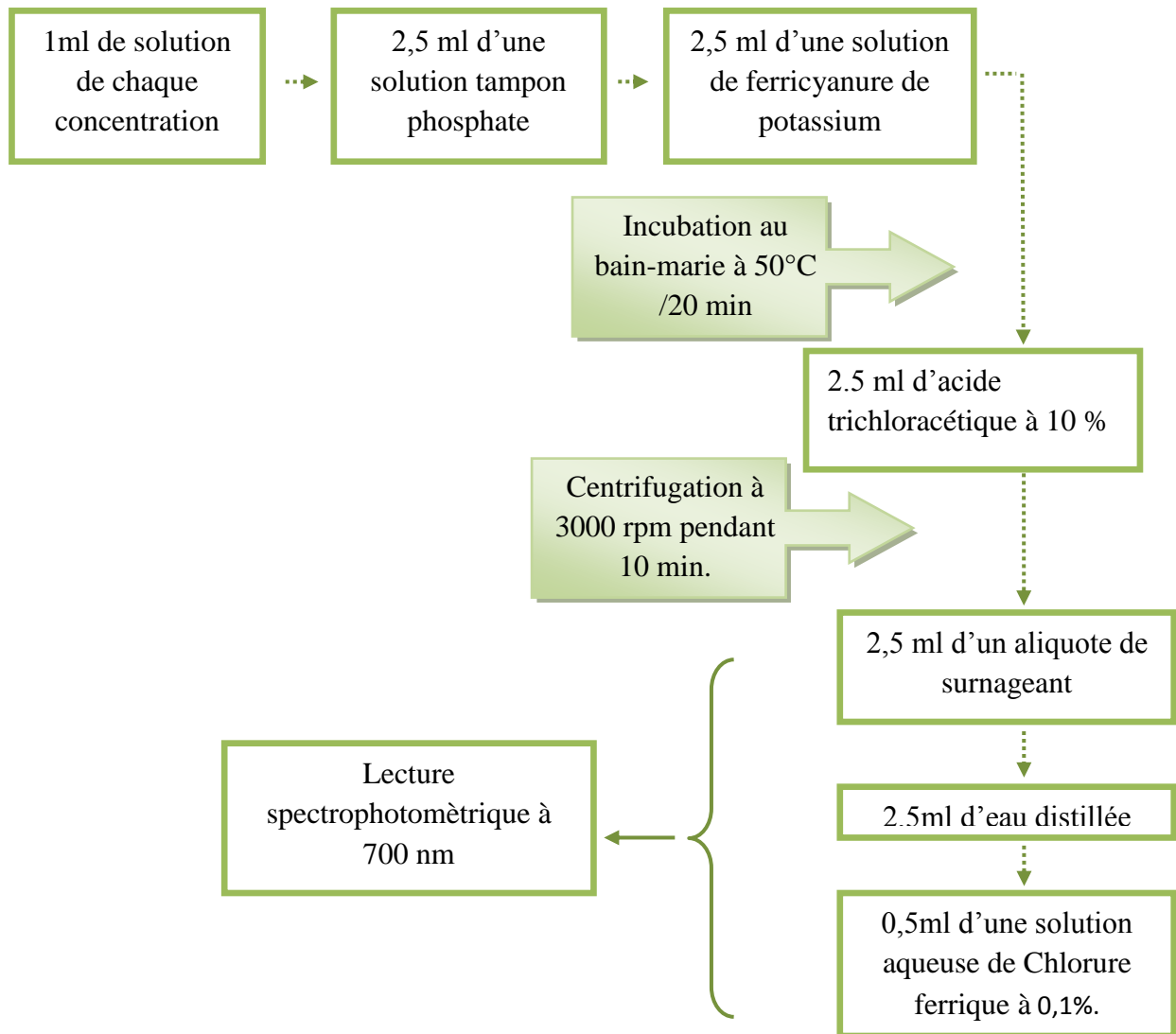


Figure 13. Schéma représentant le protocole de la réduction du fer (test FRAP) décrit par (Singleton et Rossi, 1965).

4.2.4.3. Test d'activité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto *et al.*, (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

- Mode opératoire

0,1 ml de solution d'échantillon de chaque concentration (800 à 200 $\mu\text{g/ml}$) est combiné avec 1 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM) (**Annexe 2**). Les tubes sont bouchés et incubés dans un bain thermique bloqué à 95 ° C pendant 90 min. Après les échantillons sont refroidis à la température ambiante. Le BHA et le BHT sont utilisés comme des standards dans les mêmes conditions que les extraits (**Fig.14**).

L'absorbance est mesuré à 695 nm contre un blanc ; une solution vierge typique contenue 1 ml de solution de réactif avec 0,1 ml de solvant utilisé pour l'échantillon, et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon (Prieto *et al.*, 1998). et le pouvoir réducteur 0.5 est calculé dont il exprime la concentration qui réduit le molybdène à l'absorbance 0.5.

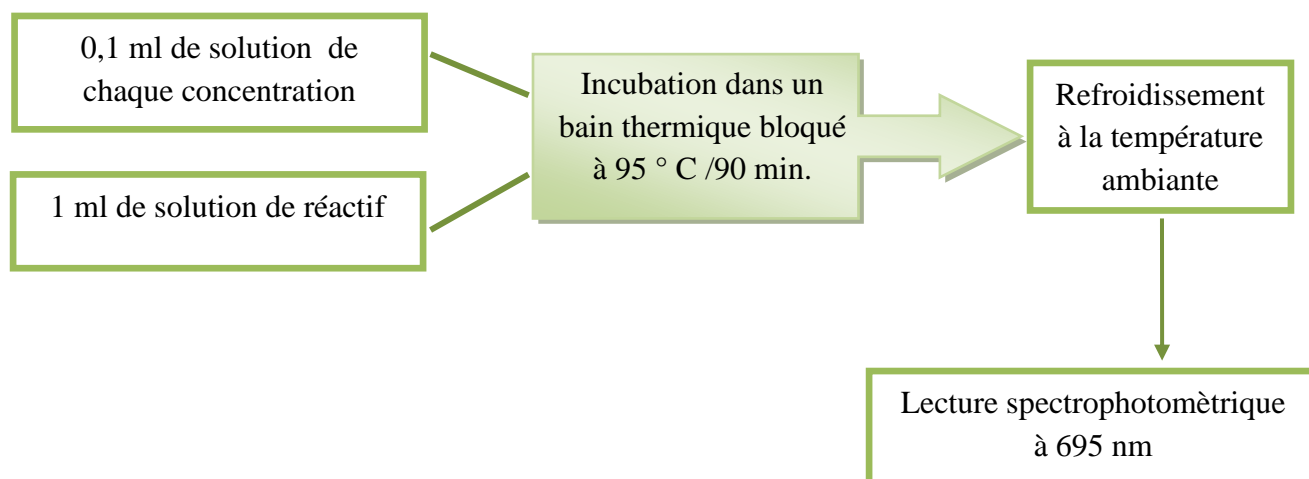


Figure 14. Schéma représentant le protocole du test de TAC (Prieto *et al.*, 1998).

4.2.5. *In vitro*, évaluation de l'activité anti-inflammatoire

4.2.5.1. Activité anti-dénaturante des protéines

- Mode opératoire

Selon Kandikattu *et al.* (2013); 1 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard des différentes concentrations (200, 100 , 50 et 25 $\mu\text{g/ml}$) est mélangé avec 1 ml de solution de BSA 0.2% préparé dans le Tris HCl pH 6,6 (**Annexe 3**) après incubation à 37 C° pendant 15 min les tubes sont mis en place dans un bain marie à 72°C pendant 5 min. Le contrôle positif contient 1ml de BSA et 1ml de tampon Tris HCl (**Fig.15**).

Le diclofénac de sodium est utilisé comme un standard dans les mêmes conditions que les extraits.

Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve. (Kandikattu *et al.*, 2013).

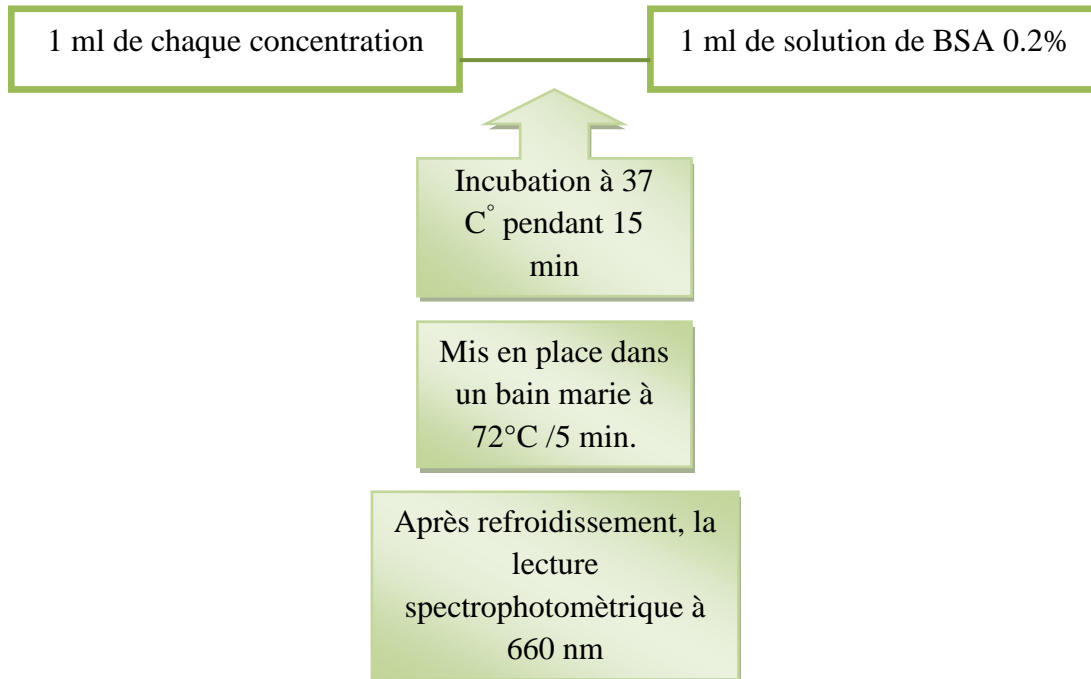


Figure 15. Schéma illustratif de l'activité anti-dénaturante des protéines (Kandikattu *et al.*, 2013).

4.2.5.2. Activité hémolytique

- Préparation de la suspension érythrocytaire

Pour les deux tests (hémolytique et anti-hémolytique) ; Le sang est prélevé dans des tubes d'héparine à partir d'un donneur sain est utilisé pour préparer la suspension érythrocytaire. Il est centrifugé à 2 500 tours/min durant dix minutes et, après élimination du plasma, le culot est lavé deux fois par du PBS, puis suspendu à nouveau dans ce même volume de plasma éliminé. La suspension érythrocytaire, ainsi obtenue, est diluée 20 fois par le PBS. (Haddouchi *et al.*, 2016).

Le test d'hémolyse est évalué parce que, même si une plante possède un pouvoir antioxydant puissant, son utilisation en médecine traditionnelle et dans les préparations pharmacologiques sera impossible en présence de leur effet hémolytique, qui est un indicateur de cytotoxicité (Haddouchi *et al.*, 2016).

- Mode opératoire

Le pouvoir hémolytique des extraits aqueux et méthanolique de *P. atlantica* est réalisé *in vitro* à trois concentrations (50000, 25000 et 12500 µg/ml) sur une suspension d'érythrocytes du sang humain dans le PBS (Phosphate Buffered Saline) à pH = 7,4 ± 0,2 (**Annexe 4**).

Le test d'effet hémolytique de la plante est réalisé selon la méthode de Guo-Xiang et Zai-Qun (2008). Dans des tubes à hémolyse, 20 µl de chaque extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 1 980 µl de la suspension érythrocytaire préparée. Ces tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 60 minutes. Après l'incubation, des prélèvements de 250 µl sont réalisés pour chaque tube pour être repris dans 750 µl de PBS. Ces derniers sont mélangés délicatement et mis dans un bain glaçon pour arrêter la réaction, puis centrifugé à 2 500 tours/min durant dix minutes. La lecture des absorbances est effectuée à 548 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc contenant du PBS. Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube d'hémolyse totale qui contient 100 µl de la suspension érythrocytaire et 1 900 µl d'eau distillée et un tube témoin négatif composé de 250 µl de suspension érythrocytaire et de 750 µl de solution tampon de PBS (**Fig.16**).

L'aspégic est utilisé comme un standard dans les mêmes conditions que les extraits.

Le taux d'hémolyse des différents extraits est calculé en pourcentage par rapport à l'hémolyse totale, après 60 minutes d'incubation, selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'hémolyse \% : DO Extrait} - \text{DO Témoin négatif} / \text{DO Témoin positif} \times 100$$

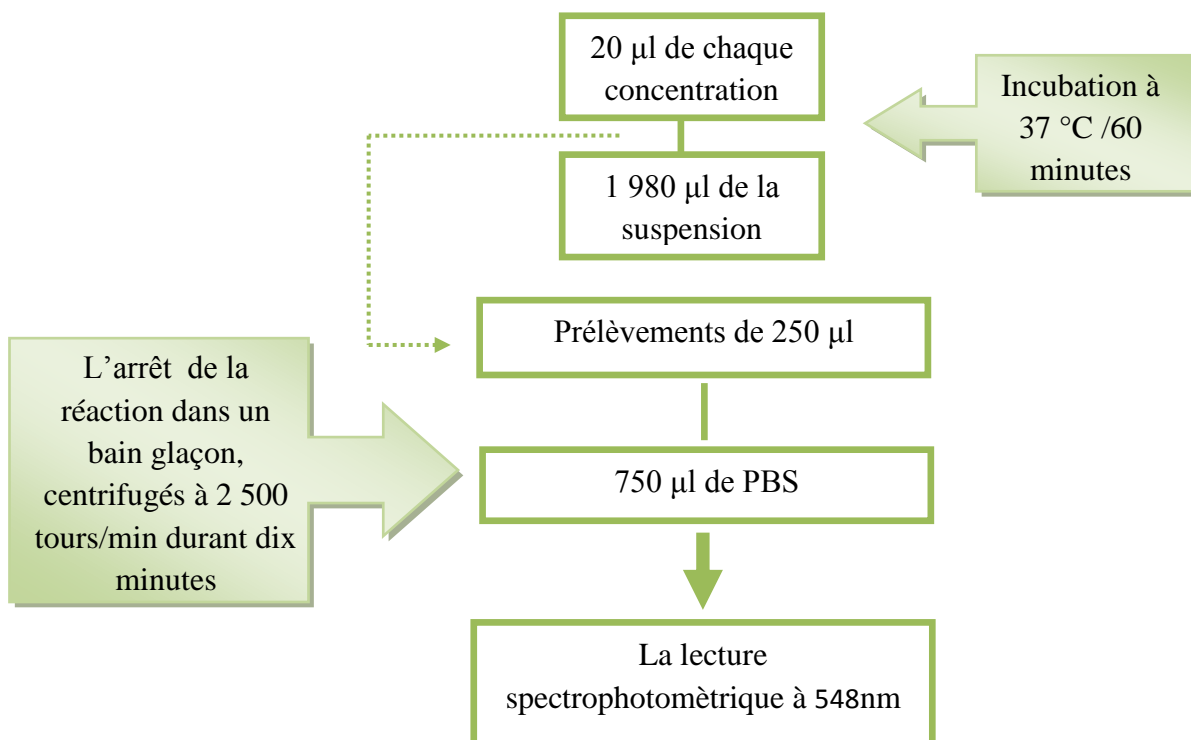


Figure 16. Schéma représentant le protocole de l'activité hémolytique (Haddouchi *et al.*, 2016).

4.2.5.3. Activité anti-hémolytique

Selon le protocole de Ganesh *et al.* (2013) l'activité anti-hémolytique est basé sur l'effet des extraits Aq et Met de *P. atlantica* sur la stabilisation de la membrane des érythrocytes, après un passage à l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée.

- Mode opératoire

Dans des tubes à hémolyse ; 0,5 ml d'extrait (des différentes concentrations : 3200-1600 et 800 µg / ml), 1,5 ml de tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hypo-saline (Na Cl à 0.36 %) sont mélangés et incubés à 37 °C pendant 20 min. Par la suite, un volume de 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (10 %) est rajouté pour chaque tube, enchainé d'une incubation, à 56 °C pendant 30 min. Les tubes sont mis dans de l'eau froide pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite sont centrifugés, à 3000 t/m pendant 5 min. Le contrôle consiste en un mélange de 2 ml de la solution hypo-saline, 2 ml du tampon PBS, 0.5 ml de la suspension de globules rouges et 0.5 ml d'eau physiologique (**Fig.17**).

L'acide gallique est utilisé comme un standard avec les mêmes conditions que les extraits. Où la lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse est calculé selon la formule suivante :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-hémolyse ;

Abs test : Absorbance de l'échantillon ;

Abs Contrôle : Absorbance du contrôle.

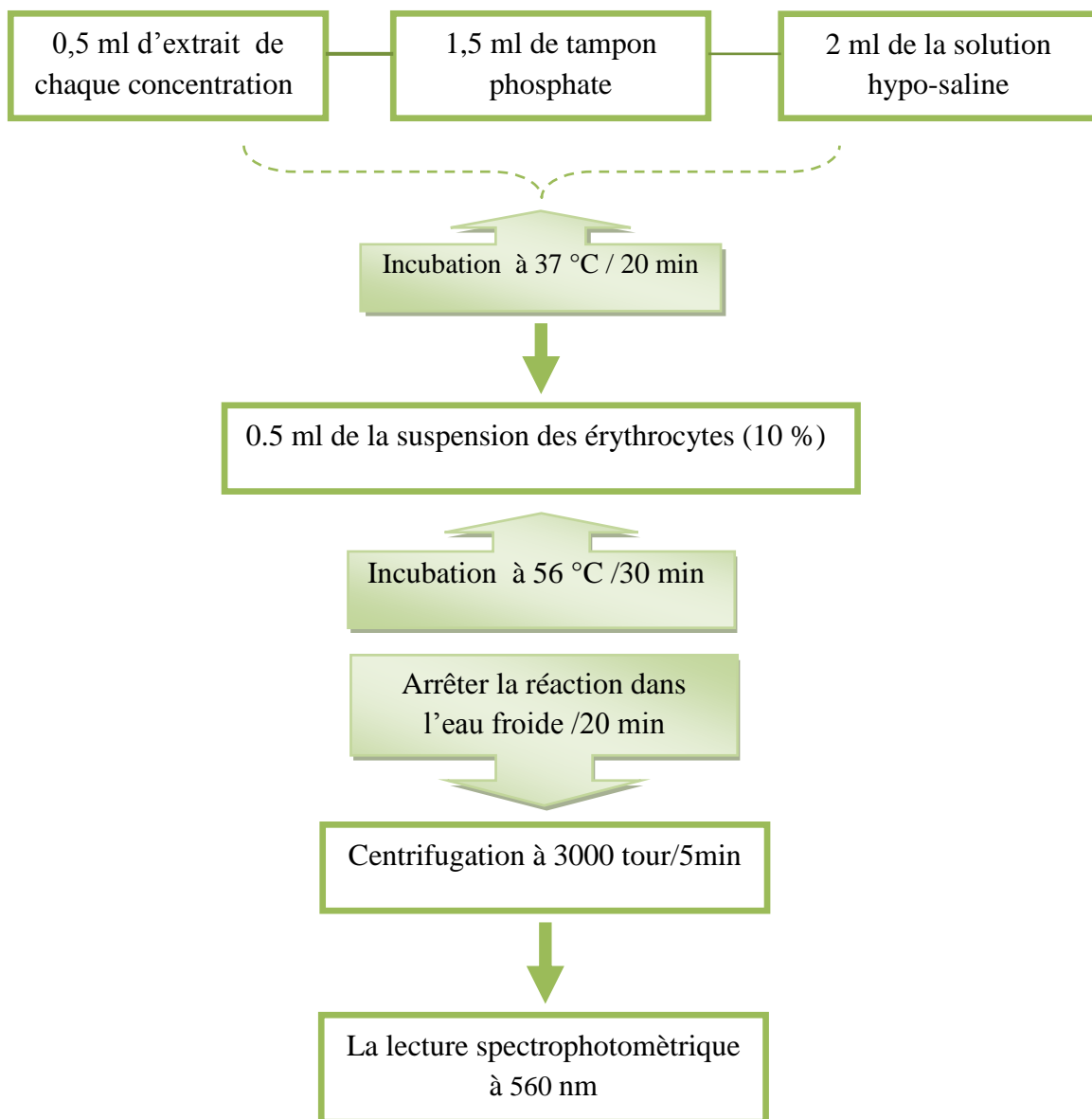


Figure 17. Schéma représentant le protocole de l'activité anti-hémolytique (Ganesh *et al.*, 2013)

4.2.6. *In vivo*, évaluation de la toxicité aigue d'extrait méthanolique de *P. atlantica*

D'après Ziane (2014), afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité, pour cela on a administré aux rats de sexe masculin deux concentrations de l'extrait méthanolique solubilisé dans l'eau physiologique, et bien sur il est impératif d'ajouter un lot témoin auquel on administre l'eau physiologique.

- Administration

L'administration de différentes concentrations de l'EM, solubilisé dans l'eau physiologique est effectué par gavage orale à l'aide d'une sonde. Les rats utilisés sont initialement soumis à un jeun hydrique de 16 heures, puis ils sont pesés et reparti en trois groupes de six rats pour chacun.

Les groupes sont traités ainsi qu'il suit :

- Groupe 1 (témoin) : 1 ml d'eau physiologique/rats;
- Groupe 2 : 2000 mg/kg de poids corporel;
- Groupe 3 : 5000 mg/kg de poids corporel.

- Observation

Après l'administration de l'extrait, les rats sont surveillés en permanence pendant deux heures avec prise de notes sur les signes de toxicité apparents. Pour le reste de la période de l'expérience (14 jours), les rats sont surveillés quotidiennement pour signaler s'il y a eu des morts, des changements dans la prise alimentaire ou encore des signes comportementaux ou cliniques supplémentaires de toxicité. A la fin de l'étude (J₁₄), tous les rats restant sont sacrifiés et s'il ya des mortalités le nombre des rats morts est exprimé en pourcentage.

4.2.7. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés par les moyennes \pm écarts types qui sont calculés par Microsoft Office Excel 2007.

Chapitre 5

Résultats et discussion

5.1. Rendement

Après macération de la poudre des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. suivant le protocole de Falleh (2008), les extraits aqueux et méthanolique ont caractérisé par deux couleurs (jaune foncé et vert foncé) et deux aspect différents (poudre et visqueux) respectivement. Le rendement a calculé et les résultats obtenus présentent dans le tableau 2.

Tableau 2. L'aspect, la couleur et le rendement des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica*.

Les extraits	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Aqueux	Poudre	Jaune foncé	24,76
Méthanolique	Visqueux	Vert foncé	26 ,56

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* a représenté le rendement le plus élevé (26,56%) par rapport au poids total de poudre des feuilles, suivi par l'extrait aqueux qui a exprimé par un rendement de 24,76 %.

En comparant les résultats de Ziane (2014), on observe que nos résultats de rendement ont été plus inférieur, l'auteur a trouvé un rendement en extrait méthanolique (extrait brut) qui égale à 46,578 % et un rendement d'extrait aqueux de 27,41 %

Aussi, d'après Benhammou (2011) le rendement d'extrait méthanolique des feuilles de notre travail a été faible par rapport à l'extrait méthanolique (brut) des fruits rouges de *P. atlantica* qui a été de l'ordre 33.43 %.

Les variations de valeurs des rendements de nos résultats et les autres études peuvent être expliquée par les différents partie de la plante utilisée dans l'extraction, les conditions expérimentales des méthodes appliquées et aussi les solvants utilisées dans la macération qui est probablement le facteur majeur de cette différence par ce que la solubilité des principes actifs n'est pas de même façon dans tous les solvants.

5.2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf., un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a effectué. La méthode de dosages des polyphénols totaux a été celle de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965 ; Müller *et al.*, 2010), l'acide gallique a utilisé comme standard .Alors que, le dosage de flavonoïdes a réalisé

selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Topçu *et al.*, 2007), en utilisant comme standard la quercétine.

Les résultats représentent dans le tableau 3 et les gammes d'étalonnages de l'acide gallique et de la quercétine sont présentées dans les figures 18 ; 19. Dont $Y=2,5705x-0,5575$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9711$ pour l'acide gallique et $Y=2x-0,5648$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0,986$

Tableau 3. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits des feuilles de *P. atlantica* Desf.

Les extraits de la plante	Teneur en polyphénols (mg EAG/g d'extrait sec)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait sec)
Extrait aqueux	556,7 ± 0	361,5 ± 0,9
Extrait méthanolique	544,9 ± 0,1	382,9 ± 0

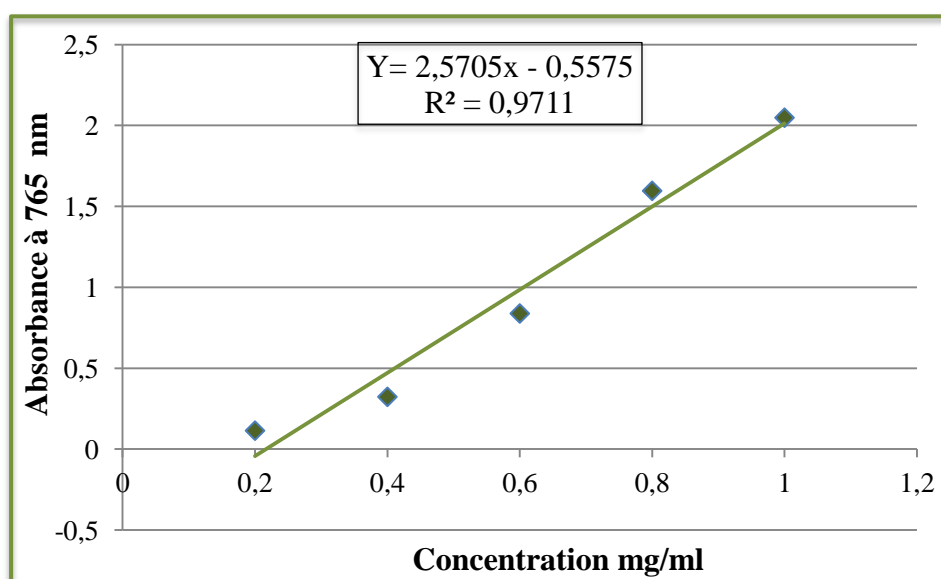


Figure 18. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

En a noté un taux de polyphénols élevé dans l'extrait aqueux (556,7 ± 0 mg EAG/g d'extrait sec) suivi par l'extrait méthanolique (544,9 ± 0,1 mg EAG/g d'extrait sec), ces résultats ont plus élevé que les résultats enregistré par Ziane (2014) qui trouve un taux en polyphénols de 0.040 ± 0.031mg EAG/g d'extrait sec pour l'extrait méthanolique suivi par l'extrait aqueux d'un taux de 0.266 ± 0.041 mg EAG/g d'extrait sec.

En plus de résultat motionnées par Ziane, on a trouve que nos résultats en teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique ont été supérieur de celle trouvé par Sebaihi (2010) qui a signalé un taux de $232,22 \pm 1,59$ mg ECat /g d'extrait.

Par ailleurs, notre taux en polyphénols a été plus inférieur que celui trouvé dans l'étude de Gardeli et ses collaborateurs (2008) sur l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* qui a compté une teneur de 588 mg EG/g d'extrait.

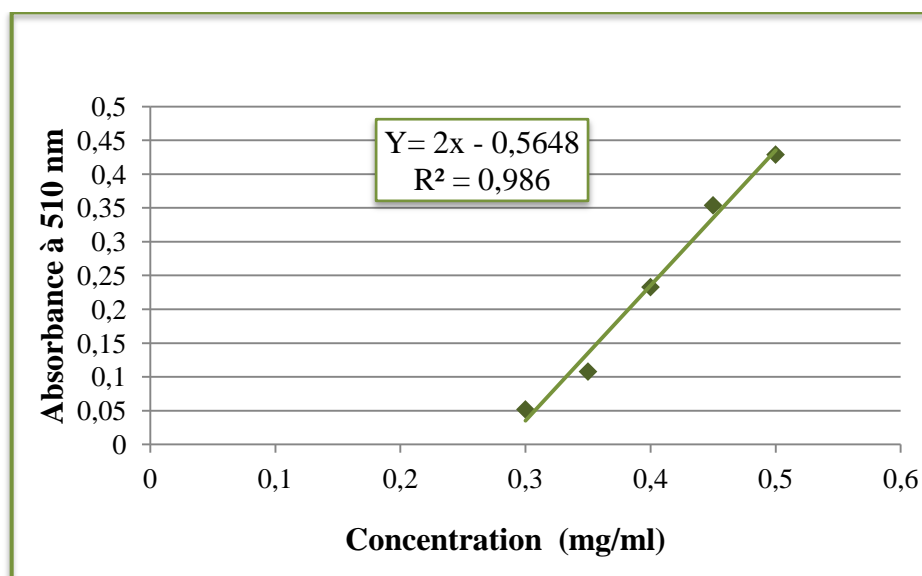


Figure 19. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Le tableau 2 contient les valeurs des teneurs en flavonoïdes de *Pistacia atlantica* qui ont varié entre $361,5 \pm 0,9$ et $382,9 \pm 0$ mg EQ/g correspondant les extraits aqueux et méthanolique respectivement.

Mis en relation avec l'étude de Ziane (2014), nos résultats ont été supérieurs à celle-ci qui égale à $0,012 \pm 0,0005$ et $0,014 \pm 0,0009$ mg EQ/g des extraits aqueux et méthanolique respectivement.

Les résultats de la présente étude a réaffirmé la richesse de l'extrait méthanolique des feuilles en flavonoïdes par rapport à l'extrait éthanolique qui égale à $150,05 \pm 1,35$ mg ER/g (Sebaihi, 2010)

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes peut être varié d'un solvant à l'autre qui dépendent de leurs polarité, ce qui suggère que le méthanol est le meilleur solvant pour solubiliser les polyphénols totaux par rapport l'éthanol, ainsi que les méthodes de dosage utilisés dans ce présent travail, la température ambiante joue un rôle important dans la

préservation de ces molécules de la dénaturation comme les autres méthodes qui utilise des températures plus élevé. (Lié *et al.*, 2003)

5.3. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits des feuilles de *Pistacia atlantica*

Dans les études antérieures, plusieurs méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante ont utilisé. Dans notre travail trois méthodes ont utilisé pour déterminer le pouvoir antioxydant des extraits des feuilles de *P. atlantica*, ces méthodes ont basé sur trois mécanismes : piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil), le test FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) et TAC (activité antioxydante totale).

5.3.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH

La réduction du radical DPPH par un antioxydant s'accompagne avec un changement de coloration de violette foncée au jaune pâle qui est traduis par une diminution d'absorbances

Les différentes droites de régression des pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits aqueux, méthanolique des feuilles de *P. atlantica* et les standards BHA et BHT sont présentées dans les figures 20 ; 21 ; 22.

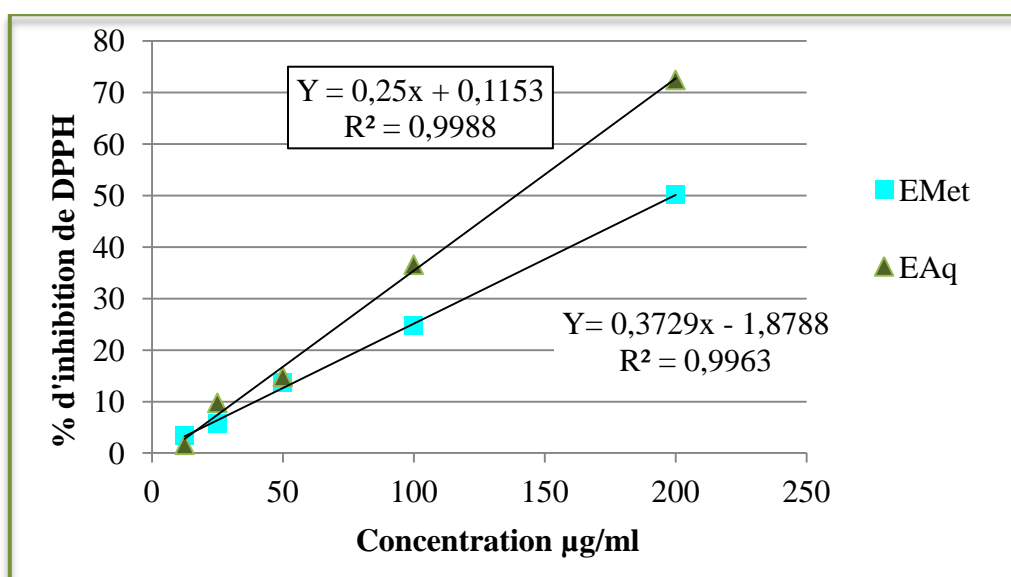


Figure 20. Droite de régression des pourcentages d'inhibition de DPPH par l'EAq et l'EMet

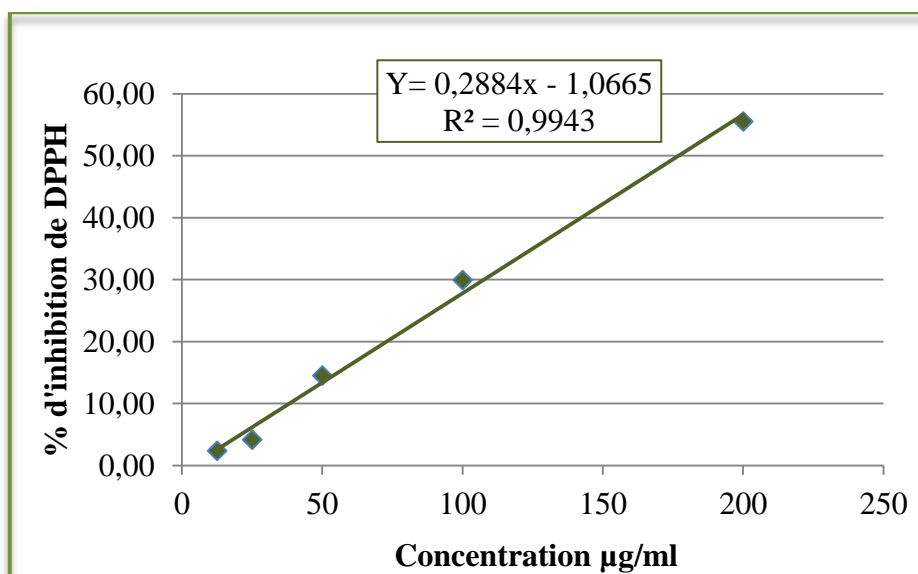


Figure 21. Droite de régression des pourcentages d'inhibition de DPPH par le BHA

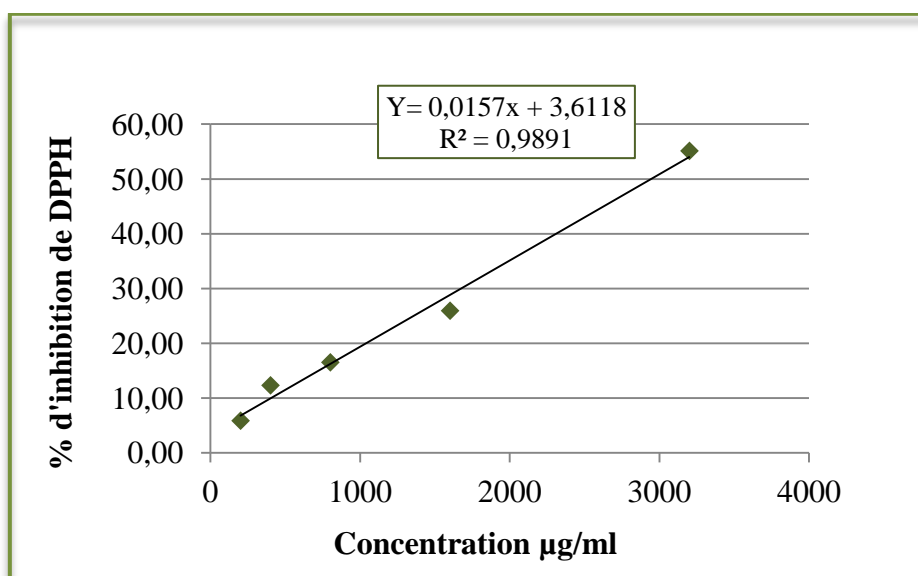


Figure 22. Droite de régression des pourcentages d'inhibition de DPPH par le BHT

On a noté une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH avec l'augmentation des concentrations qui a atteint $72,41 \pm 0,08$ % ; $50,13 \pm 0,13$ % et $55,52 \pm 0,29$ % pour l'extrait aqueux, méthanolique et le BHA à la concentration 200 µg/ml respectivement ; contrairement au BHT qui a arrivé à un % d'inhibition de $55,10 \pm 0,45$ % à une concentration plus élevé : 3200 µg/ml.

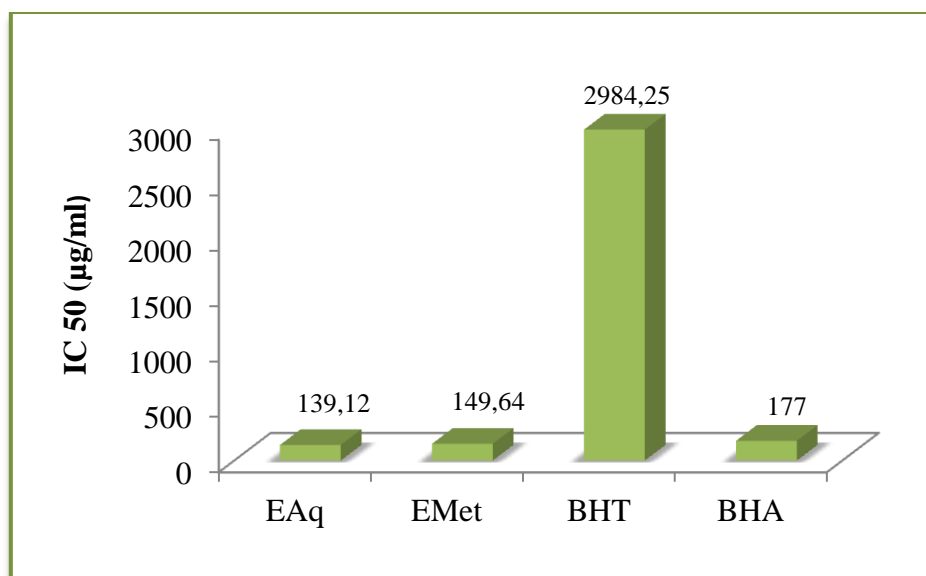


Figure 23. Valeurs d'IC₅₀ des extraits Aq et Met des feuilles de *P. atlantica* avec les standards BHA et BHT

Les valeurs des concentrations d'inhibition de 50 % du DPPH (IC₅₀) ont été calculées à partir des droites de régression schématisées dans la figure 23. On peut conclure que les extraits aqueux et méthanoliques ont été plus proches de ceux de BHA avec une activité antiradicalaire plus forte que le BHT ; et cela a été montré par les valeurs d'IC₅₀, qui indiquent que l'extrait aqueux a été le plus fort avec un IC₅₀ plus faible de $139,12 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait méthanolique, BHA et enfin BHT avec des valeurs d'IC₅₀ de $149,64 \pm 86,45$; $177 \pm 1,04$; $2984,25 \pm 30,66 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

On a noté que les activités antiradicalaires de nos résultats ont été plus basses que celles qui ont été trouvées dans l'étude de Ziane (2014) qui a enregistré des valeurs d'IC₅₀ de : $3,66 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux, $4,30 \pm 0,087 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique et le BHT avec une IC₅₀ de $87,26 \pm 0,001 \mu\text{g/ml}$. Par contre l'extrait méthanolique dans notre travail a été plus efficace que celui du même extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus* qui a été caractérisé par un IC₅₀ égale à $0,166 \pm 0,001 \text{ mg/ml}$. (Zitouni, 2017).

5.3.2. Test de Ferric Reducing Power (FRAP)

La relation proportionnelle entre l'augmentation de la réduction du fer et celle de la concentration a été observée à l'œil nu par une modification du couleur jaune vers le bleu vert.

D'après la figure 24 nous avons observé une proportionnalité de l'absorbance en fonction de concentration mais ce dernier diffèrent entre les quatre solutions

Dans la concentration 800 $\mu\text{g/ml}$ une similitude d'absorbance de l'EAq et l'EMet 1,614 ; 1,613 est marqué et une valeur d'absorbance inférieur de BHA = 1,47 par contre le BHT a enregistré une absorbance plus élevée de 2,38.

Par ailleurs, à la concentration 200 $\mu\text{g/ml}$ les EAq et EMet ont enregistré des absorbances de 0,85 et 0,99 respectivement qui ont été supérieurs à celle de BHA 0,625 mais inférieurs à BHT 1,034.

Notre résultat de l'extrait méthanolique des feuilles de *P. atlantica* dans la concentration 200 $\mu\text{g/ml}$ a été supérieur à celle trouvées par Ben hammou (2011) sur les fruits qui a enregistré une valeur de 0,708

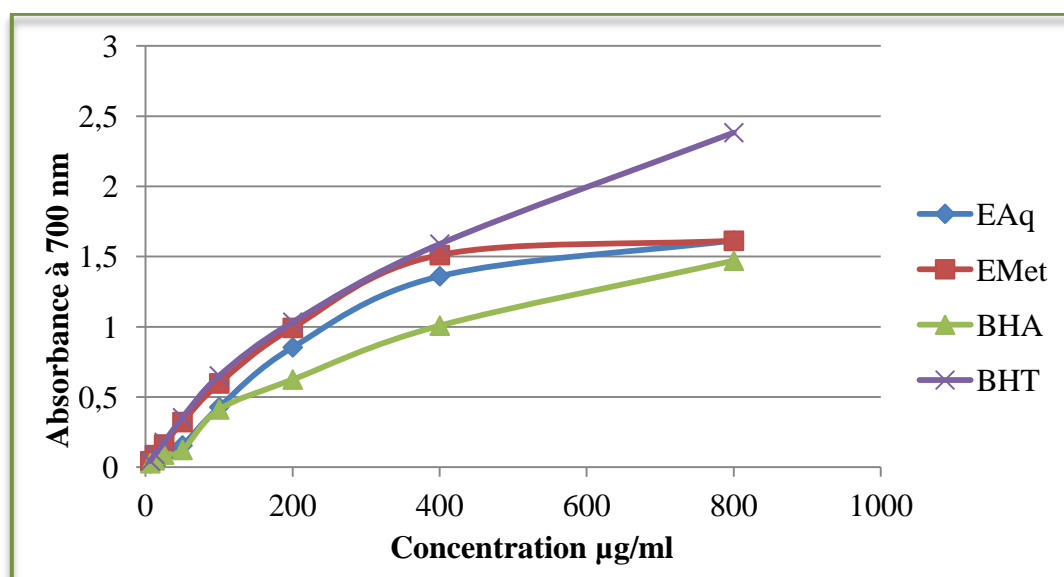


Figure 24. Les pouvoirs réducteurs du fer de l'EAq et l'EMet avec les standards BHA et BHT ($\mu\text{g/ml}$)

Le pouvoir réducteur 0.5 signifie la concentration de la réduction à l'absorbance 0.5 ; dans la figure 25 ci-dessous, on a enregistré des valeurs de 0.5 pour BHT, Emet, EAq et enfin

le BHA par des concentrations de $76,77 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$; $85,37 \pm 0,32 \mu\text{g/ml}$; $113,61 \pm 54,76 \mu\text{g/ml}$ et $152,23 \pm 3,57 \mu\text{g/ml}$.

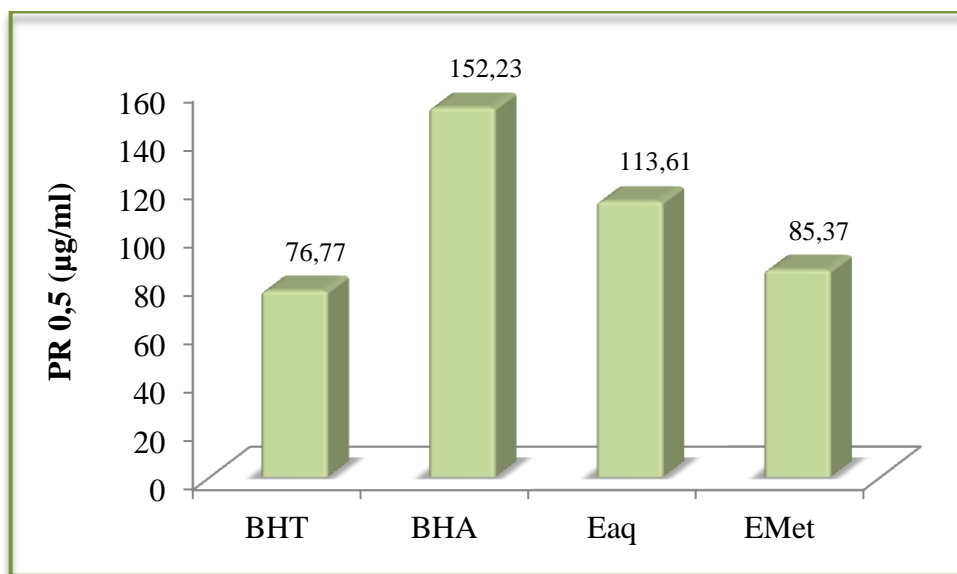


Figure 26. Les valeurs de PR 0.5 de l'EAq et l'EMet avec les standards BHA et BHT ($\mu\text{g/ml}$)

5.3.3. Test d'activité antioxydante totale (TAC)

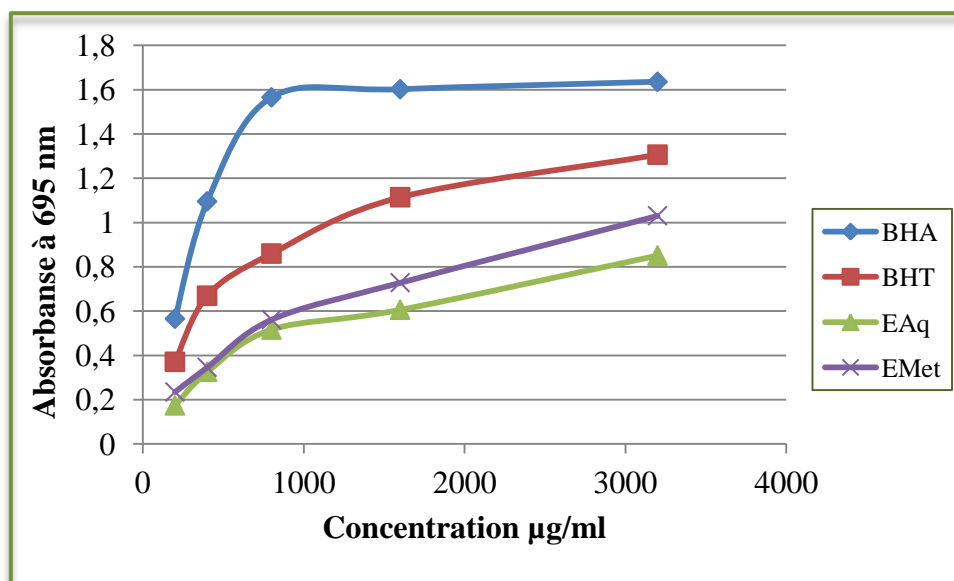


Figure 27. Les pouvoirs réducteurs de phosphomolybdène des extraits Aq et Met avec les standards BHA et BHT ($\mu\text{g/ml}$)

Les courbes de la capacité antioxydante totale des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* et les standards BHA et BHT ont caractérisé par une augmentation de l'absorbance avec la concentration (**fig. 26**)

Les résultats obtenus ont indiqué que les extraits aqueux et méthanolique ont eu une capacité antioxydante totale inférieurs à celles de BHA et BHT où à la concentration 400µg/ml ont eu des absorbances : 0,32 ; 0,34 ; 1,09 et 0,66 respectivement.

Par ailleurs on a noté des absorbances de : 1,60 ; 1,11 ; 0,60 et 0,72 correspondant aux BHA, BHT, extrait aqueux et extrait méthanolique respectivement à la concentration 1600 µg/ml.

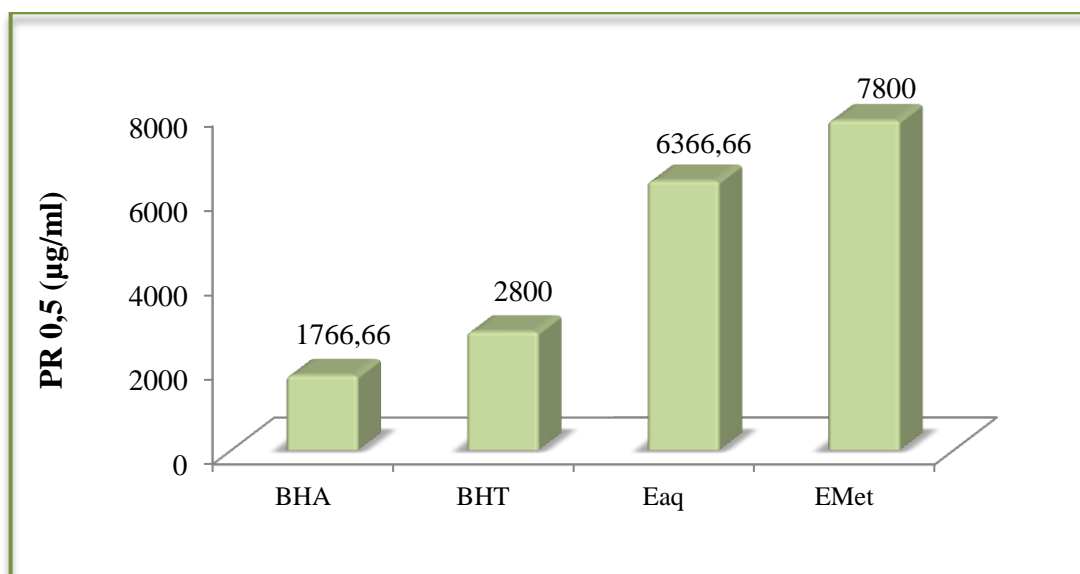


Figure 28. Les valeurs PR 0.5 des extraits Aq et Met avec les standards BHA et BHT (µg / ml)

La figure 29 représente un histogramme des pouvoirs réducteurs à l'absorbance 0.5 des deux extraits de *Pistacia atlantica* avec les standards BHA et BHT, où le meilleur pouvoir réducteur a été celui de BHA par une concentration mineur de $1766,66 \pm 57,73$ µg /ml suivie par le BHT par $2800 \pm 866,02$ µg /ml puis l'extrait aqueux et méthanolique qui ont exprimé les faibles pouvoirs correspondant à $6366,66 \pm 4944,01$ µg/ml et $7800 \pm 4944,01$ µg /ml respectivement.

Une étude antérieure a montré que *P.atlantica* possède une activité anti-radicalaire importante via DPPH par rapport à l'acide ascorbique et un pouvoir antioxydant élevé vis-à-vis le test TAC (Ben hammou, 2011).

5.4. In vitro, évaluation de l'activité anti-inflammatoire

5.4.1. Activité anti-dénaturante des protéines

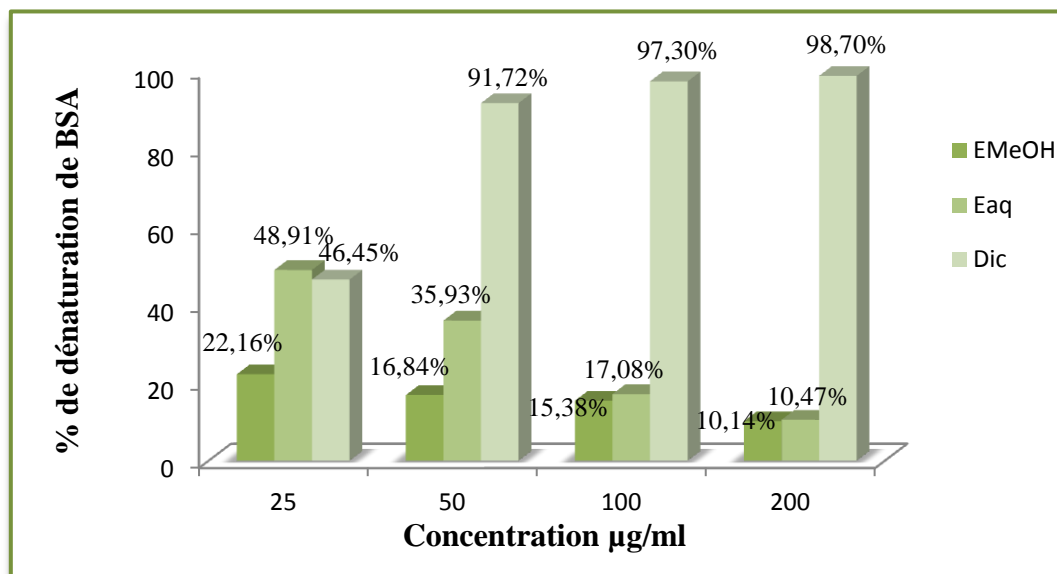


Figure 30. Les pourcentages de la dénaturation de BSA par l'EAq et l'EMet des feuilles de *Pistacia atlantica*

D'après la figure 28 ci-dessus on a observé une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage de la dénaturation de BSA par le diclofénac (standard) et une relation inverse avec le pourcentage de la dénaturation de BSA par des extraits EAq et EMet des feuilles de *P. atlantica*

Dont les résultats obtenues à la concentration 25 µg/ml: $48,91 \pm 0,40$ % ; $22,16 \pm 9,49$ % et $46,45 \pm 0$ % et à la concentration 200 µg/ml on a enregistré : $10,47 \pm 0,76$ % ; $10,14 \pm 0,44$ % et $98,70 \pm 0$ % correspondant à l'EAq, EMet et diclofénac respectivement.

5.4.2. Activité hémolytique

Les résultats du test de cytotoxicité ont présenté par des pourcentages d'hémolyse des globules rouges, en fonction des trois concentrations différents de l'aspégic et des extraits Aq et Met des feuilles de *Pistacia atlantica*, illustrent dans le tableau 4.

Tableau 4. Le taux d'hémolyse de l'EAq et l'EMet des feuilles de *P. atlantica* en comparaison avec l'aspégic

La concentration en µg/ml	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	L'aspégic
12500	6,58 ± 0 %	11,80 ± 0,07 %	6,32 ± 0 %
25000	6,54 ± 0 %	14,40 ± 0,07 %	3,99 ± 0,07 %
50000	7,54 ± 0,08 %	8,16 ± 0 %	5,96 ± 0,08 %

A la concentration 12500 µg /ml on a trouvé des taux d'hémolyses : 6,58 ± 0 % ; 11,80 ± 0,07 % et 6,32 ± 0 % correspondant aux extraits Aq ; Met et Asp. Par ailleurs on a observé une variation instable dans les deux autre concentrations 25000 ; 50000 µg /ml.

Par ailleurs, ces mineurs taux d'hémolyses sont obtenus dans des concentrations élevées, ce qui probablement due à l'absence de l'effet toxique de la plante.

5.4.3. Activité anti-hémolytique

Dans ce test biologique les hématies ont soumis à un choc thermique afin de provoquer l'hémolyse. On a trouvé une évolution des pourcentages d'inhibition d'hémolyse des extraits Aq et Met avec la concentration ; où à 800 – 3200 µg/ml ils ont enregistré : (13,44 ± 0 % à 56,32 ± 0 %) et (15,66 ± 0,38 % à 96,26 ± 0,1%) respectivement. Par contre le standard a remarqué une diminution des pourcentages d'inhibition d'hémolyse avec l'augmentation de la concentration ; dont il a noté des valeurs de (48,96 ± 0,65 % à 20,45 ± 0,07%) (**Fig. 31**).

D'après Ferradji (2011), les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont une activité anti inflammatoire *in vivo* sur les souris.

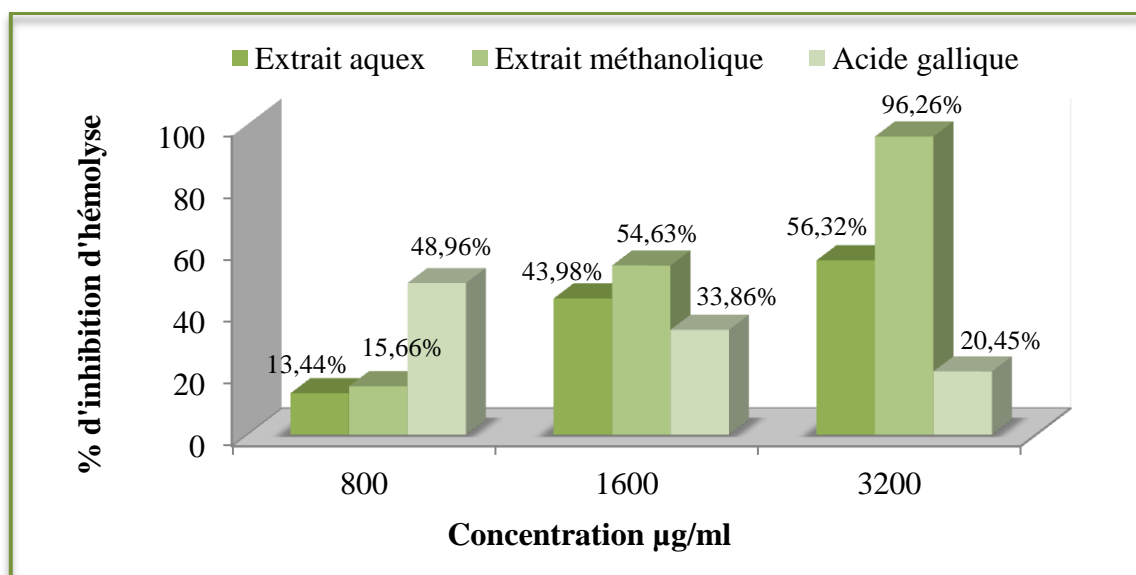


Figure 32. Les pourcentages d'inhibition d'hémolyse par l'EAq et l'EMet des feuilles de *Pistacia atlantica* et par l'acide gallique

5.5. *In vivo*, évaluation de la toxicité aiguë d'extrait méthanolique de *P. atlantica*

Les signes cliniques et de mortalité chez les rats de chaque groupe ont été marqués après deux heures l'administration orale de l'EMet des feuilles de *P. atlantica* puis pendant les 14 jours d'étude préliminaire de la toxicité aiguë.

On n'a pas observé des symptômes de toxicité aiguë et de mortalités à l'œil nu, le long de cette période pour le groupe témoin qui est traité par l'eau physiologique. La même remarque pour les deux autres groupes qui sont traités par deux concentrations différentes d'EMet (2000 et 5000 mg/Kg de poids corporel).

Par contre Ziane (2014) qui a noté des symptômes de toxicité (Hypoactivité, isolement, anorexie) à la concentration 3000 mg/ml et des mortalités à 6000 mg/ml d'extrait méthanolique des feuilles de *P. atlantica*.

Conclusion

Aujourd'hui, la thérapie via les plantes médicinales constitue un vrai patrimoine d'être humain dans le domaine de la santé publique où la diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante.

Notre étude a intéressé à l'évaluation des activités antioxydante et anti inflammatoire des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. et de la toxicité aigue d'extrait méthanolique de cette dernière.

Les résultats sont obtenues montrent que *Pistacia atlantica* a eu une activité antioxydante remarquable et proche aux standards BHA et BHT via les tests DPPH et FRAP.

Par ailleurs, on prend en considération que *Pistacia atlantica* a possédé une activité anti-inflammatoire par les trois tests examinés.

Ainsi que l'extrait méthanolique n'a provoqué aucun signe comportemental de la toxicité aigue sur les rats.

A la fin, Pour mieux confirmer les résultats précédent de préférence que :

- Etudier l'activité antioxydante des différentes parties de la plantes (racine, écorce, oléorésine, les graines) par autres testes.
- Evaluer l'activité anti inflammatoire *in vivo*.
- Tester la toxicité aigue du coté hématologique et histologique.
- Appliquer la toxicité subaigüe et chronique.

Références Bibliographique

Bahmani M., Saki K., Asadbeygi M., Adineh A., Saberianpour S., Rafieian-Kopaei M., Bahmani F., Bahmani E. 2015. The effects of nutritional and medicinal mastic herb (*Pistacia atlantica*).7(1):646-653

Belhadj S. Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. In : Ak B.E. (ed.). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM, 2001. p. 107 -109 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 56).

Belhadj S., Derridj A., Auda Y, Gers C., Gauquelin T. 2008. Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany*86: 520–532.

Benhammou N. 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Algérie, 174 p.

Bensakhria A. 2018. Toxicité chronique. *Toxicologie générale*. 29-38

Bougandoura N., Bendimerad N. 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calaamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Science agronomique et biologique* 9 : 14-19.

Chippada S. C., Volluri S. S., Bammid S. R., Vangalapati M. 2011. In vitro anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Centella asiatica* by HRBC membrane stabilisation. 4(2) : 457-460.

Desmier T. 2016. Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse de doctorat d'état, université de Limoges, France, 88 p.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* 331: 372-379

Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Biochimie* : 108 - 115.

Ferradji A. 2011. Activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Thèse de magistère, université Ferhat Abbas, Algérie, 90 p.

Ganesh G., Maru S., Sarada N.C.2013. Antioxydant and anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi* L. 5(6): 125-130.

Govindappa M., Poojashri M. N. 2011. Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. 3(3) : 43-51.

Hadouchi F., Chaouche T.M., Halla N. 2016. Screening phytochimique, activité antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Ethnopharmacologie* 1-9.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. 2007. Le stress oxydant. 62 (10) : 628-638.

Kandikattu K., Bharath Rathna Kumar P., Venu Priya R., Sunil Kumar K., Ranjith Singh. B. Rathore. 2013. Evaluation of anti-inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in-vitro method. 1(5) : 729-730.

Karthik K., Kumar B. R. P., Priya V. R., Kumar S. K., & Rathore R. S. B. 2013. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. 1(5) : 729.

Lié K. W., Kim Y. J., Lié J., Lié C. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J. Agric. Food Chem* 51:7292-7295.

Lopes L., Daniela S., Alviano b., Celuta S., Alviano b, Paul P., Kolodziejczyk a. 2008. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *artemisia* essential oils. *Phytochemistry* 69 : 1732–1738.

Mahjoub F., Rezayat K.A., Yousefi M., Mohebbi M., Salari R.2018.*Pistacia atlantica* Desf. A review of its traditional uses, phytochemicals and pharmacology.11 :180-186.

Mohammedi Z.2013.Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid, Algérie, 170p.

Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., Böhm V.2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulation. 43 :992-999.

Prieto P., Pineda M., Aguel A. 1999. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical biochemistry 296 : 337-341.

Sabrina Krief. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio]. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2003. Français. tel-00006170.

Sakat S., Juvekar A. R., Gambhire M. N. 2010. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. 2(1) : 146-155.

Sebaihi S. 2010. Activités anti radicalaires des extraits de *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) : caractérisation des fractions. Thèse de magistère, université Abderrahmane Mira, Algérie, 111p.

Singleton V.L., Rossi J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. 16 :144-58.

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

Tshikosa M.J.2005. Acute and chronic toxicity of the flavonoid- containing plant, *Artemisia afra* in rodents. Thèse de magistère, University of the Western Cape, 170 p.

Yaaqobi A., El hafid L., Haloui B.2009.Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc.3(6) : 39 – 49.

Ziane N. 2014. Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des extraits de *Pistacia atlantica* Desf. de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) –Algérie. Thèse de magistère, université Ferhat Abbas, Algérie, 79 p.

Zitouni A. 2017. Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes médicinales *Pistacia lentiscus*. L et *Gymnocarpos decander.forsk.* Thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid, Algérie, 165p.

Annexes

Annexe 1 : Préparation de tampon phosphate à pH : 6,6

125,5 ml de KH_2PO_4 (9,08 g de KH_2PO_4 dissout dans un litre d'eau bidistillée) +74,5 ml de Na_2HPO_4 (9,47 g de Na_2HPO_4 dissout dans un litre d'eau bidistillée).

Annexe 2 : Préparation des solutions pour la capacité antioxydante totale

- Solution d'acide sulfurique (0,6mM)

Pour préparer la solution d'acide sulfurique, il faut calculer le volume initiale puis ajouter l'eau distillé jusqu' a le volume finale.

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2 \times M}{d \times 10^3 \times P} \longrightarrow V_1 = \frac{0,6 \times 0,03 \times 98,08}{1,840 \times 10^3 \times 0,95}$$

Donc : $V_1 = 1,0099 \text{ ml.}$

- Solution de phosphate de sodium (28 mM)

- Pour préparer une solution de phosphate de sodium, il faut premièrement calculer sa masse.

On a : $C = 28 \text{ Mm} \longrightarrow C = 0,028 \text{ mol/l.}$

$M = 119,98 \text{ g/mol.}$

$V = 0,03 \text{ ml.}$

$n = C.V = m/M$ Donc $m = C.V.M \longrightarrow m = 0,028 \times 0,03 \times 119,98$

Donc : $m = 0,10078 \text{ g.}$

Puis Dissoudre 0,10078 g de Na_3PO_4 dans un volume de 30ml d'eau distillée.

- Solution de molybdate d'ammonium (4 mM)

- Pour préparer une solution de molybdate d'ammonium, il faut calculer sa masse.

On a : $C = 4 \text{ Mm} \longrightarrow C = 0,004 \text{ mol/l.}$

$$V = 0,03 \text{ ml}$$

$$M = 1235,86 \text{ g/mol}$$

$$n = C.V = m/M \text{ Donc } m = C.V.M \longrightarrow m = 0,004 \times 0,03 \times 1235,86$$

Donc :

$$m = 0,14830 \text{ g.}$$

Puis Dissoudre 0,14830 g de molybdate d'ammonium dans un volume de 30ml d'eau distillée.

M : la masse molaire ; m : la masse ; d: la densité ; C : la concentration ; V : le volume ; P : la pureté.

Finalement pour préparer le tampon molybdate, on mélange les trois volumes de chaque solution (acide sulfurique, phosphate de sodium et molybdate d'ammonium)

Annexe 3 : Préparation de tampon Tris- HCl à pH : 6,6

1,22 g de Tris-HCl dans 200 ml d'eau distillée + 0,6 g de Tris basique dans 100 ml d'eau distillée.

Annexe 4 : Préparation de tampon Phosphate Buffered Saline(PBS) à pH : 7,4

Dans 500 ml d'eau distillée, faire dissoudre 4g de NaCl; 0,1 g de KCl ; 0,27 g de Na₂HPO₄ et 0,12 g de KH₂PO₄.

ملخص

تكمّن فائدة هذه المذكرة في تقييم كميات البوليفينول و الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة بواسطة ثلاثة اختبارات FRAP, DPPH و TAC و النشاط المضاد للالتهاب عن طريق : تثبيط تخريب البروتينات BSA, النشاط الانحلالي و المضاد للتحلل للمستخلصات المائية و الميتانولية لاوراق *Pistacia atlantica* في المختبر و اختبار السمية الحادة للمستخلص الميتانولي في الجسم الحي. من ناحية تكشف الاختبارات التي تمت دراستها ان النبتة غنية بالبوليفينول, الفلافونويدات و لها نشاط كبير مضاد للأكسدة و قدرة معتبرة مضادة للالتهاب. من ناحية أخرى لا توجد أعراض سلوكية ملحوظة او وفيات من جانب السمية الحادة.

الكلمات المفتاحية : *Pistacia atlantica*, في المختبر, النشاط المضاد للأكسدة, النشاط المضاد للالتهاب, في الجسم الحي, السمية الحادة.

Résumé

L'intérêt de ce mémoire a été évalué les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux, l'activité antioxydante (DPPH, FRAP, TAC) et anti inflammatoire (inhibition de la dénaturation des protéines BSA, activité hémolytique, anti hémolytique) *in vitro* des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. et de tester la toxicité aigue de l'extrait méthanolique *in vivo*.

D'une part les tests étudiés ont confirmé que la plante riche en polyphénols et flavonoïdes et a une activité antioxydante élevée et un pouvoir anti inflammatoire intéressant, d'autre part aucune symptôme comportementale ou mortalité n'a été marqué du coté de la toxicité aigue.

Mots clés : *in vivo*, *in vitro*, *Pistacia atlantica* Desf. , activité antioxydante, activité anti inflammatoire, toxicité aigue.

Abstract

The interest of this memoir is to evaluate contents of total polyphenols and flavonoids, the antioxidant activity (DPPH, FRAP, TAC) and anti-inflammatory activity (inhibition of denaturation of BSA protein, haemolytic activity, anti-haemolytic) *in vitro* of the aqueous and methanolic extracts of the leaves of *Pistacia atlantica* Desf. and to test the acute toxicity of the methanolic extract *in vivo*.

On the one hand the tests studies confirmed that the plant rich in polyphenols and flavonoids and has a high antioxidant activity and interesting anti-inflammatory power, on the other hand no behavioral symptoms or mortality were noted on the side of the acute toxicity

Key words : *in vivo*, *in vitro*, *Pistacia atlantica* Desf. , antioxidant activity, anti-inflammatory activity, Acute toxicity.