

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUE ET DES SCIENCES AGRONOMIQUE
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE



MÉMOIRE

De fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

**ANALYSE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION *IN VITRO* DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE
DES EXTRAITS DE FEUILLES DE
*PISTACIA LENTISCUS L***

Par : M^{elle} AMMOURI Nassima

M^{elle} KASDI Imen

Devant le jury

Président du jury	M ^{me} MESTAR GUECHAOUL.N	Maitre assistante A UMMTO
Promotrice	M ^{me} IRATNI. G	Maitre assistante A UMMTO
Co-promoteur	M ^r HOUALI. K	Professeur UMMTO
Examineurs	M ^r MOUALEK. I	Maitre assistant A UMMTO
	M ^r SEBBANE. H	Maitre assistant A UMMTO

Année universitaire 2015/2016

Dédicaces

Nous dédions ce travail à

Nos parents pour leurs soutiens et encouragements,

Nos frères et sœurs,

A toutes nos familles,

Ainsi que tous nos amis.

Résumé

Pistacia lentiscus L est une plante de la famille des Anacardiaceae caractéristique des lieux arides de la région méditerranéenne d'Europe, d'Asie et d'Afrique. A l'état sauvage, elle pousse dans les maquis et les garrigues sur tout type de sols. La plante est très utilisée traditionnellement pour ces vertus thérapeutiques.

Les feuilles de cette plante ont été soumises à une extraction aqueuse et éthanolique. Une étude phytochimique est réalisée sur ces extraits aqueux et éthanolique en utilisant principalement des réactions de précipitation et de coloration. Nous avons également déterminé la capacité de ces extraits à inhiber la dénaturation des protéines. Cet effet est un indicateur du pouvoir anti-inflammatoire de ces extraits végétaux.

L'examen phytochimique qualitatif réalisé sur les extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L a révélé la richesse de cette plante en tanins, flavonoïdes, saponines, composés réducteurs, terpénoïdes, stérols et triterpènes pour les deux extraits, et la présence exclusive d'alcaloïdes dans l'extrait éthanolique.

L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L par la méthode d'inhibition de dénaturation des protéines a montré que les deux extraits aqueux et éthanolique ont une activité anti-inflammatoire. L'analyse statistique des pourcentages d'inhibition de ces extraits n'a pas révélé de différence significative par rapport à ceux de l'acide acétylsalicylique. Cet effet anti-inflammatoire est du à la richesse de ces extraits de *Pistacia* en composés bioactifs.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L, métabolites secondaires, screening phytochimique, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Pistacia lentiscus L is an evergreen shrub; it belongs to the Anacardiaceae family. It is largely distributed in dry/warm areas of the Mediterranean region of Europe, Asia and Africa. It grows in the bush and scrubland on any type of soil. The plant is traditionally used for many therapeutic properties.

The leaves of this plant were subjected to two extractions: aqueous extraction and ethanolic extraction. A phytochemical study was performed on these two extracts using mainly precipitation and color reactions. We also assessed the ability of these extracts to inhibit protein denaturation. This effect is an indication of anti-inflammatory activity of these plant extracts.

The qualitative phytochemical examination conducted on aqueous and ethanol extracts of leaves of *Pistacia lentiscus* L revealed the richness of this plant in tannins, flavonoids, saponins, reducing compounds, terpenoids, sterols and triterpenes for both extracts and exclusive presence of alkaloids in the ethanol extract.

The *in vitro* evaluation of anti-inflammatory activity of leaf extracts of *Pistacia lentiscus* L by the protein denaturing inhibition method has shown that both aqueous and ethanolic extracts have anti-inflammatory activity. Statistical analysis of the inhibition percentages of these extracts showed no significant difference compared to those of the acetylsalicylic acid. This anti-inflammatory effect is due to the richness of these extracts *Pistacia* in bioactive compounds.

Key words: *Pistacia lentiscus* L, secondary metabolites, phytochemical test, anti-inflammatory activity.

SOMMAIRE

Dédicaces.....	II
Résumé	III
Liste des tableaux	VII
Liste des figures.....	VIII
Introduction générale.....	1
Synthèse bibliographique.....	4
1. Généralités sur <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	5
1.1.Description botanique.....	6
1.2.Classification systématique.....	7
1.3.Répartition géographique.....	7
1.4.Composition chimique.....	8
1.5.Utilisation thérapeutique traditionnelle.....	9
2. Métabolites secondaires et leurs intérêts biologiques.....	10
2.1. Définition.....	11
2.2.Classification	11
2.2.1. Composés phénoliques.....	11
2.2.2. Les terpénoïdes.....	14
2.2.3. Les alcaloïdes.....	15
3. L'inflammation.....	17
3.1.Mécanismes de l'inflammation.....	18
3.1.1. Définition.....	18
3.1.2. Médiateurs de l'inflammation.....	19
3.2.Les anti-inflammatoires.....	23
3.2.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	23
3.2.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	23
3.2.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	24
Partie expérimentale.....	26
4. Matériel et méthodes.....	27
4.1. Matériel.....	27
4.1.1. Matériel végétal	27
4.1.2. Anti-inflammatoire de référence.....	27
4.1.3. Produits et réactifs.....	27

4.2. Méthodes	27
4.2.1. Méthodes d'extraction.....	28
4.2.2. Taux d'extraction.....	29
4.2.3. Screening phytochimique.....	29
4.2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	31
4.2.5. Analyse statistique.....	31
5. Résultats et discussion.....	33
5.1. Taux d'extraction.....	34
5.2. Screening phytochimique.....	34
5.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	36
Conclusion générales.....	40
Annexes.....	42
Références bibliographiques.....	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Taxonomie de *Pistacia lentiscus* L.

Tableau II : Effets biologiques et origines des principaux médiateurs de l'inflammation

Tableau III Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires

Tableau IV : Résultats qualitatifs du screening phytochimique.

Tableau V : Effet inhibiteur de la dénaturation d'albumine par les extraits de *Pistacia lentiscus* L. et l'acide acétylsalicylique.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Arbre de *Pistacia lentiscus* L.

Figure 2 : Feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

Figure 3 : Fleurs de *Pistacia lentiscus* L.

Figure 4 : Fruits de *Pistacia lentiscus* L.

Figure5 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* L. dans le bassin méditerranéen

Figure6 : structure des dérivés de l'acide salicylique

Figure7 : Structure de l'acide gallique (A) et ellagique (B)

Figure8 : Structure d'isoprène

Figure9: principales familles chimiques des principes actifs utilisés en phytothérapie

Figure10 : La réaction inflammatoire

Figure11 : les médiateurs de l'inflammation.

Figure12 : La cascade de l'acide arachidonique

Figure13 : Schéma illustrant les différentes étapes de l'extraction aqueuse et éthanolique à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

Figure14 : Schéma illustrant les expériences sur l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Pistacia lentiscus* L.

Figure 15 : Histogrammes représentant les pourcentages d'inhibition des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L. et ceux de l'acide acétylsalicylique.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

En Algérie, les plantes ont une grande importance dans la médecine traditionnelle. La flore algérienne est caractérisée par sa diversité : méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale (Hallimi, 2004). Elle est estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable d'espèces endémiques (Ozenda, 1997).

Le genre *Pistacia* est de part sa dioïcie et ses fleurs nues, un genre particulier de plantes médicinales existantes en Algérie. L'espèce *Pistacia lentiscus* L appartient à la famille des Anacardiacees, elle se développe sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride (Saadoun, 2002). Traditionnellement, cette plante est utilisée comme un agent astringent, expectorant et cicatrisant. Ces effets biologiques sont le résultat de l'action des composés phytochimiques sur différents systèmes physiologiques tel que le système inflammatoire.

La réaction inflammatoire ou l'inflammation est la première réaction de défense de l'organisme contre les agressions. En effet, l'inflammation est un processus habituellement bénéfique, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Néanmoins, l'inflammation peut être néfaste. A l'heure actuelle, une grande majorité des consultations nécessitent la prise en charge d'un phénomène inflammatoire (Schwartz, 2011). Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires est accompagnée d'effets secondaires indésirables. Les composés phytochimiques représentent actuellement une alternative thérapeutique. C'est dans ce concept que s'inscrit notre travail qui consiste à la révélation qualitative des composants phytochimiques et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

Les objectifs de ce travail sont :

- La préparation des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.
- Le criblage phytochimique (révélation qualitative) des différents métabolites secondaires composants les extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.
- Et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines.

Synthèse bibliographique

Généralités sur *Pistacia lentiscus* L

1. Généralités sur *Pistacia lentiscus* L

Pistacia lentiscus L est un genre de plante qui appartient à la famille des Anacardiacees ou Pistaciacees. Il comprend 11 espèces . Ce sont des plantes dioïques dont la majorité est connue pour leur capacité à produire les oléorésines. En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, à savoir : *Pistacia lentiscus* L, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Zohary, 1952 in Onay, 2002).

1.1. Description botanique

Pistacia lentiscus L est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres (figure1), à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise de la famille des Anacardiaceae (Coste, 1937). Ses feuilles sont persistantes paripennées, avec 4 à 10 paires de folioles oblongues, elliptiques, obtuses, coriaces, luisantes en dessus, mates et pâles en dessous ; elles prennent en hiver une teinte pourprée, pourvues d'un pétiole étroitement ailé (More et White, 2005) (figure2).



Figure 1 : Arbre de *Pistacia lentiscus* L (Boukeloua, 2009)



Figure 2 : feuilles de *Pistacia lentiscus* L (Boukeloua, 2009)

Les fleurs sont en grappes spiciformes denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole (figure3). Le fruit est une drupe subglobuleuse, apiculée, de petite taille d'abord rouge, puis noir à la maturité (figure4) (Yahia, 1992 ; Iserin, et White, 2005).



Figure 3 Fleurs de *Pistacia lentiscus* L (A : fleurs males ; B : fleurs femelles) (Benmehdi, 2012).



Figure 4 fruits de *Pistacia lentiscus* L (Benmehdi, 2012).

1.2. Classification systématique

Le nom pistachier vient du grec « pistakê ». Le nom lentisque vient du latin « lentus » qui signifie visqueux. La classification de *Pistacia lentiscus* L est comme suit :

Tableau I Taxonomie de *Pistacia lentiscus* L (Quezel et Santa, 1963)

Règne	<i>Plantea</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	<i>Magnoliosida</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i> L
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i> L

1.3. Répartition géographique

Pistacia lentiscus L est caractéristique des milieux les plus chauds du climat méditerranéen que l'on retrouve en association avec l'oléastre, la salsepareille et le myrte dans un groupement végétal nommé « l'Oléolentisque », mais également dans les boisements clairs à Pin d'Alep ou d'autre formation de garrigues basses.

Pistacia lentiscus L pousse, à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols en préférant les terrains siliceux pauvres en potassium et en phosphore.

Généralement, il se trouve dans les lieux arides de la région méditerranéenne d'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'aux Canaries et au Portugal (figure5) (Verdû et Garcia-Fayos, 2002).



Figure5 Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* L dans le bassin méditerranéen (Alyafi, 1979)

En Algérie, le *Pistacia lentiscus* L occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saida, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée. On le retrouve en Algérie subhumide et semi-aride (Saadoun, 2002), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Belhadj, 2000).

1.4. Composition chimique de *Pistacia lentiscus* L.

En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties de *Pistacia lentiscus* L ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques afin d'identifier leurs principes actifs. Ces études sont essentiellement consacrées au mastic. Cependant, on

ne trouve que peu d'études qui se sont intéressées aux composés chimiques des feuilles et des fruits.

De la résine extraite du tronc et des tiges de *Pistacia lentiscus* L a été isolée une huile essentielle, riche en monoterpènes en quantité majoritaire, des monoterpénols et des sesquiterpènes en quantité moyenne, et des esters terpéniques en quantité mineure. (Baudoux D, 2003 et Grosjean N, 2007)

Des feuilles de *Pistacia lentiscus* L ont été isolés des tanins proanthocyanidiques et galliques, glycosides flavonoïques (myricétine et quercétine glycoside) ; anthocyanines (delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O-glucoside), une petite quantité de catéchine (Romani et *al.*, 2002), et de proanthocyanidines (Sanz et *al.*, 1992), des tritérpénoides et des dérivés à noyau gallique et quinique (Chryssavgi et *al.*, 2002 ; Longo et *al.*, 2007).

1.5. Utilisation thérapeutique traditionnelle

Pistacia lentiscus L est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité (Palevitch et Yaniv, 2000). Toutes les parties de cette plantes sont pourvues de vertus thérapeutiques.

La partie aérienne de *Pistacia lentiscus* L est utilisée traditionnellement dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques (Sherrer et *al.*, 2005). Les feuilles sont pourvues d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépato-protective, expectorante et stimulante (Duru et *al.*, 2003 ; Kordali et *al.*, 2003). Elle contribue au traitement de l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les calculs rénaux, la jaunisse, l'asthme et les maux d'estomac

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (Ouelmouhoub, 2005).

L'huile essentielle du lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires (Prichard, 2004). Selon Gardeli et *al.* (2008), les huiles essentielles révèlent la présence de certaines activités antalgique, antioxydante, anti- inflammatoire et antimicrobienne.

Métabolites secondaires et leurs intérêts biologiques

2. Métabolites secondaires et leurs intérêts biologiques

Les métabolites des végétaux sont classés selon leurs fonctions principales. Les métabolites primaires tels que les glucides, lipides, acides aminés et protéines sont indispensables à la synthèse des éléments de structure de la cellule végétale. Les métabolites secondaires participent à la synthèse de molécules ayant des fonctions plus complexes telles que la communication, la protection ou la reproduction et sont considérés aujourd'hui comme essentiels au fonctionnement des végétaux. En effet, ces derniers confèrent aux plantes médicinales un pouvoir thérapeutique (Larkins et Wynn, 2004; Lamnaouer, 2008). Pour cela, nous nous intéresserons aux effets biologiques de ces métabolites secondaires. Nous passerons ainsi en revue les principales familles de ces métabolites en citant leurs propriétés thérapeutiques reconnues.

2.1. Définition

Les métabolites secondaires des végétaux sont des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes qui sont issus de métabolites primaires (Annexe1). Ils exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (Gravot, 2008; Kansole, 2009). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (Gravot, 2008 ; Thomas, 2009). Elles représentent donc une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (Thomas, 2009).

2.2. Classification

On peut classer les métabolites secondaires en trois groupes : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Chacun de ces groupes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Quelques exemples représentatifs sont présentés ci-après.

2.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques rassemblent un grand nombre de substances qui peuvent être classés différemment selon leur structure, leur fonction et leurs relations. Sa structure de base est un cycle carbonique hydroxylé. Les composés phénoliques des végétaux proviennent de deux grandes voies : celle de l'acide shikimique et celle de l'acétate.

2.2.1.1. Acides phénols

Les acides phénols sont dérivés de l'acide cinnamique et de l'acide benzoïque. Nous citerons trois sous-familles de composés importants pour leurs effets biologiques: les dérivés de l'acide salicylique (figure6), de l'acide vanillique, et les tanins hydrolysables (figure7) tels que les gallotanins et les ellagitanins. Les premiers sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, et les derniers pour leurs propriétés antioxydantes par captation des radicaux libres. (Bruneton 2009).

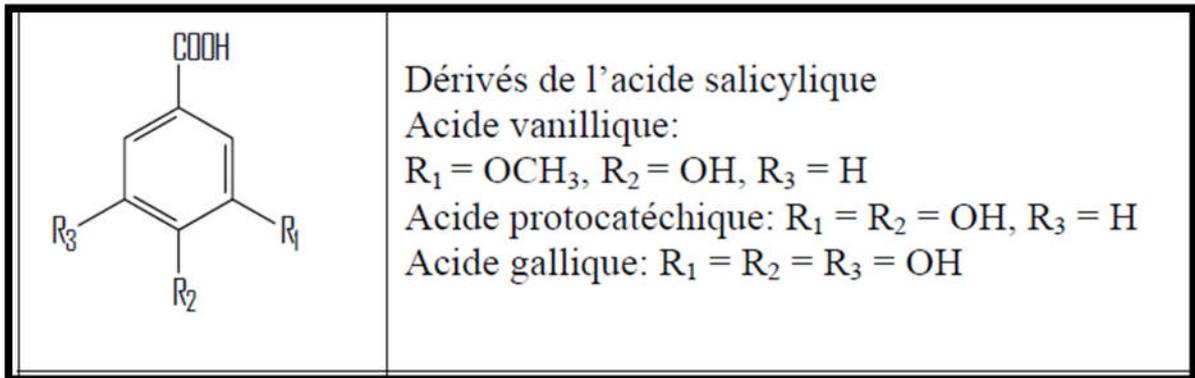


Figure6 structure des dérivés de l'acide salicylique (Ghestem et *al.*, 2001).

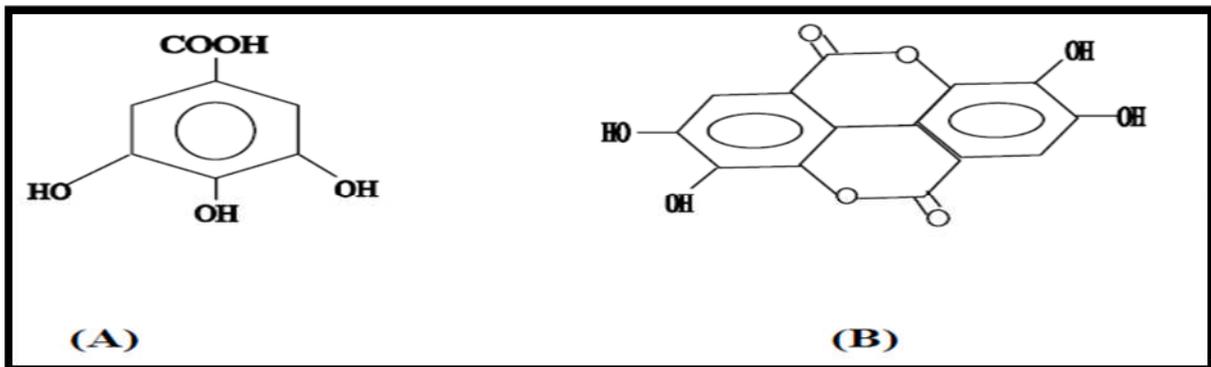


Figure7 Structure de l'acide gallique (A) et ellagique (B) (Ghestem et *al.*, 2001).

2.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une grande famille de pigments des végétaux, les flavonoïdes sont des composés mixtes provenant des voies de l'acide shikimique et de l'acétate, synthétisés à partir de l'acide cinnamique. Les flavonoïdes au sens strict représentent les flavones, flavonols et leurs dérivés.

Les flavonoïdes sont reconnus comme étant veino-actifs. En effet, ils diminueraient la perméabilité des capillaires sanguins et renforceraient leur résistance. Ils seraient

donc vasculoprotecteurs et veinotoniques. De nombreuses études *in vitro* ont également montré l'activité antioxydante de ces composés par captation des radicaux libres. Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques. En effet, des études *in vitro* ont montré qu'ils étaient de puissants inhibiteurs de la 5-lipoxygénase et donc de la production de leucotriènes médiateurs de l'inflammation. D'autres flavonoïdes inhibent la cyclooxygénase et l'agrégation plaquettaire. Des effets anti-cancérogène et inhibiteurs de la croissance tumorale ont également été montrés *in vitro*.

2.2.1.3. Les tanins

Les tanins sont définis comme étant des composés phénoliques hydrosolubles pouvant précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses et non par leur origine structurale. On peut les classer en deux catégories. Les tanins condensés sont formés de flavonoïdes et de proanthocyanidines et forment des proanthocyanidols.

Les propriétés biologiques des tanins sont liées à leur capacité à former des complexes avec les macromolécules de manière réversible ou irréversible selon le milieu. De nombreuses études ont été menées sur les activités des tanins *in vitro* et *in vivo* et elles ont montré que l'activité astringente des tanins est la plus renseignée. Par voie externe, ils ont la capacité d'imperméabiliser les couches les plus superficielles de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches plus internes favorisant également la régénération des tissus. Par voie interne, ils présentent un effet anti-diarrhéique certain. L'effet anti-septique est retrouvé aussi bien par voie orale que par voie locale par action sur les protéines bactériennes et fongiques.

Les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides, captent les radicaux libres, inhibent la lipoxygénase des granulocytes péritonéaux de rats. Ils présentent donc un pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire.

Il existe une toxicité des tanins reconnus sur les bovins à partir des glands et des jeunes feuilles de chêne. De plus, les tanins empêchent l'absorption des alcaloïdes. (Wynn et Fougère, 2007 ; Bruneton, 2009)

2.2.1.4. Les coumarines et lignanes

Les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine *via* un acide cinnamique. Elles seraient vasculoprotectrices, veinotoniques et stimulantes du drainage lymphatique. Certaines plantes à coumarines présenteraient également des propriétés anti-œdémateuses.

Les lignanes sont des composés rassemblant des unités phénylpropaniques. Elles sont lipophiles, elles confèrent aux plantes leur rigidité, leur force et leur imperméabilité. Les principaux effets biologiques décrits sont anti-néoplasiques.

2.2.2. Les terpénoïdes

2.2.2.1. Terpénoïdes de faible poids moléculaires

L'unité de base des terpénoïdes est l'isoprène C₅H₈ (figure8). Les propriétés des monoterpénoïdes (2 unités isopréniques), des sesquiterpénoïdes (3 unités isopréniques) et des phénylpropanoïdes (synthétisés par la voie de l'acide shikimique) peuvent être regroupés. Leur faible poids moléculaire les rend très volatiles. Rassemblant plus de 25000 composés différents, leurs propriétés sont variées. Forts en odeur et en goût, la famille des menthes les représente. Des propriétés anti-néoplasiques comme pour le D-limonène par stimulation de l'apoptose sont renseignées. Le menthol est un relaxant des muscles lisses par blocage des canaux calciques. Le linalol, le geraniol, le menthol présentent des propriétés antibactériennes et antifongiques à différents degrés (Wynn et Fougère, 2007).

Tous ces composés sont bien absorbés oralement et par passage transcutané. Très lipophiles, ils diffusent bien vers le système nerveux. Excrétés par les reins et les poumons, ces composés sont donc intéressants lors d'affections touchant ces organes. Souvent présents en très petites quantités dans les plantes (<1%) ils ne présentent pas de toxicité particulière. L'inquiétude principale se retrouve lorsqu'ils sont fortement concentrés dans les huiles essentielles où ils présentent alors une toxicité beaucoup plus importante.

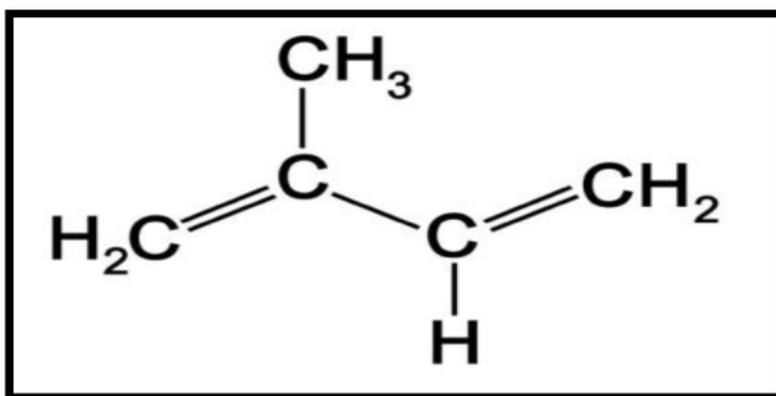


Figure8 Structure d'isoprène (Benaissa, 2011).

2.2.2.2. Diterpénoïdes

Composés de 4 unités isopréniques, les diterpénoïdes sont de poids moléculaire plus importants, ce qui les rend moins volatiles. Très lipophiles, ils apportent un goût très

fort à la plante. Souvent trouvés dans les résines, ils présentent des activités antinéoplasiques mais les connaissances restent limitées concernant leurs propriétés pharmacocinétiques. Leur toxicité est cependant rapportée par contact avec la peau et les muqueuses : irritants, ils pourraient provoquer des réactions inflammatoires importantes (Ghestem, 2001; Iserin, 2001).

2.2.2.3. Triterpénoïdes et Saponines stéroïdiens

Les terpénoïdes et les saponines stéroïdiens sont des molécules pentacycliques synthétisés à partir d'acétyl coA. Ils sont des agents émulsifiants et détergents, et forment des colloïdes en contact avec de l'eau, grâce à leurs propriétés lipophiles. Ils joueraient un rôle sur le métabolisme du cholestérol et diminueraient son absorption intestinale et inhibant sa synthèse hépatique. De nombreuses saponines présentent des propriétés antinéoplasiques, anti-inflammatoires, antivirales et inhibitrices du catabolisme du cortisol. (Wynn et Fougère, 2007).

2.2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés hétérocycliques dérivés du métabolisme des acides aminés, souvent basiques et instables mais pouvant ainsi former des sels et être conservés et commercialisés. Leurs fonctions sont donc nombreuses mais leurs effets principaux influencent le système nerveux central (tels que la morphine) ou le système nerveux autonome (tels que l'atropine en étant anticholinergique, l'éphédrine étant un sympathomimétique). Pouvant franchir la barrière hémato-méningée, ils présentent donc une toxicité non négligeable. Certains alcaloïdes tels que la berberine, la berbérine, l'hydrastine et les alcaloïdes isoquinolines présentent des propriétés anti-inflammatoires par inhibition indirecte de la phospholipase A2, en ayant des pouvoirs bactéricides en empêchant leur adhésion à la surface des cellules, et en stimulant la production de leucocytes par la moelle osseuse (Lamnaouer, 2008).

Nous rassemblons les différentes familles de principes actifs utilisés en phytothérapie dans la figure9 :

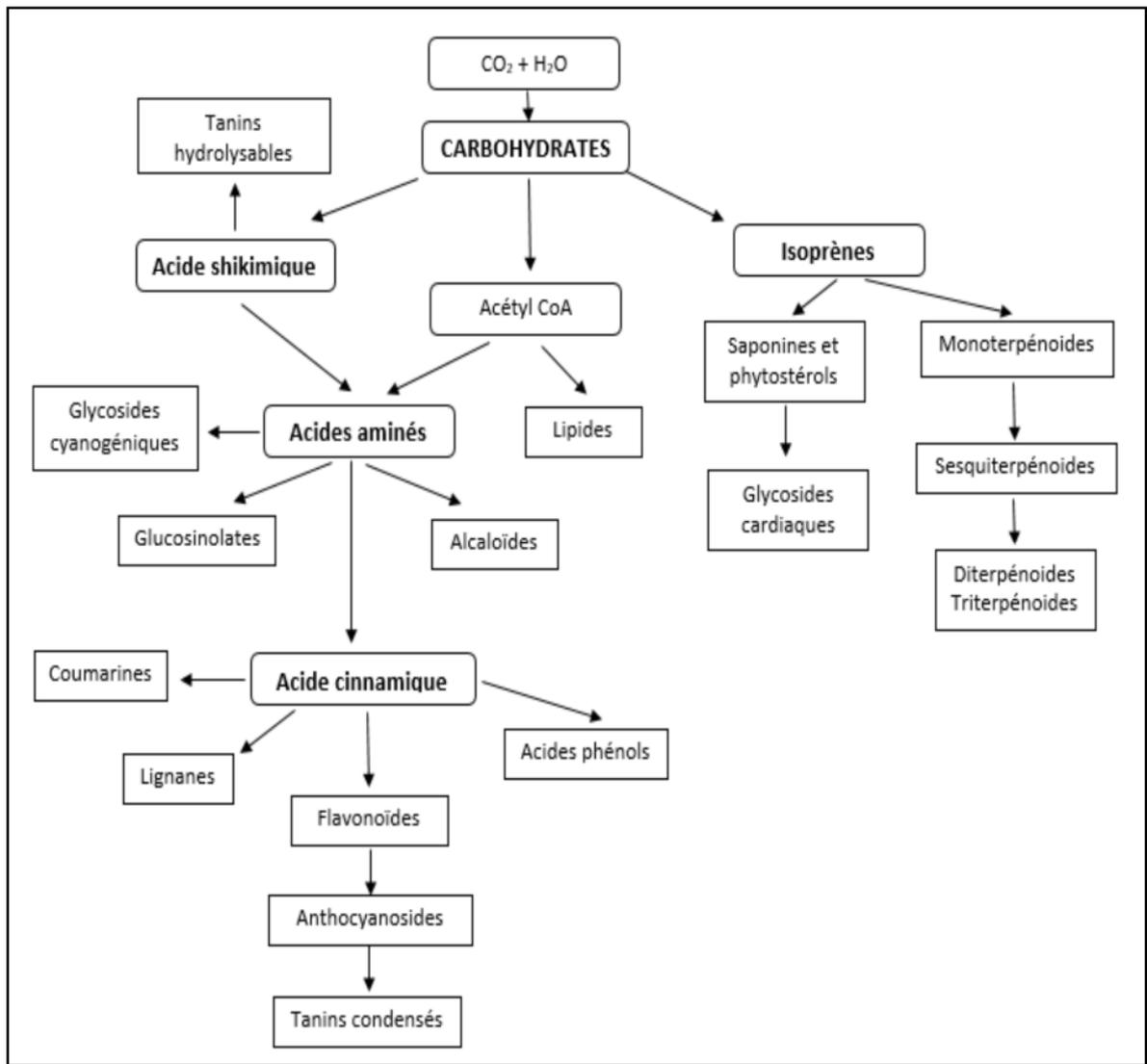


Figure9 Principales familles chimiques des principes actifs utilisés en phytothérapie
(Kirassian, 2015)

Inflammation

3. L'inflammation

3.1. Les mécanismes de l'inflammation

3.1.1. Définition

L'inflammation ou la réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants et vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité (figure10). L'inflammation est un processus habituellement bénéfique, son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire.

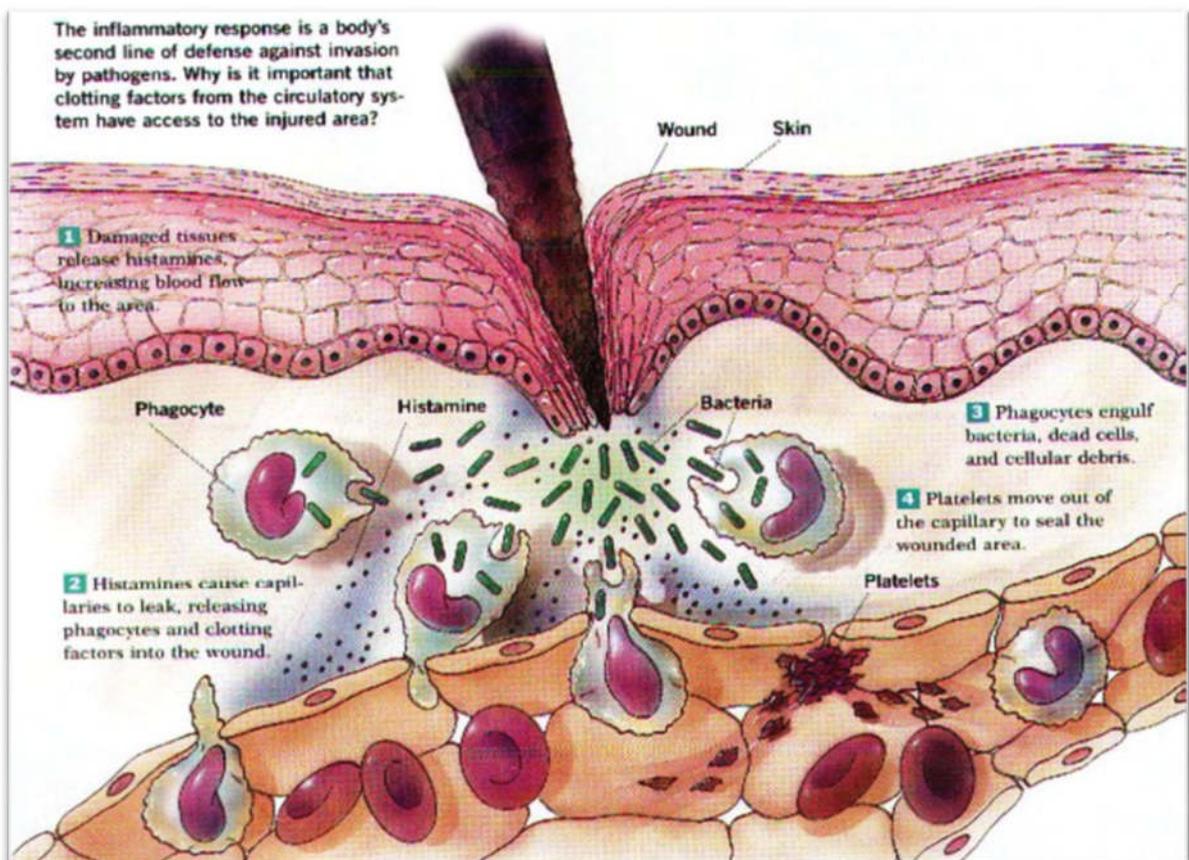


Figure10 La réaction inflammatoire (Busse et Fleming, 2006)

La figure10 illustre la succession d'événements impliqués dans la formation du foyer inflammatoire (Busse et Fleming, 2006), notamment :

- Une vasodilatation permettant l'afflux massif de sang vers le foyer inflammatoire ;
- L'adhésion des leucocytes à l'endothélium vasculaire ;
- Une augmentation de la perméabilité des capillaires permettant aux macromolécules de s'extravaser ;

- La migration des leucocytes, en particulier les polynucléaires neutrophiles et les monocytes, à travers l'endothélium vasculaire (diapédèse) vers le site de l'inflammation ;
- L'activation des leucocytes.

3.1.2. Les médiateurs de l'inflammation

Les principaux médiateurs cellulaires et moléculaires de l'inflammation sont illustrés dans la figure 11.

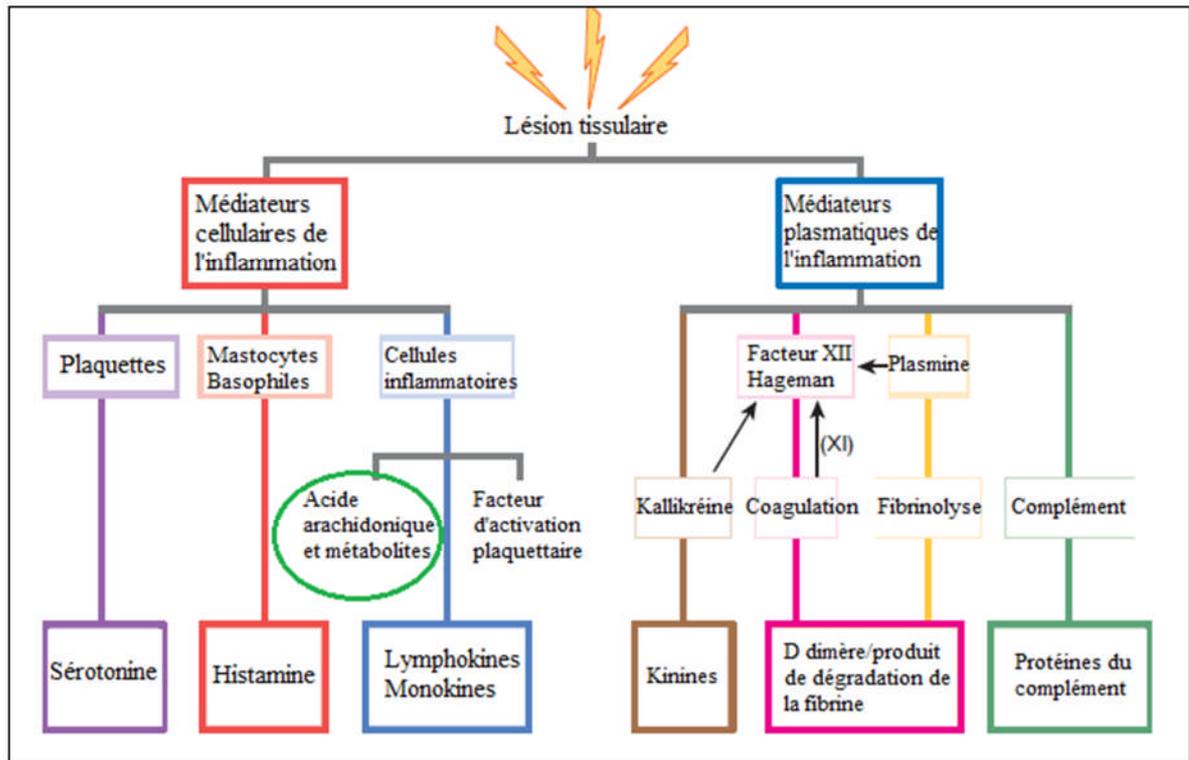


Figure11 les médiateurs de l'inflammation (Lakhani et *al.*, 2009).

Les origines et les effets biologiques des médiateurs présentés précédemment dans la figure11 sont rassemblés dans le tableau II.

Tableau II Effets biologiques et origines des principaux médiateurs de l'inflammation
(Prin et *al.*, 2009)

Médiateurs	Source	Effets biologiques
Histamine	Mastocytes, basophiles, plaquettes.	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, activation endothéliale, douleur, contraction muscles lisses.
Prostaglandines	Acide arachidonique	Vasodilatation, augmentation perméabilité vasculaire, douleur, fièvre.
Leucotriènes	Acide arachidonique	Augmentation de la perméabilité vasculaire, chimiotactisme, adhésion et activation leucocytaire.
Cytokines (TNF, IL-1, IL-6)	Macrophages Cellules endothéliales Mastocytes	Localement : Activation endothéliale (expression de molécules d'adhésion) Systémique : Fièvre, problèmes métaboliques, Hypotension.
Chimiokines	Leucocytes, Macrophages activés	Chimiotactisme, Activation leucocytaire.
Facteur d'agrégation plaquettaire (PAF)	Basophiles, Neutrophiles, Macrophages, Mastocytes, Plaquettes	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, adhésion leucocytaire, chimiotactisme, dégranulation, contraction muscles lisses.
Complément	Plasma (produit dans le foie)	Chimiotactisme et adhésion leucocytaire, complexe d'attaque membranaire, vasodilatation, contraction muscles lisses.
Kinines	Plasma (produit dans le foie)	Augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, vasodilatation, douleur.

Parmi les nombreux médiateurs de l'inflammation existants notamment, l'histamine, la sérotonine, les Kinines, les protéines du complément, les prostaglandines, les leucotriènes, on s'intéresse dans notre travail à ceux issus de l'acide arachidonique.

L'acide arachidonique (AA) joue un rôle fondamental dans l'inflammation en étant précurseur de médiateurs. Une fois dans la cellule, l'acide arachidonique sert de substrat pour des enzymes générant ainsi des intermédiaires et aboutissant à la synthèse de molécules appartenant à la famille des eicosanoïdes : prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes et lipoxines qui sont des médiateurs fondamentaux de la réponse inflammatoire. (Murphy *et al.*, 2012).

Il existe deux voies métaboliques de l'acide arachidonique :

- La voie des cyclo-oxygénases aboutit à la production des prostanoides.
- La voie des lipoxygénases aboutit à la production des leucotriènes.

- **La voie des cyclo-oxygénases**

Les cyclo-oxygénases existent sous deux isoformes, la cyclo-oxygénase 1 et 2 (COX-1 et COX-2). COX-1 est une enzyme constitutive impliquée dans le processus d'agrégation plaquettaire et dans l'homéostasie de nombreux organes dont le tractus gastro-intestinal et les reins. A l'inverse, COX-2 est induite en réponse à de nombreux stimuli comme les cytokines pro-inflammatoires, les endotoxines bactériennes et certaines fractions du complément. Les cyclo-oxygénases assurent la transformation de l'acide arachidonique en endoperoxyde PGG₂ réduit ensuite en PGH₂. PGH₂ sert alors de substrat à trois types d'enzymes : les isomérases qui catalysent la transformation de PGH₂ en prostaglandines (PGD₂, PGE₂, PGF₂α); la prostacycline synthase qui produit la prostacycline (PGI₂); et la thromboxane synthase qui assure la transformation de PGH₂ en thromboxane A₂ (TxA₂). Le métabolisme de l'AA est orienté vers l'un ou l'autre de ces composés selon le contenu enzymatique de la cellule concernée.

Les prostaglandines et la prostacycline sont des vasodilatateurs puissants tandis que le TxA₂ exerce un effet vasoconstricteur. Le TxA₂ est un inducteur de l'agrégation plaquettaire, alors que PGI₂ présente des propriétés anti-agrégantes. Les prostaglandines et la prostacycline contribuent aussi à la formation d'œdème et à la genèse des influx nociceptifs. Enfin, PGE₂ inhibe la synthèse de cytokines activatrices des lymphocytes (IL2, IL2, IFNγ, etc), ce qui lui confère des propriétés immunosuppressives.

▪ **La voie des lipoxygénases**

L'autre voie principale de la transformation de l'AA est la voie des lipoxygénases. Elle conduit à la synthèse des leucotriènes. Ces derniers sont des médiateurs importants de l'allergie et des réactions inflammatoires. Ils augmentent la perméabilité vasculaire et participent avec d'autres médiateurs à la formation d'œdème. Ils possèdent également des propriétés chimiotactiques pour les éosinophiles (LTE4), et les neutrophiles (LTE4 et LTB4). Le LTB4 stimule la production de l'IL-2, de l'IFN γ et de l'IL-4 par les lymphocytes T.

La figure 12 résume la cascade de l'acide arachidonique, également surnommée « cascade de l'inflammation », rappelant les rôles des différents médiateurs.

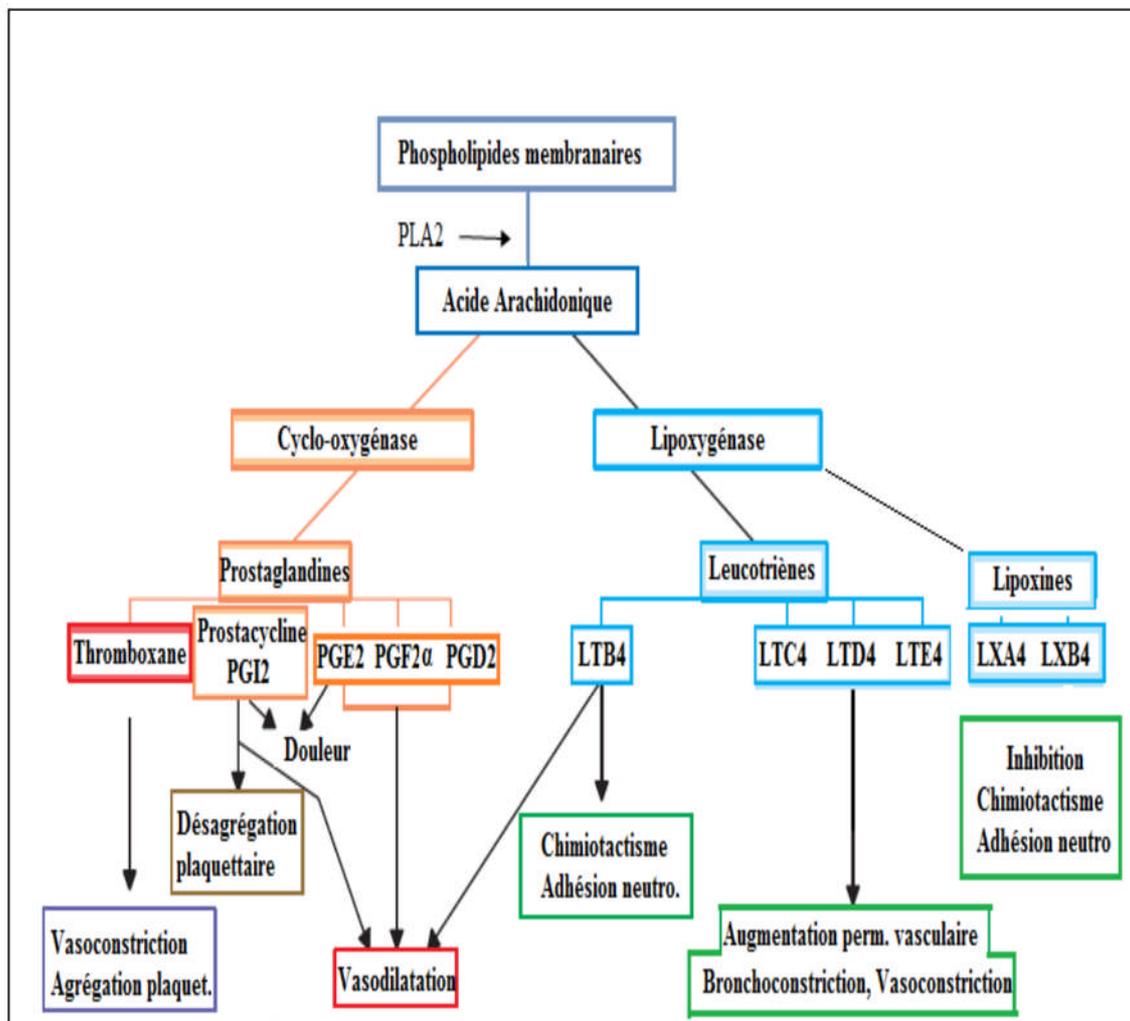


Figure12 La cascade de l'acide arachidonique (Lakhani et *al.*, 2009).

3.2. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capables d'atténuer ou de supprimer le processus inflammatoire. On distingue deux grands groupes d'anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les anti-inflammatoires stéroïdiens.

3.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS qui sont sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971. Il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation. Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines (Nicolas *et al.*, 2001). Ainsi, la production exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS s'accompagne donc d'effets favorables et délétères (Blain *et al.*, 2000).

3.2.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une grande famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent sur les cellules grâce à leurs récepteurs dans le cytoplasme. Ensuite, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux

glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes.

Le mécanisme opposé est appelé transrépression où le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2 (Barnes, 1998).

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires.

3.2.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau III.

Tableau III Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (Barnes, 1998).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales.
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Œdèmes, douleurs rhumatismales.
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuille, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales.
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac.
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, infections rénales.
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête.
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, maux de tête, fièvre.
<i>Rhododendron ponticum L.</i>	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	Œdèmes, états grippaux, mal de dents.
<i>Juglans regia L.</i>	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma.
<i>Oenothera biennis</i>	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales.

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

4. Matériel et méthodes

L'activité anti-inflammatoire des différents extraits (aqueux et éthanolique) des feuilles de *Pistacia lentiscus* L et le criblage phytochimique de ces extraits, a été réalisé au laboratoire commun d'analyses physico-chimique I, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université Mouloud MAMMERI, Tizi Ouzou.

4.1. Matériel

4.1.1. Matériel végétal

Les échantillons de feuilles de *Pistacia lentiscus* L utilisés dans l'expérimentation ont été récoltés dans la région de TIZI-OUZOU durant le mois de Septembre et Octobre 2015. Ces feuilles ont été séchées à l'abri de la lumière jusqu'à obtention d'un poids constant puis réduites en poudre et stockées dans des flacons propres à l'abri de la lumière et de l'humidité.

4.1.2. Anti-inflammatoire de référence

L'acide acétylsalicylique ou Aspirine est un médicament utilisé comme analgésique, anti-inflammatoire et antipyrétique. Il a été mis sur le marché en 1899 par la société allemande Bayer, suite aux travaux du chimiste Felix Hoffmann, qui mit au point un procédé de synthèse industrielle de l'acide acétylsalicylique. L'aspirine est obtenue par une réaction d'estérification catalysée par un acide (Annexe 2).

4.1.3. Produits et réactifs

Les produits et les réactifs utilisés dans l'analyse phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire sont indiqués dans annexe 3.

4.2. Méthodes

Les procédés d'extraction des composés phytochimiques à partir du matériel végétal représentent une étape préalable à toute analyse phytochimique. Leur grande diversité structurale implique une grande variabilité des propriétés physicochimiques et par conséquent différentes techniques d'extraction et d'isolement sont utilisées (Vercautern, 1996).

Dans le cadre de ce travail, deux procédés d'extraction sont testés. Ce sont l'extraction aqueuse et l'extraction éthanolique. On a opté pour ces deux extractions du fait que l'eau est un solvant polaire contrairement à l'éthanol qui est un solvant apolaire.

4.2.1. Les méthodes d'extraction

4.2.1.1. Extraction aqueuse

Dans un flacon, on dissout 10 g de poudre de *Pistacia lentiscus* L dans 100 ml d'eau distillée sous agitation pendant 24 heures à température ambiante. Une double filtration est alors réalisée en utilisant de la laine de verre. Le filtrat obtenu est lyophilisé puis conservé au réfrigérateur à 4°C pour des utilisations ultérieures (Cheurfa ,2015).

4.2.1.2. Extraction éthanolique

L'extrait éthanolique est préparé par homogénéisation de 10 g de poudre de feuilles de *Pistacia lentiscus* L dans 100 ml d'une solution éthanolique (50 %) durant trois jours sous agitation. L'extrait obtenu est filtré à travers de la laine de verre. Le filtrat est réparti dans des boites de pétri en verre puis laissé à l'obscurité jusqu'à évaporation totale du solvant. L'extrait sec est conservé à 4°C pour des utilisations ultérieures (Cheurfa et Allam, 2015).

Les différentes étapes de l'extraction aqueuse et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L sont récapitulés dans la figure13.

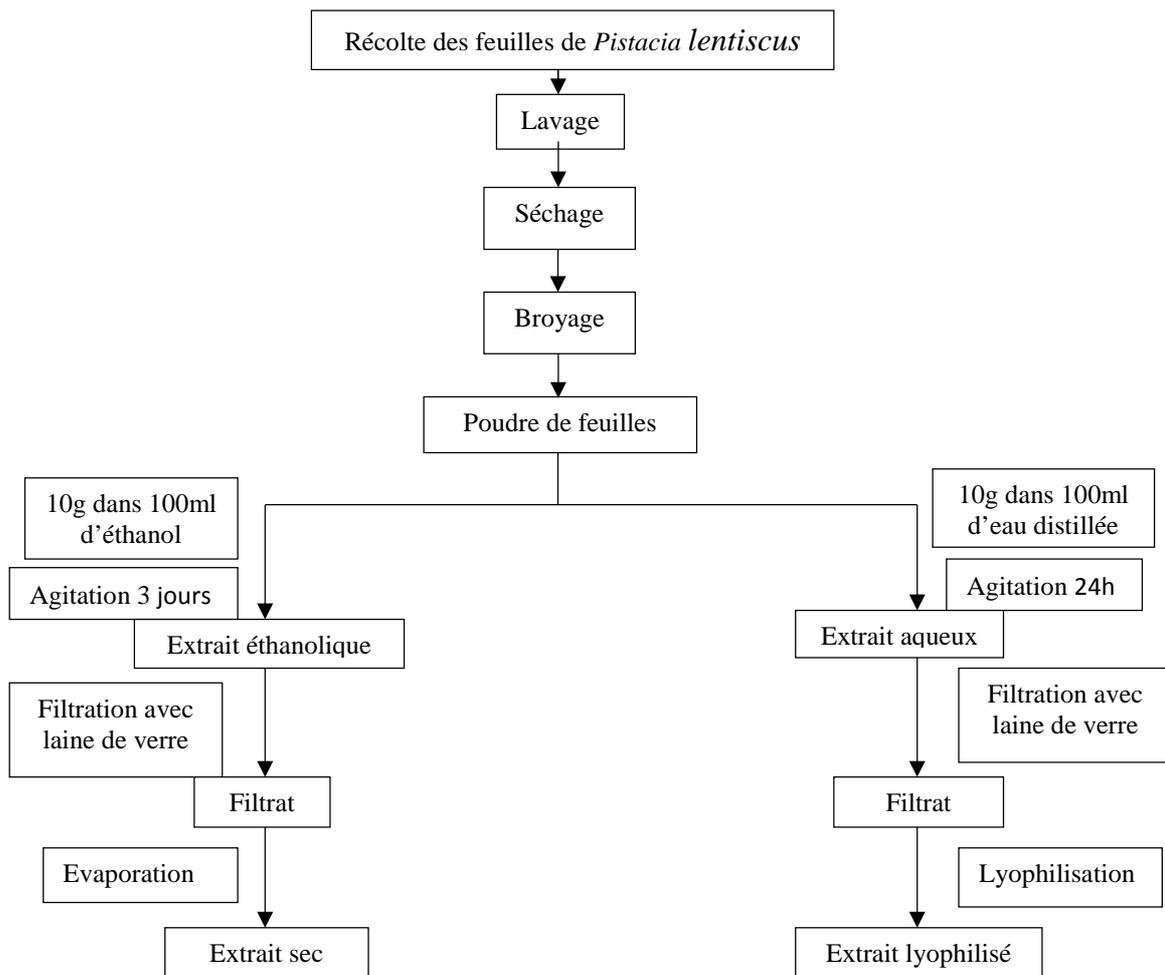


Figure13 : Schéma illustrant les différentes étapes de l'extraction aqueuse et éthanolique à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

4.2.2. Détermination du taux d'extraction

Le taux d'extraction de chaque extrait (aqueux et éthanolique) est exprimé en pourcentage du poids de l'extrait obtenu sur la quantité initiale de l'échantillon utilisé pour l'extraction.

$$\text{Taux d'extraction \%} = \text{masse de l'extrait (g)} / \text{masse initiale de poudre végétale (g)} * 100$$

4.2.3. Screening phytochimique

Screening phytochimique ou criblage phytochimique est une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes chimiques (tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides et composés réducteurs) contenus dans un organe végétal. Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexations avec formation de complexes insolubles et colorés (Bammou, 2014). Les tests de caractérisation sont réalisés sur les deux extraits : extrait aqueux et extrait éthanolique selon les techniques décrites par Trease et Evans (1987).

4.2.3.1. Révélation des tanins

Les tanins sont mis en évidence par le test au chlorure de Fer (FeCl). Dans un tube à essai, on introduit 5 ml d'extrait à analyser et on ajout 1 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanins catechiques) ou bleu noirâtre (tanins galliques).

4.2.3.2. Révélation des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont mis en évidence par le test de Shibata. On met dans un tube à essai, 5 ml d'extrait à tester, 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition après 3 minutes d'une coloration rouge ou rose prouve la présence des flavonoïdes.

4.2.3.3. Révélation des anthraquinones libres

Les anthraquinones libres sont mises en évidence par la réaction de Borntrager. Dans un tube à essai, on ajoute à 5 ml de l'extrait 2.5 ml de NH₄OH à 20 % puis agiter. Une coloration plus au moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

4.2.3.4. Révélation des anthocyanes

Dans un tube à essai, on introduit 1 ml d'extrait, 1 ml H₂SO₄ (10 %) et 1 ml hydroxyde d'ammonium (NH₄OH). L'apparition d'une couleur bleu violacé indique la présence d'anthocyanes.

4.2.3.5. Révélation des saponines

Les saponines sont mises en évidence par le test de mousse. Dans un tube à essai, on introduit 2 ml de l'extrait à analyser auxquels on ajout 2 ml d'eau distillée chaude. Après agitation pendant 15 secondes, le mélange est laissé au repos pendant 15 minutes. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence de saponines.

4.2.3.6. Révélation des stérols et triterpènes

Les stérols et triterpènes sont mis en évidence par la réaction de Lieberman Burchardt. Dans un bécher, on met 5 ml de l'extrait à analyser, 5 ml d'anhydride acétique, 5 ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique(H_2SO_4) concentré dans la paroi du bécher sans agiter. Le mélange est laissé au repos 20 minutes. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèle la présence de stérols et triterpènes.

4.2.3.7. Révélation des terpénoïdes

Les Terpénoïdes sont mis en évidence par le test de Salkowski. Dans un tube à essai, on ajout à 2,5 ml d'extrait, 0.4 ml de chloroforme et 0.6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron rouge à l'interphase indique la présence de terpénoïdes.

4.2.3.8. Révélation des stéroïdes

Dans un tube à essai, on introduit 1 ml d'extrait, 3 gouttes d'anhydride acétique et une goutte d'acide sulfurique concentré. Un changement de couleur du vert foncé, tournant au brun indique la présence de stérols.

4.2.3.9. Révélation des composés réducteurs

Dans un tube à essai, on ajout 1 ml de liqueur de Fehling (0.5 ml du réactif A + 0.5 ml du réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et on incube le mélange durant 8 minutes dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

4.2.3.10. Révélation des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont mis en évidence par le test de Wagner. On ajoute 2 ml de réactif de Wagner (0.2 g d'iodure de potassium plus 0.127 g d'iode plus 10 ml d'eau distillée) à 2 ml de chaque extrait. L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes.

4.2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L est évaluée par la méthode de dénaturation des protéines décrite par Alhakmani et *al.* (2013), avec quelques modifications. Par cette méthode, l'acide acétylsalicylique (aspirine) est un anti-inflammatoire utilisé comme anti-inflammatoire de référence.

Le test consiste en trois expériences. Dans les deux premières expériences, le mélange réactionnel est constitué de 2 ml d'extrait du lentisque (aqueux et éthanolique) à différentes concentrations (100-500µg/ml) et 2.8ml d'eau distillée ajustée à pH=6.4 avec du HCl, puis on mélange avec 2 ml d'albumine de l'œuf. On incube à 37°C pendant 15 minutes. Dans la troisième expérience, l'extrait du lentisque est remplacé par l'acide acétylsalicylique (figure14). Pour chacune des expériences, on prépare un témoin. Il est constitué de 2ml d'eau distillée à la place de l'extrait du lentisque et l'acide acétylsalicylique, 2.8ml d'eau distillée et 2ml d'albumine de l'œuf.

La dénaturation est induite en mettant le mélange réactionnel dans un bain marie chauffé à 72°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660nm en utilisant l'eau distillée comme blanc. Chaque expérience est reproduite à trois reprises en prenant comme résultat la moyenne. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine est obtenu par la formule suivante :

$\% \text{ d'inhibition} = (\text{absorbance du témoin} - \text{absorbance de l'échantillon traité}) / \text{absorbance du témoin} * 100.$

4.2.2. Analyse statistique

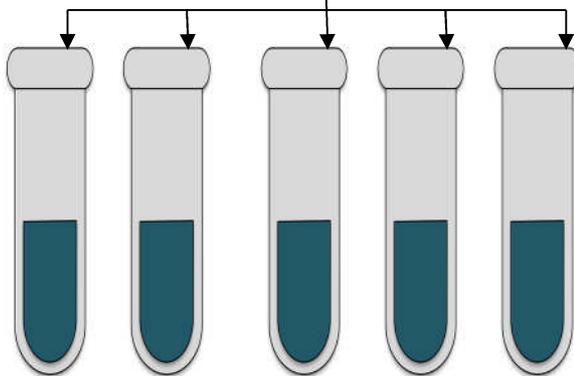
Toutes les expériences ont été réalisées en triple et les résultats ont été exprimés en moyenne plus en moins l'écart type. L'analyse statistique est réalisée par le test de STUDENT pour la comparaison des moyennes. Si :

P-value >0,05 donc pas de différence significative.

p-value < 0,05 donc il ya une différence significative(*).

Expérience 1

2ml extrait aqueux
2.8ml eau distillée à pH 6.4
2ml albumine de l'œuf



[C^{tion} (µg/ml)] 500 400 300 200 100

4.8ml d'eau distillée
2ml albumine de l'œuf

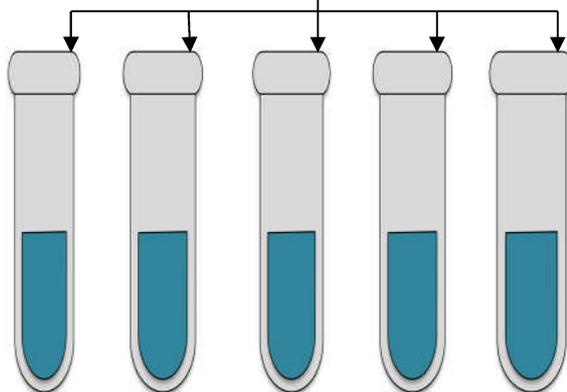


Témoin

Incubation 15min à 37°C.
Mettre 10min dans bain marie à 72°C.
Lecture au spectrophotomètre à 660nm.

Expérience 2

2ml extrait éthanolique
2.8ml eau distillée à pH 6.4
2ml albumine de l'œuf



[C^{tion} (µg/ml)] 500 400 300 200 100

4.8ml eau distillée
2ml albumine de l'œuf

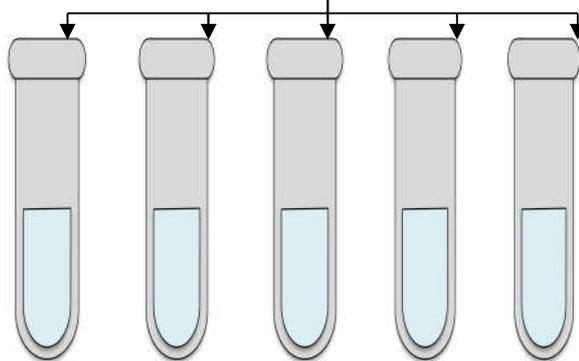


Témoin

Incubation 15min à 37°C.
Mettre 10min dans bain marie à 72°C.
Lecture au spectrophotomètre à 660nm.

Expérience 3

2ml acide acétylsalicylique
2.8ml eau distillée à pH 6.4
2ml d'albumine de l'œuf



[C^{tion} (µg/ml)] 500 400 300 200 100

4.8ml d'eau distillée
2ml d'albumine de l'œuf



Témoin

Incubation 15min à 37°C.
Mettre 10min dans bain marie à 72°C.
Lecture au spectrophotomètre à 660nm.

Figure 14 Schéma illustrant les expériences sur l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Pistacia lentiscus* L

Résultats et discussion

5. Résultats et discussion.

5.1. Détermination du taux d'extraction

La préparation d'une plante pour son emploi thérapeutique consiste en l'extraction des principes actifs au moyen de liquides. Les formes de préparation les plus courantes sont l'infusion, la décoction, la macération à froid et la poudre. Le choix du type de préparation est fonction de la plante et du respect de la qualité des principes actifs de celle-ci. Les solvants utilisés peuvent être l'eau, l'alcool, etc. le choix des solvants est fonction des constituants de la plante.

Les extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L sont obtenus par une macération. La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (Lagnika, 2005).

Le taux d'extraction de l'extrait aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* L est estimé à $17.18\% \pm 1.02$ alors que celui de l'extrait éthanolique est de $15.43\% \pm 2.82$. Ces résultats obtenus montrent qu'il y a une différence entre le taux d'extraction de l'extrait aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* L (17.18%) par rapport à celui de l'extrait éthanolique (15.43%). La différence existante entre ces deux extraits est fortement dépendante de la nature du solvant utilisé (Bushra et al., 2009; Wang, 2011 ; Kaneria et Chanda, 2012). En effet, l'extrait aqueux obtenu avec un solvant polaire (eau) a donné les proportions les plus élevées en comparaison avec l'extrait éthanolique obtenu avec un solvant apolaire (éthanol).

Ariana Bampouli et al. (2015) ont obtenu des résultats similaires avec *Pistacia lentiscus var.chia* ou les proportions des extraits polaires sont plus élevées par rapport à celles des extraits apolaires.

Une étude a montré que des facteurs extrinsèques ont une influence sur la composition et le taux d'extraction de la plante, notamment le stade de maturation de la plante, le temps de stockage, des facteurs géographiques, climatiques et génétiques (Falleh et al., 2008).

5.2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L dans le but de mettre en évidence la présence de composés phytochimiques pouvant être responsable de l'activité anti-inflammatoire de ces extraits.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, composés réducteurs, stérols et triterpènes) au niveau des feuilles de la plante étudiée, qui sont dotés d'activités biologiques intéressantes. Les différentes réactions sont illustrées en annexe 4.

Les résultats des tests phytochimiques obtenus sont repris dans le tableau IV.

Tableau IV Résultats qualitatifs du screening phytochimique

Les composés recherchés	Extraits	
	aqueux	éthanolique
Tanins	++	++
Flavonoïdes	++	+
Antraquinones libres	-	-
Anthocyanes	-	-
Saponines	++	++
Stérols et triterpènes	+	+
Terpénoïdes	+	+
Stéroïdes	+	+
Composés réducteurs	++	++
Alcaloïdes	+	+

- : absence de substance + : moyenne teneur en substance ++ : forte teneur en substance

Les résultats obtenus des tests phytochimiques des différentes préparations de feuilles de *Pistacia lentiscus* L ont révélé la richesse de cette plante en tanins, flavonoïdes, saponines, composés réducteurs, terpénoïdes, stérols et triterpènes, alcaloïdes et cela pour les deux extraits aqueux et éthanolique. Par contre, les tests des anthocyanes et des anthraquinones libres sont négatifs dans les deux extraits.

Le screening phytochimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L effectué par Bammou et al. (2014) a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques notamment, les tanins, flavonoïdes, composés réducteurs, terpénoïdes, stérols et triterpènes, anthocyanes et saponines ; et l'absence d'alcaloïdes. L'étude d'Arab et al. (2014) concernant l'analyse phytochimique des feuilles du lentisque a révélé la richesse de la plante en leuco-anthocyanes, en tanins galliques, en flavonoïdes, en saponosides, en glucosides et en alcaloïdes. Les anthocyanes et les anthraquinones ne sont pas présents

dans les feuilles. Les travaux de Beghlal et al. (2015) sur l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* L ont montré que les feuilles contiennent des métabolites secondaires tels que les leuco-anthocyanes, les tanins galliques, les tanins condensés, les saponines, les coumarines et les flavonoïdes. L'extrait est déficient en anthraquinones libres, en alcaloïdes et en anthocyanes.

Selon les travaux de Atmani et al.(2009), la plante contient une huile essentielle et fixe, une huile grasse, des glycosides flavonoïques, des anthocyanes et des triterpènes. De même, l'examen de criblage phytochimique préliminaire pour *Pistacia lentiscus* L réalisé par Hamad et al. (2011) a révélé une présence d'hydrates de carbone, triterpènes, tanins et des flavonoïdes, et une absence d'alcaloïdes, des saponines, des glucosides cardiotoniques et des anthraquinones.

Les résultats des tests phytochimiques des deux extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L obtenus dans notre étude comparés aux résultats des travaux de Arab et al.(2014) ; Bammou et al. (2014) ; Beghlal et al. (2015) ; Atmani et al. (2009) et Hamad et al. (2011) sur la composition phytochimique des extraits de feuilles du lentisque font ressortir des similitudes en composition phytochimique de ces extraits.

5.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Les plantes médicinales à propriétés anti-inflammatoires sont utilisées afin d'éviter plusieurs effets néfastes associés aux anti-inflammatoires synthétiques. De nombreuses investigations indiquent que les activités anti-inflammatoires des plantes pourraient être attribuées à leur contenu en composés phytochimiques. L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L en comparaison avec celle de l'acide acétylsalicylique est estimée par le calcul des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines.

Les structures spatiales des protéines (conformation) sont sensibles à l'environnement (chaleur, pH, force ionique, solvants etc.) et changent alors de façon irréversible de forme : dénaturation. L'albumine de l'œuf est une protéine de réserve, globulaire, soluble dans l'eau. Elle est sensible à l'élévation de la température (coagulation thermique). La formation de ponts disulfures inter ou intramoléculaires au cours du chauffage par échanges irréversibles et la polymérisation désordonnées qui en résulte conduit à une diminution de sa solubilité. Lors des syndromes inflammatoires, une hypoalbuminémie est aperçue, ce qui suppose sa dénaturation au cours de l'inflammation (Cuq, 2006).

Les résultats de l'effet inhibiteur de la dénaturation d'albumine de l'œuf en fonction des différentes concentrations d'extrait de feuilles de *P. lentiscus* L sont résumés dans le tableau V et la figure 14.

Tableau V : Effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine de l'œuf par les extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L et l'acide acétylsalicylique.

Concentration des extraits (µg / ml)	% d'inhibition extrait aqueux	% d'inhibition extrait éthanolique	acide acétylsalicylique
100	31,92 ±2,840	35 ±2,35	37,07 ±1,242
200	39,46 ±5,68	41,66 ±4,44	54,03 ±6,51
300	52,47 ±5,46	57,86 ±3,179	58,56 ±1,084
400	60,82 ±1,312	64,58 ±3,22	68,52 ±7,41
500	70,58 ±5,87	70,01 ±1,412	74,69 ±8,14

L'ajout de concentration croissante de l'extrait aqueux de la plante à la solution d'albumine empêche la précipitation de cette protéine. L'extrait aqueux aux concentrations indiquées (100, 200, 300, 400 et 500 µg/ml) montre respectivement un pourcentage d'inhibition de 31,92±2,82 ; 39,46±5,68 ; 52,47±5,46 ; 60,82±1,31 et 70,58±5,87. L'ajout de l'extrait éthanolique à la solution d'albumine aux mêmes concentrations indique des pourcentages de 35 ±2,35 ; 41,66 ±4,44 ; 57,86 ±3,179 ; 64,58 ±3,22 et 70,01 ±1,412 respectivement. L'acide acétylsalicylique présente des pourcentages de 37,07 ±1,242 ; 54,03 ±6,51 ; 58,56 ±1,084 ; 68,52 ±7,41 et 74,69 ±8,14 respectivement aux mêmes concentrations (100 ; 200 ; 300 ; 400 et 500). Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'œuf augmentent avec l'augmentation des concentrations des extraits de feuilles du lentisque. Ces résultats comparés à ceux de l'acide acétylsalicylique qui est un anti-inflammatoire révèlent que l'effet inhibiteur des deux extraits aqueux et éthanolique est dose dépendant.

L'analyse statistique des pourcentages d'inhibition de dénaturation de l'albumine de l'œuf des différents extraits par rapport à l'anti-inflammatoire de référence (acide acétylsalicylique) par le test de STUDENT a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre ces pourcentages au seuil de 5% ($p > 0.05$).

L'effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine de l'œuf par les extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L montre que les extraits aqueux et éthanolique de *Pistacia lentiscus* L ont une activité anti-inflammatoire. Celle-ci pourrait être due à la richesse de

ces extraits de *Pistacia* en composés bioactifs, principalement les flavonoïdes qui exercent une forte inhibition sur la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase (Kim *et al.*, 1998).

L'histogramme suivant récapitule les pourcentages obtenus.

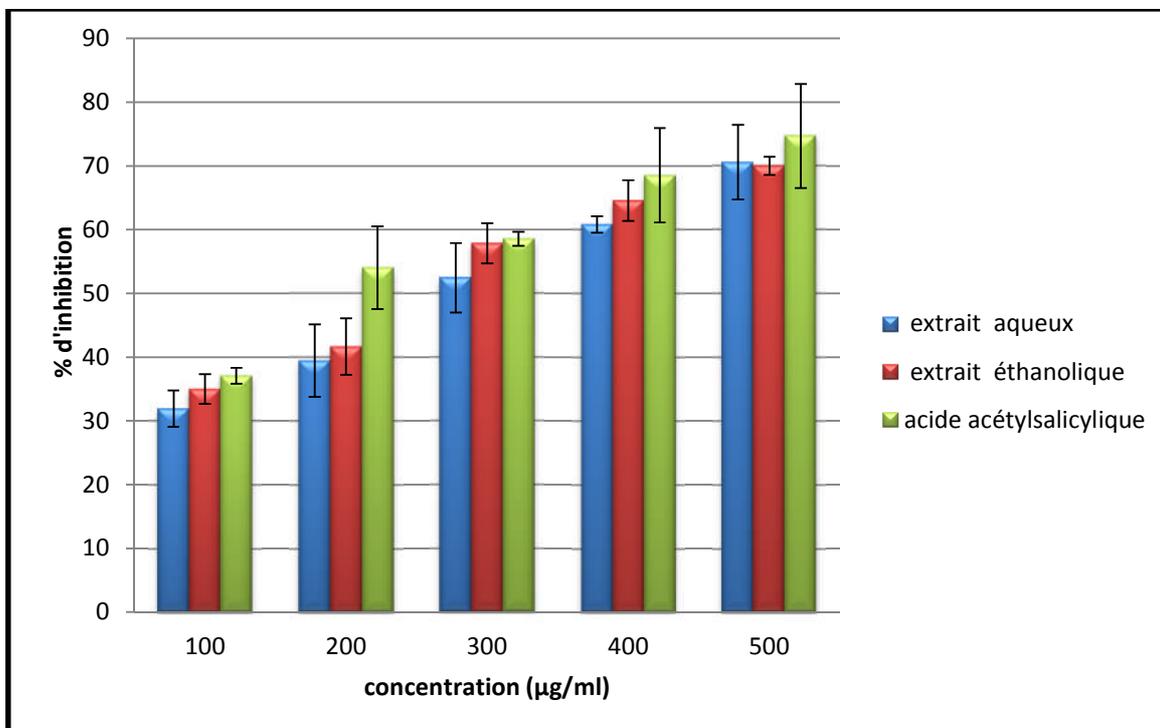


Figure 15 Histogrammes représentant les pourcentages d'inhibition des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L et ceux de l'acide acétylsalicylique

A notre connaissance, il existe peu de travaux sur l'étude *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire de feuilles de *Pistacia lentiscus* L. La plupart des travaux consultés sur cette activité biologique sont effectués *in vivo* par la méthode de l'œdème plantaire de la patte de rat.

Les résultats obtenus dans ce travail par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines sont en accord avec ceux trouvés par Remila *et al.*, 2015. D'autres études ont montré que plusieurs espèces de la famille des Anacardiaceae telles que *Mangifera indica* L (Mohan *et al.*, 2013), *Pistacia integerrima* (Abdur *et al.*, 2014), *Pistacia terebenthus* (Gier-Larza, 2001) et *Spondias mombin* L. (Cabral *et al.*, 2016) développent une activité anti-inflammatoire mais les études concernant ces plantes sont réalisés *in vivo*.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le screening phytochimique réalisé sur l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L a révélé la présence de composés d'intérêt biologique notamment les tanins, les flavonoïdes, les saponines, les stérols et triterpènes, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés réducteurs. Cependant, les anthraquinones libres et les anthocyanes n'ont été révélés dans aucun de nos extraits.

Les extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *P. lentiscus* inhibent la précipitation de l'albumine de l'œuf à des concentrations comprises entre 100 et 500µg/ml. Les pourcentages d'inhibition observés sont compris entre 31,92 ±2,82 et 74,69±8,14. L'étude statistique des pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'œuf a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre l'activité des deux extraits aqueux et éthanolique et l'activité de l'acide acétylsalicylique, considéré comme anti inflammatoire de référence.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L montre que cette plante possède un pouvoir anti-inflammatoire, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

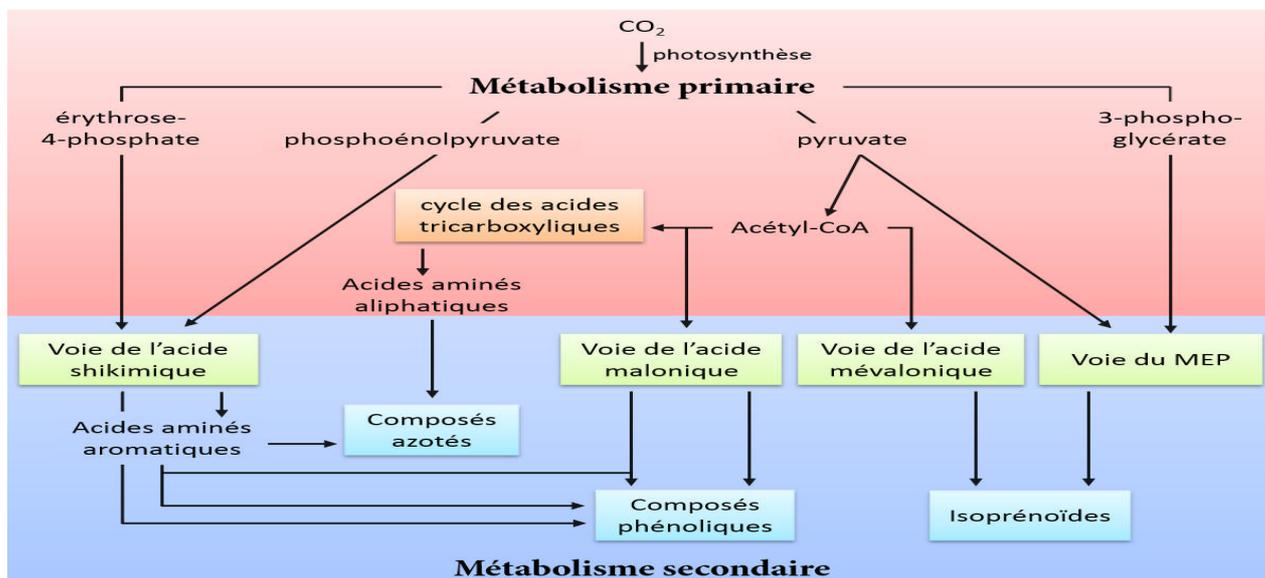
Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de cet effet anti-inflammatoire. Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination des composés actifs dans les extraits de *Pistacia lentiscus* L responsables de l'effet anti-inflammatoire et l'évaluation de leurs effets sur les médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire. Il serait aussi intéressant de compléter ce travail par l'étude d'autres activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, antioxydante, hypocholestérolémique, antidiabétique... *in vivo* et *in vitro*.

Annexes

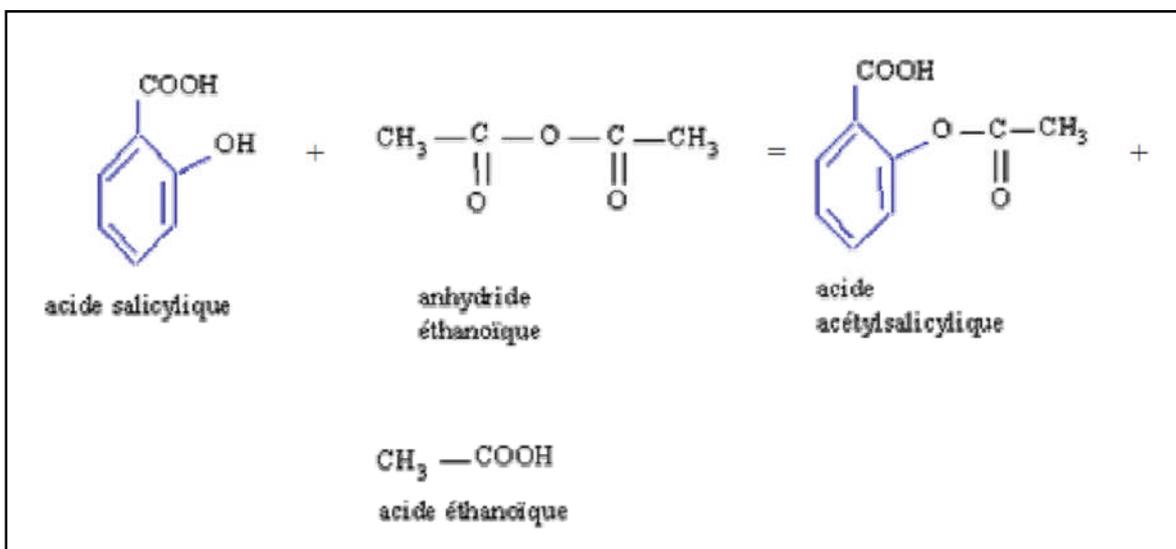
Annexes

Annexe 1 : Interrelation entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires

(Bruneton, 1993)



Annexe 2 : réaction de synthèse de l'acide acétylsalicylique (aspirine)

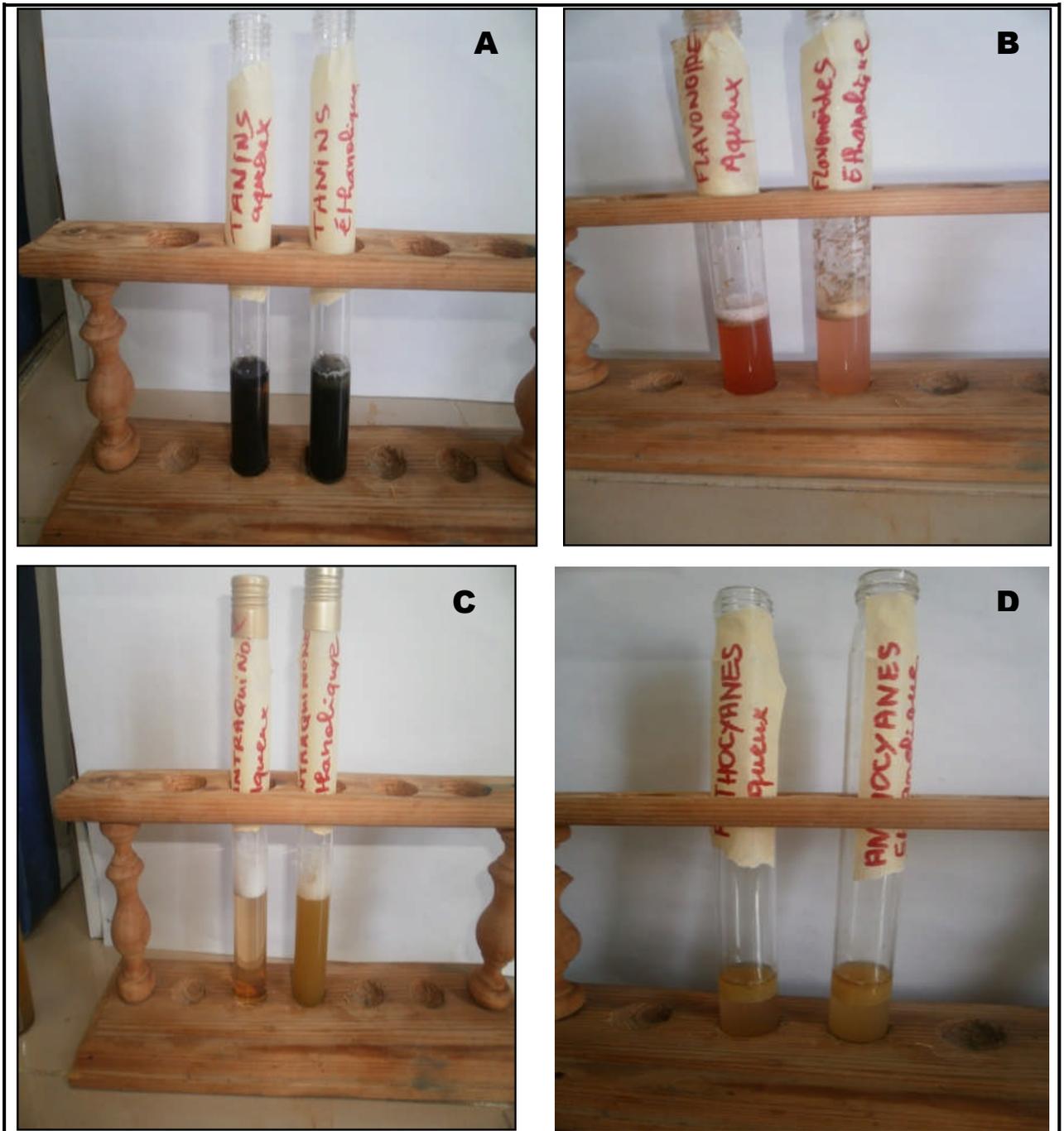


Annexe 3 : Produits et réactifs employés dans l'expérience

- Albumine de l'œuf
- Acide acétylsalicylique (aspirine)
- Acide chlorhydrique (HCL)
- Anhydride acétique
- Acide sulfurique (H₂SO₄)
- Hydroxyde d'ammonium (NH₄OH)

- Ammoniaque
- Chloroforme
- Iode (I2)
- Copeaux de magnésium
- Réactif de Mayer (Iode+Iodure de Potassium)
- Trichlorure de Fer (FeCl3)

Annexe 4 : Résultats du screening phytochimique (A : tanins, B : flavonoïdes, C : anthraquinones libres, D : anthocyanes, E : saponines, F : stérols et triterpènes, G : terpénoïdes, H : stéroïdes, I : composés réducteurs, J : alcaloïdes)





Références bibliographiques

Références bibliographiques

ABDUR R., UDDINA G., SIDDIQUI B S., KHANB A., KHANC H., ARFANA M., NAVEED M. et ABDUL W. (2014). *In-vivo* antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activity of pistagremic acid isolated from *Pistacia integerrima*. *hytomedicine* 12. Pp 1509–1515

ALHAKMANI F., KUMAR S., KHAN S A. (2013). Estimation of total phenolic content, in –vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(8). ELSIVIER. Pp623-627.

ALYAFI J. (1979). Approche systématique et écologie du genre *Pistacia* L. dans la région Méditerranéenne. Thèse de Doctorat de 3ème Cycle. Faculté des Sciences et Techniques. St Jérôme, Marseille P.

ARAB K., BOUCHNAK O. et YAHIAOUI K. (2014). Phytochemical study and evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. *journal of fundamental ans applied sciences*. ISSN 1112-9867. Pp77-91.

ATMANI D., CHAHER N., BERBOUCHA N., AYOUNI K., LOUNIS H., BOUDAUD H., DEBBACHE N., et ATMANI D. (2009). Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112. Pp 301-309.

BAMMOU M., DAUDI A., SLIMANI I., NAJEM M., BOUIAMRINE E H., IBIJBIJEN D., NASSIRI L. (2014). Valorisation du Lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences* 86 :7966-7975. ISSN1997-5902. Meknès.

BAMPOULI A., KYRIAKOPOULOU K., PAPAEFSTATHIOU G., LOULI V., s ALIGIANNIS N., MAGOULAS K., et KROKIDA M. (2015). Evaluation of total antioxidant potential of *Pistacia lentiscus* var. *chia* leaves extracts using UHPLC–HRMS. *Journal of Food Engineerin*167. pp25-31.

BARNES PJ. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94, 557-572.

BAUDOUX D. (2003). L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. Edition Amyris, p 145-146.

BEGHLAL D., CHERIF H S., BOUBEKEUR S., REBIAI N., CHAOUIA C., BEGHLAL K., ZEGHDAOUI A H., TERKMANE C. et EL BAIRI K. (2015).

Antioxidant activity, total phenolic content and chemical composition of *Pistacia lentiscus*(L.) from Algeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(9):621-632.

BELHADJ S. (2000). Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Centre Universitaire de Djelfa, Algérie.108p.

BENAISSA O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.

BENMEHDI I. (2012). Contribution à une étude phyto-écologique des groupements à *Pistacia lentiscus* du littoral de Honaine (Tlemcen, Algérie occidentale). Mémoire de Magister. Université ABOU BAKR BELKAID-TLEMCEN.

BLAIN., JOUZEAU., NETTER., JEANDEL (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Méd Interne*, 21, 978-88.

BOUKELOUA A. (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Mémoire de Master en biologie. Université MENTOURI- Constantine.

BRUNETON J. (1993). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. Technique et documentation, 2^oéd. Lavoisier,Paris.

BRUNETON J. (2009). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. Paris; Cachan : Tec & Doc Lavoisier.

BUSHRA S., FAROOQ A. et MUHAMMAD A. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14, 2167–2180. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules14062167>.

BUSSE R. and FLEMING I. (2006). Vascular endothelium and blood flow. *Handbook of Experimental Pharmacology*. N° 176. pp 43–78.

CABRAL B., EMERSON M.S., BITENCOURTB M., LIMAB M., LIMAC A K., ORTMAND C F., CHAVESD V C., FERNANDES M F., ROCHAC H A.O. et ZUCOLOTTOA S M. (2016). Phytochemical study and anti-inflammatory and antioxidant potential of *Spondias mombin* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26 304–311.

- CHEURFA M. et ALLAM R. (2015).** Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts *in vivo*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25 142–144.
- CHRYSSAVGI G., VASSILIKI P., ATHANASIOS M., KIBOURIS T. et MICHAEL K. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120-1130.
- COSTE H. (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris- Librairie des Sciences et des Arts.
- CUENDET M. (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- CUQ J L. (2006).** Biochimie des protéines. Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaire université de Montpellier. Pp6.
- DURU ME., CAKIR A., KORDALI S., ZENGIN H., HARMANDAR M., IZUMI S., HIRATA T. (2003).** Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Filoterapia*, 74: 170-176.
- FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M. et ABDELLY C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their bio-logical activities. *C. R. Biol.* 331, 372–379.
- GARDELI C., PAPAGEORGIOU V., MALLOUCHOS A., THEODOSIS K and KOMAITIS M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107, 1120-1130.
- GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI AM. (2001).** Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytotherapie-homeopathie. Tec et Doc (Ed), p 272.
- GINER-LARZA E M., MANEZ S., RECIO C., GINER R M., PRIETO J M., CERDA-NICOLAS M. et RIOS J. L. (2001).** Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *European Journal of Pharmacology* 428. 137–143.
- GRAVOT A. (2008).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.
- GROSJEAN N. (2007).** L'aromatherapie. Ed, Eyrolles, Amazon France, 334p.

- HALLIMI A. (2004).** Les plantes médicinales en Algérie. Ed, Berti, Algérie. Pp42.
- HAMAD H., IBRAHIM H., GONAIID M., et MOJAHIDUL I. (2011).** Comparative Phytochemical and antimicrobial investigation of some plant growing in Al Jabal Al Akhdar. Journal of natural product and plant resource, 3: 90-95.
- ISERIN P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed, Larousse Bordas, Milan. Pp 9-15, pp: 11-30et pp 292-297.
- KANERIA M., CHANDA S. (2012).** Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of Manilkara zapota L. (chiku) Leaves by sequential soxhlet extraction method. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4 (12), 60448-1. [http:// dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60448-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60448-1).
- KANSOLE M. (2009).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- KIM HP., MANI I., IVERSEN L. et ZIBOH V (1998).** Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 58(1), 17-24
- KIRASSIAN. C(2015).** Le cassis et la reine des près : deux plantes aux propriétés anti-inflammatoires. Thèse de doctorat. Université CLAUDE-BERNARD - LYON I (Médecine - Pharmacie).p101.
- KORDALI S., CAKIR A., ZENGİN H., and DURU M. (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Filoterapia*, 74: 164-167.
- LAGNIKA L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique des substances naturelles isolées de plantes Béninoises. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, université Louis Pasteur Strasbourg, 268p.
- LAKHANI S R., DILLY S A. and FINLAYSON C J. (2009).** *Basic pathology: an introduction to the mechanisms of disease*. London : Hodder Arnold.
- LAMNAOUER D. (2008).** *Plantes médicinales du Maroc: usages et Toxicité*. pp: 1-7. www.uae.ma (fichier pdf).
- LARKINS, N. et WYNN S. (2004).** *Pharmacognosy: Phytomedicines and their mechanisms*. Vet Clin Small Anim 34: 291-327.

- LONGO L., SCARDINO A., VASAPOLLO G. (2007).** Identification and quantification of anthocyanins in the barks of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latfo/ia* L. and *Rubia perigrina* L. *Innovative. Food Science and Emerging Technologies*, 8: 360-364.
- MOHAN CG., DEEPAK M, VISWANATHA GL., SAVINAY G., HANUMANTHARAJU V., RAJEENDRA CE. et PRAVEEN D HALEMANI. (2013).** Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of leaf extracts and fractions of *Mangifera indica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. pp311-314
- MORE D and WHITE J. (2005).** Encyclopédie des Arbres, plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, 18-24.
- MURPHY K., TRAVERS P., WALPORT M. and JANEWAY C. (2012).** *Janeway's immunobiology*. New York : Garland Science.
- NICOLAS J-F., COUSIN F., THIVOLET J. (2001).** Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. *John Libbey Eurotext*, 2001, 55-58.
- ONAY A. (2002).** Somatic embryogenesis from mature seed cultures of *Pistacia atlantica*. *Turk. J. Agric For*, 24: 465-473.
- OUELMOUHOUB S. (2005).** Gestion multi usage et conservation du patrimoine forestier : cas des subéraies du Parc Nationa d'El Kala (Algérie).
- OZENDA P. (1997).** Flore et végétation du Sahara. Ed, CNRS, Paris. Pp680.
- PALEVITCH D and YANIV Z. (2000).** Medicinal plants of the Holy Land. *Modan Publishing House*, 9-88.
- PRICHARD AJN. (2004).** The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research*, 18, 696-699.
- PRIN L., HACHULLA E., HENNACHE B., BONNOTTE B., DUBUCQUOI S., ABBAL M., FAURE G., BOULETREAU P. (2009).** Available from : http://w3med.univlille2.fr/inflammation/documents/Immuno_1.pdf
- QUEZEL P. et SANTA S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Région Désertiques Méridionales. Paris C.N.R.S., 2 volumes, 1170p.
- REMILA S., ATMANI-KILANIA D., DELEMASUREC S., CONNATB J L., AZIBA L., RICHARD T. et ATMANIA D. (2015).** Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine* 7.pp274–286.
- ROMANI A., PINELLI P., GALARDI C., MULINACCI N. et TATTINI M. (2002).** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and

anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*,13, 79-86, cite par Ljubencic et al, 2005.

SAADOUN S.N. (2002). Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* Desf. *Ssp. Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. Natural Resources Laboratory, Cité des 300 Logements, Bt. F2, No. 183, Boukhalfa, Tizi- Ouzou, Algérie. Options Méditerranéennes, Série A, N°63. p371.

SANZ M., TERCENIO M. et PAYA M. (1992). Isolation and hypotensive activity of a polymeric procyanidin fraction from *Pistacia lentiscus* L. *Pharmazie*, 47, 466-467, cite par Herrera-Arellano et al, 2004.

SCHERRER A.M., MOTTI R., WECKEERIE C.S. (2005). Traditional plant use the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento national park (compagnia, southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology* 97, 129-143.

SCHWARTZ K. (2011). *Inflammations et maladies: clés de compréhension*. Inserm, 74p.

THOMAS O.P. (2009). Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Université Nice Sophia Antipolis.

TOMÁS-BARBERÁN F.A. (2001). The Handbook of Natural Flavonoids, 2 volume set, Edited by J.B. Harborne FRS and H. Baxter. Wiley, Chichester, 1999, 1838 pp. £595.00, ISBN 0 471 95893 X. *Phytochemical Analysis*. 1 May 2001. Vol. 12, no. 3, p. 214–214.

TREASE E. et EVANS W C. (1987). Pharmacognosie, Billiaire Tindall, London. 13th Ed, pp: 61- 62.

VERCAUTERN J. (1996). Polyphénols 96. INRA, Paris, pp: 31-43.

VERDÜ M. and GARCIA-FAYOS P. (2002). Reproductive Ecology of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae): An evolutionary anachronism in the Mediterranean shrubland. *Rev. Chil. Hist. Nat.*75, 57-65.

Wang Z. (2011). Extract of phenolics from pomegranate peels. *Open Food Sci. J.* <http://dx.doi.org/10.2174/1874256401105010017>.

WYNN S G. and FOUGÈRE B. (2007). *Veterinary Herbal Medicine*. Elsevier Health Sciences, Chapter 19, p. 275-290.

YAHIA M. (1992). La thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie, Ain Taya, p59.