

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT SNV

N° :



DOMAINE : SNV

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIODIVERSITE ET
PHYSIOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par: DELALDJA Ibtissam et SAADOUDI Hanane

Intitulé

**CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE DU
METABOLISME SECONDAIRE ET
L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE LA PLANTE
Pistacia lentiscus L.**

Soutenu devant le jury composé de:

BISKRI Mohamed	Université Mohamed Boudiaf	Président
BELKASSAM Abdelouahab	Université Mohamed Boudiaf	Rapporteur
HADJI Abasse	Université Mohamed Boudiaf	Examineur

Année universitaire : 2016 /2017



Remerciements

Nous tiens tout d'abord à remercier Dieu tout puissant qui a permis que nous soyons ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais Dieu dispose, seigneur, veille toujours diriger nos pas.

*Au terme de ce travail nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à: **Mr, Biskri M.** Maître Assistante d'avoir accepté d'assurer la présidence de jury de nos thème de Master.*

***Mr, Hadji A.** Maître Assistant, A pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

***Dr, Belkassam A.** Maître de Conférences, pour avoir dirigé ce travail et accepté d'encadrer, A pour ses conseils et ses orientations.*

Nous remercions à techniciennes de laboratoire Halima, Hanane et Meriem.

A tous les enseignants des Départements des Sciences Biologies.

A tous les étudiants de Graduation « 2^{ème} année master » spécialité Biodiversité et physiologie végétale .

Hanane et Ibtissam





DEDICACE

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

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

*A l'esprit De Mes Belles Sœurs: **Ritaje***

*A Mon Beau Frère **Mohammed***

*A Toute Famille **Delaldja***

*A Mes Amies Que j'ai Vécues Avec Elles Des Beaux Moments Au Cours De Mon Coursus
A l'université*

A Tous Mes Amies De La Promotion De MasterEn Biologie

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

Ibtissam



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

✚ *A la mémoire de Ma chère Mère*

✚ *Mon père que dieu vous garde et vous protège*

*J'espère que cette thèse sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit
l'accomplissement de tous tes efforts.*

✚ *Mes frères, mes sœurs , que la solidarité que nous cultivons ne s'estompe
jamais.*

✚ *Toutes mes nièces (Lina, Maram et Rouaya) et Mes neveux (Mohamed, Mouhcen,
Moussa, Anesse et Zouhir).*

✚ *Mes belles amies : Ghania, Douaa, Hadda, Nadjela, Samia, Soumia, Imène et
Souad **

✚ *A toute ma famille*

✚ *Sans oublier tous les professeurs que ce soit de primaire, du moyen, du
secondaire, ou de l'enseignement supérieure.*

Hanane



SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Lexique des abréviations

Introduction générale..... 01

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Description botanique	02
I.1. Famille Anacardiaceae.....	02
I.1.1. Etude géographique de la famille Anacardiaceae.....	02
I.1.2. Usage traditionnel de la famille Anacardiaceae.....	02
I.2. L'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	03
I.2.1. Nomenclature de la plante.....	03
I.2.2. Systématique de la plante	03
I.2.3. Description de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	04
I.2.4. Ecologie et distribution géographique de l'espèce.....	05
I.2.5. Utilisation de la plante <i>P. lentiscus</i> L.....	05
I.2.6. Toxicité de plante <i>P. lentiscus</i> L.....	06
I.2.7. Etude chimique de l'espèce de <i>P. lentiscus</i> L.....	06
II. Métabolismes secondaires	08
II.1. Métabolismes primaires.....	08
II.2. Métabolismes secondaires.....	08
II.2.1. Classification des Métabolismes secondaires.....	08
II.2.2. Biosynthèse de poly phénol.....	12
II.3. Flavonoïdes	12
II.3.1. Chimie de flavonoïdes.....	12

II.3.2. Classification	12
II.3.3. Biogenèse des flavonoïdes.....	13
II.3.4. Localisation des flavonoïdes.....	13
II.3.5. Propriété biologique.....	14
II.3.6. Propriété physicochimique.....	14
II.3.7. Rôle physiologique.....	14
II.4. Huiles essentielles	15
II.4.1. Définition	15
II.4.2. Localisation et formation.....	15
II.4.3. Répartition.....	15
II.4.4. Composition chimique des huiles essentielles.....	15
II.4.5. Rôle physiologique	15
II.4.6. Activité biologique.....	16
II.4.7. Propriétés physique des huiles essentielles	16
III. Activité biologique	17
III.1. Activité antioxydant.....	17
III.1.1. Antioxydants.....	17
III.1.2. Radicaux libres (ROS).....	17
III.1.2.1. Principales sources des ROS	17
III.1.3. Stress oxydatif.....	18
III.1.4. Propriété antioxydants des poly phénols.....	19
III.2. Activité antibactérienne.....	19
III.2.1. Culture des bactéries	19
III.2.2. Infections bactérienne et antibiothérapie	19
III.2.3. Description des bactéries étudiées	19
III.2.4. Propriété antimicrobienne des poly phénols	20

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Introduction	21
L'objectif	21
I. Appareils et produits chimiques	21
I.1. Matériels.....	21
I.2. Produits.....	21
I.2.1.Produits chimiques.....	21
I.2.2.Produits biologiques.....	22
II. Caractérisation quantitatives des extraits	22
II.1. Méthode	22
II.2. Matériel Végétale.....	22
▪ Protocole d'extraction	26
II.3. Extraction de l'huile essentielle de <i>Pistacia Lentiscus L</i>	27
II.3.1.Hydrodistillation.....	27
II.3.2. Procédé d'extraction	27
II.3.3. Conservation d'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i>	28
III. Caractérisation quantitatif	28
III.1. Dosage de métabolites secondaires des extraits de feuilles du <i>Pistacia lentiscus L</i>	28
III.1.1. Dosage des polyphénols totaux	28
III.1.2. Dosage de flavonoïdes.....	29
IV. Caractérisation qualitatives	31
IV.1. Chromatographie sur couche mince.....	31
V. Teste des activités biologiques des extraits et de l'huile de feuilles du <i>Pistacia lentiscus L</i>	33
V.1.Activité antioxydant.....	33
V.2. Activité antibactérienne.....	35

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Evaluation des techniques d'extraction.....	39
I.1. Macération et décantation	39
I.1.1. Détermination des caractéristiques et des rendements des extraits.....	39
I.2. Extraction d'huile essentielle.....	40
II. Dosage des métabolites secondaire de <i>pistacia lentiscus</i> L.....	41
II.1. Dosage des Polyphénols totaux et Flavonoïdes des extraits.....	41
III. Analyse chromatographique sur couche mince CCM	45
IV. Activité biologique de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L	49
IV.1. Activité antioxydant.....	49
IV.1.1. Activité antioxydant des extraits.....	49
IV.1.2. Activité antioxydant de l'huile essentielle.....	52
IV.2. Activité antibactérienne.....	54
IV.2.1. Activité antibactérienne des extraits.....	54
IV.2.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle.....	58
Conclusion générale et perspectives	60
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	
Abstract	
المخلص	

Liste des figures

Figure N° 01	Arbuste <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	04
Figure N° 02	La Branche, les feuilles, les fleurs et fruites de <i>Pistacia lentiscus</i> L. (2017 à la région de Bou-Saada).....	05
Figure N° 03	Structure de base des flavonoïdes.....	12
Figure N° 04	Structure de base de principaux types de flavonoïdes.....	13
Figure N° 05	Vue sous le microscope électronique de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
Figure N° 06	Bactérie de <i>Pseudomonase aeruginosa</i>	20
Figure N° 07	Carte géographique de M'sila (la station de récolte de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	23
Figure N° 08	Un rotavapeur rotatif type (BÜCHI R- 210).....	23
Figure N° 09	Décantation de la solution méthanolique de 100 g de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	24
Figure N° 10	Méthode d'extraction des flavonoïdes.....	26
Figure N° 11	L'extraction de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> L. à l'aide de Clevenger.....	27
Figure N° 12	L'appareil de spectrophotomètre UV mini – 1240.....	30
Figure N° 13	Lampe Ultra –Violet 254 – 365 nm.....	32
Figure N° 14	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	33
Figure N° 15	Les deux souches choisis dans l'expérimentation.....	35
Figure N° 16	La déposition de disques stériles sur le M H.....	37
Figure N° 17	L'imprégnation de l'extrait sur les disques déposés sur le M H..	37
Figure N° 18	Rendements des extraits de <i>P.lentiscus</i> L. exprimés en pourcentage.....	39
Figure N° 19	Rendement d'huile essentiel de <i>P .lentiscus</i> L. en pourcentage...	40
Figure N°20	Histogramme de teneur de Polyphénols totaux et Flavonoïdes des extraits de <i>P. lentiscus</i> L. les valeurs représentent (moyenne ± SD).....	41

Figure N° 21	Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, EAcOEt et EnBuOH de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sous lampe UV 365 nm de S1, S2 et S3.....	45
Figure N° 22	Piégeage de DPPH par les flavonoïdes (ph : noyau phénolique)...	49
Figure N° 23	Diagramme désigne le pouvoir inhibitrice IC ₅₀ de chaque Extraits.....	49
Figure N°24	Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par le méthanol sur les deux souches bactériennes étudiées.....	55
Figure N° 25	Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'extrait brute de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur les deux souches bactériennes étudiées.....	55
Figure N°26	Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'extrait de l'acétate d'éthyle sur les deux souches bactériennes étudiée...	55
Figure N° 27	Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'extrait n-butanolique sur les deux souches bactériennes étudiées.....	55
Figure N°28	Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'huile essentielle sur les deux souches bactériennes étudiées.....	58

Liste des tableaux

Tableau N° 01	Taxonomie de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	03
Tableau N° 02	Principaux radicaux libres oxygénés.....	18
Tableau N° 03	Les différents systèmes des solvants utilisés pour la chromatographie sur couche mince.....	31
Tableau N° 04 :	Les souches bactériennes utilisées.....	36
Tableau N° 05 :	Résultats de chromatographie sur couche mince CCM à 365 nm.....	46
Tableau N° 06	Diamètre des zones d'inhibition de différents extraits sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Tableau N° 07	Diamètre des zones d'inhibition de différents extraits sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54

Lexique des abréviations

ATCC	:	American type culture collection
BHT	:	Butylated hydroxytoluene
CCM	:	Chromatographie sur couche mince
DO	:	Densité optique
DPPH	:	2, 2'-diphényle-1-picrylhydrazyl
EAcOEt	:	L'extrait d'acétate d'éthyle
ERO	:	Espèces réactives oxygénées.
EBrt	:	L'extrait brute (hydro –méthanolique)
En-BuOH	:	L'extrait butanolique
FLV	:	Flavonoïdes
HE	:	Huile essentiel
IC	:	Concentration inhibitrice
Me OH:		Methanol
MH	:	Muller Hinton
Rf	:	Rapport frontal
PPT	:	Polyphénols totaux
SD (±)	:	Ecart type
UFC	:	Unité de formation de colonie
UV	:	Ultraviolet
V/V	:	Volume/Volume
µg	:	Microgramme
µl	:	Microlitre
Ø	:	Diamètre de zone d'inhibition.

Introduction

Introduction

Il y'a environ 500 000 plantes sur terre, 100 000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales contribuant à leur principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments conventionnels sont souvent dépourvus (**Iserin et al., 2001**).

Pistacia lentiscus L. connu en Algérie sous le nom de **Darou**, communément appelé arbre de mastic ou de lentisque est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen. Cette espèce est bien documentée dans le domaine de la médecine traditionnelle pour ses valeurs médicinales, Ses huiles essentielles sont aussi utilisées en pharmacie, aromathérapie et dans la création des parfums. Par conséquent, la présente étude a été réalisée dans le but de caractériser la composition chimique et d'étudier l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydant du *Pistacia lentiscus* L.

Le travail est scindé en trois grandes parties :

La première on a donné une revue bibliographique de lentisque cette étude permet de connaître l'espèce et son localisation, nous décrivons les métabolites secondaires, leurs importances dans l'organisme et la biosynthèse de certains d'entre eux aussi leur activités biologiques.

La deuxième partie, le matériel biologique et la méthodologie de travail. Celles-ci comprennent :

- Les tests phytochimiques de la partie aérienne (feuilles) du *Pistacia lentiscus* L. (analyses qualitatives et quantitatives des polyphénols).
- L'évaluation de l'activité antioxydants en utilisant la technique suivante : la réduction du piégeage du radical libre DPPH.
- L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de disque.

La troisième partie, nous interprétons et discutons les résultats, obtenus. Une conclusion générale est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus lesquels pourraient stimuler d'autres travaux de recherche dans le sens de servir et de valoriser le patrimoine national dans le domaine des plantes médicinales.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Description botanique

I.1. Famille Anacardiaceae

Grande famille, essentiellement d'arbres et plantes grimpantes d'origine tropicale et subtropicale. Fleurs en générale à 5 parties ; 5 ou 10 étamines. Le fruit est une drupe (**Blamey et Wilson, 2000**).

La famille des Anacardiaceae ou « Anacardiaceae » sont des arbres, des arbustes (exceptionnellement plantes grimpantes), à canaux résinifères schizogènes, à feuilles composées pennées ou trifoliolées, généralement alternes, dépourvues de glandes ponctiformes. Inflorescence en panicules. Fleurs actinomorphes, hétérochlamydées, parfois apétales, 5-mères, (hétérosexuées) et/ou unisexuées, généralement hypogynes, diplostémones ou haplostémones (à filets souvent concrescents, à la base), apocarpes ou syncarpes. Disque intrastaminal. Gynécée isomère ou réduit à 3-1 carpelle, mais généralement 1-loculaire par avortement, à placentation axile, chaque carpelle étant 1-ovules apotropes 2 (-1)-tegminés. Le fruit est généralement une drupe souvent à mésocarpe résineux. Graine exalbuminée ou presque, à embryon courbe. Pollen divers, souvent 2-3-colporé, ou avec 3-8 ouvertures circulaires ou non. Cloisons des vaisseaux à perforation unique (sauf quelques cas) (**Gausson et al., 1982**). La formule florale de la famille $4-5S/4-5P/8-10St/3-5C$ (**Rodolphe et al., 2001**).

I.1.1. Etude géographique des Anacardiaceae

Ces plantes sont essentiellement tropicales et méditerranéenne (**Annie et pierre, 2014**). Les Anacardiaceae sont rencontrées surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord (**Belfadel, 2009**).

Habitat : garrigue, maquis, terrains rocaillieux, parfois dunes de sable (**Annie et pierre, 2014**).

I.1.2. Usage traditionnel de la famille Anacardiaceae

Les plantes de la famille Anacardiaceae produisent des résines ou vernis précieux; plusieurs sont riches en tannin ; d'autres sont comestibles (*Mangifera*, *Anacardium*, *Pistacia*, etc.). Parmi les plantes de la famille des Anacardiaceae couramment utilisées en médecines traditionnelles, on peut citer: *Pistacia lentiscus* L. (**Belfadel, 2009**).

I.2.L'espèce *Pistacia lentiscus* L.

I.2.1. Nomenclature de la plante

Le Pistachier lentisque (Le lentisque), ou *Pistacia lentiscus* L. est un arbre à mastic, au Languedoc il est appelé restincla, nommé par les anglophones : « Mastic tree » ou « Lentisc ». Le nom Pistachier vient du grec *pistakê*. Le nom **lentisque** vient du latin *lentus* (visqueux (Ferradji, 2011)).

I.2.2. Systématique de *Pistacia lentiscus* L.

D'après Quezel et Santa (1963), l'espèce *Pistacia lentiscus* L., est classée comme suite :

Tableau 01 : Taxonomie de *Pistacia lentiscus* L. (Quezel et Santa, 1963).

Taxonomie	Espèce
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Apétale
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

I.2.3. Description botanique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

Pistacia lentiscus L. Est un arbuste dioïque thermophile de 1 à 3 mètres (Ferradji, 2011). Poussant spontanément dans tout le tell. Il a des tiges ramifiées et des feuilles persistantes, composées, 4 à 5 paires de folioles entières, et courtement pétiolées, des fleurs rougeâtres en grappes denses, et des fruits très petits, de couleur rouge, non comestibles. L'ensemble dégage une forte odeur résineuse (Farid, 1991).



Figure 01 : Arbuste *Pistacia lentiscus* L. (Belfadel, 2009).

I.2.3.1. Morphologie de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

▪ Appareil végétatif

Pistacia lentiscus L. Petit arbre ou arbuste, généralement de 1 à 3 m de haut, Caractérisé par :

Tiges : branches étalées, à écorce brun rougeâtre, lisse puis écailleuse.

Feuilles : persistantes, pennées, formées de 6 à 12 paires de folioles ovales, coriace, non dentées; rachis fortement ailé, pas de foliole terminale ; vert sombre et brillantes au – dessus, pâles en dessous (Annie et pierre, 2014).

▪ Appareil reproducteur

Fleurs : arbre dioïque. Fleurs (sur arbres séparés) unisexuées, apétales ; de 3 mm de large environ ; calice à 5 sépales chez les fleurs mâles, à 3 ou 4 chez les fleurs femelles ; fleurs femelles verdâtres ; fleurs mâles à anthère rouge foncé.

Fruits : drupes globuleuses, rouges puis noires. En grappes à l'aisselle des feuilles.

Floraison : mars à juin (Annie et perrier, 2014).

Ovaire : l'ovaire est supère (au- dessus des autres pièces florales) avec un style courte à 3 stigmates ;

Inflorescence : est en grappe, spiciformes, denses et courtes (Mansour, 2014).



Figure 02: la Branche, les feuilles, les fleurs et fruites de *Pistacia lentiscus* L. (2017 à la région de Bou-Saada).

I.2.4. Ecologie et distribution géographique de l'espèce de *Pistacia lentiscus* L.

- **Origine**

Pistacia lentiscus L. Originaire du bassin méditerranéen, le lentisque pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche (Iserin et al., 2001).

- **Habitat**

On la rencontre dans les garrigues et surtout les maquis du bassin méditerranéen et les forêts (Quezel et Santa, 1963).

- **Aires de répartition**

Pistacia lentiscus L. On trouve couramment en sites arides Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique (Bougherara, 2015).

I.2.5. Utilisation de la plante *Pistacia lentiscus* L.

Arbre cultivé dans certaines régions pour sa résine ou mastic; les fruits peuvent être utilisés comme arôme pour liqueurs et pâtisseries (Annie et perrier, 2014). On reconnaît au pistachier lentisque des propriétés intéressantes notamment dans le traitement de l'athérosclérose, l'arthrite, l'asthme et la goutte. Sa résine et son huile essentielle sont utiles pour soigner l'ulcère gastroduodéal et les atteintes fongiques et bactériennes. Son huile essentielle est décongestionnant, anti-inflammatoire, antiseptique, et antispasmodique (Chaib, 2015).

La partie aérienne est traditionnellement utilisée dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques. Les feuilles sont pourvues d'activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépato protective, expectorante et stimulante. Elles sont également utilisées dans le traitement l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, asthme et problèmes respiratoires (**Mansour, 2014**).

La résine de lentisque est peu employée aujourd'hui, mais elle serait efficace contre les affections bronchiques et la toux et pour soigner la diarrhée. On l'a aussi appliqué sur les ulcères et les furoncles (**Iserin et al., 2001**). Aussi le mastic se mâche pour raffermir les gencives, entretenir les dents, parfumer l'haleine ;il est réputé contre les maux de dents (**Fournier, 1999**).

1.2.6. Toxicité de *Pistacia lentiscus* L.

Les données toxicologiques de la gomme mastic ont été rapportées concernant la toxicité aiguë, irritation de la peau et la phototoxicité chez les animaux et les humains (**Belfadel, 2009**).

1.2.7. Etude chimique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties de *Pistacia lentiscus* L. En fait l'objet de plusieurs études phytochimiques à fin d'identifier leurs principes actifs. Ces études consacrées essentiellement au mastic ont montré la présence de flavonoïdes, des huiles essentielles, ainsi que des triterpenoides. Cependant, on ne trouve que peu d'études qui se sont intéressées aux composés chimiques des feuilles et des fruits (**Ferradji, 2011**).

▪ Fruits

L'huile extraite des fruits, eux –mêmes comestibles, s'utilise en frictions adoucissantes comme les autres huiles. Elle sert à la table, à l'éclairage et à la fabrication du savon (**Fournier, 1999**). Les études phytochimiques montrent que les fruits de *Pistacia lentiscus* L., présentent une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Avec une présence modérée des mucilages et une absence totale des saponosides, des sénosides, des quinones libres, des coumarines, des irridoïdes et des alcaloïdes (**Arab et al., 2014**).

- **Feuilles**

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.*, est caractérisée par la présence de glycosides de flavonoles comme la quercétine, myricétine, lutéoline ainsi que l'isoflavone genisteine. Elles contiennent 6 à 7% du gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3, 4,5-O-trigalloyl (**Ferradji, 2011**).

- **Résine**

La résine présente cinq constituants majeurs solubles dans l'éthanol : α -pinène (40%), β -pinène (1,5%), β -myrcène (9%), le limonène (1,0%), et β -caryophyllène (5%) (**Abdeldjelil, 2016**).

- **Huile essentielle**

Les huile essentielle de *Pistacia lentiscus L.*, obtenue présente un aspect liquide et limpide, elle est de couleur jaune dégageant une odeur aromatique, très puissante et pénétrante (**Arab et al., 2014**).

II. Métabolismes secondaires

II.1. Métabolismes primaires :

Les métabolites primaires sont généralement des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 1500). Certains sont des monomères de macromolécules (acides aminés, nucléotides, glucides), présents dans la plante en grande quantité et d'extraction facile, leur exploitation est relativement bon marché (**Marouf et Reynaud, 2007**).

II.2. Métabolismes secondaires

Ensemble des voies métaboliques produisant des composés, généralement de faible poids moléculaire, qui n'ont pas de fonction apparente et vitale pour l'organisme mais qui ont un rôle écologique, par exemple dans les mécanismes de :

- ✚ Défense des plantes contre les prédateurs animaux ou les pathogènes;
- ✚ Défense contre les mycètes, les bactéries et les virus;
- ✚ Défense contre d'autres plantes concurrençant pour la lumière, l'eau et les aliments; Composés de signal pour attirer la pollinisation (**Marouf et Reynaud, 2007**).

II.2.1. Classification des métabolites secondaires

Plus de 45 000 composés sont définis comme métabolites secondaires des plantes. Ces derniers peuvent être répartis dans trois groupes, selon leur structure chimique:

- Les composés phénoliques simples et la voie du shikimate ;
- Les alcaloïdes ;
- les stéroïdes et les terpénoïdes (**Hopkins, 2003**).

1. composés phénoliques simples (Polyphénols)

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (**Bruneton, 1999**).

▪ Acides phénoliques

La plupart des acides-phénols dérivés de l'acide cinnamique (férulique) ont une distribution très large, mais les autres (comme l'acide 2- coumarique) sont peu fréquents. Ils sont rarement rencontrés à l'état libre (**Bruneton, 2009**).

▪ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés. ce sont des composés poly phénolique, Largement répandus dans le règne végétale, avec plus de 4000 structures décrites et dont la liste s'allonge constamment avec le développement de nouvelles techniques analytiques (**Marouf et Reynaud, 2007**).

▪ Tanins

Plus récemment, Mole et Waterman (1987) ont défini les tanins comme des « produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses » (**Bruneton, 1999**). On distingue deux catégories :

- Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (**Hopkins, 2003**). A la différence des tannins galliques, ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués, mais forment, à l'ébullition, des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouges de tannin (**Guignard, 2000**).

- Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Hopkins, 2003**).

▪ Distribution et localisation des tanins

La majorité des familles de plantes contiennent des espèces dépourvues de tanin. Les rencontre dans les vacuoles des cellules, souvent combinés à d'autres substances : alcaloïdes, protéines, oses, ils sont aisément caractérisés par leur coloration brune ou verdâtre ou brune bleuâtre avec des sels ferriques (**Boudjouref, 2011**).

▪ Activité biologique et intérêt pharmacologiques des tanins

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (**Iserin et al., 2001**).

Les tanins ont des grandes capacités antioxydants dues à leurs noyaux phénol. La consommation de plantes à tanins pouvait affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux en diminuant la production des œufs. De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (**Ferradji, 2011**).

2. Alcaloïdes

Nom générique de substances organiques azotées à propriétés basiques. Extraites de nombreux végétaux, et de manière spéciale de certaines familles ou de genres surtout chez les dicotylédones (Marouf et Reynaud, 2007).

2.1. Classification des alcaloïdes

-**Les alcaloïdes vrais**, existent à l'état de sel et ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé (Bruneton, 2009).

-**Pseudo-alcaloïdes** présentant le plus souvent toutes les caractéristique des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Bruneton, 2009).

-**Les proto-alcaloïdes** sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés (Bruneton, 2009).

2.2. Biogénèse des alcaloïdes

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique ; les alcaloïdes se concentrent ensuite dans la vacuole. Parfois, la production d'alcaloïdes s'observe dans les tissus en voie de croissance. Fréquemment, alcaloïdes s'accumulent en des emplacements différents de leur lieu de synthèse. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, dans les fruits ou les graines (Guignard, 2000).

▪ Distribution des alcaloïdes

Les alcaloïdes se rencontrent surtout chez 20% des plantes à fleurs, mais leur répartition est irrégulière. Leur teneur varie assez largement (Guignard, 2000).

▪ Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont de poids moléculaires extrêmement variables : de 100 à 900 Dalton, et certains peuvent atteindre un poids de 1000 g/mol. Ils sont le plus souvent des solides cristallisables, rarement colorés, la plupart sont doués de pouvoir rotatoire. Certains sont des liquides à température ordinaire, ce sont des composés à caractère basique. Ils donnent des sels avec les acides minéraux, ou organiques. Leur solubilité dans les différents solvants varie en fonction du pH, c'est à dire selon leur état (Bruneton, 2009).

▪ Rôle biologique des alcaloïdes

Le rôle biologique des alcaloïdes est essentiellement celui de phagodéterrants :

- Leur amertume et leur toxicité repoussent les herbivores.
- Certains motifs chimiques utilisés par des papillons, soit pour rendre leur chair inavalable par des prédateurs, soit pour synthétiser des phéromones nécessaires à leur accouplement (**Guignard, 2000**).

3. Terpènes et stéroïdes

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique. Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones et des stérols (**Hopkins, 2003**).

Les térpenoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux et constituent le principe odoriférant des végétaux (**Bruneton, 1999**). Ils sont classés chimiquement et fonction du nombre d'unité iso-préniques, constituant leurs structures carbonées, selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka. Ainsi, avons-nous successivement : Monoterpènes ; Sesquiterpène ; Diterpènes ; triterpène et Saponosides (**whichtl et Anton, 2003**).

▪ Caroténoïdes:

Les Caroténoïdes regroupent l'ensemble des pigments jaune à rouge, liposoluble, présents dans les membranes biologiques de nombreux végétaux, bactéries ou espèces animales, formés par les carotènes et les xanthophylles. Les carotènes sont des hydrocarbures de formule $C_{40}H_{56}$, constitués d'une chaîne linéaire de liaisons conjuguées et de deux extrémités cyclisées (**François et Gaudry, 2009**).

II.2.2. Biosynthèse des polyphénols des métabolites secondaires :

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique (**Bruneton, 1993**). Cette voie est commune aux bactéries aux champignons et aux plantes, mais est absent chez les animaux (**Hopkins, 2003 ; Voet, 1990**).

II.3. Les flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune qu'ils engendrent. D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration (Wilson, 1987).

II.3.1. Chimie de flavonoïdes

Les flavonoïdes sont dérivés du phénylpropane avec une composition de base $C_6-C_3-C_6$. Le squelette original du groupe est une flavone, dans laquelle la liaison C_3 a formé un noyau hétérocyclique pyrane. Dans la flavone le noyau hétérocyclique est totalement réduit (Hopkins, 2003).

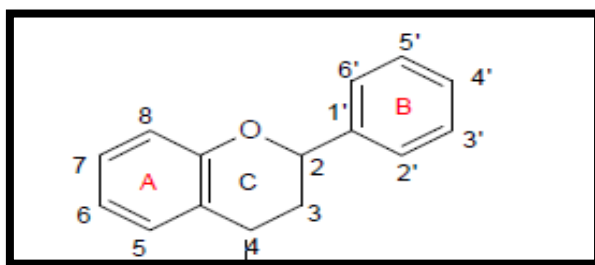


Figure03: Structure de base des flavonoïdes (Hopkins, 2003).

II.3.2. Classification des flavonoïdes

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (Pietta, 2000). Les flavonoïdes sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes. Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base (Bruneton, 2009).

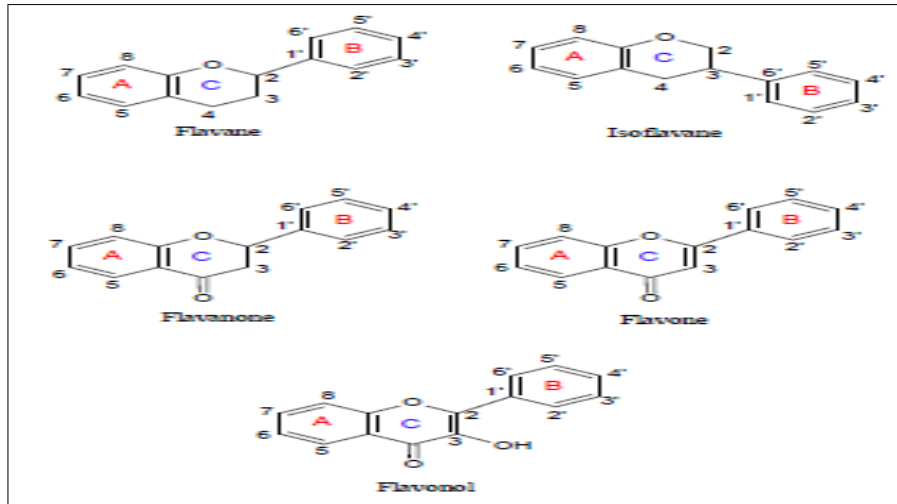


Figure 04 : Structure de principaux types de flavonoïdes (Abedini, 2013)

II.3.3. Biogenèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons. Certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (Elicoh et al., 2000).

La biosynthèse des flavonoïdes fait intervenir des voies communes :

- 1-La voie shikimique grâce à la phénylalanine ammonialyase (PAL) ;
- 2-La voie acétate grâce à la chalcone synthase (CHS) (Harrar, 2012).

II .3.4. Localisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavs*, jaune) sont largement représentés ; pratiquement absents chez les algues, ils font leur apparition chez les mousses. Chez les fougères et les conifères, leur variété structurale est encore faible ; elle est maximale chez les plantes à fleurs : on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes, préférentiellement dans les cellules des tissus superficiels, ils sont protègent les plantes terrestres des radiations ultraviolettes .chez les fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermique (Guignard, 2000).

II.3.5. Propriétés biologiques des flavonoïdes

Historiquement, c'est la première propriété reconnue aux flavonoïdes. On les dit "veinotoniques" car on peut montrer qu'ils sont :

- Capables de diminuer la perméabilité des capillaires et de renforcer leur résistance (**Bruneton, 1999**).
- Empêchant la peroxydation et les lipoxygénases de lipide (**Vivek et al., 2006**).
- En plus, les flavonoïdes ont une activité antioxydant. En effet, ils peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition et par inhibition de certaines enzymes responsables de la production des ROS comme la cyclooxygénase et la lipoxygénase (**Hopkins, 2003**).

II .3.6. Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. L'extraction est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou de mélanges méthanol-eau (**Marouf et Reynaud, 2007**).

II .3.7. Rôle physiologique des flavonoïdes

Au début des années 1960 plusieurs chercheurs ont rapporté que 2 flavonols, le Kaempferol et la quercétine, étaient impliqués dans la croissance de la tige de plantules de pois qui est régulées par la lumière. Le Kaempférol inhibait la croissance en stimulant l'oxydation de l'AIA et cet effet était contrecarré par la quercétine (**Hopkins, 2003**). Les iso flavonoïdes Jouent également un rôle dans la nodulation par les rhizobiums (**Marouf, Reynaud, 2007**).D'autres études font intervenir les flavonoïdes dans la croissance des racines et la dormance, actuellement, il n'est cependant pas avéré que les flavonoïdes jouent un rôle significatif dans la croissance des plantes (**Hopkins, 2003**).

II.4. Huiles essentielles

II.4.1. Définition

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes (**Chiasson et Beloin, 2007**).

II.4.2. Localisation et formation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bruneton, 1999**).

II.4.3. Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y aurait 17500 espèces aromatiques. Elles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante. Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (**Bruneton, 1999**).

II.4.4. Composition Chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part, d'autre part, elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 2009**).

II.4.5. Rôle physiologique

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques :

- Interaction plante- plante (inhibition de la germination et de la croissance) .
- Interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs (**Bruneton, 2009**).

II.4.6. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, et d'origine fongique contre les dermatophytes. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Bruneton, 1999**).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricide) : exerçant une activité létale.
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance (**Lakhdar, 2015**).

II.4.7. Propriétés physiques des huiles essentielles

Parmi les propriétés physiques des huiles essentielles on a :

- Liquide à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées, leur densité est en générale inférieure à celle de l'eau.

- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles.

- Entraînables à la vapeur, elles sont très peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 2009**).

III. Activité biologique

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Pistacia lentiscus* L. possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

III .1. Activité antioxydant

L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres (**Rice et al ., 1995**).

III .1.1. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène (**Favier, 2003**). Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydants remarquables. Elles contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C et E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (**Popovici et al., 2009**).

III.1.2. Radicaux libres oxygénés:

Les radicaux libres oxygénés (ROS) sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron (s) libre (s) non apparié (s) sur leurs couche externes qui vont chercher par l'oxydation à compléter la couche électronique externe de l'oxygène pour tendre vers une forme plus stable (**Van, 2006**). La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (**Favier, 2003**).

III.1.2.1. Principales sources des ROS

Les ROS sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de sources endogènes comme Les NAD(P) H oxydases et la xanthine-oxydase (Salvayre et al., 2003). Sources exogènes des ROS tel que les radiations X ou gamma et les rayonnements UV ; de xenobiotiques et Médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Ferradji, 2011).

Pour lutter contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) nocives, notre organisme possède des systèmes de défense antioxydants propres mais d'autres sont fournis par l'alimentation. Ces molécules sont aptes à ralentir, retarder ou prévenir les processus d'oxydation. Le système de défense antioxydant consiste en un réseau enzymatique et non enzymatique aussi bien endogène qu'exogène (Ferradji, 2011).

Tableau 2 : Principaux radicaux libres oxygénés (Favier, 2003).

Nom	Formule	Temps de demi-vie (sec)
Espèces radicalaires		
Anion superoxyde	O [*] 2	Elimination enzymatique
Radical hydroxyle	*OH	10 ⁻⁹
Radical peroxyde	ROO*	
Radical alkoxyle	RO*	10 ⁻⁶
Monoxyde d'azote	NO*	10 ⁻¹⁰
Espèces non radicalaires		
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂	Elimination enzymatique
Acide hypochlorique	HClO	Dépendant du PH
Peroxynitrite	ONOO	0,05 ⁻¹
Oxygène Singulet	¹ O ₂	

III.1.3. Stress oxydatif

Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress

oxydant ». Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines (**Favier, 2003**).

III.1.4. Propriété antioxydant des polyphénols

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques, actuels à plusieurs plantes, qui empêchent la peroxydation et les lipoxygénases de lipide (**Favier, 2003**). Et exercent des effets antioxydants aussi par la chélation des ions métalliques. En plus, les flavonoïdes sont des inhibiteurs des enzymes impliquées dans la production des ERO

(**Benbrinis, 2012**).

III.2. Activité antibactérienne

III.2.1. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides ou solides. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Boudjouref, 2011).

III.2.2. Infection bactérienne et antibiotique

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides, soit bactériostatiques et un antibiotique bactéricide à une certaine concentration peut s'avérer bactériostatique à concentration plus faible (Singleton, 2005).

III.2.3. Description des bactéries utilisées

Staphylococcus aureus sont des cocci à gram positifs, anaérobies facultatifs, de forme sphérique, souvent en amas ce type de bactéries sont immobiles avec un diamètre de 0.5 à 1µm (Singleton, 2005) habituellement sans capsule produisent un pigment jaune doré, tient une place très importante dans les infections de blessures (Chambers, 1997).

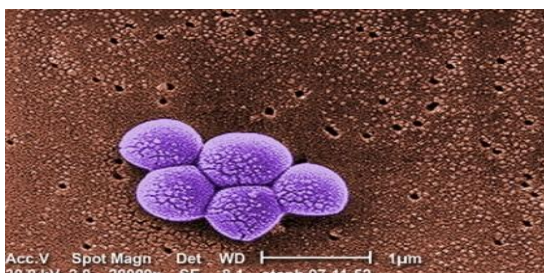


Figure 05 : Vue sous le microscope électronique de *Staphylococcus aureus*.

<http://www.cdc.gov/media/dpk/2013/images/untreatable/img17.jpg>.

Pseudomonase aeruginosa est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 μm de long et de 0,5 à 1 μm de large mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (Elmeskini, 2011).

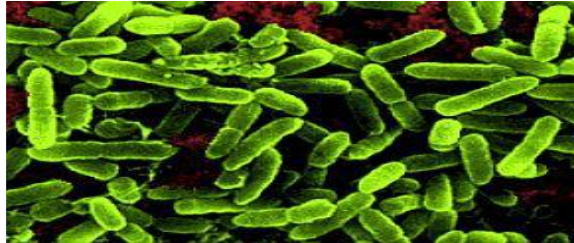


Figure 06 : Vue sous le microscope électronique de bactérie *Pseudomonase aeruginosa* (Elmeskini, 2011).

III.2.4. Propriété antibactérienne des polyphénols

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antibactériennes des polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésions microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Harrar, 2012).

Chapitre II

Matériel et méthodes

Introduction

Pour l'analyse phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique *In vitro* de l'espèce étudiée, une extraction des principes totaux comportant les grands groupes chimiques a été nécessaire. L'extraction a été faite dans le Laboratoire de biodiversité et physiologie végétale, département de science de la nature et de la vie, faculté de sciences, Université de Mohamed Boudiaf à M'sila.

L'objectif

Cette étude expérimentale se divise en trois parties :

- **La 1^{ère} partie** : Tests phytochimiques qualitatifs et dosages quantitatifs des poly phénols totaux et des flavonoïdes de notre plante.
- **La 2^{ème} partie** : L'activité antioxydant des différents extraits et d'huile essentielle en utilisant la technique suivante : la réduction du piégeage du radical libre DPPH.
- **La 3^{ème} partie** : Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de disque.

1. Appareils et produits chimiques

1.1. Matériels

- Rotavapor BÜCHI R-210
- Clevenger
- Spectrophotomètre UV mini -1240
- Autoclave
- Incubateur
- CCM (chromatographie sur couche mince)
- Lampe UV (254 – 365 nm)
- Ampoule à décanter 500ml.

1.2. Produits

1.2.1. Produits chimiques

- Milieux De Culture : Mueller Hinton (MH).
- L'eau Distillée, Eau Javel (NaCl), Eau Physiologique Stérile.
- Méthanol, n-Butanol, Acétate D'éthyle.
- DPPH (2,2 Diphenyl -1-Picrylhydrazyle).

- Carbonate De Sodium NaCO_3 , Trichlorure D'aluminium (AlCl_3).
- Acide Gallique, Quercétine, Réactif De Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich).

1.2.2. Produits biologiques

- La plante *Pistacia lentiscus* L.
- Les souches testées : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonase aeruginosa*.

II. Caractérisation quantitatives des extraits

II. 1. Méthode

La méthode d'extraction qui nous avons utilisée est la macération successive par le méthanol, pour extraire certains principes actifs de feuille *Pistacialentiscus*L. la macération est une opération qui consiste à laisser séjourner un corps solide dans liquide ou dans un milieu humide, pour extraire certains principes actifs de ce corps.

- **Principe**

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules chimiques végétales, dont leur nature sont extrêmement variables d'une espèce à l'autre.

- **Objective**

On utilisant les solvants organiques pour extraire le maximum de molécules chimiques contenants dans les feuilles de *Pistacia lentiscus* L., qui accélèrent et augmentent leur rendement d'extraction.

II. 2. Matériel végétal

Cette étude est réalisée sur la partie aérienne (feuilles) du *Pistacia lentiscus* L. Qui ont été récoltés durant le mois de Décembre 2016 de la région de Boussaâda (wilaya de Msila). Ces parties ont été identifiées, nettoyées, et stockées à température ambiante à l'abri de la lumière dans un endroit sec et aéré pendant 2 semaines. Après séchage à l'obscurité, la matière végétale a été réduite en poudre à l'aide d'un mortier, puis stocké dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière pour l'utilisation ultérieure.



Figure 07 : Carte géographique de M'sila (la région de récolte de *P. lentiscus* L.)

A. Extraction type solide -liquide

Une quantité de 150 g du poudre végétal est soumis a une extraction par macération, via le méthanol.

Cette étape est répétée trois fois, avec une durée 24 à 48 d'heures à chaque fois. Après filtration, l'extrait est concentré par élimination du solvant grâce à un évaporateur rotatif de type BÜCHI R -210 sous pression réduite à 45 °C a vitesse de rotation 3. Les extraits secs sont ensuite gardés dans un réfrigérateur à 4 °C et à l'abri de lumière pour des testes suivi. L'extrait sec est pesé pour déterminer son rendement.



Figure08 : Un rotavapeur rotatif type (BÜCHI R- 210).

A.1. Préparation de l'extrait brut.

(50) g de la poudre du *P. lentiscus* L. est macérer dans un Erlenemeyer dans un mélange méthanol/eau (70/30 V/V) pendant 48 h à l'ombre à l'aide d'un agitateur magnétique. La macération est renouvelée Trois fois sur le résidu récupéré avec renouvellement du solvant. Les extraits obtenus sont filtrés sur papier filtre, puis évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 35- 40° C par un

rotavapeur type BÜCHI R-210, on obtient donc l'extrait brut sec à été réduite en poudre puis gardés pour des testes suivi.

A.2.Préparation de l'extrait Méthanolique:

On faire la même manière pour la quantité de 100 g, on obtient donc résidu sec seront récupéré dans des boites en verre puis conservés pour utilisation ultérieur.

B. Extraction liquide-liquide

L'extrait méthanolique sec est ensuite soumis à une autre extraction dans les mêmes conditions mais avec d'autres solvants de polarité croissante, il s'agit de l'acétate d'éthyle et de n- butanol. Ces deux solvants organiques sont spécifiques des composés phénoliques et des flavonoïdes.

Le résidu sec de couleur marron est repris dans l'eau distillée bouillante qui solubilise proportionnellement les flavonoïdes .Enfin, la liqueur est épuisée dans une ampoule à décanter est soumis à une extraction liquide- liquide avec des solvants organiques suivants: l'acétate d'éthyle (30 ml) puis le n- butanol (30 ml). Cette extraction est réalisée avec l' agitation vigoureuse et l'opération est répétée trois fois.

La phase aqueuse c'est la phase récupérée pour décantation

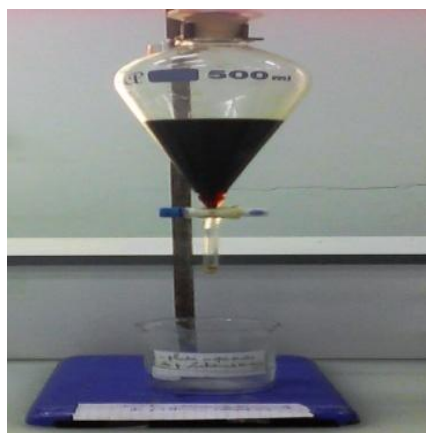


Figure 09 : Décantation de la solution méthanolique de 100 g de *P lentiscus* L.

Après décantation on peut voire deux phases bien distinctes :

1. Phase organique :

- Phase d'acétate d'éthyle (AcOEt) de couleur vert.
- Phase butanolique (n-BuOH) de couleur brun

2. Phase aqueuse : (Aq) de couleur marron.

▪ **Calcul du rendement**

Le rendement des extraits désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction (**Falleh et al., 2008**)

Nous pouvons déterminer le rendement des extraits pour chaque solvant organique avec le rapport : **$R (\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100$**

- R est le rendement en %.
- P1 : poids du boit rempli par l'extrait sec en gramme.
- P2 : poids du boit vide en gramme.
- P3 : poids de la poudre végétale de départ en gramme.

▪ **Protocole d'extraction**

Le schéma général adopté pour la réalisation de ce travail est résumé par la figure ci-dessous

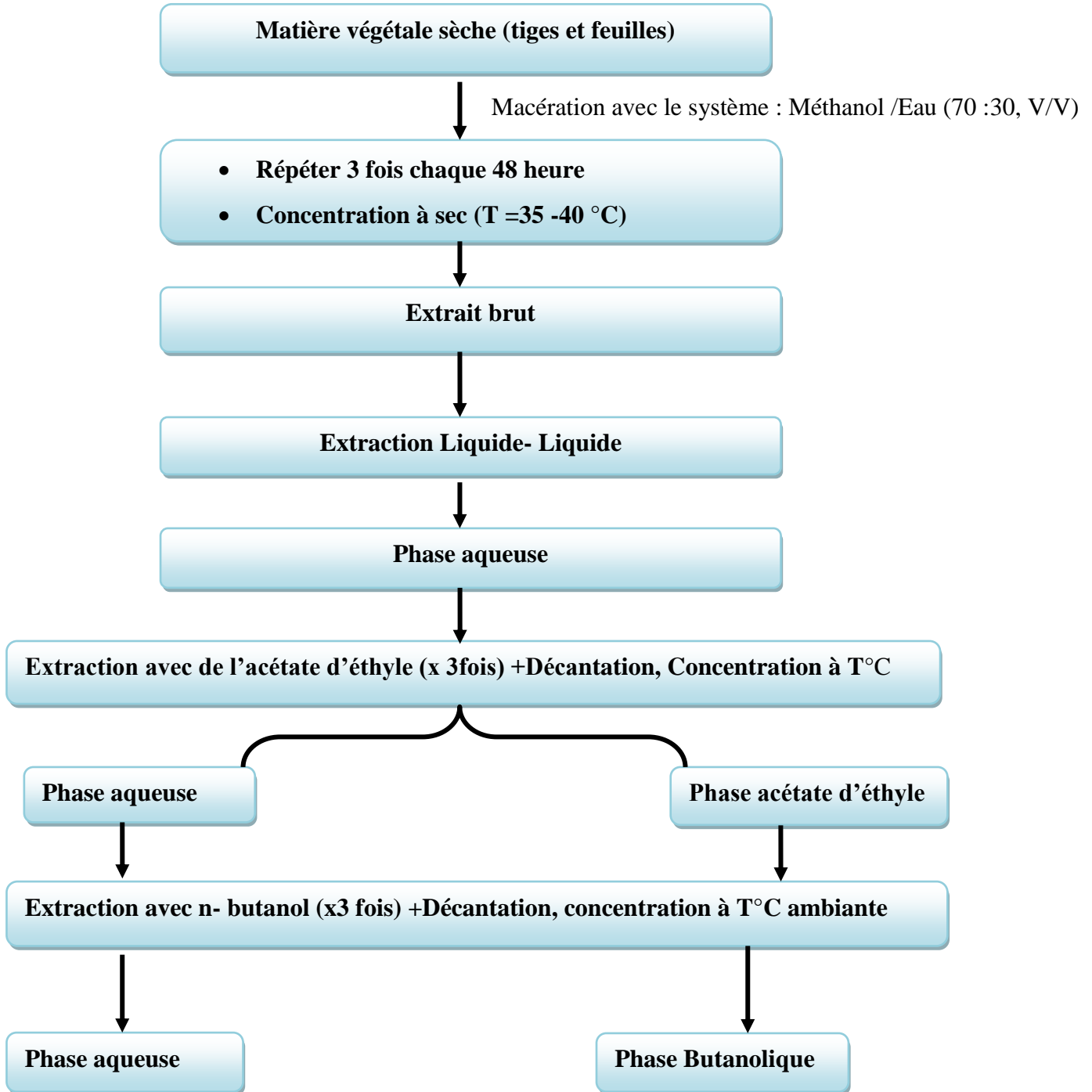


Figure 10:Méthode d'extraction des flavonoïdes (Ciulel, 1983).

II.3. Extraction de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L.

L'objectif de ce travail est d'obtenir l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. par la méthode d'Hydrodistillation pour faire l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydant.

II.3.1. Hydrodistillation

La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (Arabe et al., 2014)

II .3.2. Procède d'extraction

Les huiles essentielles ont été obtenues en utilisant la méthode d'hydro distillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (Fig.11), Où 100 g de la matière végétale séchée et broyée a été introduite dans un ballon de 1000 ml ensuite une quantité de 800 ml d'eau distillée est ajoutée , L'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'une plaque chauffante.

Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent à travers le réfrigérant où aura lieu la condensation. L'hydro distillation dure 3 heures la quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Bammou et al., 2015).

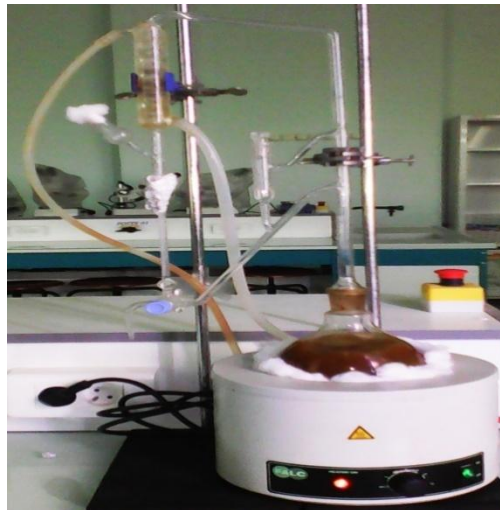


Figure 11 : L'extraction de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. à l'aide de Clevenger.

II.3.3. Conservation d'huile de *Pistacia lentiscus* L.

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela on lui recommande de stocker des huiles (photosensibles) en verre ombré, hermétiques, enveloppés de papier aluminium, mis en communication alors contre la lumière et l'air (oxydation) et dans les endroits frais afin d'éviter leur polymérisation à une température 4°C (Saidi et al., 2009).

- **Calcul de rendement**

D'après (Hellal, 2012) le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extrait et le poids de la de la biomasse végétale à traiter. Le rendement exprimé en pourcentage.

Pour ce faire nous avons utilisé la formule de calcul :

$$R\% = \frac{P_h}{P_v} \times 100$$

R% : Rendement en pourcentage %.

P_h : Poids de l'huile essentielle extrait en g.

P_v : Poids de la biomasse végétale en g.

III. Caractérisation quantitatif

III.1. Dosage des métabolites des extraits de *pistacia lentiscus* L.

III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différentes extraits est estimée par la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu est la plus utilisée (Talbi et al., 2015).

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolibdique (H₃PMO₁₂O₄₀), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (MO₈O₂₃). Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Athamena et al., 2010).

▪ **Méthode**

Selon le protocole décrit par(Özturk et al., 2011)nous avons mettre 4µl de chaque extrait de *P.lentiscus L.* dans des tubes à essais ; ajouter 180 µl d'eau distillée et 4µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans H₂O distillée (v/v) dans chaque tube; agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 12µl de carbonate de sodium à 7.5% dilué également dans l'eau distillée, sont additionnés au mélange.

Après 2 heures d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible (UV -mini modèle 1240) à 765nm.

▪ **Expression des résultats**

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits de *P.lentiscus L.*, est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y= a x +b$),établie avec des concentration précises d'acide gallique(0-80µg/ml) comme standard de référence .

La courbe d'étalonnage a été effectuée en suivant les mêmes étapes du dosage.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/ mg Ext).

Toutes les mesures sont réalisées en triplicata dans les mêmes conditions d'expérimentation.

Fonction linéaire de courbe d'étalonnage d'acide gallique : $Y=0.0037X+0.054$

III.1.2. Dosage des flavonoïdes dans les feuilles du *Pistacia lentiscus L.*

La concentration des flavonoïdes totaux a été mesurée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (Atanasova et Ribarova, 2009).

▪ **Principe**

La teneur totale en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant la méthode de chlorure d'aluminium basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium (Zhou et al., 2005).

▪ **Méthode**

C'est la méthode décrite par (Özturk et al., 2011)qui a été utilisée. Mettre 4 µl de chaque extrait de *P.lentiscus L.* Dans un tube à essai ; Ajouter 4µl de la solution de chlorure d'aluminium à (2% dans le méthanol);Après 2 min d'incubation à température ambiante. L'absorbance est lue à 415 nm par un spectrophotomètre UV-visible.

Le blanc est représenté par Méthanol, toutes les opérations sont réalisées en triplicata afin de minimiser l'erreur expérimentale.

▪ **Expression des résultats**

La quantification des flavonoïdes contenus dans les extraits de *P.lentiscus L.* a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard étalon « la quercétine (0-80 μg /ml) » préparée avec une concentration égale à 25mg/25ml dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/ mg Ext}$).

Fonction linéaire de courbe d'étalonnage de quercétine : $Y = 0.207X - 0.173$.



Figure 12: L'appareil de spectrophotomètre UV mini - 1240.

IV. Caractérisation qualitatives

IV .1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est l'une des méthodes de séparation et d'identification rapide des constituants d'un extrait végétal donné avant l'analyse détaillée par d'autres techniques instrumentales. Cette technique informe sur le contenu en poly phénols et en particulier en flavonoïdes des phases analysées, dans laquelle une phase stationnaire constituée d'un matériau approprié est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaque de verre, de métal ou de plastique) (Wichtl *et al.*, 2003).

▪ Principe

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) qui est plongé dans un solvant (phase mobile) qui, par capillarité, se déplace le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile. On peut ainsi caractériser les composés selon leur R_f (Abedini, 2013).

▪ Méthode

La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs étapes :

- **Choix de la phase stationnaire** : des plaques de silice fluorescent (silica gel 60 F254, de 0.25mm d'épaisseur) déposées sur feuille d'aluminium gel de silice.
- **Choix de la phase mobile** : qui peut être généralement un mélange de solvants organiques. Pour cela, différents systèmes solvants ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations.
- En placent la plaque sous une lampe UV, certains composés apparaissent sous forme de taches brillantes.

Tableau 03: Les différents systèmes des solvants utilisés pour la chromatographie sur couche mince (Belkassam, 2009).

Les systèmes	Les solvants	Proportion
01	Chloroforme/ Acétate d'éthyle	(8 :2)
02	Chloroforme /MeOH	(9 :1)
03	Chloroforme /MeOH	(7 :3)

Après la migration et le séchage (à température ambiante), les plaques sont observées à la lumière du jour et sous UV aux longueurs d'onde 254 et 365 nm.



Figure 13 : Lampe Ultra –Violet 254 – 365 nm.

▪ **Relation structure - Rapport frontal ou facteur de rétention (R_f)**

L'identification des flavonoïdes est réalisée par le rapport frontal (**Mansour, 2014**).

$R_f =$ Distance point de départ-tache/Distance point de départ-front du solvant.

V. Tests des activités biologiques

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité anti-oxydante par le biais de la méthode de DPPH et de tester l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé des différents extraits (EBrt, EAcOEt et EnBuOH).

V.1. Activité antioxydant

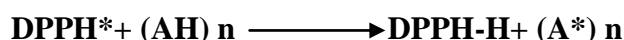
▪ Test au DPPH

L'activité antioxydante in vitro de notre extrait a été évaluée par la méthode test de DPPH, ce composé chimique 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényle- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques des extraits (Popovici et al., 2009).

▪ Principe

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (Non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (William et al., 1995).

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



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) Pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune pâle) .

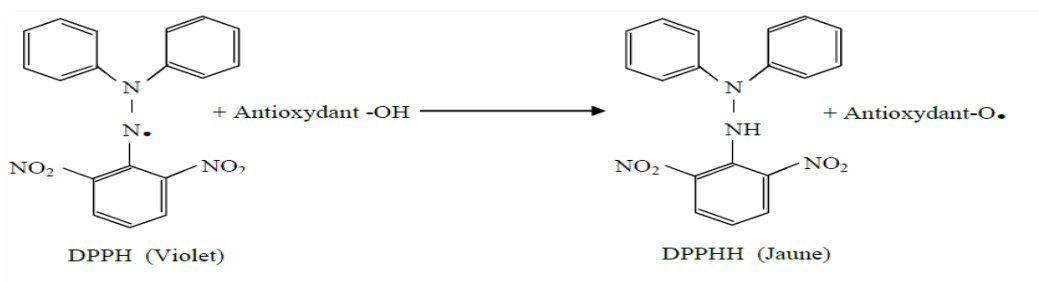


Figure 14: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Talbi et al., 2015).

▪ Méthode

Pour évaluer l'activité antioxydants de l'huile essentielle et des extraits de notre plante nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) proposée par (Öztürk et al., 2011). Pratiquement, une solution de DPPH (0.1mM) est préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (MeOH). Les échantillons des extraits ont été préparés par dissolution dans le Méthanol pour avoir les concentrations suivantes : 10; 25; 50; 100 $\mu\text{g/ml}$. On met un volume de 4 μl des

solutions d'extraits ont été ajoutés à 160 µl de DPPH. Parallèlement, un contrôle négatif (blanc) est préparé en mélangeant 40 µl de méthanol avec 160µl de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre le blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT (Butyle hydroxytoluene) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

▪ **Expression de résultats**

Selon (Marone et al., 2001) les résultats exprimés en EC₅₀ (aussi appelée IC₅₀) a été déterminée pour chaque extrait, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur).

Selon (Mansouri et al., 2011) l'IC₅₀ est calculé à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence (BHT).

L'activité antioxydants est déterminée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydant} = [\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Echantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

Avec

A Contrôle: est l'absorbance de la solution de DPPH en l'absence de l'extrait.

A Echantillon : est l'absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait.

V.2. Activité antibactérienne

▪ Teste *in vitro* de l'Activité antibactérienne des extraits :

D'après la littérature les composés phénoliques sont doués d'un effet inhibiteur de la croissance bactérienne. A partir de là, on a testé l'effet de nos extraits aussi l'huile de *P.lentiscus* L. sur différents souches bactériennes, pour mettre en évidence et évaluer cette propriété des différents extraits et d'huile essentielle.

▪ Principe

L'évaluation de l'activité antibactériennes a été réalisée par la méthode de diffusion de disque sur milieu gélose (**Bammou et al., 2015**).

Aromatogramme est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne, cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de ces substances sur milieu gélosé solide (Gélose Mueller Hinton Agar).

Le support Bactérienne est composé des souches bactériennes l'un positive et l'autre négative référentielles a été choisie sont sous forme des lots "American Type Culture Collection" ATCC, Elles ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université Mohamed Boudiaf M'sila.



Figure 15 : Les deux souches choisies dans l'expérimentation.

- **Matériel bactérien :** Le matériel bactérien utilisé est composé de deux souches pathogènes isolées. Il s'agit du *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonase aeruginosa*.

Tableau 04 : Les souches bactériennes utilisées.

<i>souches bactériennes</i>	Gram	Code
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif (+)	ATTCC 6538
<i>Pseudomonase aeruginosa</i>	Négatif (-)	ATTCC 8739

▪ **Application**

Selon les méthodes utilisées dans l’essai et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants:

- La gélose nutritive pour la conservation des souches bactériennes;
- Bouillon Nutritif pour l’enrichissement de l’inoculum ;
- La gélose Mueller Hinton pour l’étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits (Djenidi, 2012).

▪ **Préparation des disques :** On utilisé Des disques de 6 mm de diamètre découpés sur papier Wattman N°1 pour donner une zone d’inhibition facile à mesurer. les disques une fois préparés, sont introduit dans un flacon en verre et placés dans l’autoclave pendant 20 minutes à 120 C°.

▪ **Préparation de Milieu de culture :** En dissolvant 38g de poudre de gélose de Muller Hinton dans 1000 ml d’eau distillé dans une bécher placées sur une agitateur-plaque. La gélose dissolue est versée dans des flacons puis stérilisé dans l’autoclave à 120 C° pendant 15 minutes, et enfin conservée dans le réfrigérateur à 4C°. Avant utilisation la gélose Mueller Hinton est fondu dans un bain marie à 95C° et coulé en boîte de pétrie sur une épaisseur de 4mm, et on laisse quelques minutes jusqu’à la solidification (Harrar, 2012).

▪ **Préparation des dilutions d’extraits de *P.lentiscus L.* :** Les extraits de notre plante ont été dissous dans le Méthanol (MeOH) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successive (1/2 g/ml ; 1 /4 g/ml ; 1/8 g/ml ; 1/16 g/ml), sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 1 g/ml.

▪ **préparation de l’inoculum :** À partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), on prélevé à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc

Ferland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germe/ml (Hellal, 2011).

- **L'ensemencement :** Cette opération doit se faire dans les 24 heures qui suivent la préparation de l'inoculum. On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Puis on fait flotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélifiée sèche, de haut en bas en stries serrées. L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte de pétrie d'un angle de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (Benzeggouta, 2005).

- **L'application des disques :** une fois les géloses Muller – Hinton sont ensemencées, les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen, en effet de chaque dilution on prélève $10 \mu\text{l}$ et on la met dans les disques. (Dans chaque boîte quatre disques ont été réalisés à différentes concentrations d'extraits). La boîte de contrôle, réalisée pour l'expérience, est une boîte ensemencée dont le disque déposé au centre de la gélose imbibé $10 \mu\text{l}$ de méthanol.

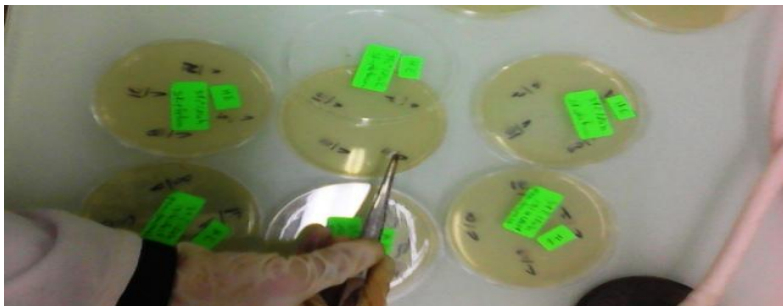


Figure 16: La déposition de disques stériles sur le M H.



Figure 17: L'imprégnation de l'extrait sur les disques déposés sur le M H.

▪ **Finalement**, les boîtes de Pétri sont laissées pendant 20 minutes à températures ambiante pour la diffusion des extraits dans la gélose puis on incube à 37°C pendant 24 h. Après le période de l'incubation on mesurer les diamètres des zones d'inhibitions autour les différents disques.

▪ **Lecture des résultats**

La lecture des résultats est observée à lendemain, Selon (**Bouharb et al., 2014**)La sensibilité des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition :

- $\emptyset < 8$ mm : bactérie non sensible ;
- $9 < \emptyset < 14$ mm : bactérie sensible ;
- $15 < \emptyset < 19$ mm : bactérie très sensible ;
- $\emptyset > 20$ mm : bactérie extrêmement sensible.

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Evaluation des techniques d'extraction

I.1. Macération et décantation

L'opération de l'extraction par macération de la partie aérienne (feuilles) de *P. lentiscus L.*, dans le méthanol a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute, l'autres extraits d'acétate d'éthyle et n- butanolique sont obtenus par décantation .

I.1.1. Détermination des caractéristiques et des rendements des extraits

Après extraction et récupération des extraits sous forme de poudre ou pâte, le rendement, la couleur, ainsi que l'aspect physique de chaque extrait sont déterminés et représentés dans le tableau (voire l'annexe).

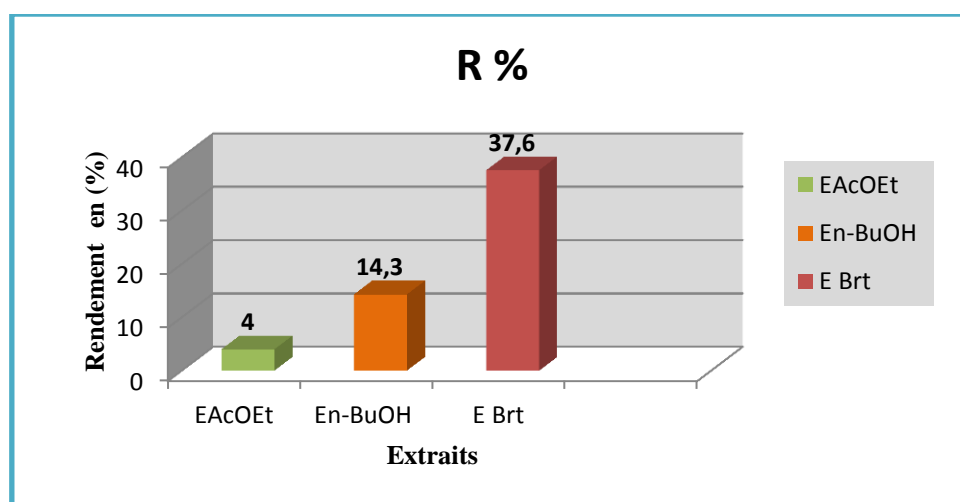


Figure 18 : Rendements des extraits de *P. Lentiscus L.* exprimés en pourcentage.

Selon les résultats obtenus, on constate que les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents.

Les rendements sont variable selon le type d'extrait, où les rendements des extraits d'acétate d'éthyles et l'extrait butanolique présentent le faible rendement 4 (%) et 14.3 (%) respectivement, alors que l'extrait brut est de l'ordre de 37.6(%) présente le rendement le plus élevé.

Nous avons estimé nécessaire de comparer nos résultats avec ceux de **Cheurfa, (2016)** qui ont utilisé le même protocole d'extraction a montré que l'extraite hydro-alcooliques et l'extrait brut des feuilles de *P. lentiscus L.*, enregistré des rendements de 15.88 %, 12,64 % respectivement.

Kordali et al., (2003) il a montré que le rendement de l'extrait brut 16, 59 %.

D'après les résultats obtenus, on constate que la méthode d'extraction et le type des solvants utilisés jouent un rôle très important dans les rendements des extraits.

Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

I.2.Extraction d'huile essentielle

L'extraction d'huile essentielle du *Pistacia lentiscus* L., ce fait par l'Hydrodistillation a été accomplie à l'aide d'un dispositif de type Clevenger.

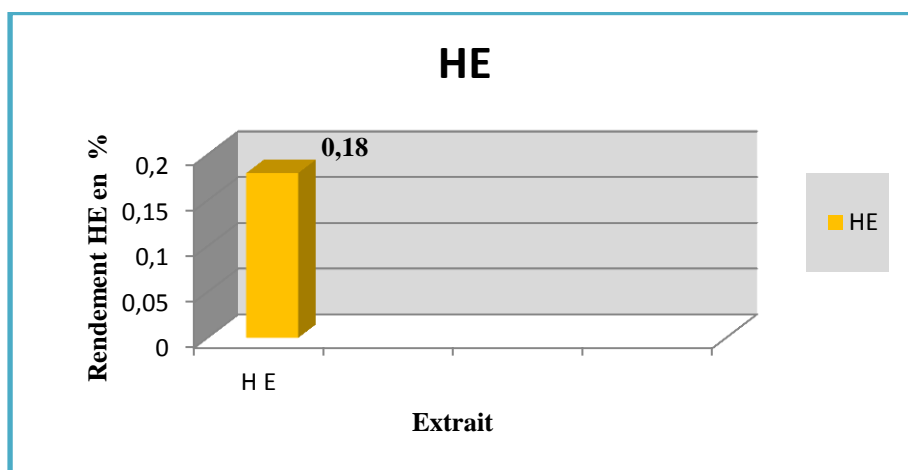


Figure 19 : Rendement d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L., en pourcentage.

Le rendement moyen d'H E pour 100 g de matière végétale est de 0.18%. L'huile obtenue présente un aspect liquide et limpide, elle est de couleur jaune dégageant une odeur aromatique, très puissante et pénétrante, Nos résultats sont proche à ceux obtenu par **Bammou et al., (2015)** et **Ferradji, (2011)** qui étaient un rendement en huile de l'ordre de 0.16%, 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. respectivement. Ces quantités sont très faibles par rapport à celles décrites dans la littérature **Hamiani et al., (2016)** il est de l'ordre 1.26% aussi **Arab et al., (2014)** obtenu un rendement égale 0.253 ± 0.131 %.

Mais nos résultats est supérieur à celle trouvé par **Haloui et al., (2015)** les résultats est l'ordre de 0.3 % et 0.14 % obtenu par **Amhamdi et al., (2009)** de l'est de

Maroc. Aussi supérieur que les résultats obtenus par **Aouinti et al., (2013)** qui étaient de l'ordre de 0.15 %.

D'après **Benhammou, (2006)** la plante *P. lentiscus L.*, de Ghazaouet renferme une teneur en huile essentielle (0.0731%) comparativement à celle d'Oum El Alou (0.0187%) durant le mois de novembre.

Selon **Bekkara et al., (2009)** le teneur obtenue en huile essentielle à partir des feuilles est de l'ordre de 0.05% et 0.07% respectivement pour les stations d'Ain Fezza et d'Oum El Alou durant le mois de janvier.

Les raisons pour cette variabilité peuvent être expliquées par les différences des conditions environnementales (climat et situation géographique), la période de la récolte et la technique de distillation. Il est aussi à noter que la production des huiles essentielles et aromatiques à partir de la plante résulte d'une série de régulations physiologique, biochimique, métabolique et génétique.

II. Dosage des métabolites secondaire de *Pistacia lentiscus L.*

II.1. Dosage des Polyphénols totaux et Flavonoïdes des extraits

Les analyses quantitatives des Polyphénols totaux et de Flavonoïdes de chaque extraits a été alors calculée à partir de l'équation de régression de courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique et la quercétine par mg de matière sèche, dont les équations de type linéaire successivement : ($y = 0.0037X + 0.054$) ; ($Y = 0.207X - 0.173$).

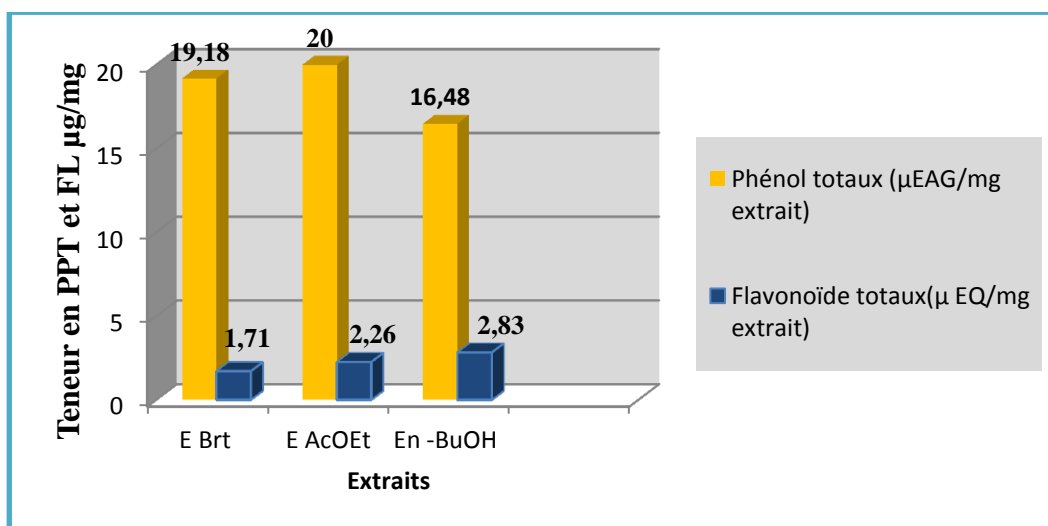


Figure 20: Histogramme de teneur des Polyphénols totaux et Flavonoïdes des extraits de *P. lentiscus L.* Les valeurs représentent (**moyenne, ±SD**).

On remarque d'après les résultats de l'histogramme ci-dessus, tous les extraits présentent une faible teneur de polyphénols et flavonoïdes.

Les extraits brute et l'acétate d'éthyle possèdent une teneur importante en polyphénols contre l'extrait butanolique, ils sont de l'ordre 19.18 ± 0.002 et 20 ± 0.005 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ EXT). Accompagné par une teneur en flavonoïde égale à 1.71 ± 0.002 et 2.26 ± 0.001 (μg EQ /mg EXT) respectivement.

Par ailleurs, l'extrait n-butanolique enregistré une teneur importante en flavonoïdes de 2.83 ± 0.004 (μg EQ /mg EXT) par rapport à celle des extraits auparavant.

Il ressort des résultats obtenus du dosage spectral de nos composés phénolique que les feuilles de *P.lentiscus* L. renferment ces métabolites secondaire en quantité considérable.

Si on compare les résultats du dosage avec ceux de la bibliographie, on constate que la teneur en flavonoïdes est inférieure à celle trouvée par l'étude effectuée par **Ebrahimzadeh et al., (2008)** Confirmé un teneur élevé en polyphénols 289.5 ± 5 mg/ml et 57 ± 5.4 mg/ml en flavonoïdes dans les extraits de feuilles du *P. lentiscus* L.

Les mêmes auteurs montrent que la teneur en phénols significativement la plus élevée a été trouvée avec l'extrait hydro alcoolique de *P. lentiscus* L., (97.26 ± 0.003 mg EQ AG/ g) et les flavonoïdes (8.21 ± 0.008 mg Eq Q/ g). Suivie par l'extrait aqueux de la même plante (87.79 ± 0.173 mg EQ AG/ g).

Comparativement à d'autres travaux effectués sur la même plante, on peut dire que la teneur obtenue en composés phénoliques est moins importante par rapport au **Benhammou, (2006)** révèle que la faible teneur en phénols totaux dans les extraits des feuilles de *P. lentiscus* L., égale à $0,90 \pm 0,05$ mg/g d'extrait sec. Cet auteur montre ainsi que le taux en phénols totaux dans l'extrait brut de *P. lentiscus* L., varie entre 22,9 à 65,5mg EAG /g d'extrait sec très élevé par rapport à nos extraits brut.

Mais ces résultats restent faibles comparativement avec ceux de **Cheraft, (2011)** qui a montré que seul l'extrait organique d'acétate d'éthyle a un taux de polyphénols très important estimé par $319,42 \pm 10,74$ mg Eq acide tannique/g d'extrait,

Chaher, (2006) a prouvé que les extraits des phases aqueuses de *Pistacia lentiscus* L., Présentent un taux élevé en composés phénoliques par rapport aux extraits des phases organiques correspondantes. L'extrait aqueux d'hexane et aqueux du

chloroforme montre un taux de 452,95 et 407,73 mg Eq catéchine/g d'extrait, respectivement.

Ebrahimzadeh et al., (2008) montrent que les extraits des feuilles de *Pistacialentiscus* L. exhibent 57 ± 5.4 mg/ml en polyphénols. Le même auteur signale que les teneurs en flavonoïdes (8.21 ± 0.008 mg Eq Q/ g) ont été trouvées avec l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *P. lentiscus* L.

Berboucha, (2008) qui montre que les extraits aqueux du chloroforme et d'hexane des feuilles de *Pistacia lentiscus* L., sont les plus riches en flavonoïdes, suivis par les extraits éthanolique et aqueux d'acétate d'éthyle de la même plante.

Rached, (2009) indique que la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus* L., à différentes saisons, prélèvement en juin (2007) est de l'ordre 349.843 ± 21.796 mg/g pour les polyphénols et la teneur en flavonoïdes est 54.244 ± 824 mg/g, prélèvement en novembre (2007) teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes égale 348.539 ± 20.878 mg/g en mois Janvier (2008) la teneur en polyphénols totaux égale 365.502 ± 13.748 mg/g et $58.2.99 \pm 2.279$ mg/g pour les flavonoïdes, prélèvement d'Avril (2008) la teneur en polyphénols est de l'ordre 344.62 ± 12.852 mg/g et 58.414 ± 2.353 mg/g pour les flavonoïdes.

Atmani et al., (2009) indique que les feuilles de *P. lentiscus* L. récolté du Bejaia. Sont plus riches en phénols totaux (136.25 ± 18.9 mg E AG / g d'extrait) Alors que ont trouvé une faible teneur en flavonoïdes (12.93 ± 1.69 mg équivalent de quercétine/ g d'extrait).

Cheraft, (2011) affirmées que les flavonoïdes des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. sont concentrés principalement au niveau de la phase aqueuse du chloroforme avec $270,10 \pm 8,00$ mg /g d'extrait. Ceci est peut être dû à la présence d'une fraction osidique qui rend ces flavonoïdes très solubles dans l'eau. Ces auteurs notent que les extraits organiques de chloroforme et acétate d'éthyle des feuilles de *P.lentiscus* L., sont riches en phénols totaux et flavonoïdes.

Abderrazak et Haddi, (2015) le dosage quantitatif des composés phénoliques totaux pour l'extrait brut montre respectivement une quantité de 246,7 mg (GA) Eq / g d'extrait tandis que, le dosage quantitatif des flavonoïdes pour l'extrait brut montre respectivement une quantité de 70,9 mg équivalent de catéchine (Cat) Eq / g d'extrait. Ses résultats plus élevés par rapport à notre résultat.

Arab et al., (2014) ont montré que les feuilles de *P. lentiscus* L., ont un meilleur rendement en composés phénoliques qui est presque l'équivalent du double du rendement en composés phénoliques des fruits, où les valeurs obtenues sont respectivement 116,49% et 61,34%. La concentration des composés phénoliques des feuilles de *P. lentiscus* L. Pour l'extrait phénolique est 12.022 mg/ml, et 31.81mg/ml pour l'extrait phénolique des fruits.

Ziane et al., (2014) a montré une présence importante des polyphénols et des flavonoïdes dans les feuilles de *Pistacia atlantica* même genre de notre plante. L'extrait brut (EBrt) contient $340.58 \pm 31.83 \mu\text{g Eq AG /mg}$ d'extrait suivi avec une teneur en flavonoïdes de $22.10 \pm 0.95 \mu\text{g EQ/mg}$ alors que l'extrait d'acétate d'éthyle contient la teneur la plus élevée en polyphénols ($360.41 \pm 18.83 \text{ Eq AG/mg}$ d'extrait) et le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de ($20.43 \pm 1.06 \mu\text{g EqQ/mg}$), alors que l'extrait butanolique ne contient que ($176.77 \pm 12.30 \mu\text{g Eq AG/mg}$ d'extrait). Cependant, seulement $0.435 \pm 0.35 \mu\text{g EQ/mg}$ en flavonoïdes.

Bampouli et al., (2015) ont montré aussi que le contenu total des composés phénoliques pour les feuilles fraîches de *Pistacia lentiscus* L., variait de $147,99 \pm 0,01$ à $314,88 \pm 0,01 \text{ mg Eq AG/g}$ d'extrait sec, tandis que pour ceux séchées la valeur variait de $125,33 \pm 0,01$ à $269,70 \pm 0,01 \text{ mg Eq AG /g}$ d'extrait sec, ce résultat est relativement très élevé.

D'après **Cheurfa, (2016)** signale que la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait hydro alcoolique de feuilles de *P. lentiscus* L. égale ($97.26 \pm 0.003 \text{ mg Eq AG/g}$) et $8.21 \pm 0.008 \text{ mg Eq Q/g}$.

Ces résultats peuvent être justifiés par la dissolution des composés phénoliques suivant le degré de polarité, puisque notre échantillon est de nature apolaire (lipidique).

On peut conclure que les variations de teneur en polyphénols et flavonoïdes sont régies par la composition chimique des extraits, qui est déterminée par le génotype de la plante et relativement influencée par d'autres facteurs comme l'origine géographique, environnementale et les conditions agronomiques et expérimentales.

III. Analyse chromatographique sur couche mince CCM

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits (EAcOEt, EnBuOH et EBrt) à partir de feuilles *P.lentiscus L.*, on a utilisé la chromatographie sur couche mince la CCM, qui est une méthode simple de séparation évidente à séparer les différents constituants d'un extrait végétal, elle nous a donné des informations utiles sur les éléments constitutifs de nos extraits (couleur, facteur de rétention, fluorescence...).

▪ Révélation (visualisation des tâches)

Après développement et évaporation du solvant de migration, les tâches sont visualisées : A l'œil nu et Sous UV de 254 à 365 nm.

Dans notre travail, la visualisation des tâches (spots) se fait sous UV à 365 nm dans une chambre noire. Les résultats représentés dans la figure (21); Tableau(05).

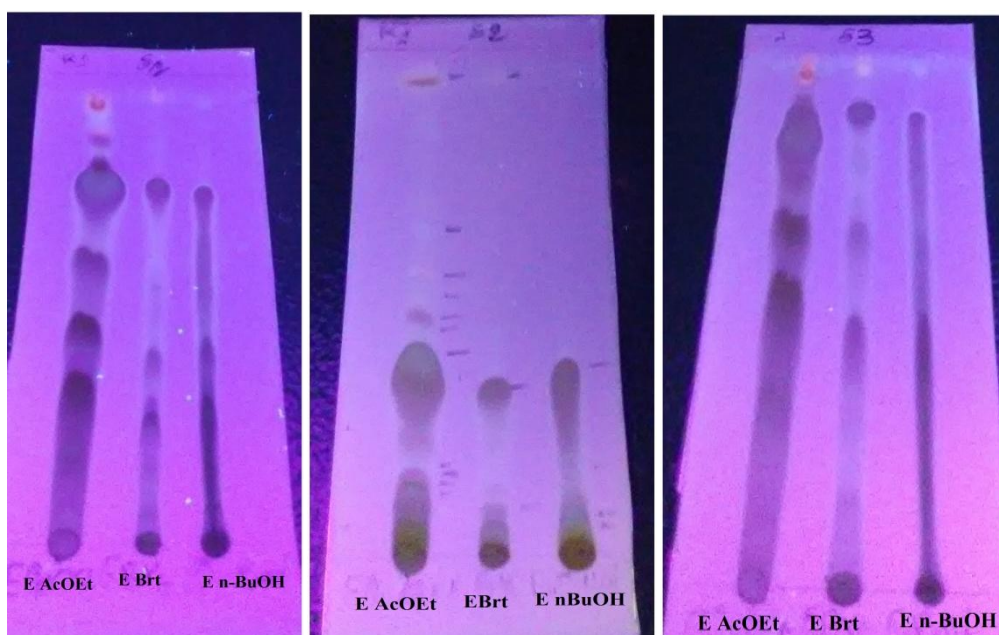


Figure 21 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de *Pistacia lentiscus L.*, sous lampe UV 365 nm de S1, S2 et S3.

Tableau 05: Résultats de chromatographie sur couche mince CCM à 365 nm.

	S1		S2		S3	
EAcOEt	N° de Spot et couleur	Rf (cm)	N° de Spot et couleur	Rf	N° de Spot et couleur	Rf
	1. Marron foncé	0.21	1. Marron	0.09	1. Marron	0.45
	2-Jaune	0.26	2. Jaune fluorescent	0.12	2. Brun	0.5
	3. Marron	0.31	3. Marron	0.13	3. Marron	0.59
	4- Blanc	0.37	4. Blanc	0.14	4. Brun	0.65
	5.Marron (noir)	0.48	5. Vert	0.38	5. Marron	0.72
	6. Blanc	0.53	6. Bleu clair	0.40	6. Vert	0.79
	7. Marron	0.60	7. Violet	0.45	7. Violet	0.85
	8. Vert	0.70	8. Bleu clair	0.50	8. Blue clair	0.88
	9. Blanc	0.80	19. Orange	0.59	9. Orange	0.94
	10. Violet	0.82	10. Blue clair	0.92		
	11. Orange	0.84	11. Orange			
	12. Blue clair	0.87				
	13. Orange	0.92				
E Brt	1. Marron clair	0.13	1. Marron	0.04	1. Marron	0.11
	2. Marron foncé	0.23	2. Jaune	0.07	2. Brun	0.26
	3. Blanc		3. Blanc	0.22	3. Marron	0.40
	4. noir	0.26	4. Marron	0.27	4. Blanc	0.51
	5. Orange	0.68	5. Orange claire	0.92	5. Marron	0.57
		0.87			6. Blanc	0.76
					7. Marron	0.83
					8. Orange	0.95
EnBuOH	1. Marron foncé	0.34	1.Marron	0.04	1. Marron	0.83
	2. Marron clair	0.68	2.Jaune	0.06	2. Bleue clair	0.96
	3. Bleu claire	0.92	3.Blanc	0.13		
			4. Marron	0.32		

A partir de ces résultats de ce tableau, nous avons enregistré une meilleure séparation par le système (1) et le système (2) par rapport au système (3) voir la figure ci – au-dessus.

La CCM a permis l'identification des flavonoïdes dans notre plante, qui apparaissent colorés en jaune et brun ou incolores, en plus de la présence des acides phénoliques qui apparaissent avec une fluorescence bleutée.

Sur cette base et comme le montre la figure (21), les spots orange ont été détecté surtout dans les deux phases de la plante *P.lentiscus L.*, avec des rapports frontaux de (0.92 ; 0.94 ; 0.95) pour la phase l'acétate (0.87 ; 0.92 ; 0.95) pour la phase brut.

Par ailleurs, les taches bleues claire affirment la présence des flavonoïdes dans notre plante étudiée où les valeurs des Rf s'expriment dans les phases phase acétate d'éthyle et butanolique avec respectivement (Rf= 0.87 ; 0.88 ; 0.93) et (Rf = 0.92 ; 0.96).

Les spots jaunes fluorescent identifiés sur les chromatogrammes dans la phase AcOEt (Rf=0.12 ; 0.26) et dans la phase EnBuOH de la plante (Rf=0.07) et dans la phase EBrt (Rf=0.06) sont des flavonoïdes. Ces mêmes composés apparaissent sous forme de spots marron au niveau des trois fractions de la plante (Rf=0.21 ; 0.60) pour la phase l'acétate, (Rf= 0.04 ; 0.32) pour la phase brut, et dans la phase butanolique (Rf= 0.11 ; 0.83).

Les taches violet ont détecté dans la phase d'acétate d'éthyle où les valeurs (Rf =0.45 ; 0.82 ; 0.85) .

Les différents profils chromatographiques (Figure21) montrent que les extraits sont riches en différents groupes de métabolites secondaires.

Benhammou, (2006) utilisé la même technique, ont utilisée 2 systèmes, Ont prouvé que les taches peuvent atteindre 11 spots dans le cas du système 1 (Chloroforme /Méthanol/ Eau/Acide acétique) dans l'extrait d'acétate d'éthyle, tandis que l'extrait butanolique révèle 8 composés .

Pour le système 2, en effet, les deux fractions (n-butanol et acétate d'éthyle) révèlent les mêmes composés (allant de 6 à 10 composés).

Cet auteur constate que le méthanol sépare un maximum de produits dans l'extrait acétate d'éthyle et butanolique.

A titre de comparaison, **Benhammou et al., (2008)**, lors de l'analyse par CCM, ont identifié dans les extraits des feuilles de *Pistacia vera*, *P. lentiscus* et *P. terebinthus*, les flavonols (couleurs jaunes), les acides phénoliques (bleu fluorescent), flavones (de châtaigniers violet), les anthocyanes (couleur rouge) et l'acide gallique et l'acide para-coumarique. Les mêmes auteurs ont reporté aussi que montre que les flavonoïdes apparaissent sur le chromatogramme en jaune, orange et marron dans le visible et sous diverses colorations sous UV à 365nm.

Mansour, (2014) lors de l'analyse par CCM sur plaque de gel de silices développées dans le système solvant Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau(10/1/0,5) (Révélation au réactif de Neu à 365nm), a montré la richesse en flavonoïdes des trois phases de *Pistacia lentiscus* L., avec 7 spots pour la phase éther diéthylique et 5 spots pour les deux autres phases (EAcOEt et EnBuOH) ils apparaissent sur le chromatogramme en jaune, orange et marron dans le visible et sous diverses colorations sous UV à 365 nm.

Selon **Treki, (2002); Madi, (2010)** lors de l'analyse par chromatographie sur gel de polyamide DC6 développé dans le système solvant MEC/MeOH/EtOH/éther de pétrole (40/30/30/10) montrent une richesse considérable de *P.lentiscus* L. en substances flavonoïques de nature Flavones correspondant aux tâches violettes, brunes, et bleues et flavonols qui sont représentés par la couleur jaune et ses dérivés ; jaune pâle, jaune fluorescent et jaune orangé .

Kosar et al., (2005) ; Lima et al., (2007), ainsi que **Hamlat et al., (2008)**. Ces derniers mentionnent que les plantes appartenant à la famille des *Anacardiaceae* sont riches en flavonoïdes de type flavones et flavonols.

Salima et al., (2011) l'utilisation de la CCM nous a permis de déceler la présence probable de l'acide gallique, la quercétine ainsi que les tannins catéchiques au niveau de l'extrait aqueux du chloroforme et acétate d'éthyle.

D'après nos résultats et la bibliographie, on conclue que la valeur du Rf n'est pas une constante physique du corps, car elle est influencée par plusieurs facteurs; tels que la nature du solvant utilisé (organique ou aqueux), le type de support chromatographique (gel de silice, polyamide, cellulose), la nature du produit lui-même (aglycone ou glycosyle), la température ainsi qu'avec la disposition des différents substituant sur le squelette moléculaire.

IV. Activité biologique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

IV.1. Activité antioxydant

IV. 1.1. Activité antioxydant des extraits

L'analyse de DPPH est une méthode antioxydante basée sur un changement de couleur de la solution de violet au jaune sur des approvisionnement de réduction et de cette méthode une manière facile et rapide de déterminer des antioxydants par spectrométrie (Belma et al., 2016).

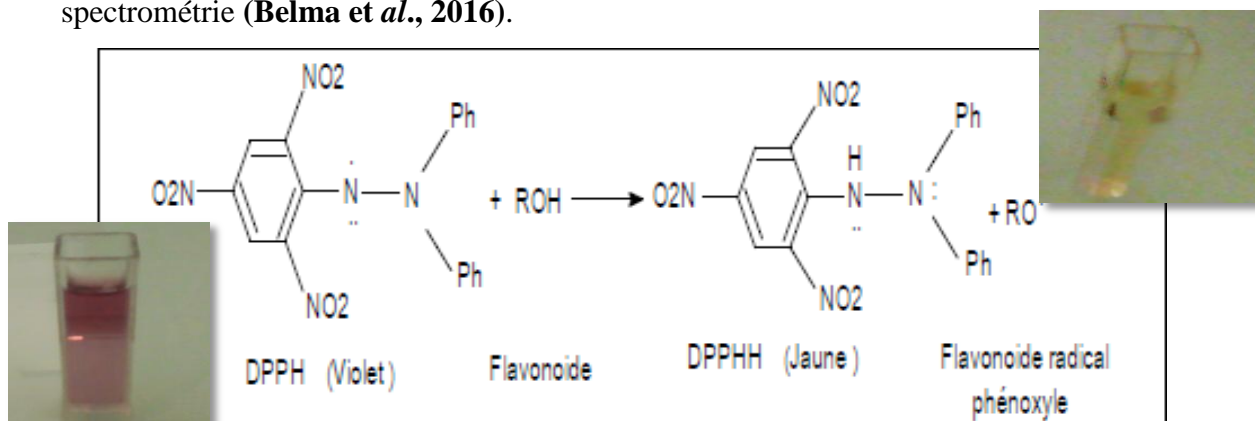


Figure 22 : piégeage de DPPH par les flavonoïdes (ph : noyau phénolique).

Les résultats obtenus lors du test de la mesure du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de différentes fractions sont représentés dans la figure au-dessous.

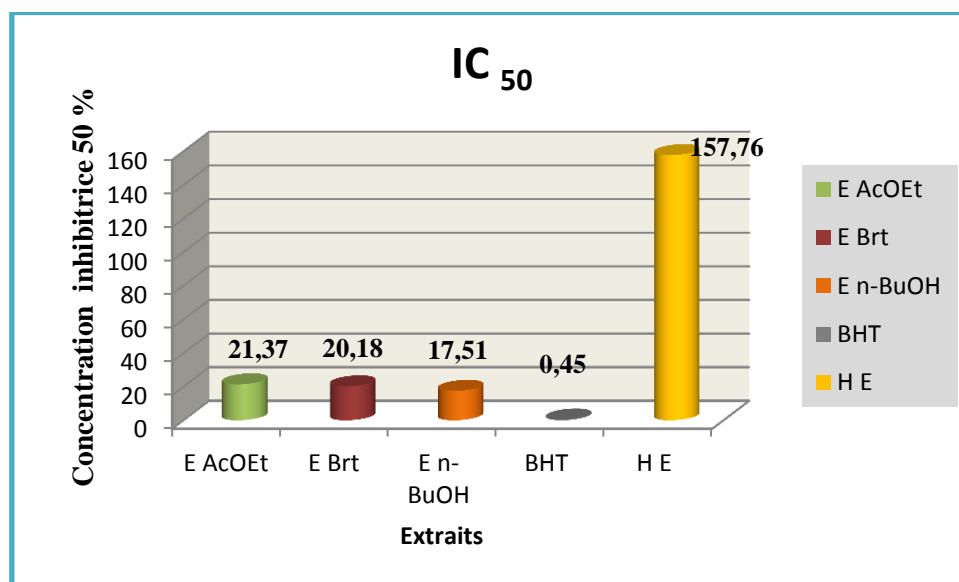


Figure 23: Diagramme désigne le pouvoir inhibitrice I C₅₀ de chaque Extraits et d'huile essentielle de *P.lentiscus* L.

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer l'IC₅₀.

Les résultats révèlent que l'extrait n butanolique des feuilles de *P. lentiscus L.* présente l'activité élevée avec une IC₅₀ de 17.51 µg/ml, malgré leur faible teneur en composés phénoliques cela peut être expliqué par le caractère autant qualitatif que quantitatif des composés présentent, car l'efficacité d'un composé phénolique dépend de ses propriétés physico-chimiques et sa structure hétérogène, suivi par l'extrait brute avec une IC₅₀ de 20.18 µg/ml, et enfin l'extrait d'acétate d'éthyle avec une IC₅₀ de 21.37 µg/ml. Tandis que l'huile essentielle exhibe une activité plus faible où l'IC₅₀ égale 157.76 à µg/ml.

On constate également que l'activité de BHT a un pouvoir antioxydant le plus élevé de l'ordre 0.45 µg/ml comparable à celui de nos extraits et l'huile essentielle.

Plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Comparativement à la littérature, nos résultats sont faible par rapport à l'étude réalisée par **Benhammou, (2006)** le pouvoir réducteur IC₅₀ de l'extrait brut est élevée de l'ordre 0.328 mg/g. Ces activités sont nettement supérieures à nos résultats.

Benhammou et al., (2008) ont reporté aussi que la fraction acétate d'éthyle constitue un bon extracteur du radical DPPH d'où la valeur IC₅₀ égale à (90.87 mg/ g) trouvée dans les feuilles de *P. lentiscus L.*

Cheraft, (2011) indique que le meilleur effet contre le DPPH a été obtenu par l'extrait aqueux du chloroforme avec une IC₅₀ de 3,84µg/ml, alors que l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle exprime une IC₅₀ de 20,64µg/ml qui corrobore nos résultats avec 21.37 µg/ml. Aussi les mêmes auteurs, montrent que les extraits aqueux des feuilles ont exhibé les meilleures activités antioxydant où l'extrait aqueux du chloroforme enregistre un pouvoir réducteur de 657,86 mg Eq A ASC/g d'extrait, et la meilleure activité anti radicalaire contre l'ABTS•+ (IC₅₀ = 1 µg/ml). Les extraits des feuilles enregistrent meilleur pouvoir réducteur du radical NO dont le meilleur effet est de d'IC₅₀ de 2,71 et de 4,40µg/ml exhibé par les extraits organiques de chloroforme et acétate d'éthyle respectivement, comparativement à celles des molécules de référence utilisées.

Les résultats obtenus **Ferradji, (2011)** par ce test montrent que l'extrait éthanolique des feuilles présentent un effet antioxydant remarquable vis à vis du

radicale DPPH. En effet, les extraits éthanolique et aqueux des feuilles présentent des IC_{50} de $(4,23 \pm 0,14$ et $51,66 \pm 3,91 \mu\text{g/ml}$ respectivement) et BHT IC_{50} $54,29 \pm 1,99 \mu\text{g/ml}$.

Atmani et al., (2009) ont montré que la fraction aqueuse des feuilles de *P. lentiscus* L., récolté du Bejaia possède une puissante activité antioxydant à neutraliser le radical DPPH dont la concentration IC_{50} égale à $0,004 \text{ mg/ml}$.

Rached, (2009) indique l'Activité antioxydants de l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus* L. à différent saisons. Prélèvement en juin (2007) est de l'ordre $IC_{50}=4.472\pm 0.071 \mu\text{g /ml}$, prélèvement en novembre (2007) IC_{50} égale $5.4\pm 0.092 \mu\text{g/ml}$, Janvier (2008) IC_{50} de l'ordre $4.035\pm 0.077 \mu\text{g/ml}$. En mois d'avril l' IC_{50} enregistré $5.626\pm 0.142\mu\text{g/ml}$.

Alors que l'étude de **Boukerious, (2008)** montre que les feuilles de *Pistacia lentiscus* L., ont des effets scavengers contre le radical DPPH à $100 \mu\text{g/ml}$, pour des extraits organiques du chloroforme et aqueux d'hexane qui peut atteindre jusqu'à $93,34$ et $92,92 \%$ respectivement.

Par ailleurs, une étude réalisée par **Abderrazak et Haddi, (2015)** montrent également que les feuilles de *P. lentiscus* L., présentent l'activité antioxydant (évaluée par le test xanthine oxydase) indique que les extraits d'acétate d'éthyle et brut avaient une meilleure activité inhibitrice de XO avec $IC_{50} = 2,50\%$ et $2,57\%$ respectivement. Pour la fraction butanolique l'inhibition atteint 17.5% , $15,4\%$ aqueuse et $4,5\%$ chloroformique.

Cheurfa, (2016) montré la capacité antioxydante des extraits hydro alcoolique et aqueux de feuilles de *pistacia lentiscus* L., sont d' IC_{50} de $18.75 \pm 0.01\text{mg/ml}$; $23.32 \pm 0.00 \text{ mg/ml}$.

Dans autre étude récent réalisé par **Ziane et al., (2014)** sur le même genre de notre plant *pistacia atlantica* les résultats ont montré que l'extrait acétate d'éthyle est révélé le plus actif comme piègeur du radical DPPH en comparaison avec l'extrait acétate avec des IC_{50} de $3.33 \pm 0.0001 \mu\text{g/ml}$ et $4.30 \pm 0.087 \mu\text{g/ml}$, (pour l'extrait brute). Par contre, l'activité anti radicalaire la plus faible a été exprimée par l'extrait butanolique avec une $IC_{50}= 19.75 \pm 0.0007 \mu\text{g/ml}$ Ces résultats étaient très hautement significatif ($p < 0.001$, comparant avec le contrôle BHT).

Ces résultats pourront être expliqués par le fait que l'extrait butanolique présentant un pouvoir réducteur important renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort, tandis que l'extrait acétate d'éthyle et brute qui sont montrés un pouvoir réducteur moins fort peut renfermer des substances à potentiel réducteur donneur d'électron aussi moins fort.

Nous pouvons déduire qu'il n'y a pas de relation entre la teneur en phénols totaux et les valeurs de l'efficacité antioxydante et que cette activité n'est pas limitée aux composés phénoliques, elle peut être due à la présence d'autres antioxydants des métabolites secondaires comme les lignines, les alcaloïdes, les terpènes, les caroténoïdes et les vitamines (acide ascorbique).

IV. 1.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle

D'autre part, l'huile essentielle de notre plante présente une activité antioxydante négligeable par rapport à tous les extraits étudiés où IC_{50} égale à $157.67 \mu\text{g/ml}$ ($R^2 = 0.998$).

Selon Hamiani et al., (2016) l'huile essentielle de *P.lentiscus* L. peut réduire le radical stable de DPPH, la relation entre l'antioxydant activité de *P. lentiscus* L. et la concentration de l'huile est positive et significative ($p < 0.001$).

D'après les résultats obtenus par Aouinti et al., (2013) sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de feuilles de *P.lentiscus* L. de la région de Saidia et Taforalt de l'est du Maroc IC_{50} est égale à $23.79 \mu\text{g/ml}$ de Saidia et celle de Taforalt de l'ordre $12.8 \mu\text{g/ml}$.

En effet, Mansouri et al., (2011) ont trouvé que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* de Grèce, présente une valeur d' IC_{50} de $11,0 \mu\text{g/ml}$ et par conséquent elle a une bonne action antioxydante.

Selon Benhammou et al., (2006) ont montré que l'huile essentielle des feuilles *P.lentiscus* L. (Station de Ain Fezza) a obtenu une valeur d' IC_{50} est de l'ordre 15.63 mg/g .

Selon Arab et al., (2014) Pour les huiles essentielles de feuilles l' IC_{50} est de $0,253 \pm 0,131\%$.

Nous avons comparé nos résultats avec d'autres parties de même plante par manque de travaux sur l'étude des propriétés antioxydantes de l'huile des feuilles.

Mahmoud, (2011) prouvé qu'IC₅₀ d'huiles extraites des fruits noirs de Pistachier lentisque 11,68 (mg/ml), tandis que l'IC₅₀ *Pistacia lentiscus L.*, rouge 1,077 mg/ml .

D'après **Mezni et al ., (2014)** l'activité antioxydant la plus élevée a été obtenue avec l'huile extraite de la pulpe trop mûre (37% correspondant À 80 µg de Trolox / g d'huile), suivie de celle extraite du fruit entier non mûr (14% correspondant à 28 µg de Trolox / g d'huile). En revanche, le pouvoir antioxydant le plus bas a été trouvé à partir de l'huile de graines non mûres (0,4% Correspondant à 0,9 µg de Trolox / g d'huile).

On constate également que Cette variabilité est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique ainsi que sur leurs activités biologiques.

IV .2. Activité antibactérienne

IV .2.1. Activité antibactérienne des extraits

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactériennes extraits isolés de *P. lentiscus* L. par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller-Hinton pour les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Les relevés sont groupés dans les tableaux ci-dessous et les zones d'inhibitions obtenues sont illustrées par les figures.

Tableau 06 : Diamètre des zones d'inhibition de différents extraits et l'huile sur la croissance de *S. aureus*.

Souche bactérienne	C Extrait	1/2 g/ml	1/4g/ml	1/8g/ml	1/16g/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition en mm				
<i>Staphylococcus aureus</i>	EAcOEt	8.94	6.94	1.94	0	+
	E Brt	0.27	1.94	0	0	-
	EnBuOH	6.27	5.10	0	0	-
	HE	0	0	0.94	0	-

Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibition de différents extraits et l'huile sur la croissance de *P. aeruginosa*.

Souche bactérienne	C Extrait	1/2 g/ml	1/4g/ml	1/8 g/ml	1/16g/ml	Sensibilité
		Diamètre de zone d'inhibition en mm				
<i>Pseudomenase aeruginosa</i>	EAcOEt	14.76	6.76	5.09	2.43	++
	E Brt	1.43	0	0	0	-
	EnBuOH	2.76	8.09	2.76	4.09	+
	HE	0	0	0	0	-

Légende :(-) Non sensible

(+)Sensible

(++) Très sensible

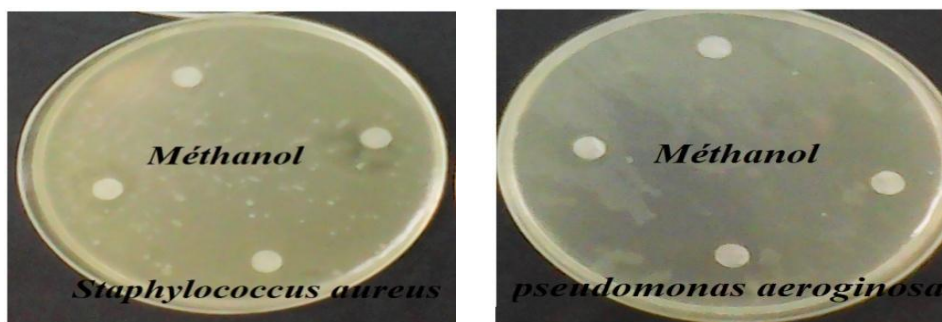


Figure 24: Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par le Méthanol sur les deux souches bactériennes étudiées.

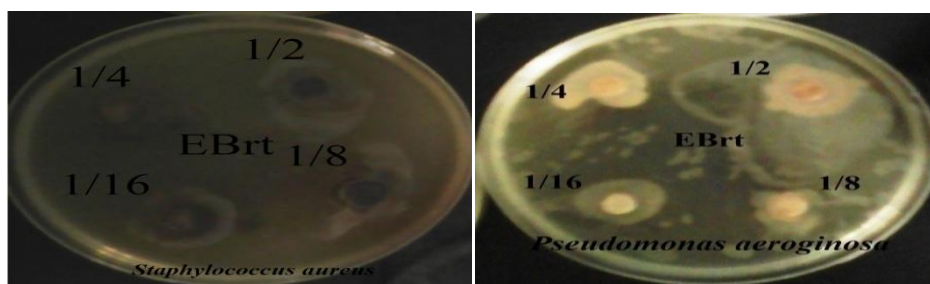


Figure 25 : Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'extrait brute de *P. Lentiscus L.* sur les deux souches bactériennes étudiées.

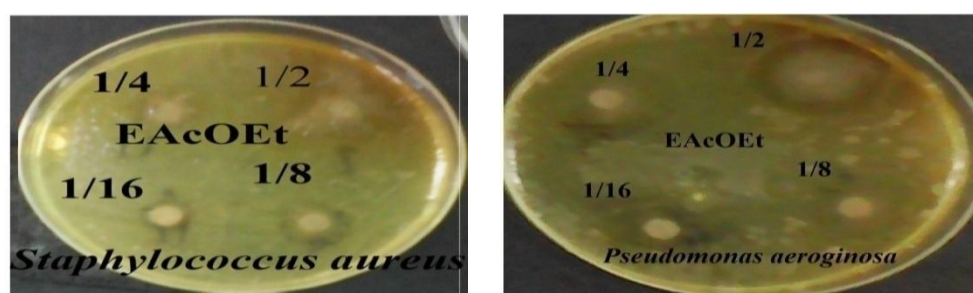


Figure 26: Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'extrait de l'acétate d'éthyle sur les deux souches bactériennes étudiées.

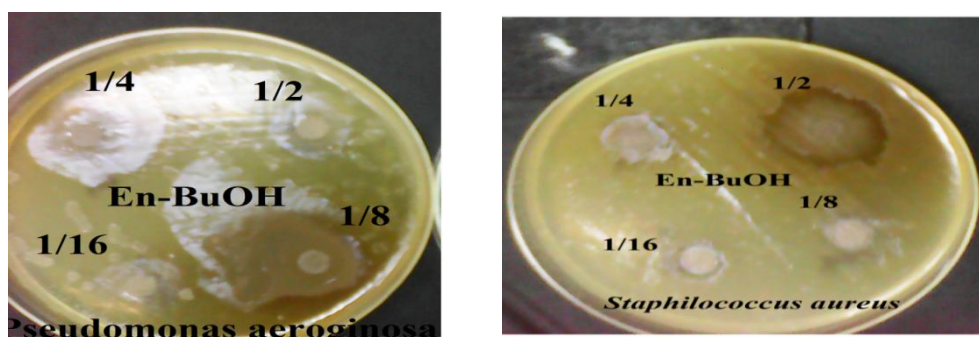


Figure 27 : Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'extrait n-butanolique sur les deux souches bactériennes étudiées.

L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis les souches testées.

Aux différentes concentrations les extraits de notre plante *P. lentiscus L.*, à 10 µl/g ont un effet significatif sur la souche *Pseudomonase aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* testé par rapport la huile et le contrôle Méthanol.

Nous avons par ailleurs, dépisté un pouvoir antibactérienne appréciable des fraction acétate d'éthyle et butanolique sont plus active vis-à-vis des bactéries aussi bien sur le Gram-négatives que le Gram positives. Le *S. aureus* pour (EAcOEt) le diamètre d'inhibition arrive à 8mm et on a noté l'absence d'une activité aux 3^{ème} et 4^{ème} dilution (1/8, 1/16). Alors que *Pseudomonase aeruginosa* (EAcOEt et EnBuOH) le diamètre d'inhibition parvient à 14 mm et 8 mm successivement.

Alors que l'extrait brute n'était efficace vis-à-vis de *P. aeruginosa* ni sur *S. aureus*.

Ces activités sont nettement inférieurs par rapport à celles trouvées par **Benhammou et al., (2006)** qui sont indiqué que les souches *Pseudomonase aeruginosa et Staphylococcus aureus* sont sensibles au extrait brut à 5µl (diamètre d'inhibition 10.5mm, 11.5mm) respectivement et sont très significatives à 10 µl avec une zone d'inhibition 14.5mm et 21.5mm respectivement par rapport au contrôle (Méthanol) 9 mm ;

En revanche, **Cheurfa, (2016)** illustré que l'extraits hydro alcoolique de *P. lentiscus L.*, exercé un effet inhibiteur faible sur *S.aureus et P. aeruginosa* (11.50 ± 0.9 ; 10.00 ± 0.5mm), alors que l'extrait aqueux les diamètres des zones d'inhibition varient entre (09.00 ± 0.0 mm) et (08.00 ± 0.0mm).

Bammou et al, (2015) ont étudié le pouvoir antibactérien des extraits de *Pistacialentiscus L.* et selon leurs résultats, ils ont enregistré que les extraits des feuilles n'ont aucune effet sur *E. coli*, par contre *S.aureus* et laissent voir une certaine sensibilité, E. Acétate d'éthyle (zone d'inhibition 8.00±0.00mm), fraction Aqueuse (8.66±0.57 mm) et fraction Ether de pétrole n'ont aucune effet. L'effet le plus important étant obtenus avec extrait méthanologique sur *S. aureus* (28.00±1.00mm) .

Selon **Tahiri, (2008)** l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus L.*, est actif sur *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 35mm.

Debbabi et al., (2017) révèle que les différents extraits aqueux des feuilles ont une activité inhibitrice sur la croissance in vitro de souches bactériennes testées *S. aureus* a diamètre égale 9.7 ± 0.6 mm et 8.3 ± 0.5 mm pour *P. aeruginosa*.

Selon **Bouharb et al., (2014)**, L'extrait éthanolique de *P. lentiscus* L. de massif du Zerhoun de Maroc, présente une activité assez bien définie sur la croissance des bactéries testées (*Pseudomonase aeruginosa*) Les diamètres d'inhibition varient entre 12.66 ± 0.477 mm et 12.83 ± 0.54 mm.

Nos résultats n'est pas accordé que les résultats **Zaika et al., (1988)** ont affirmé que les bactéries à Gram+ sont plus résistantes aux extraits végétaux que les bactéries à Gram-.

La différence d'activité antibactérienne entre ces différents extraits issus de *P.lentiscus* L., pourrait s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chaque fraction. En effet, il existe des différences de solubilisation des composés phénoliques dans les solvants polaires ou apolaires. Selon **Benhammou et al., (2009)** au cours de l'extraction liquide-liquide, les phytomolécules sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité. On pourrait en déduire que les substances antibactériennes contenues dans les feuilles de *P.lentiscus* L., sont plus solubles dans l'acétate d'éthyle que dans les autres solvants utilisés. L'acétate d'éthyle concentrerait alors mieux le principe actif.

IV.2.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle

D'après les résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne par l'HE de pistachier lentisque on déduit que l'huile essentielle n'était efficace vis-à-vis de *Pseudomonase aeruginosa* ni sur *Staphylococcus aureus* à différentes concentration, Nous pouvons déduire que les souches à Gram (-) et Gram (+) sont moins sensibles voire résistantes à cette huile essentielle.

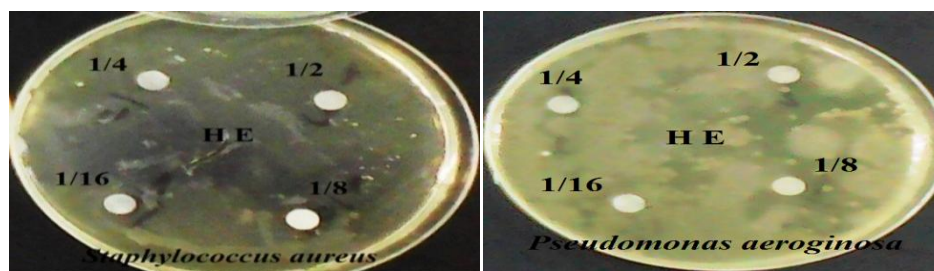


Figure 28: Zone d'inhibition de croissance bactérienne produite par l'huile essentielle sur les deux souches bactériennes étudiées.

A titre de comparaison nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par **Benhammou., (2006)** qui ont montré que l'huile essentiel de la partie aérienne de *P. lentiscus L.*, n'a aucune activité contre les bactéries Gram (+) et Gram (-).

Magiatis et al., (1999) montrent que l'huile essentielle des feuilles de *P. Lentiscus L.*, a une activité bactériostatique, dont les zones d'inhibition varient de moins de 7 mm dans le cas de *Pseudomonase aeruginosa* à 10 mm pour *Staphylococcus aureus*.

Ceci est en désaccord avec ce qui a été obtenu par **Bammou et al., (2015)** .Au cours de leurs travaux sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentiel des feuilles de *P. lentiscus L.*, le *S .aureus* à diamètre d'inhibition de 10 mm.

Il corrobore aussi avec les résultats de **Benhammou, (2008)**. Qui ont démontré la faible activité antibactérienne de l 'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* Contre les deux souches de station Oum el Alou et Ain Fezza (Algérie).

Benhammou et al., (2009) activités de l'huile essentielle des stations Ain Fezza et Oum El Alou révèle une sensibilité plus ou moins modérée de *Pseudomonase aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* à 2µl et 5µl (zone d'inhibition=7 à 10mm).

Nos résultats n'est pas accordé que les résultats obtenue par **Derwich et al., (2010)** l'huile essentiel de feuille de *P. lentiscus L.*, de Fez (Maroc) on a d'activité bactérienne important contre bactérie gram (-) *Pseudomonase aeruginosa* par un diamètre de zone

d'inhibition de 10 mm, et aussi contre le gram (+) *Staphylococcus aureus* par un diamètre de zone d'inhibition de 14 mm.

Elhoussine et al., (2010) montrent que l'huile essentielle du *P. lentiscus L.*, de Maroc ont une activité inhibitrice aux souches *Pseudomonase aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (zone d'inhibition=10 et 14mm) respectivement.

Les résultats obtenue par **Barbouchi et al., (2016)**, montrent que l'activité antibactérienne de l'huile essentiel de *P.lentiscus L.*, présent un faible diamètre de zone d'inhibition vis-à-vis les deux souches testées, ce qui similaire avec nos résultats.

Nous avons estimé nécessaire de comparer nos résultats avec ceux de **Lilia et al., (2015)** en travaillant sur l'activité antimicrobienne de l'HE des feuilles de *P. lentiscus L.*, de la région de Dellys séchées a l'ombre et celle de séchées par l'énergie solaire. Ces auteurs affirment une sensibilité de *staphylocoque* (diamètre de la zone d'inhibition de $70,5 \pm 0,5$ mm) cependant, il est à signaler que l'HE de feuille séchées a l'énergie solaire révélée d'avoir Inhibition totale.

Selon **Mostafa, (2016)** l'huile de feuilles de *P. lentiscus L.*, présentait l'activité la moins antibactérienne Contre *Pseudomonase aeruginosa*, avec une activité élevée contre *Staphylococcus aureus*.

Debbabi et al., (2017) signale que l'huile essentiel des feuilles de *P. lentiscus L.*, est dotée d'une activité antibactériennes intermédiaire vis –à-vis de *S. aureus*, *P. aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition 12.7 et 10.7 mm respectivement.

Plusieurs études ont signalé que l'huile essentielle des parties aériennes (feuilles et fruits) de *Pistacia lentiscus L.*, possède des propriétés antifongiques et antibactériennes appréciables.

Les résultats obtenus nous a permis de conclure que la variation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles est régie par la composition chimique de l'huile, qui est déterminée par le génotype de la plante et relativement influencée par d'autres facteurs comme l'origine géographique, environnementale et les conditions agronomiques.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydants et antimicrobienne a concerné une plante appartient à la famille des Anacardiacees, employée en Algérie gras à ses propriétés thérapeutiques.

L'objectif primordial assigné à ce travail est contribution à l'étude de l'activité biologique et métabolisme secondaire de plante *P. lentiscus* L.

Le présent travail portant sur deux axes dont le premier concerne les tests phytochimique quantitatifs et l'identification qualitatifs des poly phénols totaux et des flavonoïdes des extraits et huile essentielle de notre plante.

la deuxième porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de disque et l'activité antioxydants des différents extraits et de huile essentielle en utilisant la technique suivante : la réduction du piégeage du radical libre DPPH.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités considérables en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité moyennement importante de flavonoïdes. Qualitativement, il ressort que de ces analyses par CCM notre plante est riche en flavonoïdes de types flavones et flavonols.

Le potentiel antioxydant des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, les résultats révèlent que l'extrait En-BuOH des feuilles de *P. lentiscus* L. présente l'activité la plus élevée avec une IC_{50} de 17.51 $\mu g/ml$ suivi de l'extrait EBrt avec une IC_{50} de 20.18 $\mu g/ml$, et enfin EAcOEt avec une IC_{50} de 21.37 $\mu g/ml$, alors que On remarque que l'huile a présenté significativement activité antioxydants faible par rapport à tous les extraits étudiés où IC_{50} égalent à 157.67 $\mu g/ml$, mais ces valeur est inférieur au BHT qui s'est élevé à 0,45 $\mu g/ml$.

D'autre part, pour l'étude microbiologique, la méthode de l'aromatogramme donne de bons résultats et montre que les bactéries testés sont toutes sensibles aux extraits de *Pistacia lentiscus* L. d'ailleurs le huile et extrait brute qui ne présente aucun activité sur les souches testé.

Perspectives

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer les activités biologiques, pour plus d'efficacité, il serait souhaitable de compléter cette étude en s'intéressant à identifier les substances responsables de l'effet biologique et les tester sur d'autres micro-organismes pathogènes de bactéries.

En effet, nos perspectives se résument comme suit :

- ✚ D'approfondir l'investigation photochimiques et biologiques sur cette plante afin d'isoler les molécules responsable des activités observées, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.

- ✚ Elargir le panel des activités antioxydants *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : anti tumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire et contre la maladie d'Alzheimer.

- ✚ Des études *in vivo* seront souhaitables pour déterminer les tissus et organes cibles, et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.

- ✚ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

- ✚ Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antioxydants et antibactérienne des composés poly phénoliques en général et des flavonoïdes en particulier.

Références

Bibliographique

Références bibliographiques

A

Abdelly, C. (2008). Phenolic Composition of *Cynara Cardunculus* L. Organs, And Their Biological Activities, *C. R. Biologies*. Vol. (331) :372-379.

Abedini, A. (2013). Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Université Lille 2 droit et santé, P : 55-84.

Annie., Jean, P. (2014). Guide des arbres et arbustes de France .éditions sud oueste. ; Loire offset titoulet à Sainte –Etienne (42), P : 78-80.

Atanasova, M., Ribarova, F. (2009) . Phenols et flavonoïdes totaux dans les extraits secs des feuilles des bouleaux argentés bulgares (*Betula pendula*), *Revue de génie industriel*, 4, 21-25.

Aouinti, F.,Zidane, H., Tahri, M., Wathelet, J. P.,Elbachiri, A. (2014).Chemical composition, mineral contents and antioxidant activity of fruits of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (1) (2014) 199-206. ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESCN.

Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014).Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *J. Fundment. Appl. Sci.* 6, (1):79-93.

Hamiani, A., Kambouche, N., Bellahouel, S. (2016). Chemical Composition and Antioxidant Potential of *Pistacia lentiscus* L. Essential Oil from Oran (Algeria):p541-542. <http://www.scirp.org/journal/abb>.

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah, L. A., Laroui, S, S, S., Khebri, S.(2010).Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, No. 1 : 70 -72.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., D., Atmani. (2009).Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Fond Chemisiry*, 112: 303-309.

B

Balmey, M., Grey, W.C. (2000). Tous les fleurs de méditerranée, haux nistle SA, P : 126-127.

Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E., Ibijbjen, J., Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Journal of applied biosciences. 86: 7966 – 7975.

Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Aligiannis, N., Magoulas, K., Magdalini, K. (2015). Evaluation of total antioxidant potential of *Pistacia lentiscus* var. chialeaves extracts using UHPLC–HRMS. J of Food engineering.

Barbouchi, M., El Idrissi, M., Choukrad, M., Louzi, L.(2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* L. Growing wild in Morocco. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Volume 5, Issue 4: 516-524. /ISSN 2278-4357 .SJIF Impact Factor 6.041.

Belfadel, F. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*, caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire de Magister en chimie organique. Université Mentouri Constantine, p : 8-11.

Belkassam, A. (2009). L'effet des facteurs climatiques de métabolisme secondaire dans une plante médicinale *Ruta montana* L. Thèse de Magistère. Université Oum El Bouaghi.

Belma, H., Hasniye, Y., Hulya, C.O., Ayşe, S.Y. (2016). Investigation of essential oil composition, Polyphenol content, and Antioxidant activity of *Myrtus communis* L. from Turkey. JOTCSA.3 (3): 427-438.

Benhammou, N. (2006). Etude des activités antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles et des composés phénolique de *pistacia lentiscus*, *pistaciaatlatica* et *etinula viscosa* de la région de Tlemcen. Thèse de magister .université Aboubekr Belkaid, P : 85-95

Benhammou, N., Bekkara, F.A., Kadifkova, P.T. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. Vol. 2(2). P: 022-028.

Benhammou, N., F, Atik, B. (2009).Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). Actes du congrès international, Mezraoua (Taounate) & Fès, Maroc, 281-285.

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 en biologie. Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen(Algérie) ,p : 113 .

Benzeggouta, N. (2005). Etude de l'Activité Antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Thèse Présentée en vue de l'Obtention du diplôme de Magister en Pharmaco chimie ; Université Mentouri de Constantine Institut de Chimie, p : 118.

Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., and Benboubetra, M. (2010). Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. J of Medicinal Food, 13 (4): 1–9.

Bekkara, F., Jay, M., Viricel, M.R., Rome S. (1998). Distribution of phenolic compounds with in seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. *Plant and Soil*, 203: 27-36.

Boudjouref, M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister en biochimie appliqué. Université Ferhat AbbasSétif, P: 27.

Bougherara, M.I. (2015). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse de doctorat en biochimie appliqué. Université Badji Moutar Annaba, P : 8

Boukerious, D. (2006).Caractéristique de l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia* .thèse de magister biologie moléculaire.Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3eme édition, Tec et Doc. Paris, p : 311-666.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales ,4 édition, TEC et DOC. Paris, P : 571-944.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales ,2 édition, TEC et DOC. Paris.

C

Chaib, A. (2015). Guide de phytothérapie plantes et huiles médicinales, thala Editions, El –Biar, Alger, p : 341.

Chamber, H.F. (1997). Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin. Microbiol. Rev. 10:781-791 .

Cherif, A.M. (2016). Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse de doctorat science en science vétérinaire .Université des frères Mentouri, Constantine 1 :p44- 45.

Chiasson, H., Beloin, N. (2007). Les huiles essentielles, des biopesticides « nouveau genre ». Bulletin de la Société d'entomologie du Québec. Antennae, vol. 14, n° 1, p : 3.

Chaher, N. (2006). Activités antioxydant et anti-radicalaire des extraits de deux plantes médicinales « *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia* ». Thèse de Magister En Biochimie et Biophysique moléculaire.

D

Derwich, E., Abdellatif, M ., Benziane,Z ., Abdellatif, B.(2010) .GC/MS Analysis and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil isolated from leaf of *pistacia lentiscus*growing in morocoo. lunity of gc/ ms and gc, regional center of interface, university sidi mohamed ben abdellah, fez, morocco world applied sciences journal 8 (10): 1267-1276.

Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010) Antibacterial Activity and Chemical Composition of the leaf Essential Oil of *Mentha rotundifolia* from Morocco Electronic J. Environmental, Agricultural and Food Chemistry (EJE AFC), 9(1): 19-28.

Donzo, M., Sarr A, Diop M., Samb A, Bassene Et Barrym.S. (2015). Dosage des flavonoïdes totaux et détermination du pouvoir antioxydant dans l'extrait brut des écorces de tronc de *Uapaca togoensis* (Aub et Léan.) Pax., Revue el Wahat pour les recherches et les Etudes ; Vol.8 n°1 (2015) : 11 <http://elwahat.univ-ghardaia.dz>.

Debbabi, H ; K. Nemri ; H. Riahi. (2017).Antimicrobial Effects of *Pistacia lentiscus* L. Foliar Extracts on fresh turkey breast cutlets Effets antimicrobiens des extraits foliaires de *Pistacia lentiscus* L. Volume 40(1).

E

Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., Bekhradnia, A.R. (2008). Iron chelating activity, phenol and Flavonoids content of some medicinal plants from Iran. African Journal of Biotechnology, 7 (18): 3188-3192.

Elicoh, M., Chithan, J. R., Theoharis, K. C. (2000). Effect of plant Flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. Pharmacology and experimental therapeutics, 4(52): 673-751.

Elmeskini, M. Kamal. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat Université Mohammed V – Rabat, P : 4.

F

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb K., Karray, B. N., Trabelsi. N., Boulaaba M., Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry, 13: 572-584.

Farid, B.A.(1991). Les plantes médicinales en Algérie. Coédition bouchrène et Ad.Diwan, Alger, P : 101 -181

Farid, B.A. (1999). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb. Librairie moderne-Rouïba, P : 194–231.

Favier, A. (2003).Mécanismes biochimiques l'actualité chimique - Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, P : 111-108-109.

Ferradji, A. (2011). Activités antioxydante et anti- inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire Magister en biochimie appliqué, université Ferhat Abbas, Sétif, p : 21-22-28.

Fournier, P. (1999). Plantes médicinales .Tome III Menthe à zanthé, Luxembourg, P : 236.

G

Gausсен, H., Leroy, J-F., Ozenda, P. (1982). Précis de Botanique 2. Végétaux Supérieurs. Masson Paris, New York, Barcelon, Milan, P: 371-372.

Guignard, J.L.(2000) .Biochimie Végétale, Dunod, Paris, 2^{ème} édition, Pp: 171-172-173-174-203-204.

H

Haloui, T., Farah, A., Balouiri, M., Chraïbi, M., Fadil, M., Fikri, B.K., Belrhiti A.A. (2015). Bactériostase and Bactericidal profile of leaves and twigs essential oils of Moroccan *Pistacia lentiscus* L. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 5 (06), p: 050-053.

Hamlat, N., Hassani, A., Ouafi, S. (2008). Analyse des polyphénols extraits des feuilles du *Pistacia lentiscus* L. Etude de l'activité antibactérienne; Revue des régions arides ISSN 0330-7956 2008 (1), N°21, Pp. 306-316.).

Harrar, A.E. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thème de magister. Université Ferhat Abbas –Sétif, p : 17.

Hellal, Z. (2012). Contribution à l'étude de propriété antimicrobiennes et anti oxydantes de certaines huiles essentielles extraits des citrus .application sur la sardine (*sardina pilchardus*).Thèse de magister en biologie .université mouloud Mammeri de Tizi –Ouzou , P : 40.

Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris, Pp: 138-139-140 -267- 278-514.

I

Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., Laage Meux A., Moulard, F., Zha, E., Roque R., Roque O., Vican, P., Deelesalle, F.T., Biaujeaud, M., Ringuet, J., Bloth, J., Botrel, A. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales identification, préparations, soins. 21 rue de Montparnasse 75283 Paris, 2^{ème} Edition, p:250.

Iwashina, T. (2000). The structure and distribution of the Flavonoids in plants. Journal of plant research, 113: 287–299.

J

Jean, F., Morot, G.(2009). Biologie végétale nutrition et métabolisme, Dunod .Paris. P : 81-82.

L

Lakhdar, L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaine sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude *In vitro*. Thèse de doctorat Thèse N° : 28/14 CSVS. Faculté de médecine dentaire de rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la sante, P : 40.

Leprieur, M. (1860). Journal de médecine, chirurgie et de pharmacie, 3ème volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de bruxelles, Pp: 614-615.

Lhoussain, L., 2016. Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of Essential Oils Isolated From Leaves And Twigs Of *Pistacia Lentiscus* L. Growing Wild In Morocco. World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences Vol 5, Issue 4, 516-524.

Lilia, C., Meriem, B., Fethia, F., Amina, B., Karima, A.K.(2015). Optimisation de l'effet de séchage par énergie renouvelable solaire sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L .Thèse de doctorat. Université de Boumerdes. P: 3-4 .

M

Maataoui, B. S., Hmyene, A., Hilali, S. (2006). Activité anti-radicalaire d'extraits de jus de fruits du figuier De barbarie (*opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal; Vol. 7, No. 1, p:3-7.

Marouf, A., Reynaud, J.(2007). La botanique de A à Z .DUNOD, paris, p : 9-20-176-177.

Mansouri, N., Satrani, B ., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Guedira, A., Aafi, A. (2011). Composition Chimique, Activité antimicrobienne et Antioxydante de l'huile

essentielle de *Juniperus Communis* du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège ; Vol. 80, 2011, P : 791 – 805-801.

Marone, P., Bono., Leone., Bona., Carretto and Perversi. (2001).Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. Journal of Chemotherapy, 13, 611-614.

Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay, A.C. (2005).Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, P: 192.

Mahmoud, C. (2011).Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus*. thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah Ouargla, p : 84-85.

Mostafa, E., Mohammed, B., Mubarak, C, Mezni, F., Labidi, A., Msallem, M., Boussaid, M., Khouja, M.L., Khaldi, A. (2014).Influence of harvest date on fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oils, J. Mater. Environ. Sci. 5 (6) (2014) 1703-1708.

N

Nassima, C. (2011). Activité biologique in vitro des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux $ABTS^{\bullet+}$, $O_2^{\bullet-}$ et NO^{\bullet} et caractérisation des fractions actives. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira de Béjaia, p : 125.

O

Öztürk, M., Emin, D., Kivrak, M., Mercam, D.S.,Türkoglu, N.A., Ali, Ö .M. (2011).In vitro antioxydant,ant cholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents:A comparative study on the three most mushrooms,Food and chemical toxicology, 49:1353-1360.

P

Pierron, C. (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemple d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs, Thèse de doctorat en pharmacie, université de lorraine,p : 20-45.

Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63: 1035-1042.

Ponce, A. G., Fritz R., Del, V.C. et Roura, S.I. (2003).Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. Society of Food Science and Technology (Elsevier); 36: 679-684.

Popovici, C., Ilonka, S., Bartek, T. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel : 4, 25-39, p : 26.ISSN 1313-8871.

R

Rached, W. (2009).évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinale et analyse phytochimique. Thèse de magister .Université d'Oran ES-sénia,p: 81.

Rice, E.C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic Flavonoids. *Free Radical Research*, 22, 375-383.

Rodolphe, E.S., Vincent, V.S ., Murielle, F., Daniel, J. (2001).Botanique systématique des plantes à fleurs, une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Première^{édition}, P:290-413

Rihab, H., Abderrazak, M. (2015). Xanthine oxydase inhibitory effect of *pistacia lentiscus* l. Leavesuniversity of Oran-Algeria; vol 7, issue 2, 2015,p: 34-39.

Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N., Tattini, M. (2002).Identification and quantification of galloyl derivatives, Flavonoids glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. Phytochemical analysis; 13: 79-86.

Rota, C., Carraminana, JJ ., Burillo J., Herrera A, In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected food borne pathogens. Journal of Food Protection, 67: 1252-1256, 2004.

S

Saidi, Y., Hasnaoui, F., HasnaouiB. (2009). Production potentiality in fruits, biomass, oil, essential oil and medicinal properties of the mastic tree (*Pistacia lentiscus*) in Kroumirie, N-W Tunisia. EFI Proceeding No. 57.

Salima, S., Djebbar, A., Nassima, C., Dina, A., Nadjet, D., Hania, B., Hakima, L., Meriem, B., Karima, A. (2011). Etude de L'effet Antiradicalaire de différentes extraits

et des fractions chromatographique de feuilles et de graines de *Pistacia lentiscus*.
Université Abderrahmane Mira De Bejaia, P :61.

Singleton, P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies
.6^{édition} . DUNOD, Paris, P: 454-522.

T

Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A. (2015). Evaluation of
antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous
extracts of *Nigella sativa* L.) Mater. Environ. Sci. 6 (4) 1111-1117.

Treki, A. (2002). Effets biologiques de polyphénols extraits de plantes médicinales
Ranunculus repens et *Thymus hirtus* sur l'activité de microorganismes responsables de
certaines pathologies. Thèse de magistère de l'université de Constantine.

V

Van, A.P. (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents
peroxyde d'hydrogène/chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques,
Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.

Vivek, k. G., Surendra, K.S. (2006). Plants as Naturalantioxydant, Natural product
radiance. Vol 5(4), p: 326-334.

W

Wichtl, M. et Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques : Tradition pratique officinal
science et thérapeutique .2^{ème} Ed. Tec & Doc .Paris, p: 35-38.

William-Brand, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to
evaluate antioxydant activity .LWT-Food Sci .Technol: 28, 25, 30.

Z

Zaika, L. (1988). Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and Its Determination.
Journal of Food Safety, 9(2): 97-118.

Zhou, K., Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity
estimation. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie: 37:717-721.

Ziane., Dahamna, S., Khennouf, S., Djidel, S., Smain, A, Amira, F.(2014). Thèse de magister en biologie et physiologie végétale. Université Sétif 1-Algérie, P: 42-45.

ANNEXE

ANNEXE 01

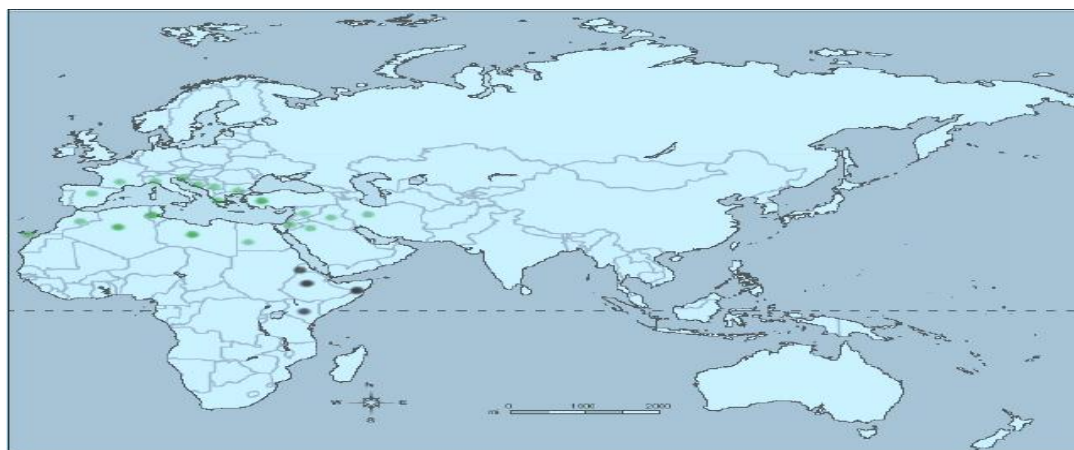


Figure 01 : carte de Répartition géographique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

www.clarku.edu/departments/biology/biol110/Rachel/Shmook_webpage.htm

ANNEXE 02

Tableau 01: Aspect, couleur et rendement de différents extraits étudiés de *Pistacia lentiscus* L.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
E Brt	Poudre	Marron	37.6
E AcOEt	Pâteux	Vert foncé	4
EnBuOH	Pate collante	Brune	14.3
H E	Liquide	Jaune	0.18

Tableau 02 : La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait.

Extrait	Phénol totaux ($\mu\text{EAG}/\text{mg}$ extrait)
E Brt	19.18 \pm 0.002
E AcOEt	20 \pm 0.005
EnBuOH	16.48 \pm 0.002
H E	95.67 \pm 0.116

Tableau03 : La teneur en flavonoïdes de chaque extrait.

Extrait	Flavonoïde totaux (μ EQ/mg extrait)
E Brt	1.71 \pm 0.002
E AcOEt	2.26 \pm 0.001
EnBuOH	2.83 \pm 0.004
H E	1.09 \pm 0.006

Ingrédient de Milieu Mueller Hinton agar

Infusion de Viande.....300g
Hydrolysate de caséine.....17.5g
Amidon1.5g
Agar.....17g
Eau distillée.....qq1000ml
PH.....7.4



Eau physiologique

Eau distillée1000ml
Na Cl9g

ANNEXE 03

- Détermination de l'activité antioxydant des extraits et l'huile essentielle

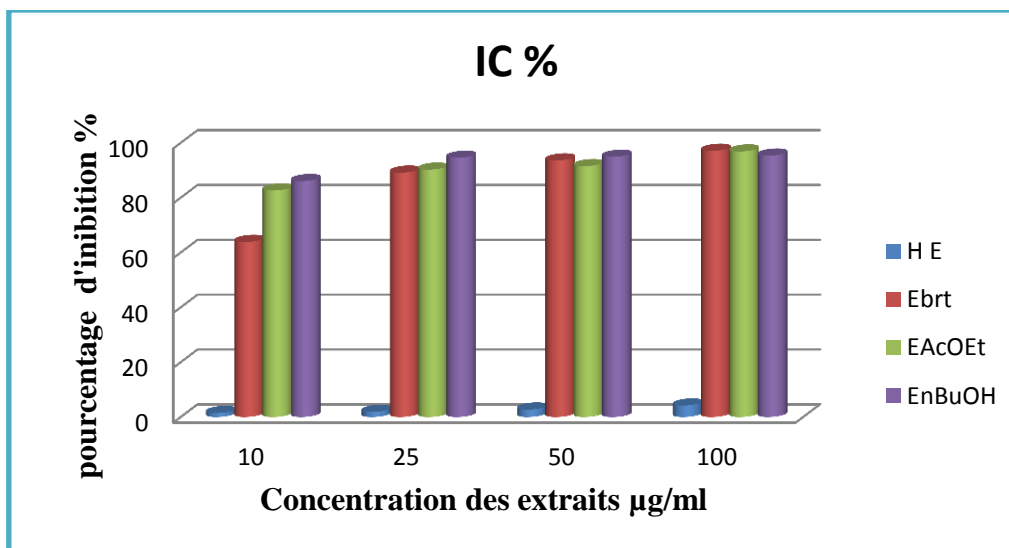


Figure 01: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits et huile essentielle de feuilles de *P.lentiscus L.*

Tableau01 : Les concentrations de l'inhibition de différents extraits de *Pistacia lentiscus L.* (Moyennes et Ecartypes).

C (µg/ml)	I C %			
	10 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml
E AcOEt	82.63 ±0.002	90.23 ±0.001	90.56 ±0.007	96.74 ±0.010
E Brt	63.87 ±0.100	89.14 ±0.004	93.59±0.004	97.09 ±0.002
E n-BuOH	82.42 ±0.003	94.57 ±0.011	95.10 ±0.011	95.17 ±0.015
H E	1.37 ±0.001	1.88 ±0.013	2.73 ±0.033	4.21± 0.05
BHT	55.66 ±0.04	79.83±0.021	91.98 ±0.013	98.09 ±0.015

- Les équations d'Activité antioxydant

Les résultats obtenus d'AAO, sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivants :

Pour E AcOEt $Y = 0.704 X + 34.95$ avec $R^2 = 0.798$

Pour E Brt $Y = 0.706 X + 35.75$ avec $R^2 = 0.771$

Pour E n-BuOH $Y = 0.672 X + 38.23$ avec $R^2 = 0.723$

Pour H E $Y = 0.31 X + 1.092$ avec $R^2 = 0.998$

Pour BHT $Y = 0.570 X + 49.74$ avec $R^2 = 0.616$.

Tableau 02 : Les concentrations de différents extraits de *Pistacia lentiscus* L. qui inhibent 50 % du radical DDPH.

I C ₅₀ µg/ml	Extrait				
	E AcOEt	E Brt	EnBuOH	H E	BHT
	21.37	20.18	17.51	157.76	0.45

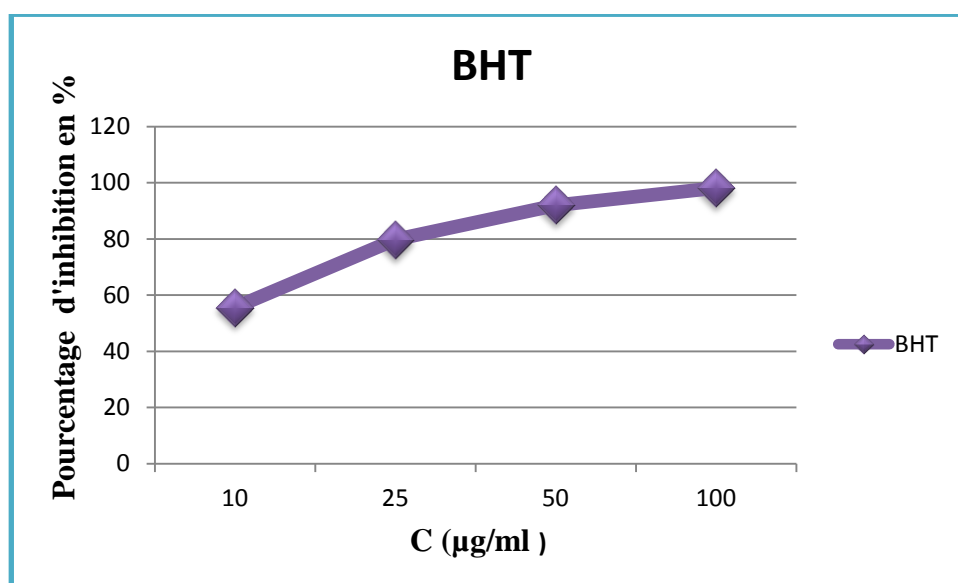


Figure 02 : Pourcentages d'inhibition du DPPH (%) en fonction des concentrations de contrôle positif (BHT).

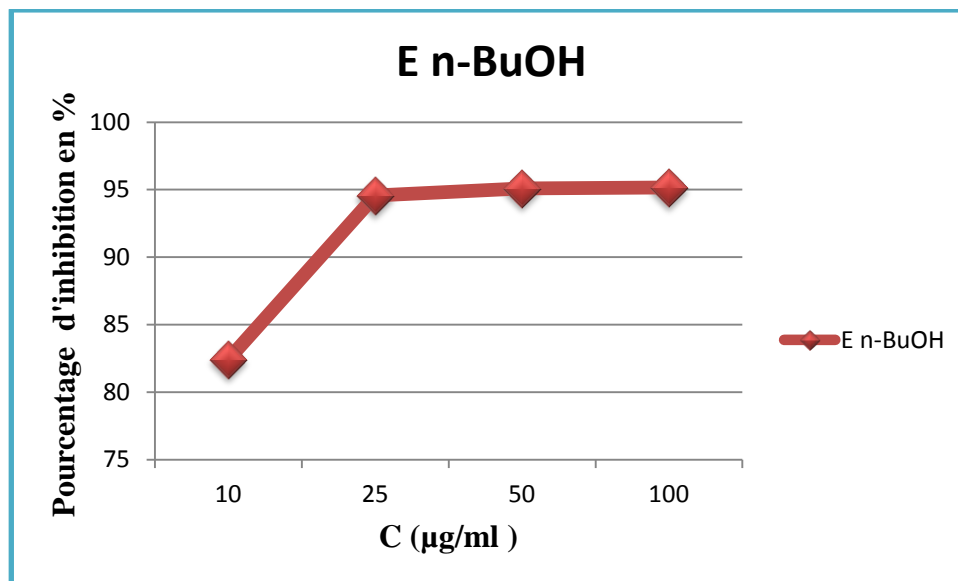


Figure 03: Pourcentages d'inhibition du DPPH (%) en fonction des concentrations de l'extrait n-butanolique.

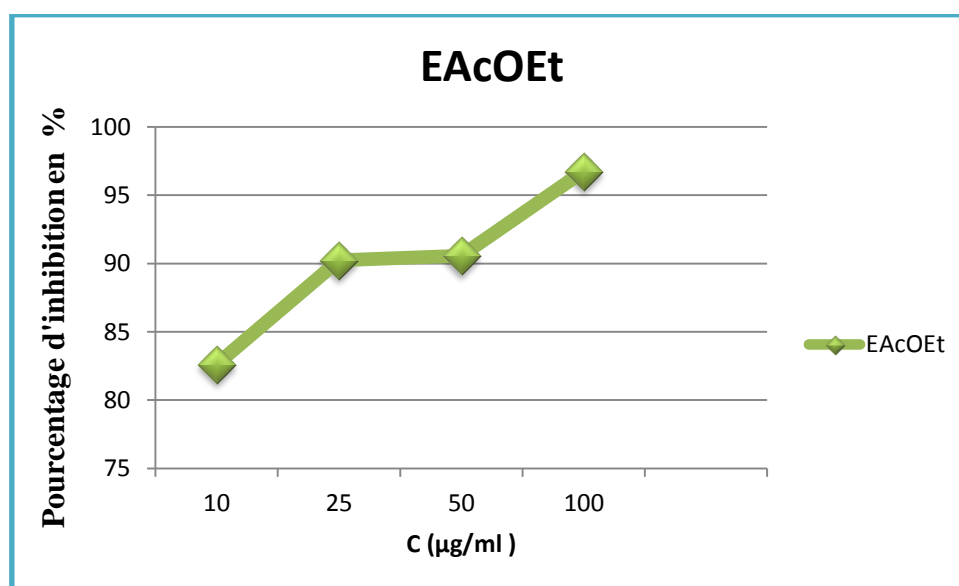


Figure04 : Pourcentages d'inhibition du DPPH (%) en fonction des concentrations de l'extrait l'acétate d'éthyle.

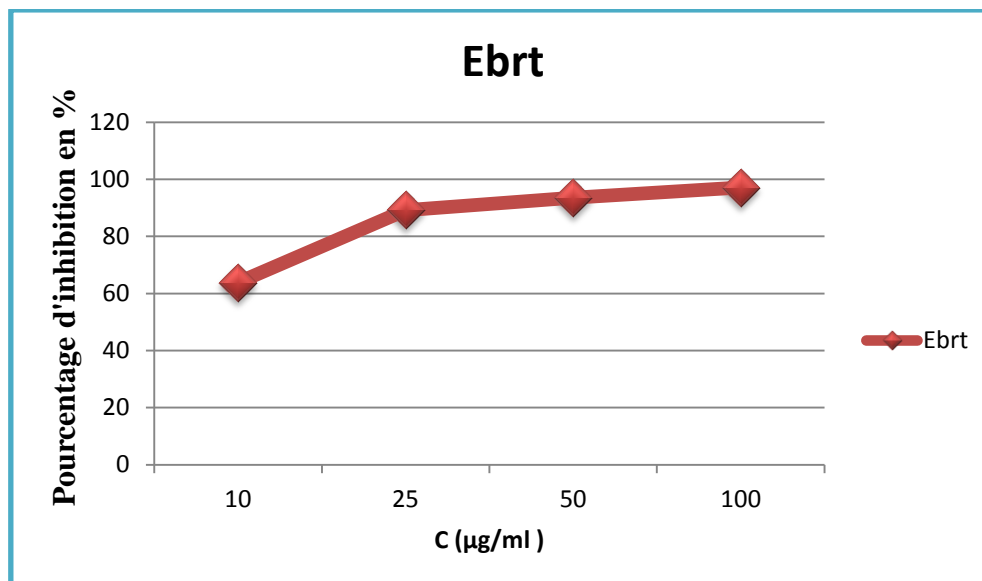


Figure 05: Pourcentages d'inhibition du DPPH (%) en fonction des concentrations de l'extrait brute.

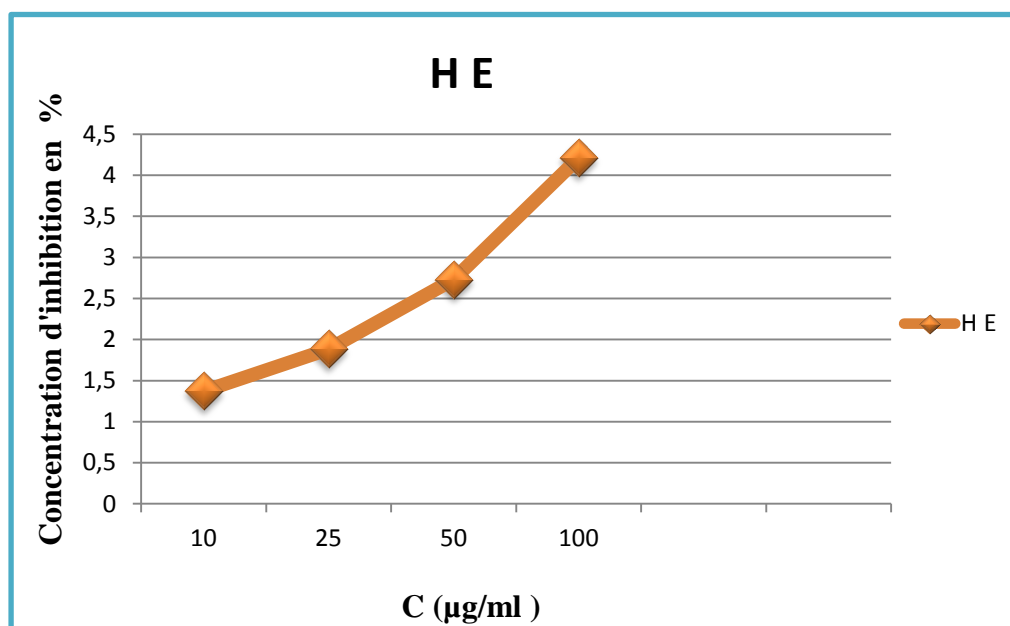


Figure 06: Pourcentages d'inhibition du DPPH (%) en fonction des concentrations de l'huile essentielle.

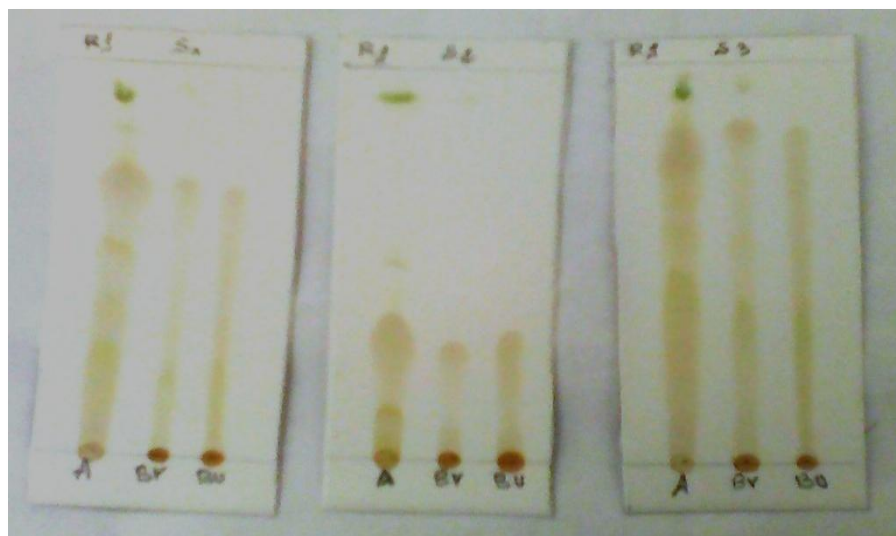


Figure 07 : Vue à l'œil nu de S1 (chloroforme /acétate d'éthyle 8 :2), S2 (chloroforme /méthanol 9 :1) et S3 (chloroforme /méthanol 7 :3).