

**UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

**THESE DE DOCTORAT TROISIEME CYCLE**

En Biologie

Spécialité : Biologie et santé

EXTRACTION, CARACTERISATION ET IDENTIFICATION DE QUELQUES  
METABOLITES SECONDAIRES DU LENTISQUE (*Pistacia lentiscus*) ET ETUDE DE  
LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

Par

**HEMMA Rym**

Devant le jury composé de :

F.Z. kara Toumi	Professeur, A U. de Blida 1	Présidente
N. Smail Saadoun	Professeur, A U.M.M. de Tizi Ouzou	Examinatrice
S. Ouarab	Maitre de conférence A, U. de Blida	Examinatrice
S. Belhadj	Professeur, A U. Ziane Achour de Djelfa	Promotrice
F. Saidi	Professeur, A u. de Blida 1	Co-Promotrice

Blida, 2019

## TABLE DE MATIERES

RESUME	01
ABSTRACT	02
الملخص	03
REMERCIEMENTS	04
TABLE DES MATIERES	06
LISTE DES FIGURES	07
INTRODUCTION	09
1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	12
1.1. Etude botanique de la plante étudiée <i>Pistacia Lentiscus</i>	11
1.2. Etude chimique de <i>Pistacia Lentiscus</i>	15
1.3. Activités biologiques	23
1. MATERIEL ET METHODES	23
2.1. Matériel d'étude	23
2.1.1. Matériel non biologique	23
2.1.2. Matériel végétal	23
2.1.3. Matériel animal	24
2.2. Méthodes	24
2.2.1. Identification botanique	24
2.2.2. Etude botanique	25
2.2.3. Etude phytochimique	26
2.2.4. Etudes des activités biologiques	37
2. RESULTATS ET DISCUSSION	49
3.1. Résultats de l'étude botanique	49
3.2. Résultats de l'étude phytochimique	52
3.3. Résultats de l'étude des activités biologiques	67
3.3.1. Résultats de l'activité antibactérienne	67
3.3.2. Résultats de l'activité antifongique	70

3.3.4. Résultats de l'activité anti-inflammatoire	71
3.3.5. Résultats de l'activité antalgique	74
3.3.6. Résultats de l'activité antipyrétique	76
CONCLUSION	81
APPENDICES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

## RESUME

La présente étude porte sur l'évaluation des activités biologiques de, l'huile essentielle et des extraits méthanoliques de *Pistacia lentiscus*. L'extraction par hydrodistillation des feuilles de *Pistacia lentiscus* nous a permis d'obtenir une huile essentielle avec un faible rendement de l'ordre de 0.06%. l'analyse de l'huile essentielle par CG/MS nous a permis d'identifier 46 composants dont les constituants majeurs sont :  $\delta$ -cadinene (13,60%), Trans-caryophyllene (11,25%), Germacrene-d (8.54%), t- muurolol (6.27%),  $\alpha$ -cadinene (5.04%),  $\alpha$ -cadinol (4.97%),  $\alpha$ -muurolene (3.08%), Caryophyllene oxide (2.43%), Cadina-1-4 diene (2.23%). Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de flavonoïdes, tanin, saponines et de stérols et triterpènes. Le dosage des polyphénols totaux a révélé des teneurs de l'ordre de  $323,5 \pm 0,2$  mg Eq AG / g ES pour les feuilles et de  $318,99 \pm 1,02$  mg Eq AG / g ES pour le fruit. Pour flavonoïdes, la teneur est estimée à  $46.78 \pm 0.01$  mg Eq QE/ g ES pour les feuilles et  $30.13 \pm 0,04$  mg Eq QE/ g ES pour le fruit. Le dosage des tannins a révélé des teneurs de  $359,83 \pm 2,12$  mg Eq CAT/ g ES pour les feuilles et de  $294,83 \pm 1,02$  mg Eq CAT/ g ES pour le fruit. L'analyse des extraits par HPLC nous a permis d'identifier : l'acide quinique, l'acide syringique, les dérivés galloyls de l'acide quinique, la quercétine, la myricétine et le kaempférol. Les extraits méthanoliques ont montrés une activité antioxydante considérable. Les IC<sub>50</sub> du test DPPH sont comprises entre 0.12mg/ml pour les feuilles et 0.26 mg/ml pour le fruit, pour le test FRAP les IC<sub>50</sub> sont de l'ordre de 0.20 mg/ml pour les feuilles et 0.16 mg/ml pour le fruit. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur 12 souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et 5 levure, les résultats montre que l'ensemble des souches à Gram (-) est moins sensible voire résistant aux extraits méthanoliques et l'huile essentielle ; par contre les souches à Gram (+) sont sensibles dont les diamètres varient entre 13 et 27 mm.

Les résultats des activités in vivo des extraits méthanoliques et les décoctés des feuilles et de fruits de *Pistacia lentiscus* a montré que ces derniers étaient efficace en tant qu'anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique.

**Mots clés:** *Pistacia lentiscus* ; Huiles essentielles; CG/MS ; Composés phénoliques; Activité biologique.

## ABSTRACT

The present study focuses on the evaluation of the biological activities of the essential oil and methanolic extracts of *Pistacia lentiscus*. The hydrodistillation extraction of *Pistacia lentiscus* leaves allowed us to obtain an essential oil with a low yield (0.06%). The analysis of the essential oil by GC / MS allowed us to identify 46 components whose major constituents are:  $\delta$ -cadinene (13.60%), Trans-caryophyllene (11.25%), Germacrene-d (8.54%), t-muurolol (6.27%),  $\alpha$ -cadinene (5.04%),  $\alpha$ -cadinol (4.97%),  $\alpha$ -muurolole (3.08%), Caryophyllene oxide (2.43%), cadina-1-4 diene (2.23%). Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, tannin, saponins and sterols and triterpenes. The determination of total polyphenols revealed levels of the order of  $323.5 \pm 0.2$  mg Eq AG / g ES for the leaves and  $318.99 \pm 1.02$  mg Eq AG / g ES for the fruit. For flavonoids, the content is estimated at  $46.78 \pm 0.01$  mg Eq EQ / g ES for the leaves and  $30.13 \pm 0.04$  mg Eq EQ / g ES for the fruit. The tannin assay showed  $359.83 \pm 2.12$  mg Eq CAT / g ES for the leaves and  $294.83 \pm 1.02$  mg Eq CAT / g ES for the fruit. HPLC analysis of the extracts helped to identify: quinic acid, syringic acid, galloyl derivatives of quinic acid, quercetin, myricetin and kaempferol. The methanolic extracts showed considerable antioxidant activity. The IC<sub>50</sub> values of the DPPH test are between 0.12 mg / ml for the leaves and 0.26 mg / ml for the fruit. For the FRAP test, the IC<sub>50</sub> values are 0.20 mg / ml for the leaves and 0.16 mg / ml for the fruit. The antimicrobial activity was determined on 12 bacterial strains (Gram + and Gram-) and 05 yeast, the results show that all strains Gram (-) are less sensitive or resistant to the methanolic extracts and the essential oil; on the other hand Gram (+) strains are sensitive whose diameters vary between 13 and 27 mm.

The results of the in vivo activities of *Pistacia lentiscus* methanolic extracts and decoctions showed that these extracts were effective as anti-inflammatory, analgesic and antipyretic.

**Key words:** *Pistacia lentiscus*; Essential oils; GC / MS; Phenolic compounds; Biological activities.

## الملخص

النباتية الطبيعية تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية والزيوت الأساسية التي تملك قدرات مضادة للأكسدة وتمنع الكائنات الدقيقة. الهدف من هذا البحث هو دراسة الخصائص المضادة للميكروبات والمضادة للأكسدة و خصائص بيولوجية أخرى للزيوت الأساسية والمستخلصات الميثانولية المستخرجة من النبتة الطبية الضرو *Pistacia lentiscus* ، التي تستخدم بشعبية كبيرة في الجزائر لخصائصها العلاجية. أعطى مردود الزيوت الأساسية المستخرجة من أوراق الضرو نسبة 0.06%. اظهرت نتائج تحليل الزيت الأساسي عن طريق GC/MS وجود 46 مكون، منهم 09 عناصر رئيسية :  $\delta$ -cadinene (13,60%), Trans-caryophyllene (11,25%),  $\alpha$ -cadinol (4.97%), t- muurolol (6.27%),  $\alpha$ -cadinene (5.04%), Germacrene-d (8.54%),  $\alpha$ -muurolene (3.08%), Caryophyllene oxide (2.43%), Cadina-1-4 diene (2.23%)

التحاليل الكيميائية اظهرت العديد من المركبات الثانوية الفعالة الفلافونات ، الصابونين، التانينات، الستيروول و التربينات الثلاثية . كشف تحديد البوليفينول الإجمالي تركيزات في الترتيب من  $0.2 \pm 323.5$  ملغ في غرام من النبتة اليابسة للأوراق و  $1.02 \pm 318.99$  ملغ في غرام من النبتة اليابسة للثمار. يقدر تركيز الفلافونات  $0.01 \pm 46.78$  ملغ في غرام من النبتة اليابسة بالنسبة للأوراق و  $0.04 \pm 30.13$  ملغ في غرام من النبتة اليابسة بالنسبة للثمار. تركيز التانينات كان يقدر ب  $2.12 \pm 359.83$  ملغ في غرام من النبتة اليابسة بالنسبة للأوراق و  $1.02 \pm 294.83$  ملغ في غرام من النبتة اليابسة للثمار. تحليل المستخلصات الميثانولية بتقنية HPLC مكننا من تحديد: حمض الكينيك ، حمض سيرينجيك، مشتقات من حمض الكينيك، الكيرسيتين، الميرسيتين و الكمبرول. كما أظهرت هذه المستخلصات نشاط مضادة للأكسدة فعال حيث تتراوح تركيزات 50 بالمئة بطريقة DPPH بين  $0.12$  مغ/مل للأوراق و  $0.26$  مغ/مل للثمار. اما في اختبار FRAP تركيزات 50 بالمئة كانت من  $0.20$  مغ/مل للأوراق و  $0.16$  مغ/مل للثمار. وقد تم تحديد نشاط مضادات الميكروبات علي 12 سلالة بكتيرية (غرام + وجرام-) و 5 خمائر ، وتظهر النتائج أن جميع السلالات غرام (-) هي اقل عرضه أو مقاومه للمستخلصات الميثانولية والزيوت الاساسية ؛ من ناحية أخرى شاط مضاد للجراثيم كان فعال ضد سلالات البكتيريا غرام (+) حيث تراوحت أقطار تثبيط النمو بين 13 إلى 27 ملم. أظهرت نتائج الأنشطة في الجسم الحي أن مستخلصات أوراق و ثمار الضرو كانت فعالة كمضاد للالتهابات ، مسكن للألم وخافض للحرارة.

**الكلمات المفتاحية :** الضرو، الزيوت الأساسية، GC/MS، المركبات الفينولية، الخصائص البيولوجية

## REMERCIEMENT

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mm Belhadj Safia Professeur a l'université Ziane Achour de Djelfa pour avoir encadré et dirigé ce travail. Quelle trouve ici mes sentiments de gratitude et de déférence.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Mm Saidi Fairouz, qui a eu la gentillesse de codiriger ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils ses orientations précieuses.

Je dois toute ma reconnaissance à Mm Kara Toumi pour avoir accepté de présider ce jury et pour toute l'aide qu'il m'a apportée.

J'exprime mes profonds remerciements à Mm Smail Saadoune et à Mm Ouarab pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail et de participer à ce jury.

Un grand merci est adressé à toutes les personnes du complexe Antibiotical de Médéa – Groupe Sidal en particulier Mm Neggab Imene responsable du laboratoire pharmacotoxicologie

J'exprime mes vifs remerciements à monsieur le professeur Ksouri Riad responsable du laboratoire des plantes aromatique et médicinales au Centre de Biotechnologie de Bordj Cedria (CBBC) en Tunisie pour sa contribution et son aide.

Particulièrement je remercie Mr Benaliouet Yacine coordinateur du laboratoire hématologie du centre anti cancer de Blida qui m'a permis de poursuivre mes études tout en exerçant ma profession, pour cela je lui en serais toujours gré.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail. Je ne saurais remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail sans citer les noms.

## DEDICACE

Je dédie ce manuscrit

A ma famille, tout particulièrement mes parents pour leur Soutien, leur amour et leur sagesse, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leurs soutien tout au long de mes études

A mon mari pour sa patience, sa gentillesse et son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles et à mon fils RACIM pour la joie qu'il nous procure. Je vous aime de tout mon cœur.

A ma belle famille, surtout ma belle mère et mon beau père – mes seconds Parents, pour leurs encouragements

À mes frères, pour leur présence de tous les instants, leur sympathie et leurs encouragements qu'ils m'ont apporté.

A ceux que j'aime et qui sont chers à mon coeur  
En témoignage d'une profonde affection et d'une forte sympathie

***RYM***



## LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Illustration des différentes parties aériennes de <i>P. lentiscus</i> .	13
Figure 1.2	Illustration représentant les fleurs et les fruits de <i>P. lentiscus</i> .	13
Figure 1.3	Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> .	14
Figure 2.1	Localisation de la station d'étude.	24
Figure 2.2	Protocole expérimental d'extraction des composés polaire et apolaire par soxhlet.	31
Figure 2.3	Hydrodistillation des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> : Montage d'hydrodistillation (Dispositif Clevenger).	35
Figure 3.1	Coupe transversale de la tige de <i>P. lentiscus</i> (X100).	49
Figure 3.2	Détails des éléments conducteurs de la tige de <i>P. lentiscus</i> (X400).	49
Figure 3.3	Détails de la poche sécrétrice de la tige de <i>P. lentiscus</i> (X400).	50
Figure 3.4	Coupe transversal de la feuille de <i>Pistacia lentiscus</i> (X 400).	50
Figure 3.5	coupe transversale de la feuille de <i>P. lentiscus</i> qui montre les vaisseaux conducteur au niveau de la nervure principale.	51
Figure 3.6	Teneur en polyphenols de l'EMF et/ou l'EMFR de <i>P.lentiscus</i> .	54
Figure 3.7	Teneur en flavonoïdes de l'EMF et/ou l'EMFR de <i>P.lentiscus</i> .	55
Figure 3.8	Teneur en tannins de l'EMF et/ou l'EMFR de <i>P.lentiscus</i> .	56
Figure 3.9	Figure 3.9: Chromatogramme de la fraction volatile de <i>P.lentiscus</i> extraite par entraînement à la vapeur et analysée par CG-MS.	64
Figure 3.10	Pouvoir antioxydant des extraits methanolique de <i>P. leniscus</i> exprimés en pourcentage d'inhibition.	57
Figure 3.11	Réduction du fer des extraits méthanoliques de <i>P. lentiscus</i> et du contrôle (AA)	59
Figure 3.12	Pourcentage de réduction de l'œdème à la 4ème heure des souris recevant différents extraits de <i>P. lentiscus</i>	74
Figure 3.13	Pourcentage de réduction des crampes à la 4ème heure des souris recevant différents extraits de <i>P. lentiscus</i> .	76
Figure 3.14	Pourcentage de réduction de la température à la 4ème heure des rats recevant différents extraits.	79

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	utilisation de <i>Pistacia lentiscus</i> en médecine traditionnelles.	15
Tableau 2.1	Caractéristiques géographique de la station d'étude.	23
Tableau 2.2	Origine des microorganismes testés.	38
Tableau 2.3	Origine des levures testées.	40
Tableau 3.1	Résultats de la teneur en eau chez <i>Pistacia lentiscus</i> L.	52
Tableau 3.2	Résultat de la caractérisation colorimétrique des métabolites secondaires de <i>Pistacia lentiscus</i> .	53
Tableau 3.3	Rendement des extraits méthanoliques.	53
Tableau 3.4	Composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .	62
Tableau 3.5	Composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .	62
Tableau 3.6	Rendement en HE de <i>P. lentiscus</i> .	63
Tableau 3.7	Composants chimique de l'H.E des feuilles de <i>P. lentiscus</i> .	65
Tableau 3.8	Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques de <i>P. lentiscus</i> .	68
Tableau 3.9	Résultat de l'activité antifongique des extraits méthanoliques des feuilles et fruits de <i>P. lentiscus</i> .	70
Tableau 3.10	EC 50 des extraits méthanoliques (Test DPPH)	57
Tableau 3.11	EC 50 des extraits méthanoliques (Test FRAP)	59
Tableau 3.12	Effet anti-inflammatoire des extraits de feuilles de <i>P. lentiscus</i> .	73
Tableau 3.13	Effet anti-inflammatoire des extraits de fruits de <i>P. lentiscus</i> .	73
Tableau 3.14	Effet antalgique des extraits de feuilles de <i>P.lentiscus</i> .	75
Tableau 3.15	Effet antalgique des extraits de fruits de <i>P.lentiscus</i> .	75
Tableau 3.16	Effet antipyrétique des extraits de feuilles de <i>P. lentiscus</i> .	77
Tableau 3.17	Effet antipyrétique des extraits de fruits de <i>P. lentiscus</i> .	78



## INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toute sorte de maladies.

Il y'a, approximativement, 500 000 plantes sur terre, 100 000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales attribuées 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.

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments, Il a été évalué qu'environ un quart de médicaments prescrits contient des extraits de plantes ou des principes actifs obtenus à partir des constituants chimique des plantes comme les glucosides (Anti cholinergiques), des alcaloïdes d'Opium (analgésiques), l'artémisinine (Anti malaria), la quinine (antiparasite), taxol (antinéoplasique), vincristine et vinblastine (antinéoplasique) [1].

*Pistacia lentiscus* L. est une espèce médicinale. Cet arbuste des maquis de toute la région méditerranéenne, se développe sur tout type de sol, dans l'Algérie Subhumide et semi-aride. *P.lentiscus* est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité [2].

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et de l'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère [3]. La partie aérienne de *P. lentiscus* est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques [3]; [4]; [5]; [6]. Les feuilles sont pourvues d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante[7]; [8]; [9]. Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, les infections buccales, les diarrhées, les lithiases rénales, la jaunisse, les maux de tête et de l'estomac, les ulcères, l'asthme et les problèmes respiratoires [7]; [10]; [11];[12];[13]; [14]. La résine (Mastic)obtenue de *P. lentiscus* est connue par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique [15]; [9]; [16]; [17], Par conséquent, cliniquement, le mastic est souvent cité comme un remède efficace

contre certaines maladies telles que l'asthme, la diarrhée, les infections bactériennes, les ulcères gastro-dodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire [17]. La résine de *P.lentiscus* a été traditionnellement considérée comme un agent anticancéreux, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de l'estomac, de la rate, et de l'utérus [15]. Ces croyances traditionnelles sont en accord avec de récentes études montrant que le mastic de Chio induit l'apoptose et dispose d'action anti-proliférateur contre les cellules cancéreuses du côlon [16].

Du fruit comestible de cette espèce est extraite une huile qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savon. En Algérie, l'huile est produite traditionnellement à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Milia, Skikda), où l'espèce est abondante. Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, des plaies et des brûlures légères [13]. La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac [11]. Dans ce contexte, l'objectif de notre travail et de notre laboratoire de recherche Biotechnologie Environnement et Santé est d'étudier la composition phytochimique et les activités biologiques de *Pistacia lentiscus*, de la région de Blida, afin d'apporter une explication scientifique à l'utilisation traditionnelle de cette plante par la population.

Ainsi cette étude est organisée en plusieurs parties:

Dans la première partie nous rappelons brièvement la description de l'espèce végétales : Aspects botanique, biologique, chimique et pharmacologique spécifiques à la famille (Anacardiaceae), le genre *Pistacia* et de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

La seconde partie traite en deux chapitres la partie expérimentale:

- Extraction et caractérisation des huiles essentielles et des composés phénoliques.
- Etude des activités biologique de *Pistacia lentiscus* L.

La troisième partie est consacrée à la description et la discussion des résultats obtenus. La fin de la thèse est réservée aux références bibliographiques.

## CHAPITRE 1

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 1.1. Etude botanique de la plante étudiée

##### 1.1.1. Etude caractéristique du genre *Pistacia*

La famille des Anacardiaceae comprend 600 espèces réparties en 70 genres dont le genre *Pistacia*. Les Anacardiaceae sont en général des arbres ou des arbustes aromatiques fournissant une riche variété de baumes, de résines, d'oléorésine. Quelques espèces comme la mangue, les noix de cajou ou les pistaches en sont les plus connues.

Le genre *Pistacia*, monographie pour la première fois par ZOHARY en 1952, comprend onze espèces. Son aire est discontinue et compte quatre régions phytogéographiques : Méditerranéenne, irano-touranienne, sino-japonaise et mexicaine [18], [19].

Dans le bassin méditerranéen, on trouve à l'état spontané, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia khinjuk*, *Pistacia atlantica* et *Pistacia vera*. Cette dernière est originaire de l'Iran et de l'Inde et est cultivé pour ses fruits (pistache). Nous en retrouvons trois espèces spontanées sur tout le littoral Algérien ainsi que dans les régions du sublittoral, et jusqu'à l'Atlas Saharien: *P.lentiscus* Linné, *P. terebinthus* Linné et *P. atlantica* Desfontaines [20]. La taxonomie du genre est décrite ci-dessous par QUEZEL et SANTA [20] :

Règne	végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Sous famille	Rhoidées
Genre	<i>Pistacia</i>

BELHADJ, 2007 [21] rapporte que la classification botanique du genre *Pistacia* a subi plusieurs remaniements, la plus récente est celle établie par DOBIGNARD et CHATELAIN, 2013 [22] qui ont rapporté une classification remaniée au niveau de la **classe** (*Magnoliopsida*) et de l'**ordre** (*Sapindales*).

#### 1.1.2. Etude caractéristique de l'espèce *Pistacia lentiscus*

*Pistacia lentiscus* L. (Lentisque) a été décrit pour la première fois par le botaniste Linné en 1753 [18]. C'est un petit arbre spontané à feuilles persistantes, qui pousse dans les garrigues et les maquis des climats méditerranéens [20]. Il est connu des populations locales sous différentes appellations : *Akind* en Albanie, *Drou* en Arabe, *Thimidikth* en kabyle, *lentisque* en Français, *lentisco* en Espagnol, *lentischio* en Italien et *ochinis* en Grec.

Le lentisque est un arbrisseau à odeur résineuse forte, pouvant atteindre 3 mètres de haut, son système racinaire est puissant et bien développé, s'accrochant sur les pentes rudes et les terrains rocheux, c'est un couvre sol idéal [23]. Il a un port buissonnant et arrondi, son écorce d'un brun rougeâtre est lisse puis écailleuse. Son feuillage est persistant, vert, pouvant virer légèrement au rouge. Les feuilles composées, étroites et coriaces, sont paripennées [24]. Le fruit est une petite drupe arrondie d'environ 5 millimètres qui mûrit à partir du mois d'Aout. D'abord rouge, elle devient ensuite noire (figure 1.1). La graine est identique aux pistaches, mais beaucoup trop petite pour être consommée.

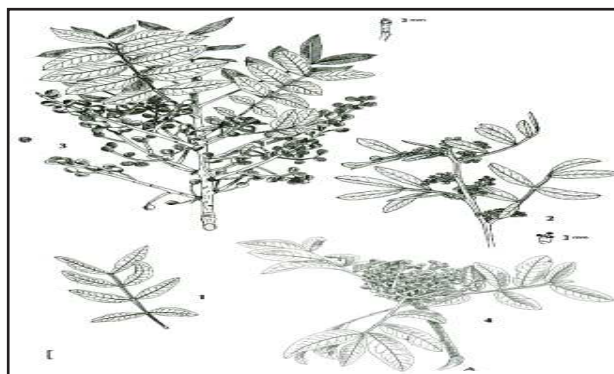


Figure 1.1 : Illustration des différentes parties aériennes de *Pistacia lentiscus*:  
 1- Feuilles persistantes composées, alternes a pétiole étroitement ailé ; 6 a 12 folioles petites (nombre paire) disposées en 2 rangées, coriaces, sans poils, luisante dessus, pales et mates dessous. 2- Fleurs petites, verdâtres, en grappe spiciformes latérales, dense ; pédicelles et bractéoles très courts ; calice petit, brun. 3- Drupes petites (de la taille d'un pois), de forme ovoïde, apiculées au sommet, presque sèches, d'abord rouges puis noires à maturité [02]



Figure 1.2: Illustration représentant les fleurs [A], les fruits [B] de *Pistacia lentiscus* (original, Avril 2013, Beni Ali, Chréa, Blida)

### 1.1.3. Répartition géographique de *Pistacia lentiscus*

*Pistacia lentiscus* est largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, notamment dans les régions ensoleillées à basse altitude, et



constitue, avec les myrtes et les cistes, d'immenses broussailles appelées maquis. C'est une espèce thermophile très vigoureuse prospérant dans tous les terrains secs et arides et sur les sols en friches où sa souche repousse abondamment et drageonne facilement [24], [25], [26], [27]

Le lentisque se rencontre dans toutes les parties chaudes de la méditerranée de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'au Canaries [28], [29].

En Algérie, son aire s'étend d'Est en Ouest en pénétrant jusqu'aux régions sub-sahariennes (Figure 1.3). Le lentisque est souvent associé à l'olivier. La plante a une odeur aromatique typique des maquis méditerranéens. Il joue un rôle fondamental dans l'entretien des écosystèmes à risque naissant de désertification en raison de sa forte résistance à la sécheresse, à l'érosion et aux incendies qui ravagent les maquis. Il est connu comme indicateur des sols argileux [30].



Figure 1.3 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* autour du bassin méditerranéen [31].

#### 1.1.4. Utilisation en médecine traditionnelle

*Pistacia lentiscus* constitue une source importante de substances actives, en effet, plusieurs parties de cette plante (les fruits, les écorces et les feuilles) (Tableau1.1) sont utilisées en médecine traditionnelle depuis la civilisation grecque [32], [33], [34].

Tableau 1.1 : utilisation de *Pistacia lentiscus* en médecine traditionnelles.

Région	Parties utilisées	Utilisations traditionnelles	Références
Algérie	Feuilles	Astringent, Maux d'estomac, ulcère, troubles intestinaux,	[34]
Grèce	Résine et Partie aérienne	Maux d'estomac, ulcère, troubles intestinaux, inflammation hépatique, maladies dentaires, diabète, hypercholestérolémie, diurétique, stimulant, hypertension, calculs rénaux, jaunisse, toux, maux de gorge et eczéma.	[33],[35], [36],[37]
Iraq	Résine	Douleurs abdominales	[38]
Iran	Résine	problèmes bucco-gingivaux, hepatoprotecteur, maladies gastro-intestinales	[26],[39],[40]
Italie	Feuilles	Maux de dents, mycose, herpès, douleur abdominale et intestinale, rhumatisme, antiseptique, cicatrisant, expectorant et astringent	[41],[42].
Jordanie	Feuilles et Résine	Jaunisse et Maux d'estomac	[43],[44].
Maroc	Feuilles et écorce	Maladie digestive et Analgésique	[45],[46]
Portugal	Racines, Graines, Tige et Partie aérienne	Antiseptique, anti odontalgique, Antirhumatismal, Antiseptique buccal et Hypertension	[46],[47]
Espagne	Fruits, Feuilles et Embryon	Grippe, Dermatophytose et Verrues	[48],[49],[50]
Tunisie	Fruits	Utilisation comestible, condiment, gale, Rhumatisme et antidiarrique	[51]
Turquie	Feuilles	Eczéma, diarrhée, infections de gorge, paralysie, calculs rénaux, Jaunisse, asthme, maux d'estomac, astringent, anti-inflammatoire, antipyrétique et stimulant	[52]

## 1.2. Etude chimique de *Pistacia lentiscus*

Comme d'autres plantes du genre *Pistacia*, le lentisque contient des centaines, voire des milliers de substances chimiques actives. L'analyse phytochimique des différentes parties a fait l'objet de nombreuses études via la composition des feuilles en composés phénoliques à savoir les acides phénoliques notamment l'acide gallique et ses dérivés glycosylés, les flavonoïdes dont les flavones (luteoline) [53] ; [54], (le tricine et chrysoérol), les flavonols (le myricétine, la

quercétine et le kaempférol), des hétérosides (l'orientine, l'isoorientine, la vitexine et la rutine) et des anthocyanines (delphinidin 3-O-glycoside et cyaniding 3-O-glucoside) [33] ;[55], mais aussi en tannins [26] ;[56]; [57]. En outre, il a été rapporté que les parties aériennes sont extrêmement riches en monoterpènes, en huiles essentielles, citons myrcene,  $\alpha$ -pinene, Terpinen-4-ol, limonène, longifolene,  $\beta$ -caryophellene, D-germacrene,  $\delta$ -caryophyllene,  $\delta$ -cadinène,  $\alpha$ -cadinol,  $\beta$ -bisabolene,  $\beta$ -bourbonène et oxide de caryophyllène [58] ; [59], mais aussi  $\beta$ -pinène,  $\alpha$ -phellandrène, sabinène, para-cymène et  $\gamma$ -terpinène [33] ;[58] ;[60] ;[61] ; [62] ;[63].

De même, les fruits sont riches en tannins, en monoterpènes (myrcène ,  $\alpha$ -pinène et limonène) [64] ;[58] , en flavonoïdes et les dérivés de galloyl incluant galloyl-glucosides, ellagitannins et acide galloyl-quinic [27], en acides phénoliques, notamment l'acide gallique [26]. On trouve aussi les acides gras insaturés comme l'acide oléique et linoléique [34].

La résine d'odeur forte, en forme jaune qui est obtenue par incision du tronc [58] ; [65] ; [66] est formée de 80 à 90% d'acide mastique et de 10 à 20% de masticine [24]. L'huile essentielle de mastic est un liquide incolore, d'odeur balsamique très prononcée, cette essence est formée principalement de  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -cymène [58] ; [67] et triterpenoïdes [68].

### 1.3. Activités biologiques

#### 1.3.1. Effet antimicrobien

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes [69].

Les 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 adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [70].

### 1.3.2. Les principales substances antimicrobiennes

#### 1.3.2.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques [71].

#### 1.3.2.2. Les composés d'origine végétale

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) [72].

#### 1.3.3. Activité antioxydante

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable et capable d'atténuer l'oxydation de ce substrat [73].

#### 1.3.3.1. Les radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se produire dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les

autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

Par définition, un radical libre est tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire), sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (pour former une liaison chimique) [74] ;[75].

L'appellation espèces oxygénées réactives (EOR) inclut les radicaux libres de l'oxygène ou radicaux primaires (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc...) mais aussi certains dérivés réactives non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que l'oxygène singulier, le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite peuvent être des précurseurs de radicaux libres [76].

#### 1.3.3.2. Les antioxydants

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé. Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été questionnés au cours des dernière années et la nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes médicinales, est apparente. Le maintien d'un niveau non cytotoxique des espèces oxygénées réactives est assuré par des systèmes d'antioxydants.

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [77].

### 1.3.4. Rappel pharmacologique

#### 1.3.4.1. L'inflammation

##### 1.3.4.1.1. Définition

L'inflammation est la réponse de l'organisme face à une agression suite à un traumatisme, une brûlure, une irradiation ou à la pénétration d'agents pathogènes extérieurs (virus, bactéries, parasites, antigènes) [78], le rôle de cette réponse inflammatoire est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre au plus vite la réparation des tissus. Elle permet donc de maintenir l'intégrité du « soi » [79].

La réaction inflammatoire est diagnostiquée par quatre signes cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, la douleur et l'oedème. Mais elle peut aussi entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante en cas de persistance de la réaction inflammatoire [80].

##### 1.3.4.1.2. Mécanismes de l'inflammation

Classiquement, les mécanismes de l'inflammation peuvent être groupés selon la Séquence et les manifestations cellulaires et tissulaires successives suivantes: [81]

- vasodilatation, modification du débit sanguin et de la paroi interne des
- vaisseaux avec adhésivité plaquettaire et leucocytaire;
- augmentation de la perméabilité vasculaire avec exsudation plasmatique et diapédèse leucocytaire; recrutement, différenciation et prolifération cellulaires.
- activation de cellules spécifiques d'organe par des cytokines et libération d'enzymes protéolytiques avec destruction de la matière intercellulaire; tentative de régénération et de fibrose.

##### 1.3.4.1.3. Les formes cliniques de l'inflammation

###### ✓ L'inflammation aiguë

L'inflammation est dite « aiguë » quand elle aboutit à l'élimination de l'agent déclenchant suivie par le nettoyage du foyer inflammatoire par les macrophages, l'arrêt de l'afflux des phagocytes circulants, la mort par apoptose des cellules présentes dans le foyer inflammatoire devenues inutiles et le retour à l'état initial sans aucune séquelle fonctionnelle ni anatomique [79].

✓ L'inflammation chronique

Caractérisée par une évolution prolongée pouvant s'étaler sur des mois voire des années, l'inflammation chronique est définie par une durée supérieure à six semaines [82]. La cause de la chronicité n'est pas toujours évidente. Dans beaucoup de cas, elle est liée à l'incapacité de l'organisme à éliminer la substance déclenchante [79].

1.3.4.1.4. Traitement de l'inflammation

Le traitement de l'inflammation se fait par différentes substances appelées anti-inflammatoires. Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques tels que l'acide acétylsalicylique (Aspirine) doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires, on distingue des médicaments à activité anti-inflammatoire plus spécifiques, substances de synthèse (AINS) et hormones glucocorticoïdes (AIS) [81].

✓ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent sur la phase initiale de l'inflammation, ils inhibent la cyclooxygénase et par conséquent la synthèse des prostaglandines qui jouent un rôle pro-inflammatoire. De cette inhibition enzymatique découlent des conséquences bénéfiques ou indésirables qui dépendent en partie de l'état du malade. Les effets utiles en thérapeutique sont les effets anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique. Les AINS présentent comme effet indésirable un risque d'ulcère à l'estomac par inhibition de la synthèse des autres prostaglandines qui protègent la muqueuse gastrique. Gastralgies, ulcérations gastroduodénales et saignements digestifs sont attribués essentiellement à l'inhibition des cyclooxygénases de type I. Les AINS inhibant sélectivement la COX-2 ont une action anti-inflammatoire et antalgique à peu près identique, aux posologies conseillées, à celle des AINS non sélectifs mais entraînent moins de troubles digestifs [83].

✓ Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes se sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies

auto-immune [84]. L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables, le risque d'apparition de ces effets s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement. Conduisant à des troubles aigus tels que l'hypertension artérielle et l'ulcères gastro-duodénaux [85]; [86].

#### ✓ Les anti-inflammatoires d'origine végétales

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire. Les effets anti-inflammatoires des polyphénols, qui peuvent être exercées au niveau moléculaire, sont dépendants de la structure spécifique des composés polyphénoliques. Les fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peut également être affectée par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inducible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS) [87], [88]. Dans ce contexte, plusieurs exemples de plantes peuvent être cités dont Les principales inscrites à la Pharmacopée et utilisées par voie orale sont : le saule (*Salix purpurea*, *S. daphnoides*, *S. fragilis*, *S. alba*), lareine-des-prés (*Filipendula ulmaria*), le cassis (*Ribes nigrum*), l'ortie (*Urtica urens*, *U. dioica*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), l'harpagophyton (*Harpagophytum procumbens*, *H. zeyheri*), la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) et le curcuma (*Curcuma longa*).

#### 1.3.4.2. Effet antalgique

##### 1.3.4.2.1. Définitions de la douleur

La douleur est « une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable liée à une lésion tissulaire existante ou potentielle ou encore décrite en termes évoquant une telle lésion » [89]. On comprend facilement le caractère subjectif de la douleur et la difficulté à l'évaluer. Le processus sensoriel responsable du message nerveux qui provoque la douleur est appelé nociception.

La douleur apparaît à la suite d'une inflammation, d'une contraction musculaire, d'un spasme vasculaire ou d'une infection locale [75].



#### 1.3.4.2.2. Définition d'un spasme

Le spasme est une contraction involontaire des fibres musculaires, celle-ci est intense mais passagère. La douleur provient de l'arrêt de la circulation sanguine dans le muscle pendant cette contraction anormale [74].

#### 1.3.4.2.3. Les antispasmodiques

C'est une substance d'origine naturelle ou synthétique. Elle est utilisée pour atténuer ou supprimer un spasme. Ce sont des sédatifs et dans certains cas, des dépresseurs du système nerveux central [76].

#### 1.3.4.3. Effet antipyrétique

##### 1.3.4.3.1. Définitions de la fièvre

La fièvre est une augmentation de la température corporelle de 1 à 4 °C au dessus des valeurs normales. Elle reflète une élévation de la température du « Thermostat hypothalamique » et constitue une réponse normale et adaptative de l'organisme contre une agression de nature variable, notamment infectieuse. Elle fait partie de mécanismes de défense plus complexes constituant la réaction inflammatoire aiguë [90].

##### 1.3.4.3.2. Les antipyrétiques

Ces des médicaments regroupés sous le terme générique d'antipyrétique, ils sont utilisés pour leurs action sur les mécanismes de régulation de la température centrale lorsque celle- ci dépasse 38,5 °C. Par ailleurs tous sont également utilisés quotidiennement pour leurs effets antalgiques [90]

## CHAPITRE 2

### MATERIEL ET METHODES

#### 2.1. Matériel d'étude

##### 2.1.1. Matériel non biologique (Voire appendice B)

##### 2.1.2. Matériel végétal

La plante étudiée *Pistacia lentiscus* L., a été récolté au niveau de la station de Béni-Ali à 600 m d'altitude (Tableau 2.1) dans la foret de *Chréa* (Figure 2.1) au nord ouest de la wilaya de Blida. La récolte a été effectuée sur plus de 10 individus.

Les tiges feuillées ont été récoltés le matin en période de floraison au cours de trois sorties le 21-04-2013, le 29-04-2013 et le 30-05-2013. Les feuilles sont séparées des tiges et mélangées ensuite séchées à l'aire libre. Les tiges sont gardées a l'état frais pour l'étude microscopique.

Le fruit a été récolté le matin en période de fructification après maturité durant le mois d'octobre jusqu'au mois de décembre 2013.

Tableau 2.1. Caractéristiques géographiques de la région d'étude.

Région	Altitude	Latitude	longitude	Etage bioclimatique
Béni Ali	624 m	36,46 °	2,85°	Subhumide



Figure 2.1. Localisation de la station d'étude

### 2.1.3. Matériel animal :

Souris NMRI : l'animal utilisé est la souris NMRI (Naval Medical Research Institute, USA).

- La souris blanche est la race albinos de la souris domestique ou souris grise : *Mus musculus*. Elle provient du Laboratoire de Pharmacotoxicologie, Unité Animalerie du CRD d'El Harrach du groupe SAIDAL et du complexe SAIDAL Antibiotical de Médéa.
- Rat Wistar : Ce sont des rats d'élevage de laboratoire qui proviennent de l'animalerie du CRD d'El Harrach du groupe SAIDAL et du complexe SAIDAL Antibiotical de Médéa.

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Identification botanique

L'identification de la plante a été faite au niveau du Parc National de Chréaa (Direction de Blida) et au laboratoire de botanique du département d'Agronomie de l'université de Blida.

Elle a été confirmée au département de botanique de l'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques (ENSA) d'El Harrach – Alger en comparaison avec les spécimens de l'herbier.

Des échantillons ont été conservés à l'état frais afin de déterminer la teneur en eau des feuilles et du fruit. Le reste de la récolte a été séché à l'abri de la lumière et à température ambiante (25 à 28°C) pendant 15 jours. Après séchage et conservation dans des sacs en papier, le matériel végétal est fractionné en deux parties : l'une est broyée pour obtenir une poudre fine, qui servira à la préparation des extraits, l'autre pour l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.

### 2.2.2. Etude botanique :

Pour chercher des spécificités morphologiques et anatomiques de la plante et localiser éventuellement les sites sécréteurs des essences aromatiques, une étude microscopique a été réalisée.

L'examen microscopique des feuilles et des tiges a été réalisé en effectuant des coupes très fines au niveau des organes à l'état frais. Nous avons réalisé une double coloration pour observer les tissus.

La coloration est réalisée selon le protocole adopté au sein du laboratoire de Biologie Végétale du Département de Biologie (Université de Blida) avec les étapes suivantes :

- les coupes sont plongées dans l'eau de Javel à 12° pendant 10 à 15 min pour vider les cellules de leur contenu,
- Après rinçage à l'eau courante 5 à 10 min, les coupes sont traitées par l'acide acétique (10%) pendant 1 à 2 min,
- Elles sont ensuite lavées à l'eau courante 5 à 10 min et placées dans le vert de méthyle pendant 15 à 20 min,
- Les coupes sont rincées à l'eau courante pendant 5 à 10 min puis nous les plongeons dans le rouge Congo 15-20 min,

- Les coupes sont ensuite lavées à l'eau, montées entre lame et lamelle et observées au microscope photonique.

### 2.2.3. Etude phytochimique

#### 2.2.3.1. Détermination de la teneur en eau

Nous avons suivi le protocole de ZERRAD et *al.*,(2006) [90]. Ainsi, nous avons placé des échantillons de plantes de poids déterminé dans une étuve portée à 75°C. Les échantillons ont été pesés chaque 24 heures jusqu'à la stabilisation du poids sec de la matière végétale.

La teneur en eau a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{\text{Poids frais} - \text{Poids sec}}{\text{Poids frais}} \times 100$$

#### 2.2.3.2. Etude des principes actifs de *Pistacia lentiscus* L.

##### 2.2.3.2.1. Caractérisation colorimétrique des principes actifs

Le screening phytochimique a été réalisé selon : [91]; [92]; [93]; [94] ; [95]; [96]; [97] ; [98] ; [99].

##### 2.2.3.2.1.1. Les Tanins

- La préparation de l'infusé : La poudre sèche (5 g) dans de l'eau distillée bouillante (100 ml) contenue dans un erlenmeyer de 250 ml puis infusion pendant 15 mn (infusé à 5%).

- A 30 ml d'infusé à 5%, nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% plus 5 ml HCl concentré) et chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter 1 ml d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Le développement d'une teinte bleu noire indique la présence de tanins non précipités par le réactif de Stiasny : ce sont les tanins galliques.

### 2.2.3.2.1.2. Les Flavonoïdes

#### ✓ Les anthocyanes

A 5 ml d'infusé à 5% présentant une coloration plus ou moins foncée ; ajouter 5 ml d'acide sulfurique puis 5 ml de NH<sub>4</sub>OH. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyane.

#### ✓ La réaction à la cyanidine

Nous introduisons dans un tube à essai 5 ml d'infusé, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) ; 1 ml d'alcool iso amylique puis quelques copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de précipitation pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose- violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso-amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

La réaction à la cyanidine sans ajouter de copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 mn au bain-marie. En présence de leucoanthocyane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

### 2.2.3.2.1.3. Les Alcaloïdes

#### ✓ Macération

La poudre végétale (10 g) dans un erlenmeyer de 250 ml+ 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué au 1/10 (50 ml). Agitation et macération pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire. Filtration sur papier lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

#### ✓ Réactions de caractérisation

- 1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de MAYER (5 g de KI et 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) s'il apparaît un précipité c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes. (Précipité blanc-jaunâtre).

### 2.2.3.2.1.3. Les Dérivés Anthracéniques y compris les quinones et les anthraquinones

- ✓ Extrait chloroformique: A 1 g de drogue en poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer au bain-marie pendant 3 mn, filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire.
- ✓ Hydrolysât : A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, ajouter 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Maintenir le tube à essai dans le bain-marie bouillant pendant 15 mn. Refroidir sous un courant d'eau et filtrer. Compléter à 10 ml avec l'eau distillée.
- ✓ Caractérisation
  - ❖ Dérivés anthracéniques libres : 1 ml d'extrait chloroformique + 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué puis agitation; la coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.
  - ❖ Dérivés anthracéniques combinés

#### □ O-hétérosides (anthraquinones)

Prélever 5 ml d'hydrolysât et agiter avec 5 ml de chloroforme, soutirer la phase organique et l'introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué. Agiter, la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense.

#### □ O-hétérosides à génines réduites

Ou bien 5 ml d'hydrolysât + 3 à 4 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10 %, chauffer pendant 5 mn au bain-marie. Refroidir, agiter avec 5 ml de chloroforme. Soutirer la phase chloroformique et l'introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou anthrones, la coloration rouge est plus intense.

#### □ O-hétérosides

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hérosides par 10 ml d'eau distillée et ajouter 1 ml de FeCl<sub>3</sub> à 10%. Maintenir le

tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 30 mn, refroidir et agiter avec 5 ml de chloroforme, soutirer la phase chloroformique dans un tube à essai. Ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué et agiter. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

#### 2.2.3.2.1.4. Les saponosides

- Dans une fiole conique de 500 ml, renfermant 100 ml d'eau distillée bouillante, nous introduisons 1g de poudre grossière de feuilles ou de tubercules,
- Nous maintenons une ébullition modérée pendant 30 min,
- Nous filtrons et après refroidissement, nous ajustons le volume du filtrat à 100ml avec de l'eau distillée,
- Dans une série de tubes à essai, nous mesurons successivement 1, 2 jusqu'à 10ml de décocté, puis nous ajustons le volume de chaque tube à 10ml avec de l'eau distillée,
- Nous agitons les tubes pendant 15 secondes et nous laissons reposer 15 minutes,
- Nous mesurons ensuite la hauteur de la mousse.

$$Im = \frac{10 \cdot H}{0.01 \cdot X}$$

Im : Indice de mousse.

H : Hauteur de la mousse mesurée en cm.

X : Le numéro du tube où la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm.

#### 2.2. 3.2.2. Extraction des composés polaires et apolaire

Les composés polaires et apolaires sont extraits à l'aide du soxhlet. L'extracteur de soxhlet permet le traitement de solides (matériel végétal), avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extracteur contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal.



Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et surmontée d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient clair [98].

#### 2.2.3.2.2.1. Extraction au soxhlet

On pèse 20 g de plante sèche finement broyée et on l'introduit dans la cartouche en cellulose située dans le soxhlet. Ce dernier est constitué aussi d'un ballon à fond plat où sont placés 300ml d'hexane. Par la suite le dispositif est porté à ébullition (105°C).

Après une douzaine de siphonages, nous récupérons d'une part, le ballon contenant le solvant enrichi en substances solubles (fraction lipidique) et d'autre part, la matière végétale contenue dans la cartouche de cellulose que l'on nommera marc et qu'on laisse sécher à l'air libre.

Le marc récupéré et séché est réintroduit dans une seconde cartouche et soumis à une seconde extraction au soxhlet en utilisant cette fois-ci du méthanol (65°C), afin de récupérer les substances polaires [100].

Après une douzaine de siphonages, nous récupérons un marc et le ballon contenant le solvant qui renferme la fraction polaire de la plante.

Les extraits méthanolique et hexanique secs des deux extractions sont obtenus par évaporation du solvant grâce à un évaporateur rotatif. Les ballons contenant les résidus secs sont pesés avant et après extraction afin de déterminer la teneur respective de chacune des fractions polaire et apolaire de la plante. L'extrait méthanolique sera utilisé dans les activités biologiques.

#### 2.2.3.2.2.2. Préparation des décoctions

Cinquante grammes de poudre de matériel végétal (feuilles et/fruits) ont été portés à ébullition pendant 30 minutes dans un volume d'eau distillée de 500 ml. Après filtration et concentration, les décoctés ont été lyophilisés [100]. Ces lyophilisats ont servi pour les tests pharmacologiques.

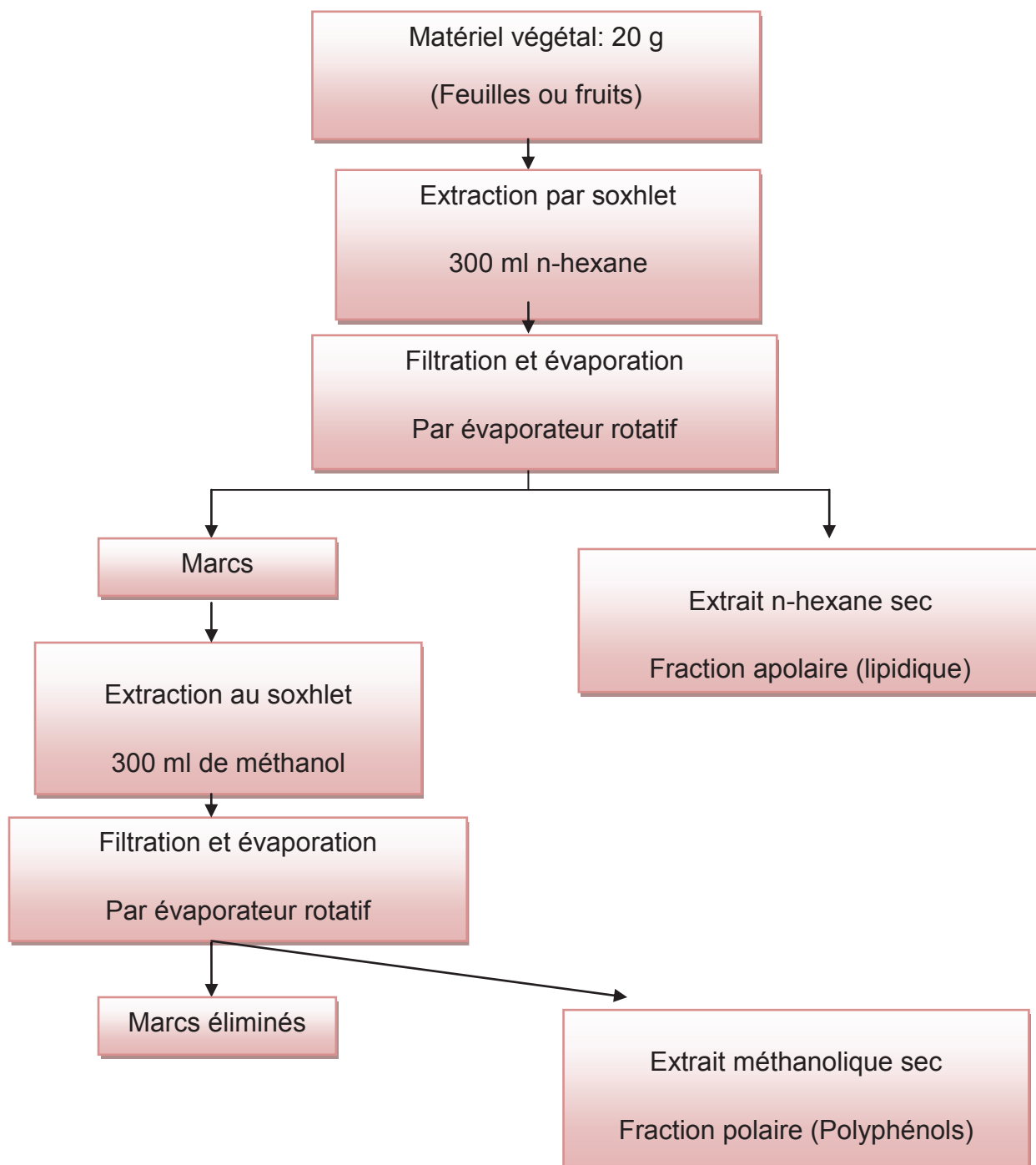


Figure 2.2: Protocole expérimental d'extraction des composés polaire et apolaire par soxhlet [101].

### 2.2.3.2.2.3 Dosage de quelques principes actifs de *Pistacia lentiscus*

#### 2.2. 3.2.2.3.1. Analyse par spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie est une technique analytique qui consiste à mesurer l'absorbance d'une substance chimique donnée en solution préalablement étalonnée sur la longueur d'onde de l'espèce chimique à étudier [102].

#### 2.3. 3.2.2.3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de Singleton et Ross (1965) utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu.

##### Principe

Le réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>Mo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>P). Ce mélange est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène [103].

Un volume de 200 µl pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, le mélange (1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min.

L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre UV/Vis. Une courbe d'étalonnage à différente concentration d'acide gallique a été préparée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) d'extrait sec (mg EAG/g ES).

#### 2.2. 3.2.2.3.1.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) [104]; [73]. Brièvement, un millilitre d'extrait dilué dans le méthanol, ainsi que le flavonoïde standard la rutine aussi préparé dans du méthanol est ajouté à 1ml de AlCl<sub>3</sub> (Solution méthanolique de 2%) . Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par la rutine à différentes concentrations, dans les mêmes

conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec, (mg EQE/g ES). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

#### 2.2. 3.2.2.3.1.3. Dosage des tanins condensé

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide [105]. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

##### Principe.

Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Perkin-Elmer Lambda 25).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait sec (mg ECAT/g ES).

#### 2.2.3.2.2.4. Identification des composés phénolique par HPLC

Les analyses chromatographiques ont été réalisées moyennant un Chromatographe en phase Liquide à Haute Performance (Agilent série 1100) équipé d'un détecteur UV à barrettes de diodes (DAD) et couplée à un spectromètre de masse en tandem (MS/MS) à triple quadripôle (*MICROMASS Quattro Ultima*) équipé d'une source d'ionisation électrospray (ESI). Le système est piloté par le logiciel *Masslynx V4.0* qui permet l'enregistrement, l'exploitation et le traitement des données.

La séparation a été réalisée par une colonne ODS 125 mm x 2mm x 4µm. La phase mobile est constituée d'eau ultra pure contenant 0.1% d'acide acétique (solvant A) et d'Acétonitrile (solvant B). L'élution a été réalisée à un débit de 250

$\mu\text{L}/\text{min}$ . Le gradient d'élution est le suivant: 1min (95% A), 30 min (40% A), 30,1 min (100%B), 37, 1 min (95% A), 50 min (95% A). La température du four a été fixée à 35°C et la quantité injectée est de 25  $\mu\text{L}$ . l'acquisition des spectres UV est réalisée entre 200 et 550 nm.

L'ionisation ESI en mode négatif conduit à des ions moléculaires de type  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , les paramètres d'ionisation et de fragmentation de chaque composé dépendent essentiellement de ses propriétés physicochimiques. Les paramètres relatifs au fonctionnement du spectromètre de masse sont les suivants : Gamme de masse (mode fulls can)  $m/z$  (135-650), tension du capillaire : 3,2 kV, tension du con : 40V, température de la source : 110°C, température du gaz : 400°C et tension de multiplicateur : 550 V.

La tentative d'identification des différents composés est basée sur la comparaison de leurs spectres d'absorption en UV et leurs types de fragmentation en spectromètre de masse avec les spectres connus et ceux publiés dans la littérature.

#### 2.2.3.2.3. Extraction des composés volatils

##### 2.2.3.2.3.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

En vue d'obtenir la fraction volatile des plantes étudiées, nous avons utilisé le Procédé d'hydrodistillation. L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité [106].

#### Mode opératoire

Pour l'hydrodistillation de *Pistacia lentiscus* (feuilles), nous avons utilisé un dispositif de type Clevenger (Figure 2.3).

Le matériel végétal séché (300g) est introduit dans un ballon de 2 litres remplie d'eau au 2/3. Le tout est porté à ébullition pendant 4 heures. Une surveillance continue du dispositif est préconisée afin d'assurer une meilleure distillation.

La séparation HE-eau est faite par décantation simple. L'HE ainsi extraite est stockée à 4°C dans un flacon en verre fumé et hermétiquement fermé jusqu'à son utilisation.

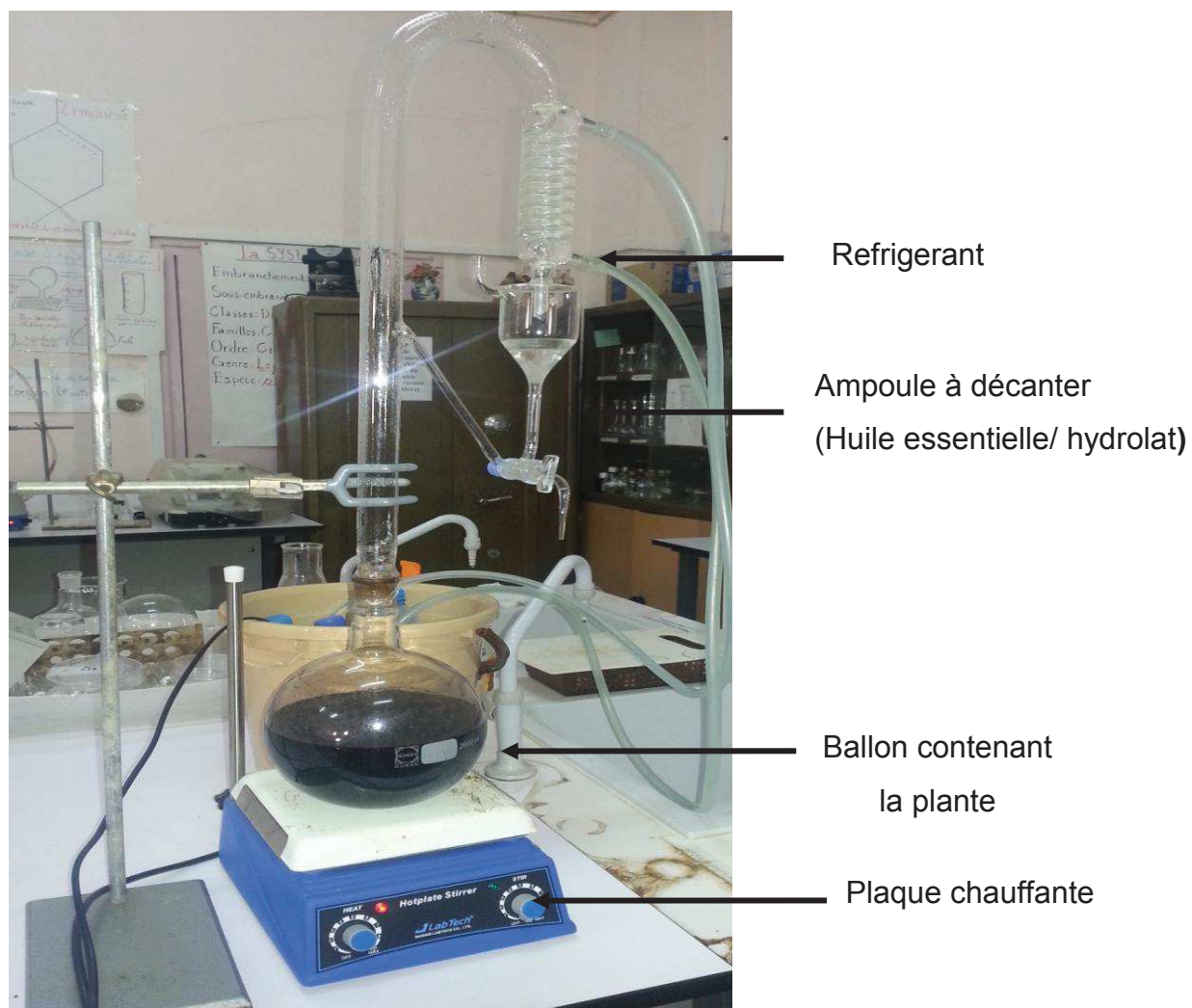


Figure 2.3: Hydrodistillation des feuilles de *Pistacia lentiscus* : Montage d'hydrodistillation (Dispositif Clevenger) – (Original, 2014)

#### 2.2.3.2.3.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en HE est le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale utilisée. Il a été calculé suivant la formule :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \times 100$$

$R_{HE}$  : Rendement en huile essentielle (%)

$M_{HE}$  : Masse d'huile essentielle (g).

$M_{MV}$  : Masse de la matière végétale (g).

#### 2.2.3.2.3.3. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par CG/MS :

L'huile essentielle a été analysée par chromatographie en phase gazeuse en utilisant un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, Californie, États-Unis) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'un injecteur de contrôle électronique de pression (EPC). Une colonne polaire HP Innowax (PEG) (30 m × 0,25 mm, épaisseur de film de 0,25 µm) et une colonne apolaire HP-5 (30 m × 0,25 mm revêtue de 5% de phényl méthylsilicone et 95% de diméthyl-polysiloxane, 0,25 µm épaisseur) d'Agilent ont été utilisés. Le débit de gaz vecteur (N<sub>2</sub>, U) était de 1,6 ml / min et le rapport de division de 60: 1. Les analyses ont été effectuées en utilisant le programme de température suivant: four conservé de manière isotherme à 35 °C pendant 10 min, augmenté de 35 à 205 °C à raison de 3 °C / min et conservé de manière isotherme à 205 °C pendant 10 min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues respectivement à 250 et 300 °C. Les analyses GC-MS ont été effectuées en utilisant un spectromètre de masse HP 5972 avec ionisation par impact électronique (70 eV) couplé à un chromatographe en phase gazeuse HP 5890 série II. Une colonne capillaire HP-5MS (30 mx 0,25 mm revêtue avec 5% de phénylméthylsiloxane et 95% de diméthylpolysiloxane, épaisseurs de film de 0,25 um) a été utilisée. La température du four a été programmée pour augmenter de 50 °C à 240 °C à une vitesse de 5 °C / min. La température de la ligne de transfert était de 250 °C. L'hélium était utilisé comme gaz porteur avec un débit de 1,2 ml / min; et un rapport

de division de 60: 1. Le temps de scrutation et la plage de masse étaient respectivement de 1 et de 40 à 300 m / z.

Chaque composé volatil d'huile essentielle a été identifié en comparant son indice de rétention (RI) par rapport aux n-alcane (C9-C18) à ceux disponibles dans la littérature des composés authentiques (réactifs analytiques, Labscan, Ltd, Dublin, Irlande) et dans notre laboratoire et en faisant correspondre leurs modèles de fragmentation des spectres de masse avec les données correspondantes stockées dans la bibliothèque de spectres de masse du système de données GC-MS (NIST) et d'autres spectres de masse publiés (Adams, 2001). La quantité relative en pourcentage de chaque composé identifié a été obtenue à partir de l'intégration électronique de son aire de pic FID. Les composés volatils se répartissaient en groupes (hydrocarbures monoterpéniques, monoterpènes oxygénés, hydrocarbures sesquiterpéniques et sesquiterpènes oxygénés). Les principaux composés de chaque groupe étaient marqués en gras.

#### 2.2.4. Etude des activités biologiques

##### 2.2. 4.1. Etude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques de *Pistacia lentiscus*

Les tests antibactériens et antifongiques ont pour but de rechercher l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles et des extraits méthanoliques (feuilles et/ou fruits) de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis des différents microorganismes : bactéries et levures. Les extraits actifs pourraient ainsi justifier l'usage en médecine traditionnelle des plantes dont ils sont extraits et permettraient, à partir du présent travail, d'ouvrir d'autres pistes à la recherche.

##### 2.2.4.1.1. Activité antibactérienne

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie complexe SAIDAL antibiotical Médéa et le le laboratoire de Bactériologie du centre hospitalier universitaire Frantz Fanon, Blida. L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée cité par [107].



### 2.2.4.1.1.1. Souches bactérienne

12 souches bactériennes ont été testées :

- 7 souches de références : *Escherichia coli* (ATCC 25 922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27 853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25 923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12 228), *Enterococcus faecalis* (ATCC 51 299), *Bacillus subtilis* (ATCC 66 33), *Micrococcus luteus* (ATCC 533),
- 5 souches pathogènes issues à partir des prélèvements de malades (Tableau 2.2) : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*.

Le tableau.2.2: Origine des microorganismes testés.

Souche utilisées	Gram	Origine du prélèvement
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25 922)	Gram -	Souches de référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27 853)	Gram -	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25 923)	Gram +	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12 228)	Gram +	
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 51 299)	Gram +	
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 66 33)	Gram +	
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 533)	Gram +	
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	Urinaire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	Pus de plaie
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	Bronchique
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Gram -	Prélèvement distal protégé
<i>klebsiella pneumoniae</i>	Gram -	Sécrétion nasal
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram +	Fissure anal
<i>Enterococcus faecium</i>	Gram +	Fissure anal

#### 2.2.4.1.1.2. Milieux de culture

Nous avons utilisé comme milieux de culture la Gélose Mueller Hinton.

#### 2.2.4.1.1.3. Préparation des échantillons à tester

L'huile essentielle des feuilles à été utilisé sous forme pure et les extraits méthanoliques ont été repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO) pour obtenir une concentration de 100 mg/ ml.

#### 2.2.4.1.1.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé

##### ➤ Préparation de l'inoculum bactérien

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland (annexe 05) ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

##### ➤ Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est Frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'huile essentielle et d'extraits à raison de 15 µl sont déposés délicatement sur la surface de la gélose ensemencée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques Wattman imprégnés

de DMSO (témoin négatif). Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

➤ Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques. Selon LECLERC, (1975) [108] une souche est dite :

- Sensible lorsque la zone d'inhibition est supérieure ou égale à 15mm,
- Peu sensible lorsque la zone d'inhibition est inférieure à 15mm,
- Résistante lorsque la zone d'inhibition est inexistante.

2.2.4.1.2. Activité antifongique

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de parasitologie C.H.U Mustapha Bacha, Alger. L'activité antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par [109] et [110].

2.2.4.1.2.1. Souches fongiques

Les souches fongiques sont issues à partir des prélèvements de malades (Tableau 2.3). 5 souches de levure :

- 1 souche de référence : *Candida albicanc* (ATCC 10 231) provenant du de microbiologie du complexe SAIDAL antibiotical Médéa
- 4 souches pathogènes provenant du laboratoire de parasitologie du centre hospitalier universitaire Mustapha Bacha, Alger, les souches sont : *Candida albicanc*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*.

Tableau.2.3 : Origine des levures testées

Levures	Origine du prélèvement
<i>Candida albicanc</i> (ATCC 10 231)	Souche de référence
<i>Candida albicanc</i>	vaginal
<i>Candida glabrata</i>	vaginal
<i>Candida tropicalis</i>	Ongles de la main
<i>Candida parapsilosis</i>	Ongles de la main

#### 2.2.4.1.2 .2. Méthode de diffusion en milieu gélosé

Les mêmes opérations sont effectuées avec les souches de levures. Les cultures-mère ont été développées sur une gélose approprié (Sabouraud avec chloramphénicol), afin d'inhiber la croissance des éléments de la flore bactérienne contaminante et d'atteindre la phase stationnaire de la croissance. Les disques stériles imprégnés d'huile essentielle et d'extraits méthanoliques à raison de 15µl par disque, ont été déposés stérilement sur la gélose Sabouraud, ensemencé au préalable par la suspension microbienne ( $10^6$  spores/ml). Les levures ont été incubées 48 h à 37 °C.

#### 2.2.4.2. Etude du pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de *Pistacia lentiscus*

Quelle que soit la nature des substances, les terpènes et les flavonoïdes sont utilisés pour réduire l'oxydation des cellules et augmentent la vitalité de l'organisme dans ces flux vitaux. Dans ce contexte, nous avons choisie d'étudier l'activité antioxydante in vitro par deux méthodes les plus utilisées :

- Piégeage du radical libre DPPH;
- Réduction de fer (FRAP).

##### 2.2.4. 2.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH $\cdot$ , qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon.

##### 2.2.4. 2.1.1. Mise en œuvre pratique

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par [111]

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En

ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une solution standard de (BHT) est préparée en suivant les mêmes étapes que précédemment.

#### 2.2.4. 2.1.2. Expression des résultats

##### 2.2.4. 2.1.2. 1. Calcul des pourcentages d'inhibitions

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I\% = \frac{(Ac - At)}{AC} \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle ;

At : absorbance du test effectué

On effectue 3 répétitions pour chaque essai. Chaque valeur de l'activité oxydante est donc calculée sur la moyenne de trois répétitions. Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures  $\pm$ SEM.

##### 2.2.4. 2.1.2. 2. Calcul des IC50

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient Concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

##### 2.2.4.2.2. Réduction du fer

Cette méthode est déterminée en utilisant la technique d'Oyaizu (1986) [112]. Les différentes concentrations des extraits dans 1ml d'eau distillée sont mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH6.6) et 2.5ml de fenicyanure de potassium [K3Fe(CN)6] (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30min. Après, 2.5ml de l'acide trichloroacétique (10%) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. A la fin, 2.5 ml du surnageant de chaque concentration est

mélangé avec 2.5ml d'eau distillée et 0.5ml FeCl<sub>3</sub> (0.1%).L'absorbance est mesurée à 700nm. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

#### 2.2.4.3. Etude de la toxicité aigüe des extraits méthanoliques de *P. lentiscus*

L'étude de la toxicité aiguë est une analyse qualitative et quantitative de l'altération irréversible des fonctions vitales après administration unique d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours (2 à 4 semaines). C'est le premier test qu'un toxicologiste effectue sur un nouveau composé destiné à être utilisé comme médicament [113].

Des lots de six souris de race NMRI ont reçu par voie orale une dose maximale 2000 mg/kg de poids corporel d'extrait. Après l'administration des extraits, les animaux ont été observés pendant les deux heures qui ont suivi l'administration à l'issue desquelles ils sont alimentés. Ils ont été ensuite observés pendant 24, 48 et 72 heures au cours desquelles les symptômes d'intoxications ainsi que les taux de mortalité ont été notés [114].

#### 2.2.4.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de

##### *P. lentiscus*

##### 2.2.4.4.1. Principe

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'une plante médicinale, un modèle expérimental d'inflammation aiguë de la patte de la souris induit par la carragénine a été sélectionné. Des œdèmes au niveau des pattes des souris sont induits après injection sub-plantaire (interarticulaire) d'une solution de carragénine au niveau de la patte arrière droite des souris, une heure après l'administration des extraits par voie orale. L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire [115].Les souris utilisées sont privées de nourriture et d'eau pendant 12 heures avant la période d'expérimentation.

#### 2.2.4.4.2. Prétraitement par les extraits

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 84 souris pesant  $20 \pm 5$ g est divisé selon les deux extraits et les doses administrées en 14 groupes (n =6), chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit :

- ✓ Groupes 1 à 3: ont reçu l'extrait méthanoliques de feuilles (EMF) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 4 et 6: ont reçu la décoction de feuilles (DF) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 7 à 9: ont reçu l'extrait méthanolique de fruit (EMFR) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 10 et 12: ont reçu la décoction de fruits (DFR) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupe 13 (Référence): l'anti-inflammatoire Diclofénac (50 mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%;
- ✓ Groupe 14 (Témoin): une solution de NaCl (0,9%).

#### 2.2.4.4.3. Induction de l'inflammation par Injection de la carragénine

Une heure après l'administration des traitements, chaque animal reçoit par injection sub-plantaire dans la patte arrière droite, 0,1 ml d'une suspension de carragénine à 1% dissous dans du NaCl 0,9%.

#### 2.2.4.4.4.Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

##### ➤ Mesure de l'œdème :

Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un pied à coulisse digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant 4 heures.

##### ➤ Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) :

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris. Il est donné par la formule suivante [115]:

$$\%AUG = \frac{(Dn - D0)}{D0} \times 100$$

Dn : diamètre de la patte L'ième heure après l'injection de la carragénine.

D0 : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

➤ Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH) :

Le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris traitées par rapport au lot témoin. Il est obtenu par la formule suivante [115]:

$$\%INH = \frac{(\%AUG \text{ témoin} - \%AUG \text{ traité})}{\%AUG \text{ témoin}} \times 100$$

2.2.4.5. Etude de l'activité antalgique des extraits méthanoliques de *P. lentiscus*

L'activité antalgique a été mise en évidence selon la méthode de VOGEL et *al.*, [116] L'injection de l'acide acétique par voie intra péritonéale chez la souris provoque une réaction douloureuse. Cette douleur se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures (crampes), qui peut être réduite par un produit antalgique. Cette étude permet de comparer la réduction du nombre de crampes après administration du produit antalgique et du produit de référence correspondant.

2.2.4.5. 1. Prétraitement par les extraits

Un effectif de 84 souris pesant 20±5g est divisé selon les deux extraits et les doses administrées en 14 groupes (n =6), chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit :



- ✓ Groupes 1 à 3: ont reçu l'extrait méthanoliques de feuilles (EMF) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 4 et 6: ont reçu la décoction de feuilles (DF) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 7 à 9: ont reçu l'extrait méthanolique de fruit (EMFR) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 10 et 12: ont reçu la décoction de fruits (DFR) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (0,5 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupe 13 (Référence): Diclofénac (50 mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%;
- ✓ Groupe 14 (Témoin): une solution de NaCl (0,9%).

#### 2.2.4.5. 2. Induction des crampes par Injection de l'acide acétique

Après 30 minutes, Injecter à tous les animaux la solution de l'acide acétique à 1% par voie intra péritonéale sous un volume de 0.2 ml par souris. On fait le comptage de crampes par observation directe des souris séparées chacune dans une cage. La durée d'observation est de 15 minutes.

#### 2.2.4.5. 3. Évaluation de l'activité antalgique

- Calculer les moyennes arithmétiques des crampes pour chaque lot.
- Calculer le pourcentage de réduction de crampes (pourcentage de protection) chez les souris traitées par rapport aux témoins par la formule suivante:

$$\%R = \frac{\text{moyenne des crampes du lot témoin} - \text{moyenne des crampes du lot traité}}{\text{moyenne des crampes du lot témoin}} \times 100$$

#### 2.2.4.6. Etude de l'activité antipyrétique

##### 2.2.4.6.1. Principe

Mesure d'un effet antipyrétique chez le rat rendu hyperthermique par la levure de bière. Cette étude permet de comparer la réduction de l'hyperthermie après

administration de doses du produit antipyrétique à tester (les extraits végétaux) et du produit de référence correspondant .

#### 2.2.4.6.2. Prétraitement des animaux

##### 2.2.4.6.2.1. La veille du test

Seize heures avant le test, les rats sont mis à jeun de nourriture et reçoivent en injection sous-cutanée dans la région dorso latérale une suspension aqueuse de levure de bière à 20 % (1 ml/100 g de poids corporel) [117].

##### 2.2.4.6.2.2. Le jour du test

Sélectionner les rats dont la température est supérieure ou égale à 38°C pour former 13 groupes (n =6), chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit :

- ✓ Groupes 1 à 3: ont reçu l'extrait méthanoliques de feuilles (EMF) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (2 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 4 et 6: ont reçu la décoction de feuilles (DF) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (2 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 7 à 9: ont reçu l'extrait méthanolique de fruit (EMFR) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (2 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupes 10 et 12: ont reçu la décoction de fruits (DFR) aux doses respectives de 400, 600 et 800 mg / kg (2 ml par animal / p.o);
- ✓ Groupe 13 (Référence): l'antipyrétique Paracétamol (100 mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%;
- ✓ Groupe 14 (Témoin): une solution de NaCl (0,9%).

#### 2.2.4.6. 3. Evaluation de l'activité antipyrétique

- Calculer la moyenne arithmétique des températures de chaque lot ;
- Calculer l'accroissement moyen de la température des animaux de chaque lot avant l'administration des extraits (Température initiale) ;
- Calculer l'accroissement moyen de la température des animaux de lots de chaque lot après 1, 2, 3, 4 heures de l'administration des extraits ;

- Calculer le pourcentage de réduction de l'hyperthermie des rats traités par rapport aux rats témoins 4 heures après l'administration des extraits par la formule suivant:

$$R(\%) = \frac{(T^{\circ} 4 h - T^{\circ} i)T\acute{e}moin - (T^{\circ} 4 h - T^{\circ} i)Trait\acute{e}}{(T^{\circ} 4 h - T^{\circ} i)T\acute{e}moin} \times 100$$

### 2.3. Etude statistique

Les expériences ont été réalisées trois fois. Les données sont exprimées par la valeur (moyenne ± erreur standard) et ont été traitées par le test d'analyse de variance (ANOVA). Des comparaisons multiples des moyennes ont été effectuées en utilisant les tests de Tukey et de Dunnet. Les différences entre les groupes avec  $p < 0,05$  ont été considérées statistiquement significatives. L'analyse statistique a été réalisée par la méthode d'analyse probit en utilisant le logiciel XLStats 2014 (logiciel statistique Pros, Addinsoft, Paris, France).

## CHAPITRE 3

### RESULTATS ET DISCUSSION

#### 3.1 Résultats de l'étude botanique de la plante

##### 3.1.1. Résultats de l'étude microscopique:

Afin de détecter ou de localiser des structures particulières, les tissus sécréteurs, nous avons effectué des coupes minces. Ces dernières ont subi une double coloration. Nous avons obtenu les résultats suivants :

##### 3.1.1.1. La tige :

L'étude histologique a permis de mettre en évidence la présence d'un parenchyme médullaire (figure 3.1), des tissus conducteurs de type secondaire le bois et le liber (figure 3.2), Un sclérenchyme à fibres sclérifiées (figure 3.2), des poches sécrétrices (figure 3.3), entourées de petites cellules sécrétrices, ces dernières commencent dans le sclérenchyme sous forme de lobe et se terminent dans le liber.

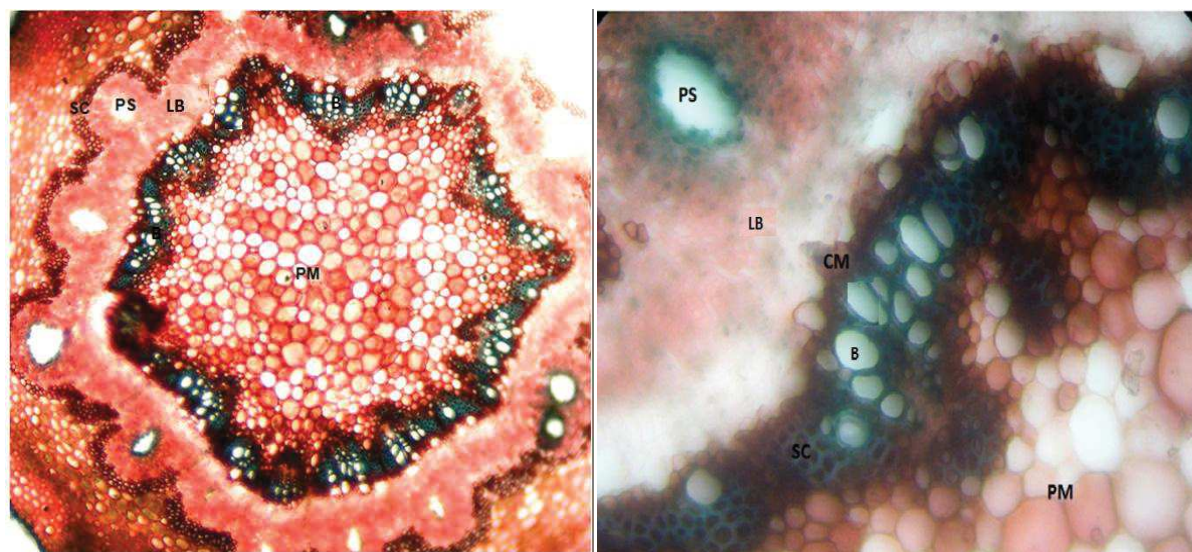


Figure 3.1 : Coupe transversale de la tige de *P. lentiscus*(X100)

Figure 3.2 : Détails des éléments conducteurs de la tige de *P.*

PM: Parenchyme médullaire, B: Bois, LB: Liber, PS: Poche sécrétrice, CM: Cambium, SC: Sclérenchyme.

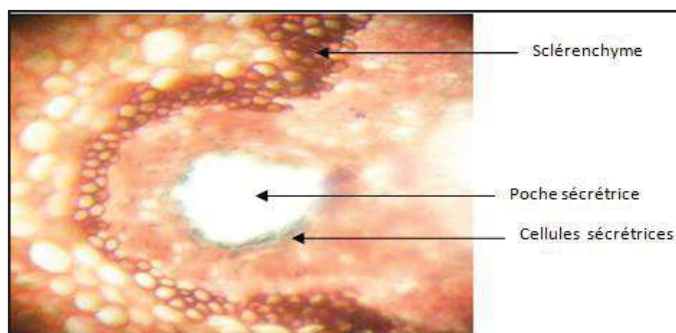


Figure 3.3 : Détails de la poche sécrétrice de la tige de *P. lentiscus*(X400)

### 3.1.1.2. La feuille

En coupe transversale, après la double coloration, le limbe de la feuille nous a permis d'observer les tissus suivants (en partant de l'extérieur vers l'intérieur):

L'épiderme supérieur et inférieur; sont constitués d'une seule couche de cellules (Figure 3.4) surmontée par une couche de cuticule. L'épiderme supérieur ne présente pas de stomates, il protège le parenchyme palissadique, et l'épiderme inférieur contient les stomates et protège le parenchyme lacuneux.

- Le parenchyme palissadique, contient des cellules rectangulaires très riches en chloroplastes.
- Le parenchyme lacuneux, avec des cellules arrondies et moins riches en chloroplastes.

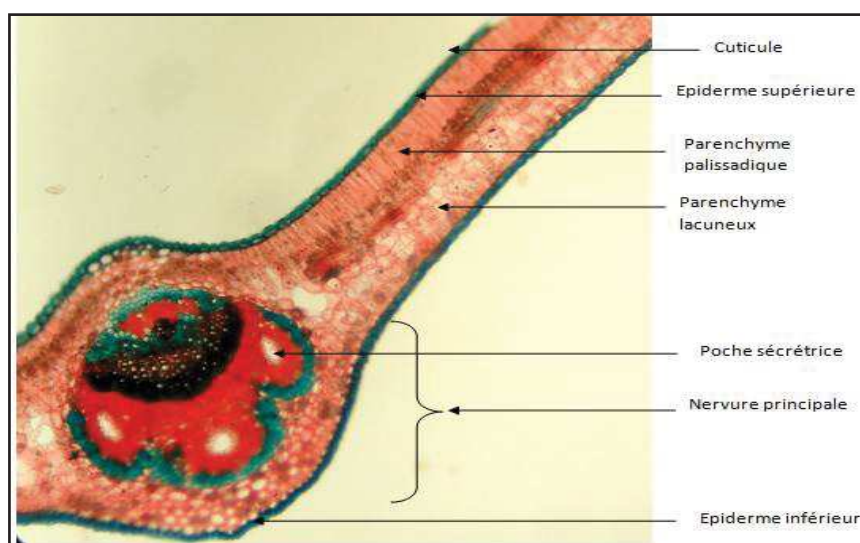


Figure 3.4 : Coupe transversal de la feuille de *Pistacialentiscus* (X 400)

Au niveau de la nervure principale on observe de l'extérieure à l'intérieure la présence de :

- Un tissu de soutien, le Sclérenchyme fibreux,
- Des tissus conducteurs secondaires: le liber, qui transporte la sève élaborée et le bois, qui transporte la sève brute ;
- Des poches sécrétrices ;
- Un tissu de soutien, le sclérenchyme.

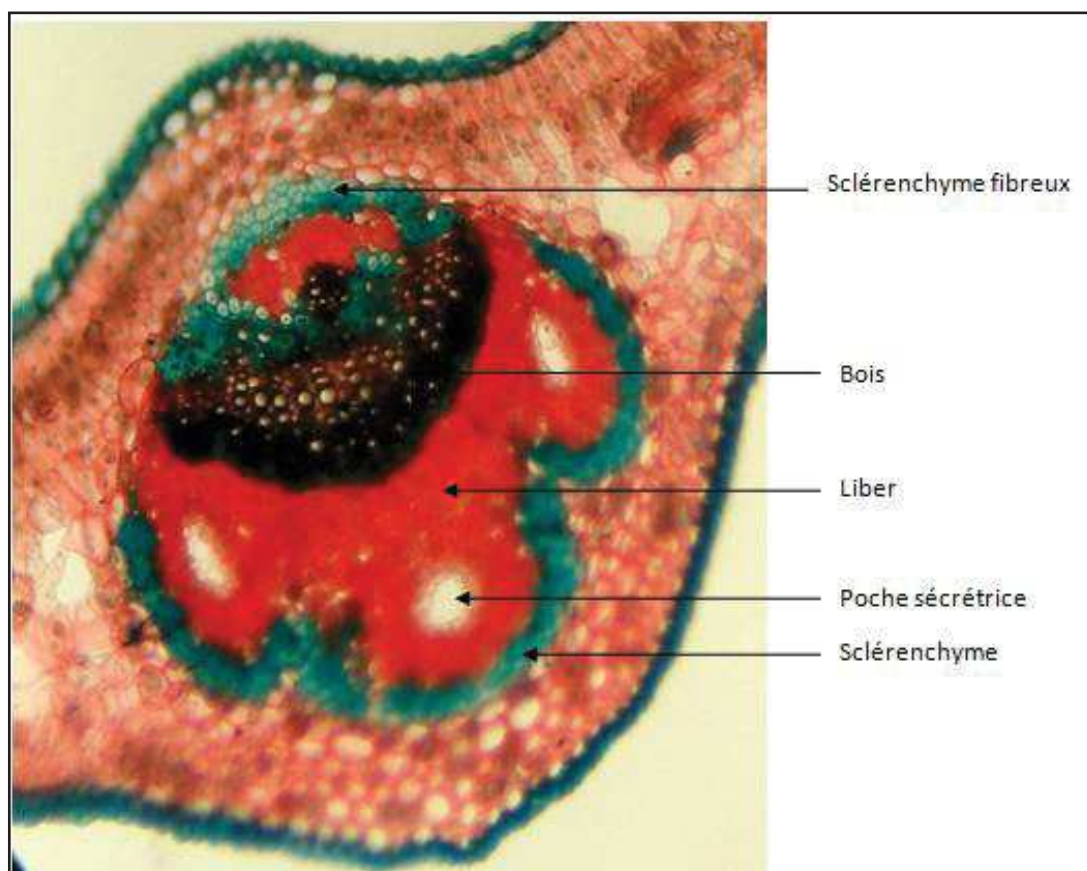


Figure 3.5 : coupe transversale de la feuille de *P. lentiscus* montrant les vaisseaux conducteurs au niveau de la nervure principale (X 400).

### 3.2. Résultats de l'étude phytochimique de *Pistacia lentiscus* L.

#### 3.2.1 .Teneur en eau

La teneur en eau de la plante est reportée dans le tableau 3.1. Les feuilles contiennent  $53,64 \pm 0,22$  % d'eau un pourcentage plus important par rapport à celui observé dans les fruits. Cette teneur en eau est conforme à celle observée par la pharmacopée Européenne 1999. La teneur élevée en eau, chez les plantes, est en relation étroite avec l'activité métabolique. Elle fournit l'hydrogène indispensable aux réactions de biosynthèse [118].

Tableau : 3.1 Résultats de la teneur en eau chez *Pistacia lentiscus* L.

Organes	Teneur en eau (%)
Feuilles	$53,64 \pm 0,22$
Fruits	$43,62 \pm 1,24$

#### 3.2.2. Identification colorimétrique des principes actifs

L'étude de l'identification colorimétrique a permis de mettre en évidence quelques métabolites secondaires présents dans la plante, résumés dans le tableau 3.2. Nous constatons que :

- les tanins catéchiques sont présents avec des quantités importantes dans les deux parties. Leur présence est confirmée par la réaction de Stiasny ;
- Les flavonoïdes existent dans les deux parties de la plante. Ils sont en quantités importantes dans les fruits par rapport aux feuilles. La réaction de cyanidine confirme la présence de flavonones, flavanonols dans le fruit et les feuilles ;
- Nous avons remarqué que les alcaloïdes sont absents dans les deux parties étudiées
- la présence des stérols est faible dans les feuilles, et dans les fruits.
- Les indices de mousses indiquent que l'intensité des saponosides est importante dans les feuilles et les fruits.
- De façon générale, ces résultats corroborent ceux mentionnés par d'autres chercheurs, notamment ROMANI et *al.*, [119] ; ANDERSEN et MARKHAM [120] ; BAMMOU et *al.*, [121].

Tableau 3.2 : Caractérisation colorimétrique des métabolites secondaires de *Pistacia lentiscus*

Constituants		Feuilles	Fruits
Tanins	Tanins catéchiques	+++	+++
	Tanins galliques	-	+++
Alcaloïdes		-	-
Flavonoïdes	Flavones	++	-
	Flavonones, Flavanolols	++	++
	Flavanones	-	++
Dérivés anthracéniques libres		++	++
Anthraquinones		-	-
O-hétérosides		-	-
C-hétérosides		++	++
Stérols et triterpènes		+	+
Saponines		+++	+++
Anthocyanes		++	++
Leucoanthocyanes		+++	+++

(+ + +) : Réaction positive, (+ +) : Réaction moyennement positive, (+) : Réaction faiblement positive, (-) : Réaction négative.

### 3.2.3. Résultat de l'extraction des composés polaire et apolaire

Le rendement d'extraction des extraits méthanoliques était plus important ( $p < 0,001$ ) dans les feuilles de *P.lentiscus* que dans les fruits ( $36,03\% \pm 0,295$  et  $13,82\% \pm 0,061$  respectivement) (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Rendement des extraits méthanoliques.

Partie de la plante	Rendements (%)	
	Partie polaire	Partie apolaire
Feuille	$36.03 \pm 0,295$	$3.26 \pm 0.35$
Fruit	$13.82 \pm 0.061$	$24.38 \pm 1.18$



### 3.2.4. Résultat du dosage de quelques principes actifs de la plante

#### 3.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Nous avons quantifié le taux des polyphénols totaux, à partir de l'extrait méthanolique de la plante (feuilles et/ou fruits). La courbe d'étalonnage est réalisée avec différentes concentrations d'acide gallique ( $y = 0,004x + 0,069$ ).

Les résultats résumés dans la figure 3.6 montrent que *P.lentiscus* est riche en phénols, cependant une différence significative ( $p < 0,05$ ) a été observée dans la teneur en phénols totaux dans les feuilles ( $323,5 \pm 0,2$  mg Eq AG / g ES) par rapport à celle révélée dans le fruit ( $318,99 \pm 1,02$  mg Eq AG / g ES), où l'on a observé des teneurs moins importantes. Des résultats similaires ont été signalés par ZITOUNI et *al.*, [122] où la teneur en polyphénols totaux observée était de l'ordre  $216,289 \pm 20,62$  mg Eq AG / g ES pour les feuilles et de  $103,342 \pm 2,317$  mg Eq AG / g ES mg/g) pour le fruit.

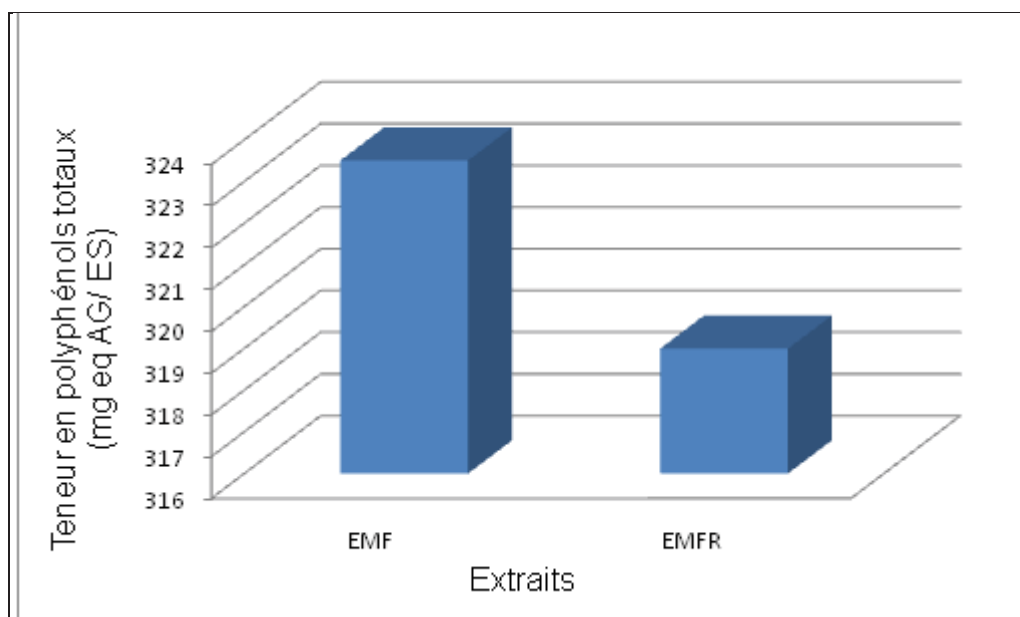


Figure 3.6 : Teneur en polyphénols totaux de l'EMF et l'EMFR de *P.lentiscus*.

### 3.2.4.2. Résultat du dosage des flavonoïdes dans la plante

Nous avons quantifié le taux les flavonoides, à partir de l'extrait méthanolique de la plante (feuilles et/ou fruits). La courbe d'étalonnage est réalisée avec différentes concentrations de la quercétine ( $y= 0,041 x- 0,398$ ).

Nous avons observé une faible teneur en flavonoïdes dans les feuilles et les fruits de *P. lentiscus* ;  $46,78 \pm 0,01$  mg Eq QE/ g ES et  $30,13 \pm 0,04$  mg Eq QE/ g ES, respectivement avec une différence très significative ( $p < 0,001$ ) entre les deux parties de la plante. Ces résultats corroborent avec ceux de CHERBAL et al., [123] et ATMANI et al., [124]

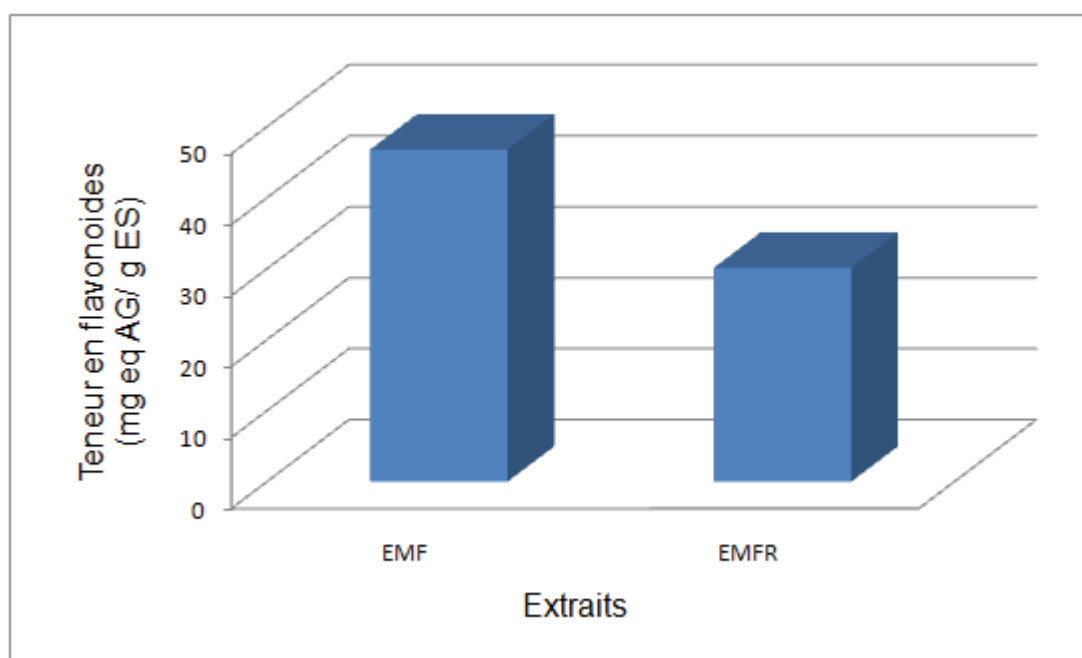


Figure 3.7: Teneur en flavonoides de l'EMF et de l'EMFR de *P.lentiscus*.

### 3.2.4.3. Résultat du dosage des tannins dans la plante

Nous avons quantifié le taux des tannins à partir de l'extrait méthanolique de la plante (feuilles et/ou fruits). La courbe d'étalonnage est réalisée avec différentes concentrations de catéchine ( $y= 0,0004 x- 0,0026$ ).

Les plus fortes concentrations de tanins condensés ont également été enregistrées dans les feuilles ( $359,83 \pm 2,12$  mg Eq CAT/ g ES) avec une différence significative ( $p < 0,001$ ) par rapport à ceux observés dans le fruit ( $294,83 \pm 1,02$  mg

Eq CAT/ g ES). Des résultats comparables ont été rapportés par CHERBALet *al.*, [123] et ATMANI et *al.*, [124].

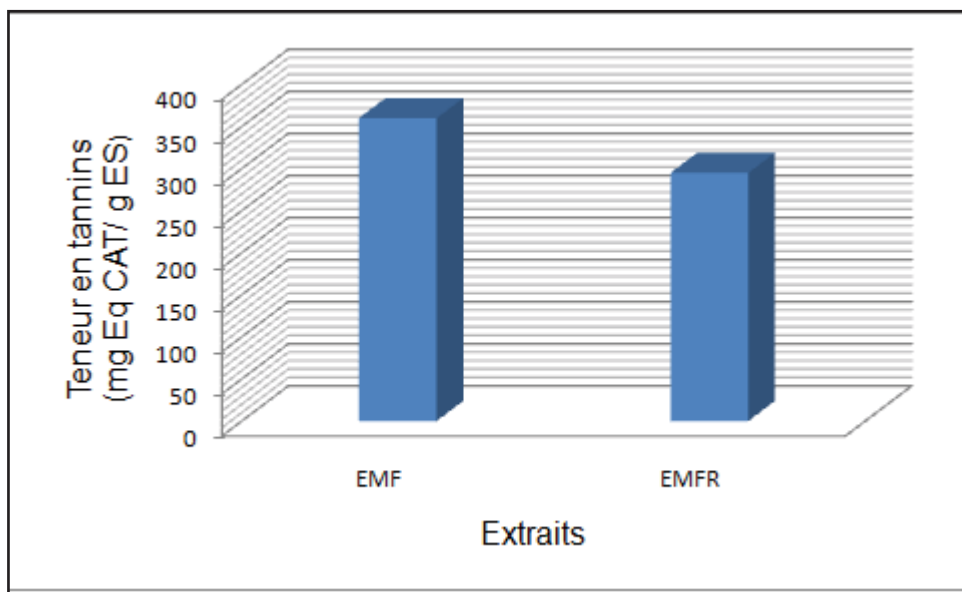


Figure 3.8: Teneur en tannins de l'EMF et l'EMFR de *P. lentiscus*.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- 1- Facteurs climatiques et environnementaux : zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies [125].
- 2- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante [126].
- 3- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des polyphénols totaux [127].

### 3.2.5. Résultats du test du pouvoir antioxydant de *Pistacialentiscus*

#### 3.2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique est exprimée en EC 50%. Ce paramètre a été introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs et a été ensuite utilisé par plusieurs chercheurs pour présenter leurs résultats. Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de radicaux libres.

Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanolique des feuilles et des fruits de *P. lentiscus* ont une forte activité réductrice du radical libre DPPH. Nous

constatant que l'EMF a révélé un pourcentage d'inhibition élevé de (92,61 %  $\pm$  0,15) à 0,4 mg/ml suivis par l'EMFR (73,97  $\pm$  0,06). Les concentrations EC50 étaient de l'ordre de (0,121 mg/ml  $\pm$  0,001) pour l'extrait méthanolique des feuilles et (0,261 mg/ml  $\pm$  0,0002) pour l'extrait méthanolique des fruits (Tableau 3.1).

Tableau 3.10 : EC 50 des extraits méthanoliques.

Extraits/ control	Test DPPH
	EC50 (mg/ml)
EMF	0,121 $\pm$ 0,001 ***
EMFR	0,261 $\pm$ 0,0002 ***
BHT	0,078 $\pm$ 0,0002

Les pourcentages d'inhibition des extraits étaient significativement ( $p < 0,001$ ) inférieurs à ceux de l'antioxydant de référence (BHT).

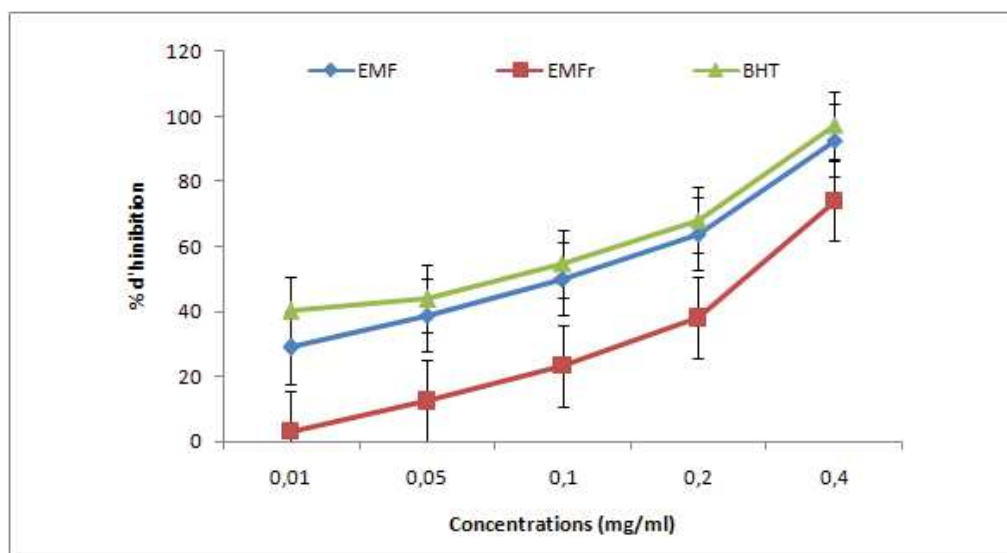


Figure 3.10 : Pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de *P. lentiscus* exprimés en pourcentage d'inhibition.

Le stress oxydatif a été impliqué dans de nombreuses maladies et affection pathologiques, notamment le diabète, les maladies cardiovasculaires, les maladies

inflammatoires, le cancer et le vieillissement. Les antioxydants offrent une résistance contre le stress oxydatif en piégeant les radicaux libres, en inhibant la peroxydation lipidique, et par de nombreux autres mécanismes et ainsi prévenir les maladies [128].

Le test de piégeage du radical libre DPPH mesure la réduction de DPPH par les antioxydants, ce qui est enregistré comme un changement de couleur [129] et une diminution de l'absorbance de DPPH avec une augmentation de la concentration de l'extrait. Selon la présente étude, les extraits méthanoliques de feuilles et de fruits de *P. lentiscus* ont montré une forte activité de piégeage des radicaux libres (CE50 = 0,121 mg / ml  $\pm$  0,001 et 0,26 mg / ml  $\pm$  0,0002) ces données sont similaires à celles trouvées par ZITOUNI et al. [122] (EC50 = 0,16 mg / ml pour les feuilles et CE50 = 0,77 mg / ml pour les fruits). D'autre part, l'étude d'ATMANI et al. [124] a rapporté que les extraits aqueux issus des fractions chloroforme et hexane ont également montré une activité remarquable de piégeage du radical libre DPPH (IC50 = 4,24  $\mu$ g / ml et 4,51  $\mu$ g / ml, respectivement), significativement plus faible que celle du BHA (6,18  $\mu$ g / ml), ce qui permet d'établir une relation entre l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *P.lentiscus* et la quantité élevée de composés phénoliques présente dans la partie aérienne de cette plante. La capacité des extraits méthanoliques de feuilles et/ ou de fruits de *P. lentiscus* L. à piéger les radicaux libres pourrait être attribuée à un effet synergique de leurs constituants actifs, tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes. UMADEVI et al. [130], ROMANI et al. [119] ont rapporté que *P. lentiscus* L. se caractérisait par la présence d'acides phénoliques (tels que l'acide gallique) et de flavonoïdes (tels que les dérivés de la myricétine). Un flavane-3-ol (catéchine) a également été détecté en petite quantité, contribuant également à l'activité antioxydante de l'extrait. Une étude complémentaire, conduite par BARATTO et al. [131] ont conclu que les dérivés galloyl isolés à partir de feuilles de *P. lentiscus* L. éliminaient efficacement les radicaux libres, tandis que les acides quiniques ne présentaient aucune activité antioxydante.

#### 3.2.5.2. Réduction du fer

La capacité de la réduction basée sur la transformation du Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> en présence des extraits des végétaux de *P.lentiscus* est déterminée dans cette étude

par la méthode d'OYAIZU (1986). Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 3.11.

Tableau 3.11 : EC 50 des extraits méthanoliques.

Extraits/ control	Test FRAP
	EC 50(mg/ml)
EMF	0,207 ± 0,0002 ***
EMFR	0,163 ± 0,0003 ***
AA	0,036 ± 0,001

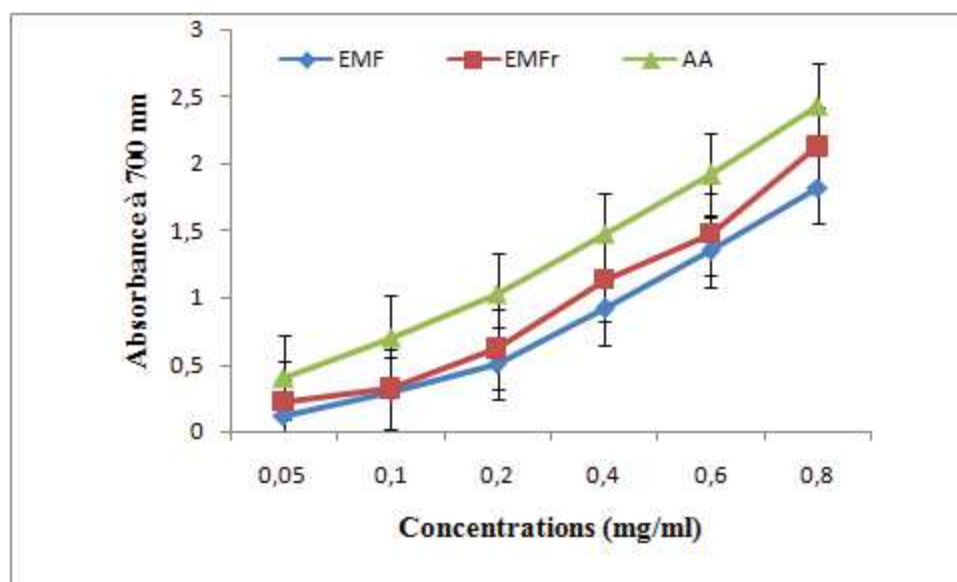


Figure 3.11: Réduction du fer des extraits méthanoliques de *P. lentiscus* et du contrôle (AA) exprimés en (moyen ± SEM).

Le pouvoir réducteur (FRAP) mesure la capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique 2, 4, 6-triperidyl-s-triazine à un complexe ferreux intensément de couleur bleue en milieu acide [132].

Les résultats du test FRAP étaient similaires à celui du piégeage du radical libre DPPH pour les deux extraits méthanoliques de feuilles et/ ou de fruits de *Pistacia lentiscus*. L'augmentation de la capacité de réduction du fer déterminés pour *P. lentiscus* L., étaient bien corrélées avec l'activité de piégeage du radicale libre DPPH décrite dans le paragraphe précédent. . Il semble que la capacité antioxydante

observées dans les extraits méthanoliques de feuilles et /ou de fruits de *P. lentiscus* L. soient fortement corrélées à leur contenu polyphénolique et en particulier à la structure et à la concentration des constituants phénoliques présents dans les extraits de la plantes. Différents flavonoïdes, tels que la quercétine, la myricétine, et des acides phénoliques (acide gallique) ont déjà été mentionnés en tant que constituants des extraits méthanoliques de feuilles et/ou de fruits de *P. lentiscus* L. Cette diversité de polyphénols se traduit par différentes capacités antioxydantes. La quercétine, par exemple, a la valeur FRAP la plus forte (4,6), comparée à la (+) - catéchine (2,0) KATAL-INIC et al. [133].

ATMANI et al. [124] ont noté que le meilleur pouvoir réducteur est obtenu à partir des fractions aqueuses issues de l'hexane et de chloroforme de *P.lentiscus*, significativement supérieures à celle des étalons, BHA et a-tocophérol. Une étude récente de GONCALVES et al. [134] portée sur dix espèces de plantes médicinales méditerranéennes a montré que les extraits les plus puissants étaient ceux de *P. lentiscus* (à la concentration la plus faible de 0,4 mg / ml), ce qui confirme nos résultats. Selon ALEXIEVA et al. [135] l'activité antioxydante des plantes dépend du type, de la qualité, de la partie (feuilles, fleurs, graines) de la plante, de l'habitat, des conditions climatiques, des caractéristiques du sol, l'alcool, etc. qui sont autant de facteurs importants qui affectent considérablement la capacité antioxydante des plantes.

### 3.2.6. Résultats de l'identification des composés phénoliques par HPLC

Les polyphénols ont été identifiés à l'aide des données des analyses par HPLC-MS, par leurs temps de rétention, leur absorptions en UV – visible et leurs spectres de masse en mode négatif (MS / MS).

La combinaison de l'analyse HPLC-DAD et de l'ionisation par électrospray la spectrométrie de masse a permet l'identification de quelques polyphénols présent dans l'extrait de *P. lentiscus*. En utilisant cette procédure 14 composés phénoliques ont été identifiés dans l'extrait de feuilles de *P. lentiscus* (tableau 3.4) et 09 composés dans l'extrait de fruits de *Pistacia lentiscus*(Tableau 3.5) Les composés identifiés sont dérivés de deux groupes phénoliques: les acides phénoliques et les flavonols

Cette analyse nous a permis la détection des :

- Des acides phénoliques : l'acide quinique dans l'EMF et l'acide syringique dans l'EMFR ;
- Des gallotannins qui sont les dérivés galloyle de l'acide quinique (5-O-galloyl quinic acid, 3, 5-O- digalloyl quinic acid et le 3,4,5, O-trigalloyl quinic acid) détecté dans les EMF et/ou l'EMFR,
- Des flavonols. La plus part des flavonols identifiés ont été conjugués avec un fragment de sucre. Les données de masse en mode négatif permettent l'identification de chaque flavonol aglycone par l'observation des valeurs de fragmentation caractéristiques du rapport masse nombre de charge ( $m/z$ ) ( $m/z$  301 quercétine,  $m/z$  317 myricétine et  $m/z$  285 kampférol). L'attribution du sucre était basée sur la perte caractéristique d'un fragment de  $m/z$  162 (glucoside ou galactoside),  $m/z$  146 (rhamnoside).

Les résultats trouvés dans notre étude sont en accord avec ceux rapportés par REMILA et *al.*, (2015) [136], et ceux de RODRIGUEZ PEREZ et *al.*, (2013) [137] et AZAIZEH et *al.*, (2013) [138] qui ont également identifié différents composés phénoliques dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*, dont 04 étaient l'acide gallique, la catéchine et la quercétine et la rutine.



Tableau 3.4 : Composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

PIC	TR	Composés phénoliques
1	2,89	quinic acid
2	3,07	5-O-galloyl quinic acid
3	3,68	3, 5-O- digalloyl quinic acid
4	4,137	3,4,5, O-trigalloyl quinic acid
5	4,94	myricetin glucoside
6	5,61	myricetin rhamnoside
7	6,67	Quercetin glucoside
8	8,12	quercetin pentoside
9	8,17	caffeoil glucoside
10	9,01	quercetin rhamnoside
11	10,117	kaempferol-3-O-glucoside
12	12,833	kaempferol-3-O-rhamnoside
13	19,71	kaempferol
14	36,98	myricetin

Tableau 3.5 : Composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia lentiscus*

Pic	TR	Composés phénoliques
1	2,23	syringic acid
2	2,91	5-O-galloyl quinic acid
34	3,46	3, 5-O- digalloyl quinic acid
5	4,23	3,4,5, O-trigalloyl quinic acid
6	5,025	myricetin glucoside
7	11,6	Quercetin glucuronide
8	12,733	kaempferol-3-O-rhamnoside
9	36,98	myricetin

### 3.2.7. Etude des composés volatils.

#### 3.2.7.1. Extraction et rendement en huile essentielle.

L'huile essentielle extraite à partir des feuilles séchées de *P. lentiscus* a été obtenue par le procédé d'hydrodistillation (Tableau 3.6).

Le rendement moyen en HE est de 0,06 % ; nos résultats sont proches de ceux obtenus par BENYOUCEF et *al.* [139] qui indique un rendement de 0,02%. Néanmoins, ZRIRA et *al.* [140] au Maroc et CONGIN et *al.* [141] en Sardaigne indiquent des rendements plus importants compris entre 0,2 % et 0,4%. Ce rendement peut varier d'une part, d'une région à une autre, selon les facteurs pédoclimatiques, et d'autre part selon l'équipement d'extraction.

Tableau 3.6 : Rendement en HE de *P. lentiscus*.

Huile essentielle	Rendement (%)
Feuilles	0.06 ± 0.006

Ce procédé nous a permis d'obtenir une HE, d'aspect liquide limpide et mobile, de couleur jaune pâle et d'une odeur assez forte et herbacée.

### 3.2.7.2. Composition chimique de l'huile essentielle

L'analyse de l'HE de *P. lentiscus* par CG-MS, nous a permis d'obtenir le chromatogramme représenté dans la figure 3.9. Les composés identifiés de l'huile essentielle de *P. lentiscus* sont résumés dans le tableau 3.6

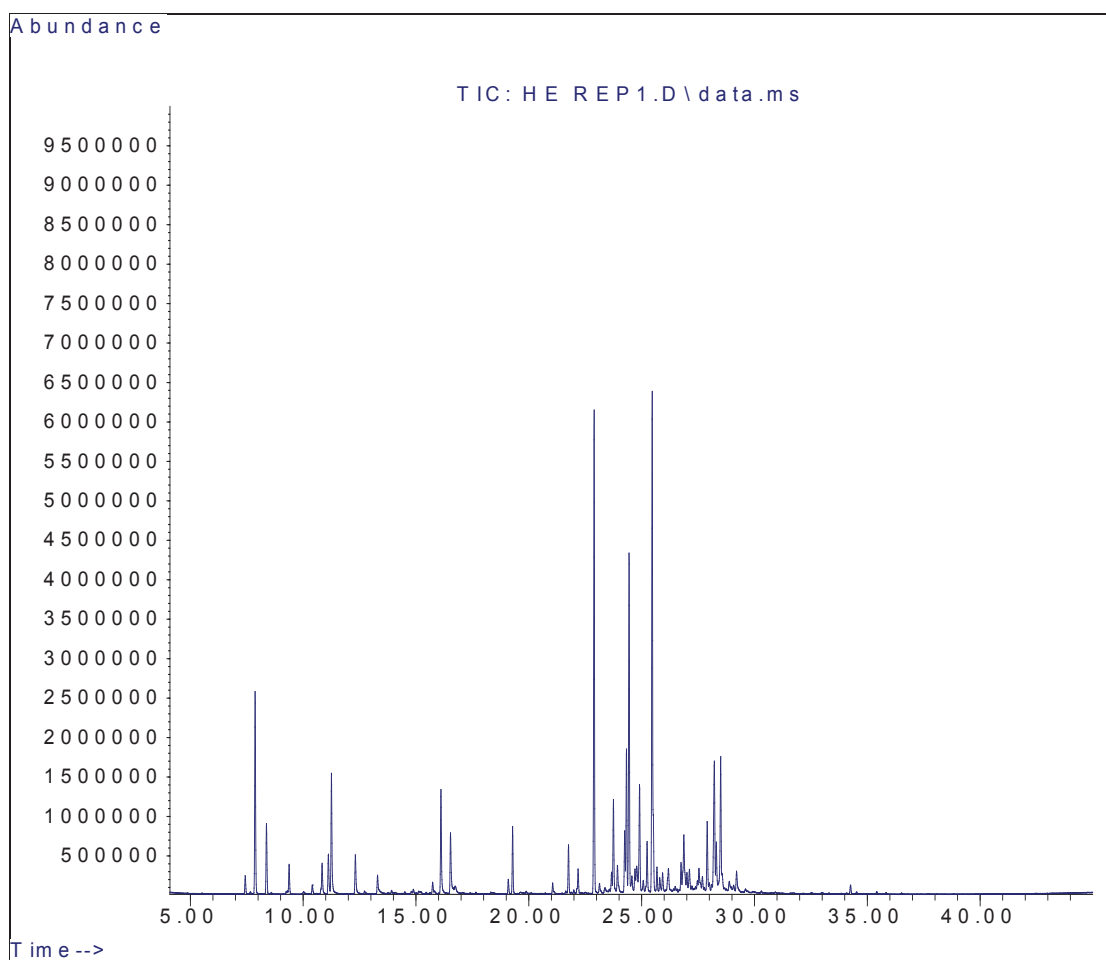


Figure 3.9: Chromatogramme de la fraction volatile de *P.lentiscus* extraite par entraînement à la vapeur et analysée par CG-MS

Tableau 3.7 : Composants chimique de l'H.E des feuilles de *P.lentiscus*

Composés	PIC	IR	Composition (%)
Tricyclene	1	7,438	0,46
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	<b>2</b>	<b>7,875</b>	<b>4,98</b>
Camphene	3	8,377	1,80
$\beta$ -Pinene	4	9,382	0,90
$\alpha$ - Phellandrene	5	10,41	0,30
$\alpha$ -Terpinene	6	10,844	0,95
o-Cymene	7	11,12	1,09
<b>Limonene</b>	<b>8</b>	<b>11,259</b>	<b>3,32</b>
$\gamma$ -Terpinene	9	12,317	1,22
$\alpha$ -Terpinolene	10	13,302	0,73
Endo-Borneol	11	15,743	0,42
<b>Terpinen-4-ol</b>	<b>12</b>	<b>16,11</b>	<b>2,87</b>
$\alpha$ -Terpineol	13	16,535	1,70
$\alpha$ - Ionone	14	19,097	0,40
Bornylacetate	15	19,287	1,58
$\alpha$ -Cubebene	16	21,062	0,37
$\alpha$ -Copaene	17	21,761	1,25
$\beta$ - Elemene	18	22,186	0,76
<b>Trans-Caryophyllene</b>	<b>19</b>	<b>22,895</b>	<b>11,25</b>
$\beta$ -Cubebene	20	23,137	0,33
<b><math>\alpha</math>-Humulene</b>	<b>21</b>	<b>23,751</b>	<b>2,81</b>
Aromadendrene	22	23,934	0,84
<b><math>\alpha</math>-cadinene</b>	<b>23</b>	<b>24,331</b>	<b>5,04</b>
<b>Germacrene-D</b>	<b>24</b>	<b>24,445</b>	<b>8,54</b>
B-Selinene	25	24,568	0,58
$\alpha$ -Gurjunene	26	24,786	1,67
<b><math>\alpha</math>-Muurolene</b>	<b>27</b>	<b>24,91</b>	<b>3,08</b>
$\delta$ -Amorphene	28	25,077	0,39

IR : Indice de rétention

Tableau 3.7 : Composants chimique de l'H.E des feuilles de *P.lentiscus* (suite)

Composés	PIC	IR	Composition (%)
δ -Cadinene	30	25,471	13,60
α-Cedren	31	25,681	0,67
α-Cadinene	32	25,808	0,47
α-Calacorene	33	25,932	0,60
Indene	34	26,19	1,16
Spathulenol	35	26,75	0,83
<b>Caryophylleneoxide</b>	<b>36</b>	<b>26,872</b>	<b>2,43</b>
Ylangenol	37	27,011	0,60
Salvial-4(14)-en-1-one	38	27,122	0,80
Ledene	39	27,546	1,63
Globulol	40	27,694	0,65
<b>Cadina-1,4-Diene</b>	<b>41</b>	<b>27,91</b>	<b>2,23</b>
<b>t-Muurolol</b>	<b>42</b>	<b>28,222</b>	<b>6,27</b>
<b>α-Cadinol</b>	<b>43</b>	<b>28,503</b>	<b>4,97</b>
Longifolen	44	28,887	0,62
Decarboxy-Citronone	45	29,21	0,82
Cembrene	46	34,26	0,32
Monoterpenhydrocarbons		15,75%	
Monoterpene oxygénés		6,97%	
Sesquiterpenhydrocarbons		58,17%	
Sesquiterpene oxygénés		16,55%	
Diterpenes		0,32%	
Autres		1,98%	
Total		99,74%	

IR : Indice de retention

La teneur totale en composés dans l'huile essentielle de *P.lentiscus* est de 99,74 %. Nous avons pu identifier 46 composants dans l'huile essentielle de *P.lentiscus* dont les composés majoritaires sont les sesquiterpènes et les monoterpènes qui représentent un pourcentage de 74,72% et 22,72% respectivement.

Parmi le groupe des sesquiterpenes, les principaux composés identifiés sont :  $\delta$ -cadinene (13,60%), Trans-caryophyllene (11,25 %), Germacrene-d (8,54%), t-muurolol (6,27%),  $\alpha$ -cadinene (5,04%),  $\alpha$ -cadinol (4,97%),  $\alpha$ -muurolene (3,08%), Caryophylleneoxide (2,43%), Cadina-1-4 diene (2,23%).

Le deuxième groupe chimique des monoterpènes renferment également des composants en quantité appréciable:  $\alpha$ -pinene (4,98%), Limonene (3,32%), terpinen-4-ol (2,87%).

Ces constituants majoritaires qui caractérisent cette HE peuvent varier considérablement en fonction de plusieurs paramètres notamment les conditions de stockage ainsi que l'équipement et le mode d'extraction.

La composition chimique de l'huile de *P. lentiscus* a été mise en évidence par plusieurs études [140], [141], [143], [142]. Selon DOB et *al.*, [142], la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *P. lentiscus* de 3 régions différentes en Algérie (Oran, Tiziouzou et Alger), était riche en longifolene, *trans*- $\beta$ -terpineol et sabinene.

DURU et *al.* [143] ont identifié comme composé majoritaire : le terpinen-4-ol (29,9%),  $\alpha$ -terpinéol (11,6%), le limonène (10,6%) et l' $\alpha$ -pinène (4,2%) tandis que CONGIN et *al.*, [141] ont trouvé que l'HE de *P. lentiscus* contenait les principaux composants suivants:  $\beta$ -caryophyllène (31,4%), germacrène D (12,1%), 2-undécanone (7,1%) et du  $\delta$ -cadinène (6,5%). L'étude réalisée par ZRIRA et *al.* [140] sur la caractérisation chimique de l'huile essentielle de notre plante obtenue à partir des parties aériennes de *P. lentiscus* du Maroc a démontré que l' $\alpha$ -pinène (7,1-38,5%), myrcène (10,2-11,5%), le limonène (6,7-8,1%) et le terpinen-4-ol (14,3-45,8%) étaient les principaux composants [140].

### 3.3. Résultats de l'étude des activités biologiques

#### 3.3.1. Résultats de l'activité antibactérienne

##### 3.3.1.1. Mise en évidence de la zone d'inhibition

L'étude qualitative de l'activité antibactérienne au moyen de la méthode de diffusion sur gélose en utilisant des disques absorbants, a donné les résultats

représentés dans le tableau 3.7. Cette activité est donnée par le diamètre en mm, de la zone d'inhibition des cultures microbiennes.

Tableau 3.8: Activité antibactérienne de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques de la plante.

Bactérie	H.E.F	ExMeoH		IMP	VAC
		Feuilles	Fruits		
<i>E. coli</i> ATCC	12,33 ± 0,62	6,00. ± 0,00	6,00. ± 0,00	2,00 ± 0,33	/
<i>P. aeruginosa</i> ATCC	6,00 ± 0,00	7,00 ± 0,40	15,33 ± 0,84	27,33 ± 0,64	/
<i>S. aureus</i> ATCC	23,00 ± 0,40	24,00 ± 2,05	22,66 ± 0,47	/	17,06 ± 0,37
<i>S. epidermidis</i> ATCC	19,66 ± 0,84	15,33 ± 1,02	16,00 ± 0,70	/	23,06 ± 0,80
<i>E. faecalis</i> ATCC	27,33 ± 0,41	16,00 ± 0,40	19,66 ± 0,23	/	17,66 ± 0,33
<i>B. subtilis</i> ATCC	19,66 ± 0,62	7,00 ± 0,70	15,66 ± 0,23	/	20,96 ± 0,23
<i>M. luteus</i> ATCC	23,66 ± 0,23	21,00 ± 0,70	20,66 ± 0,47	/	20,06 ± 0,9
<i>E. coli</i>	11,00 ± 0,70	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,58	/
<i>P. aeruginosa</i>	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	/
<i>S. aureus</i>	20,00 ± 0,81	17,00 ± 0,70	20,66 ± 0,94	/	6,66 ± 0,94
<i>A. baumannii</i>	15,66 ± 0,23	15,33 ± 0,23	20,66 ± 0,23	20,66 ± 0,23	/
<i>k. pneumoniae</i>	6,00 ± 00	6,00 ± 00	6,00 ± 00	6,00 ± 00	/
<i>E. faecalis</i>	14,00 ± 0,40	13,66 ± 0,47	20,33 ± 0,23	/	6,00 ± 0,00
<i>E. faecium</i>	18,00 ± 0,50	16,00 ± 0,70	14,23 ± 0,70	/	18 ± 0,21

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des huiles essentielles montrent une large variation des diamètres des zones d'inhibition allant de 6 à 27,33 mm selon les souches et en fonction des extraits testés (Tableau 3.8).

En effet, ces résultats nous révèlent que l'huile essentielle et les extraits méthanolique de *P.lentiscus* sont très actifs, ils présentent une sensibilisation plus ou moins modérée de toutes les souches. Une inhibition très significative des souches *E. faecalis*, *S. aureus* et *M. luteusa* été adoptée aux extraits et à l'huile essentielle de *P.lentiscus*. Aucune sensibilisation a été remarquée contre, *P. aeruginosa*, *E. coli* et

*k. pneumoniae*, tandis qu'une légère inhibition de 7mm a été signalée pour *B. subtilis* vis-à-vis de l'extrait méthanolique des feuilles.

Nous pouvons déduire que l'ensemble des souches à Gram (-) est moins sensible voire résistant aux extraits méthanoliques et l'huile essentielle de *P. lentiscus*. Par contre les souches à Gram (+) sont sensibles dont les diamètres varient entre 13 et 27 mm.

Nos résultats concordent avec ceux de BONSIGNORE et al. [144], ils ont pu montrer que l'huile essentielle de la partie aérienne de *P. lentiscus* n'a aucune activité contre les bactéries Gram (-) et Gram (+). D'autres résultats reportés par TASSOU et al. [145] entrent dans le même contexte. Ils ont noté que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles aux huiles essentielles que les Gram (-).

BONSIGNORE et al. [144], MAGIATIS et al. [09] montrent aussi que l'huile essentielle des feuilles de *P. lentiscusa* a une activité bactériostatique dont les zones d'inhibition varient de moins 7mm dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Candida tropicalis* et *Torulopsis glabrata*, à 10 mm pour *S. aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*.

L'analyse par CG/MS de l'H.E nous révèle les composés majoritaires qui sont:  $\delta$ -cadinène (13,60%), Trans-caryophyllène (11,25 %), Germacrène-d (8,54%),  $\beta$ -muurolol (6,27%),  $\alpha$ -cadinène (5,04%),  $\alpha$ -cadinol (4,97%),  $\alpha$ -muurolène (3,08%), Caryophyllène oxide (2,43%), Cadina-1-4 diène (2,23%). L'activité antimicrobienne de l'H.E des feuilles de cette plante peut être probablement associée à la forte concentration de ces composés, ceci a été montré par certains auteurs MAGIATIS et al. [09], DELAZAR et al. [146].

L'analyse GC-MS a permis d'identifier de nombreux composés. Néanmoins, la présence de certains composants avec des quantités relativement importantes pourrait expliquer la différence de sensibilité des bactéries testées à l'huile essentielle de feuilles *P. lentiscus*. La forte sensibilité de *S. aureus* à l'huile essentielle de différentes plantes serait due à la présence de camphène [147] et de  $\beta$ -caryophyllène [148]. Ces deux composants sont présents dans la composition d'huile essentielle à 1,80% et 11,25% respectivement. Ainsi, ces deux composés pourraient agir de manière synergique ou additive contre les bactéries *S. aureus*. La sensibilité des autres bactéries testées pourrait être associée à une concentration élevée des monoterpènes hydrocarbonés et en particulier d' $\alpha$ -pinène (4,98%) dans



l'huile de feuilles de *P. lentiscus*. Ces composés sont connus pour posséder une activité antimicrobienne [147], [148].

Une bonne activité antimicrobienne des extraits méthanoliques de *P.lentiscusa* été reportée en particulier contre et *S. aureus*, *M. luteus* et *A. baumannii*. LAUK et al. [149] ont pu montrer que la décoction des feuilles de *Pistacialentiscus* avait un effet meilleure contre *Sarcinalutea*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* par rapport à l'extraction par des solvants organiques (l'éther de pétrole, l'éthanol), macération et infusion.

### 3.3.2. Activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique des extraits méthanolique contre les 5 souches fongiques sont notés sur le tableau 3.9.

Nous constatons que les extraits méthanolique de *P. lentiscus* n'ont aucune activité inhibitrice de la croissance pour toutes les souches. Nos résultats différent de ceux trouvé par lauk et al., [149] qui ont pu montrer que l'extrait brut de *P.lentiscus* possède une activité antimycotique contre *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Torulopsisglabrata*.

Tableau 3.9: Activité antifongique des extraits méthanoliques des feuilles et fruits de *P. lentiscus*

Souches	ExMeoH		AMB
	Feuilles	Fruits	
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10 231)	6,00 ±0,00	6,00 ±0,00	20,00± 0,00
<i>Candida albicans</i>	6,00 ±0,00	6,00 ±0,00	18,00 ±0,00
<i>Candida glabrata</i>	6,00 ±0,00	6,00 ±0,00	20,00±0,30
<i>Candida tropicalis</i>	6,00 ±0,00	6,00 ±0,00	19,00 ±0,54
<i>Candida parapsilosis</i>	6,00 ±0,00	6,00 ±0,00	19,00 ±0,00

### 3.3.4. Résultats de l'activité anti-inflammatoire

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire sont présentés dans les tableaux 3.12 et 3.13. La carragénine est utilisée comme agent nocif induisant une réaction inflammatoire sévère [150]. Les extraits méthanolique et aqueux des feuilles et/ des fruits de *Pistacia lentiscu* sont produit une réduction de l'œdème tout au long de la période d'observation, avec un maximum d'inhibition à la 4<sup>ème</sup> heure.

D'après les résultats obtenus, l'administration orale de l'EMF a montré une activité significative aux différentes doses utilisées 400, 600 et 800 mg / kg par rapport au groupe témoin ( $p < 0,001$ ) avec un pourcentage de réduction de l'œdème de  $60,42\% \pm 0,01$ ;  $71,04\% \pm 0,009$ ;  $89,39\% \pm 0,01$ , respectivement, concernant l'activité de DF aux doses de 400, 600 et 800 mg / kg, nous avons observé une réduction de l'œdème de la patte ( $p < 0,001$ ) avec un pourcentage de  $49,61\% \pm 0,01$ ;  $57,03\% \pm 0,004$  et  $63,06\% \pm 0,007$ , respectivement. L'EMFR a également montré une réduction de l'œdème ( $p < 0,001$ ) aux doses 400, 600 et 800 mg / kg avec des pourcentages de  $56,92\% \pm 0,004$ ;  $61,35\% \pm 0,01$ ;  $71,05\% \pm 0,01$ , respectivement. Ainsi, le DFR a donné des pourcentages de réduction de  $46,90\% \pm 0,005$ ;  $53,38\% \pm 0,01$ ;  $61,13\% \pm 0,01$ , respectivement. À la dose de 50 mg / kg, le Diclofenac (médicament standard) a diminué l'œdème de la patte de  $94,97\%$  à la 4<sup>ème</sup> heure (figure 3.12).

Nos résultats s'accordent avec ceux de DELLAI et *al.* [151] en Tunisie et BOURICHE et *al.* [152] ,en Algérie qui ont également indiqué que les extraits de *P. lentiscus* possèdent un effet anti-inflammatoire élevé. Les propriétés anti-inflammatoires des extraits de feuilles et des fruits de *P. lentiscus* ont été évaluées dans la présente étude, en utilisant le modèle expérimental d'œdème de la patte induit par l'injection de la carragénine qui peut fournir différents mécanismes liés aux activités anti-inflammatoires de cette plante. Ce modèle est largement utilisé pour étudier les processus inflammatoires, ainsi que pour identifier de nouveaux composés anti-inflammatoires. Dans ce modèle, les événements d'œdème sont déclenchés par la protéine kinase C (PKC), ce qui conduit à l'activation de la phospholipase A2 (PLA2) puis à la libération de l'acide arachidonique (AA) à partir des phospholipides membranaires. L'acide arachidonique (AA) est ensuite métabolisé par la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase (LOX) pour générer

une variété d'eicosanoïdes bioactifs, y compris les prostaglandines et les leucotriènes, qui sont impliqués dans le développement d'états inflammatoires. La PKC favorise également divers médiateurs immunitaires tels que les cytokines et les chimiokines qui augmentent et maintiennent la réponse inflammatoire [153]. L'administration des extraits méthanoliques et aqueux de *P. lentiscus* réduit significativement la taille de l'œdème. La présence de composés phénoliques dans ces extraits pourrait être en partie responsable de cet effet. En effet, les extraits de feuilles de *P. lentiscus* contiennent des quantités importantes de flavonoïdes et d'acide gallique [154]. De plus, Bendifallah et al. [155] ont affirmé la richesse des extraits de feuilles de *P. lentiscus* en tannins condensés. Les flavonoïdes tels que la quercétine et la myricétine exercent une forte inhibition sur la COX et la LOX [156]. L'acide gallique et ses dérivés sont responsables de l'inhibition de l'activation de MAPK et de l'inhibition de l'activation de NF- $\kappa$ B [157], qui sont essentiels pour la libération d'histamine et l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- $\alpha$  et IL-6. La diminution de l'œdème inflammatoire est également probablement due aux effets antioxydants des extraits, car les espèces réactives de l'oxygène produites pendant l'inflammation par les cellules phagocytaires et pendant le métabolisme de l'acide arachidonique peuvent activer la phospholipase A2. En effet, les extraits de *P. lentiscus* présentent un bon effet antioxydant [136].

La présence d'anthocyanes, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits de feuilles et de fruits de *P. lentiscus* peut contribuer à cet effet anti-inflammatoire. En effet, il a été rapporté que les anthocyanines réduisent la transactivation du facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) et diminuent les concentrations plasmatiques de chimiokines pro-inflammatoires, de cytokines et de médiateurs inflammatoires [158]. Les flavonoïdes ont une activité anti-inflammatoire lors des phases prolifératives et exsudatives de l'inflammation, ils inhibent la libération d'histamine, de cytokine, de prostaglandines et de leucotriènes [159]; [160]. De plus, des essais in vitro et in vivo ont indiqué que les tanins hydrolysables constituent un traitement très efficace contre les troubles inflammatoires [161].

Tableau 3.12 : Effet anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *P. lentiscus*

Extraits	Volume de pate (mm)				
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
Control	0,40±0,01	0,43±0,01	0,46±0,01	0,57±0,006	0,63±0,02
Diclofenac (50mg/Kg)	0,35±0,07	0,36±0,009*	0,33±0,008***	0,30±0,01***	0,30±0,006***
EMF 400 mg/kg	0,63±0,01	0,44±0,01	0,37±0,01**	0,37±0,006***	0,31±0,006***
EMF 600 mg/kg	0,60±0,01	0,33±0,01***	0,24±0,01***	0,15±0,009***	0,13±0,01***
EMF 800 mg/kg	0,61±0,03	0,25±0,01***	0,16±0,007***	0,10±0,006***	0,07±0,007***
DF 400 mg/kg	0,62±0,02	0,42±0,01	0,48±0,012	0,43±0,01***	0,38±0,005***
DF 600 mg/kg	0,60±0,01	0,41±0,01	0,44±0,01	0,4±0,02***	0,35±0,01***
DF 800 mg/kg	0,62±0,01	0,40±0,02	0,39±0,01**	0,34±0,01***	0,25±0,01***

Les valeurs sont exprimées en Moyenne ± SEM; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : \* p <0,05; \*\* p <0,01; \*\*\* p <0,001 par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dunnett; EMF : Extrait méthanolique de feuilles; DF : Décocté feuilles

Tableau 3.13 : Effet anti-inflammatoire des extraits de fruits de *P. lentiscus*.

Extraits	Volume de pate (mm)				
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
Control	0,40±0,01	0,43±0,01	0,46±0,01	0,57±0,006	0,63±0,02
Diclofenac (50mg/Kg)	0,35±0,07	0,36±0,009**	0,33±0,008***	0,30±0,01***	0,30±0,006***
EMFR 400 mg/kg	0,55±0,02	0,45±0,007	0,43±0,01	0,33±0,01***	0,28±0,01***
EMFR 600 mg/kg	0,61±0,01	0,42±0,008	0,33±0,009***	0,25±0,009***	0,18±0,006***
EMFR 800 mg/kg	0,56±0,01	0,37±0,01*	0,33±0,005***	0,22±0,007***	0,15±0,008***
DFR 400 mg/kg	0,60±0,01	0,45±0,01	0,45±0,01	0,47±0,001***	0,47±0,01***
DFR 600 mg/kg	0,53±0,008	0,44±0,01	0,40±0,008	0,40±0,01***	0,38±0,01***
DFR 800 mg/kg	0,54±0,008	0,41±0,009	0,40±0,01*	0,36±0,009***	0,33±0,007***

Les valeurs sont exprimées en Moyenne ± SEM; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : \* p <0,05; \*\* p <0,01; \*\*\* p <0,001 par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dunnett; EMFR : Extrait méthanolique de fruits; DFR : Décocté fruits

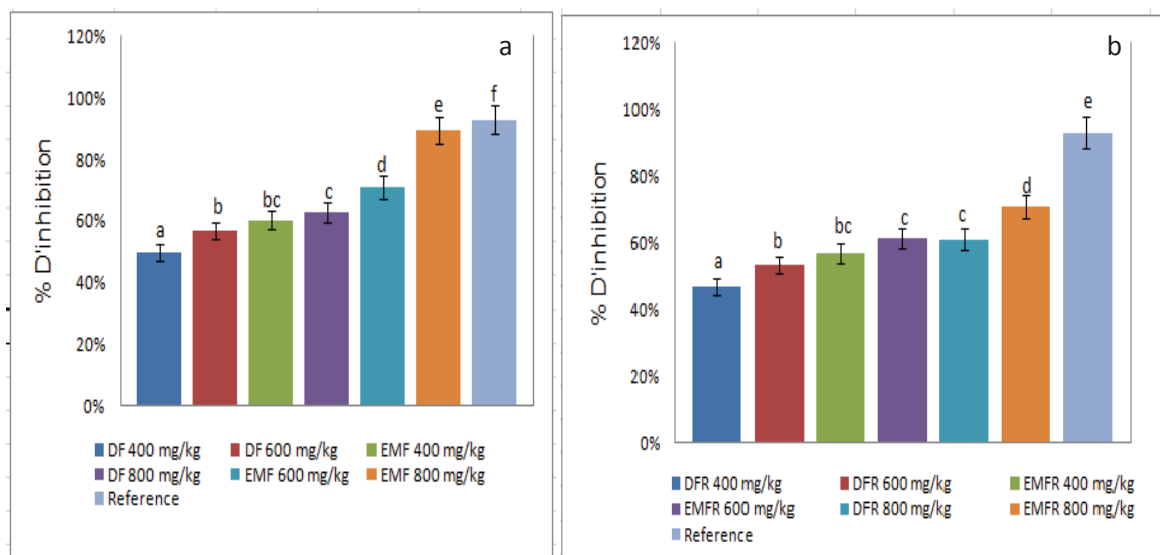


Figure 3.12: Pourcentage de réduction de l'œdème à la 4ème heure des souris recevant différents extraits (a) extraits de feuilles; (b) extraits de fruits. Les valeurs sont exprimées en Moyenne  $\pm$  SEM; n = 6 / groupe; les différentes lettres indiquent une différence statistique significative ( $p < 0,05$ ) selon ANOVA one way suivie par le test de comparaison multiples de Tukey.

### 3.3.5. Résultats de l'activité antalgique

L'administration par voie orale des extraits méthanoliques et aqueux de *P. lentiscus* a induit une activité analgésique dose-dépendante et les valeurs sont indiquées dans le tableau 12 et 13. L'injection d'acide acétique aux souris du groupe témoin a donné lieu à des contractions de  $79,5 \pm 2,71$ . Le prétraitement des souris par le l'EMF, le DF, l'EMFR et le DFR aux doses 400, 600 et 800 mg/kg réduit le nombre de crampe de manière significative ( $p < 0,001$ ). A la dose 800 mg/kg l'effet de l'EMF été comparable à celui du diclofénac (inhibition de 94,54%) (Figure 3.13).

Le test de contractions induit par l'administration de l'acide acétique est l'une des méthodes les plus utilisées pour la mise en évidence de l'effet analgésique des composés à tester [162]; [163]. L'injection de l'acide acétique a provoqué la libération de divers médiateurs endogènes produisant de la douleur tels que la bradykinine, la sérotonine, l'histamine et la substance P [164], [165], [166]. Les nocicepteurs périphériques pourraient être la cause du déclenchement de la douleur abdominale (les torsions) qui se traduit par la contraction du muscle abdominal accompagnée

d'une extension des membres antérieurs et de l'élongation du corps [167], [168], [169], [170]. Le prétraitement par les extraits de *P. lentiscus* a entraîné une réduction significative des contractions abdominales provoquées par l'acide acétique d'une manière dose-dépendante. Ainsi, on peut supposer que ces extraits sont capables de bloquer la libération des substances endogènes (métabolites de l'acide arachidonique) responsables de la sensation de douleur.

Tableau 3.14 : Effet antalgique des extraits de feuilles de *P.lentiscus*.

Extraits	Nombres de crampes	Taux de reduction (%)
Control	79,5±2,71	/
Diclofenac (50mg/Kg)	4,33±0,42 <sup>***</sup>	94,54±0,52
EMF 400 mg/kg	17,83±0,65 <sup>***</sup>	77,56±0,82
EMF 600 mg/kg	12,16±0,79 <sup>***</sup>	84,69±0,99
EMF 800 mg/kg	6,16±0,30 <sup>***</sup>	92,24±0,38
DF 400 mg/kg	24,16±0,60 <sup>***</sup>	69,59±0,75
DF 600 mg/kg	18,5±0,84 <sup>***</sup>	76,72±1,06
DF 800 mg/kg	15±0,51 <sup>***</sup>	81,12±0,64

Les valeurs sont exprimées en Moyenne ± SEM; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : \* p <0,05; \*\* p <0,01; \*\*\* p <0,001 par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dunnett; EMF : Extrait méthanolique de feuilles; DF : Décocté feuilles

Tableau 3.15 : Effet antalgique des extraits de fruits de *P.lentiscus*.

Extraits	Nombre de crampes	Taux de reduction (%)
Control	79,5±2,71	/
Diclofenac (50mg/Kg)	4,33±0,42 <sup>***</sup>	94,54±0,52
EMFR 400 mg/kg	22±0,73 <sup>***</sup>	72,32±0,91
EMFR 600 mg/kg	15,5±0,76 <sup>***</sup>	80,49±0,96
EMFR 800 mg/kg	09±0,36 <sup>***</sup>	88,67±0,45
DFR 400 mg/Kg	29±0,85 <sup>***</sup>	63,51±1,07
DFR 600 mg/kg	21,33±0,66 <sup>***</sup>	73,16±0,84
DFR 800 mg/Kg	16±0,57 <sup>***</sup>	79,86±0,72

Les valeurs sont exprimées en Moyenne ± SEM; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : \* p <0,05; \*\* p <0,01; \*\*\* p <0,001 par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dunnett; EMFR : Extrait méthanolique de fruits; DFR : Décocté fruits

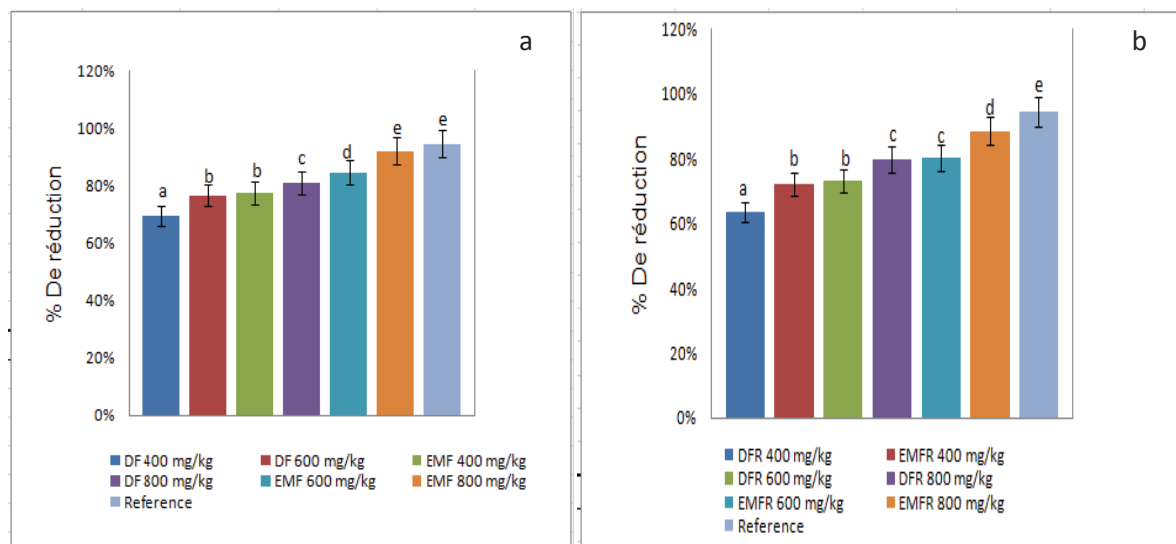


Figure 3.13: Pourcentage de réduction des crampes à la 4ème heure des souris recevant différents extraits (a) extraits de feuilles; (b) extraits de fruits. Les valeurs sont exprimées en Moyenne  $\pm$  SEM; n = 6 / groupe; les différentes lettres indiquent une différence statistique significative ( $p < 0,05$ ) selon ANOVA one way suivie par le test de comparaison multiples de Tukey.

### 3.3.6. Résultats de l'activité antipyrétique

Les résultats de l'activité antipyrétique (Tableaux 3.16 et 3.17) indiquent que les rats traités par les extraits méthanoliques et aqueux de *P. lentiscus* et l'ibuprofène, molécule antipyrétique de référence, comparés aux rats non traités du lot témoin entraînent une diminution significative de la température rectale des rats traités. La température du lot de rats témoins est restée relativement élevée pendant toute la durée de cette expérience.

L'activité antipyrétique de l'EMF et l'EMFR de *P. lentiscus* indiquée dans le tableau 6 montrent que l'EMF entraîne une baisse significative de la température corporelle ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$  et  $p < 0,001$ ) aux doses 400, 600 et 800 mg / kg. La diminution maximale de la température corporelle a été observée 4 heures après l'administration de l'extrait aux différentes doses avec des pourcentages de réduction de 61,60%, 80,96% et 84,65%, respectivement pour l'EMF et de l'ordre de 57,14%, 73,41% et 81,59% pour l'EMFR de manière dose-dépendante.

Cependant les décoctés de *P.lentiscus* (DF et DEFR) ont entraîné une diminution non significative ( $p>0,05$ ) à la dose 400 mg/kg de P.C., tandis que l'atténuation de l'hyperthermie était significative ( $p<0,01$ ,  $p<0,001$ ) à partir de la 2<sup>ème</sup> heure aux doses 600 et 800 mg/kg de P.C. avec des pourcentages de réduction entre 78,05% pour le DF et 75,79% pour le DFR.

Tableau 3.16 : Effet antipyrétique des extraits de feuilles de *P. lentiscus*.

Extraits	Température (°C)					
	T initiale	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
Control	37,11±0,04	38,13±0,04	38,56±0,04	38,66±0,06	38,8±0,06	38,9±0,04
Paracetamol (100mg/Kg)	37,18±0,06	38,56±0,06	37,58±0,06 <sup>***</sup>	37,26±0,06 <sup>***</sup>	37,25±0,04 <sup>***</sup>	3,23±0,05 (97,20%) <sup>***</sup>
EMF 400 mg/kg	37,28±0,12	38,8±0,10	38,4±0,13	38,15±0,14 <sup>*</sup>	38,1±0,20 <sup>*</sup>	37,98±0,19 (61,60%) <sup>**</sup>
EMF 600 mg/kg	37,43±0,14	38,81±0,10	38,21±0,08 <sup>**</sup>	37,9±0,08 <sup>***</sup>	37,75±0,08 <sup>***</sup>	37,78±0,17 (80,96%) <sup>***</sup>
EMF 800 mg/kg	37,13±0,08	38,81±0,10	37,95±0,07 <sup>***</sup>	37,61±0,11 <sup>***</sup>	37,5±0,13 <sup>***</sup>	37,41±0,12 (84,65%) <sup>***</sup>
DF 400 mg/kg	37,4±0,15	38,86±0,14	38,68±0,13	38,56±0,12	38,48±0,11	38,33±0,08 (49,51%) <sup>*</sup>
DF 600 mg/kg	37,11±0,07	38,65±0,07	38,28±0,10	38,08±0,08 <sup>**</sup>	37,88±0,17 <sup>***</sup>	37,71±0,08 (67,83%) <sup>***</sup>
DF 800 mg/kg	36,95±0,08	38,7±0,07	38,01±0,14 <sup>*</sup>	37,71±0,07 <sup>***</sup>	37,53±0,07 <sup>***</sup>	37,36±0,07 (78,05%) <sup>***</sup>

Les valeurs sont exprimées en Moyenne ± SEM; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dennett; EMF : Extrait méthanolique des feuilles; DF : Décocté feuilles.



Tableau 3.17 : Effet antipyrétique des extraits de fruits de *P. lentiscus*.

Extraits	Température (°C)					
	T initiale	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
Control	37.11±0.04	38.13±0.04	38.56±0.04	38.66±0.06	38.8±0.06	38.9±0.04
Paracetamol (100mg/Kg)	37.18±0.06	38.56±0.06	37.58±0.06 <sup>***</sup>	37.26±0.06 <sup>***</sup>	37.25±0.04 <sup>***</sup>	37.23±0.05 <sup>***</sup> (97.20%) <sup>***</sup>
EMFR 400 mg/kg	37.4 ± 0.11	38.91 ± 0.11	38.56 ± 0.12	38.3 ± 0.13 <sup>*</sup>	38.2 ± 0.13 <sup>*</sup>	38.2 ± 0.13 <sup>**</sup> (57.14%) <sup>**</sup>
EMFR 600 mg/kg	37.26 ± 0.07	38.81±0.06	38.05±0.08 <sup>*</sup>	37.98±0.07 <sup>***</sup>	37.85±0.09 <sup>***</sup>	37.76±0.13 <sup>***</sup> (73.41%) <sup>***</sup>
EMFR 800 mg/kg	37.28±0.12	38.8±0.07	37.9±0.07 <sup>***</sup>	37.6±0.07 <sup>***</sup>	37.48±0.07 <sup>***</sup>	37.63±0.08 <sup>***</sup> (81.59%) <sup>***</sup>
DFR 400 mg/kg	37.3±0.11	38.91±0.20	38.71±0.11	38.6±0.12	38.48±0.10	38.45±0.20 (37.61%)
DFR 600 mg/kg	37.15±0.07	38.68±0.08	38.48±0.04	38.26±0.08 <sup>**</sup>	38.25±0.10 <sup>**</sup>	37.81±0.10 <sup>***</sup> (61.31%) <sup>***</sup>
DFR 800 mg/kg	37.03±0.07	38.53±0.07	38.35±0.07	38.11±0.07 <sup>**</sup>	37.85±0.07 <sup>***</sup>	37.45±0.06 <sup>***</sup> (75.79%) <sup>***</sup>

Les valeurs sont exprimées en Moyenne ± SEM; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : \* p <0,05; \*\* p <0,01; \*\*\* p <0,001 par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dennett; EMFR : Extrait méthanolique des fruits; DFR : Décocté fruits.

La baisse de la température rectale induite par le paracétamol dosé à 100 mg/kg de PC, est proche de celle de l'EMF et l'EMPR dosé à 800 mg/kg de PC (figure 3.14). En effet, à ces doses, l'activité de ces substances se manifeste avec la même intensité 1 heure après le traitement des rats pour atteindre son maximum à la 04<sup>ième</sup> heure.

Une étude antérieure par ABDUR et *al.* [171] sur une autre espèce du genre *Pistacia* (*P.i nteggerrima*) a montré un effet antipyrétique significatif après le traitement de souris par l'acide pistagremic un composé triterpénique isolé de cette plante. L'effet anti-hyperthermique a duré tout au long de l'expérimentation (1à 5 h), l'atténuation maximale (56,69%) a été obtenue à 10 mg/ kg par voie intrapéritonéale, après la 3ème heure d'administration du médicament.

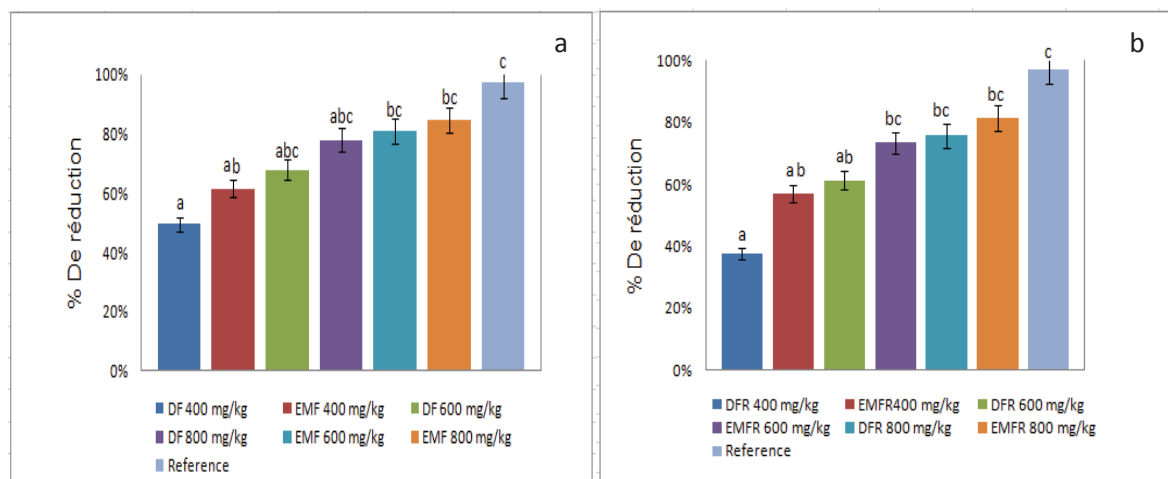


Figure 3.14: Pourcentage de réduction de la température à la 4ème heure des rats recevant différents extraits (a) extraits de feuilles; (b) extraits de fruits. Les valeurs sont exprimées en Moyenne  $\pm$  SEM; n = 6 / groupe; les différentes lettres indiquent une différence statistique significative ( $p < 0,05$ ) selon ANOVA one way suivie par le test de comparaison multiples de Tukey.

Les résultats de l'activité antipyrétique révèlent que les extraits des feuilles et /ou des fruits de *P. lentiscus* ont un effet antipyrétique significatif sur le maintien de la température corporelle normale et la réduction de la température corporelle élevée chez les rats. Son effet est proche de celui du paracétamol. L'hyperthermie induite par l'injection de la levure est liée à la libération des cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) qui ayant atteint les vaisseaux sanguins stimulent la biosynthèse des prostaglandines (PGE2) aux environs du centre hypothalamique thermorégulateur [172], [173]. Les extraits des feuilles et des fruits ont réduit l'hyperthermie provoquée par l'injection de la levure de bière. L'effet antipyrétique des extraits pourrait être dû à la réduction de la libération des cytokines et de la biosynthèse des prostaglandines. Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins et polyphénols, des saponosides et des triterpènes et stéroïdes dans les extraits.

Des études antérieures ont montré les effets anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des tanins, des flavonoïdes, des saponosides et des triterpènes /stéroïdes [175], [176]. La présence de ces composés chimiques dans l'extrait des feuilles et l'extrait des fruits pourrait être responsable des propriétés antipyrétique observées. Les résultats de cette étude montrent que les extraits des feuilles sont légèrement plus efficaces que celui des fruits. De ce fait, l'utilisation des feuilles au

profit des fruits devrait être encouragée afin de pérenniser l'espèce (*Pistacia lentiscus*).

## Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicaux.

En aromathérapie, de récentes études ont pu prouver que les essences possèdent une action antibiotique exempte de toutes réactions secondaires sur les fonctions de l'organisme. En alimentation humaine, les antioxydants d'origine naturels se révèlent préférables. Pour cela, la recherche de nouveaux antioxydants naturels devient une nécessité. La principale source d'antioxydants est le règne végétal, en particulier les plantes supérieures.

Le présent travail portant sur deux axes dont le premier concerne l'extraction et la caractérisation des principes actifs de *P.lentiscus* et le deuxième sur l'évaluation des effets biologique de ces biomolécules. Les résultats de l'analyse chimique de la composition des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse indique unchemotype riche en sesquiterpenes par  $\delta$  - cadinene (13,60%), Trans-caryophyllene (11,25 %), Germacrene-d (8.54%), t-muurolol (6.27%),  $\alpha$ - cadinene (5.04%),  $\alpha$ - cadinol (4.97%),  $\alpha$ - muurolene(3.08%), Caryophylleneoxide (2.43%), Cadina-1-4 diene (2.23%). D'autre part, la nature des composés majoritaires semble probablement liée aux effets apparents sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et que cette activité est corrélée avec leurs quantités pour toutes Les souches fongiques et bactériennes à l'exception de *P. aeruginosa* et *k. pneumoniae*.

Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes dans les deux parties de la plante.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols. De même nous avons dosé les tannins et les flavonoïdes qui nous mènent à conclure que cette plante contient une quantité considérable de tannins et de faible concentration en flavonoïdes.

L'analyse des extraits méthanoliques par HPLC nous a confirmés la richesse de cette plante en composés phénolique dont les principaux détectés étaient : les acides phénoliques : l'acide quinique et l'acide syringique, les tannins hydrolysable : 5-O-galloyl quinic acid, 3, 5-O- digalloyl quinic acid, 3,4,5, O-trigalloyl quinic acid et en dernier les flavonoïdes : la quercétine et le mirycétine

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par deux méthodes, le piégeage du radical DPPH et la réduction du fer, dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires. Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis de 12 bactéries et 5 levures, les résultats microbiologiques ont montré que les extraits de *P. lentiscus* ont une action faible sur les champignons et les bactéries gram négatives ; par ailleurs nous avons observé un pouvoir antimicrobien efficace contre les bactéries gram positives testées.

Les résultats des tests *in vivo* obtenus au cours de cette étude ont montré que les extraits des feuilles et /ou des fruits possèdent des propriétés anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique significatif. Ces résultats constituent une base scientifique qui justifie l'utilisation traditionnelle de *P. lentiscus* dans la prise en charge des pathologies à composante inflammatoire.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- Faire des études pharmacologiques sur la plante étudiée (*P. lentiscus*) ;
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être une alternative des médicaments synthétiques ;
- Développer des médicaments antiradicalaires et antiinflammatoires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante et antiinflammatoire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Kassel, D., “Des hommes et des plantes” <http://www.ordre.pharmacien.fr>  
Documents de référence - Histoire et art pharmaceutique, (1996), 2pp.
2. Palevitch, D., Yaniv, Z., “ Medicinal plants of the Holy Land”, Modan Publishing House, Tel Aviv, Israel (2000), 266-269.
3. Ouelmouhoub, S, “Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d’El Kala (Algérie)”, Montpellier, CIHEAM-IAMM, (2005), 205-000.
4. Sanz, M.J., Terencio, M.C., Paya, M., “Isolation and hypotensive activity of a polymeric procyanidin fraction from *Pistacia lentiscus* L.”, Pharmazie, V.47, (1992), 466-471.
5. Wyllie, S.G., Brophy, J.J., Sarafis, U., Hobbs, M.J., “Volatile components of the fruit of *Pistacia lentiscus*”, J. Food. Sci., V. 55, (1990), 1325-1326.
6. Scherrer, A.M., Motti, R., Weckeerie, C.S.,” Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (compania, southern Italy)” Journal of Ethnopharmacology, V. 97, (2005), 129-143.
7. Villar, A., Sanz, M.J., Payo, .M., “ Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L.”, Int. J. Crude Drug Res., V. 25, (1987),1-3.
8. Paraschos, S., Magiatis, P., Mitaku, S., Petraki, K., Kaliropoulos, A., Maragoudakis, P., Mentis, A., Sgouras, D., Skaltsounis, A.L., “ In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori* “, Antimicrob. Agents Chemother., V. 51, (2007), 551-559.

9. Magiatis, P.; Melliou, E.; Skaltsounid, A.L.; Chinou, 1.8., Mitaku, S., "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. chia", *Planta Med.*, V. 65, (1999), 749–752.
10. Ali-Shtayeh, M.S., Abu Ghdeib, S.I., "Antifungal activity of plant extract against dermatophytes", *Mycoses*, V. 42, (1999), 665-672.
11. Ali-Shtayeh, M.S., Yaniv, Z., Mahajna, J., "Ethnobotanical survey in the palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants" *Journal of Ethnopharmacology*, V. 73, (2000), 221-232.
12. Lev, E., Amar, Z., "Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century", *Journal of Ethnopharmacology*, V.72, (2000), 191-205.
13. Lev, E., Amar, Z., "Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 82, (2002), 131-145.
14. Said, O., Khalil, K., Fluder, S., Azaizeh, H., "Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 83, (2002), 251-265.
15. Abdel-Rahman, A.H.Y., Soad, A.M.Y., "Mastic as antioxidant", *Journal of the American Oil Chemists Society*, V. 52, (1975), 423.
16. Dedoussis, G.V.Z., Kaliora, A.C., Psarras, S., Chiou, A., Mylona, A., Papadopoulos, N.G., Andrikopoulos, N.K., "Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression", *Atherosclerosis*, V.174, (2004), 293-303.



17. Prichard, A.J.N., "The use of essential oils to treat snoring", *Phytotherapy Research*, V. 18, (2004), 696-699.
18. Ute, K., Lobmeyer, T.R., "Plantes médicinales : identification, récolte, propriétés et emplois", Edition Parragon, (2007), 319 p.
19. Becker, G., "Plantes toxiques", Edition Grund, (1984), 413p.
20. Verdrager, J., "Ces médicaments qui nous viennent des plantes", Edition Maloine, Paris, (1978), 4p.
21. Wichtl, M., et Anton, R., "Plantes thérapeutiques". Edition Tec & Doc, (1999), 4-14.
22. Debuigne, G. Couplan, F., "Petit Larousse des plantes médicinales", Edition Larousse, (2009), 383p.
23. Amar, Z., "Ibn al-Baytar and the study of the plants of Al-Sham", *Journal Qatedrah le-tôldôt Eres Yisra'el el we-yîššûbah*, V. 76, (1995), 49-76.
24. Keller-Didier, C., "Les plantes médicinales", ALS, (2004), 57-64.
25. Fouché, J.G., Marquet, A., Hambuckers, A., "Les plantes médicinales de la plante au médicament conception et réalisation", Exposition à l'Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman, Liège, Septembre (2000).
26. Bahorun, T., "Substances Naturelles actives La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle", Université de Maurice. AMAS, Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, (1997) ,83 p.
27. Bruneton, J., "Pharmacognosy: phytochemistry and medicinal plants", Edition Lavoisier, (1999), 1119 pp.

28. Baba-aissa. F., "Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb substances végétales d'Afrique", Edition moderne Rouiba, Algérie, (1999), 368p.
29. Djerroumi, A., Nacef, M., "100 plantes médicinales d'Algérie", Edition Palais du livre, (2004), 159p.
30. Halimi, A., "Les plantes médicinales en Algérie", Edition Berti, (2004), 304p.
31. Shauenberg, P., Paris, F., "Guide des plantes médicinales, description et utilisation de plantes", (2005), 8p.
32. Thurzova, L., "Les plantes – santé qui poussent autour de nous", Edition Bordas, (1981), imprimé en Mars 1985, 268 p.
33. Valnet, J., "Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes", Edition Maloine, First science, (1983), 568p.
34. Cecchini, T., avec la collaboration de Ticli, B., "Encyclopédie des plantes médicinales", Editions De Vecchi S.A., Paris, (2003), 351p.
35. Fluck, H., "Petit guide panoramique des herbes médicinales : Description simple avec des indications sur leurs principes actifs, leur action, leur emploi, leur récolte et leur culture", Edition Delachaux et Niestlé S.A., Neuchâtel, Paris, 3ème édition, (1977), 165p.
36. Delille, L., "Les plantes médicinales d'Algérie", Berti, (2007), 13p.
37. Carlier, V., "Herbier médicinal", Aubanel, une marque des éditions Minerva, Genève Suisse, (2005), 215p.
38. Leclerc, H., "Précis de phytothérapie". Masson, (1983), 170 p.

39. Sallé, J. L., “ Les huiles essentielles – Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie ”, Editions Frison-Roche, Paris, (1991), 167 p.
40. Chevallier, A., “Encyclopédie des plantes médicinales”. Ed. Reader's Sigest, Canada, (1997).
41. Moati, R., Fauron, R. et Donadieu, Y., “ La phytothérapie – Thérapeutique différente ”, Edition Maloine S.A., Paris, (1983), 245 p.
42. Ticli, B., “ Votre herbier – 160 plantes médicinales ”, (2006), 218p.
43. Zohary, M., “A Monographical Study of The Genus Pistacia”, Palestine Journal of Botany, Jerusalem, Serie V. ,(1952), 187- 228
44. Saxidis, T., Dafnis, S., and Weryzko-Chmielwska, E., “Distrubution, devloperment and structure of resine ducts in Pistacia lentiscus var. chia”, Duhamel. Flora, V. 195, (2000), 83-94.
45. Seigue, A., “La foret circumméditerranéenne et ses problèmes. Technique agricole et production méditerranéenne“, Maison neuve GP et Larose, (1985), 137-141.
46. Quezel, P., Santa, S., “Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales “, Tome II, Paris (1963).
47. Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., and Debraux, G., “Ressources médicinales de la flore française“, Edition, Vigot Frères Editeurs, (1961), 665-666.
48. Palacio, S., Milla, R., et Montserrat-Martí, G., “A phenological hypothesis on the thermophilous distribution of *Pistacia lentiscus* L.“, Flora, V. 200, (2005), 527–534.
49. Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skamdrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guirand, P., Steiman, R, Mariotte, A. M., Gherdia, K., Laporte, F., Dijoux, F., Ranca,

- M. G., and Chekir-Ghedira, L., "Study of antimutagenic and antioxidant activities 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia Lentiscus* confirmation by microarray expression profiling", *Chem. Biol. Inter.*, V. 165, (2007). 1-13.
50. Bhouiri, W.; Derbel, S.; Skandrani, I.; Boubaker, J.; Bouhlel, I.; B. Sghaier, M.; Kilani, S.; Mariotte, A. M.; Dijoux-Franca, M. G.; Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24: 509–515
51. AL-Saghir, M-G., "Phylogenetic Analysis of the Genus *Pistacia* (Anacardiaceae), Blacksburg, Virginia. *Thèse de doctorat*, (2006), 37p.
52. Book, B., " *Pistacia lentiscus* L. Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France, ( 2008). 4 :02.
53. Seigue, A., "La Forêt Circum méditerranéenne et ses Problèmes ", Maison neuve & Larose, (1985), 137 – 139
54. Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H., and Bomzon, A., "The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 100, (2005), 198–204
55. Benhammou, N., Bekkara, F.A, and Panovska, T.K, "Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts", *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, V. 2, n° 2, (2008), 22-28.
56. Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., and Stocker, P., "Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, V. 85, (2008), 921–924.
57. Atmani, D., Chaher, N., Berboucha M., "Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants," *Food Chemistry*", V. 112, n° 2, (2009), 303–309.

58. Paraschos, S., Magiatis, P., Gousia P., “Chemical investigation and antimicrobial properties of mastic water and its major constituents,” *Food Chemistry*, vol. 129, n° 3, (2011), 907–911.
59. Wellmann, M., “*Pedanii Dioscuridis Anazarbei*”, *de Materia Medica Libri Quinque*, Weidmann, Berlin, Germany, (1907).
60. Hanlidou, E., Karousou, R., Kleftoyanni, V., and Kokkini, S., “The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition,” *Journal of Ethnopharmacology*, V. 91, n° 2-3, (2004), 281–299.
61. Mati, E., and De Boer, H., “Ethnobotany and trade of medicinal plants in the Qaysari Market, Kurdish Autonomous Region, Iraq”, *Journal of Ethnopharmacology*, V. 133, n°2, (2011), 490–510.
62. Rahimi, M. R., Ardekani S., and Abdollahi, M., “A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease”, *World Journal of Gastroenterology*, V. 16, n° 36, (2010), 4504–4514.
63. Farzaei, M. H., Rahimi, R., Abbasabadi, Z., and Abdollahi, M., “An evidence-based review on medicinal plants used for the treatment of peptic ulcer in traditional Iranian medicine”, *International Journal of Pharmacology*, V. 9, n° 2, (2013), 108–124.
64. Scherrer, A. M., Motti, R., and S. Weckerle C., “Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy)”, *Journal of Ethnopharmacology*, V. 97, n° 01, (2005), 129–143.
65. Palmese, M. T., Uncini Manganelli, R. E., and Tomei, P. E., “An ethnopharmacobotanical survey in the Sarrabus district (South-East Sardinia)”, *Fitoterapia*, V. 72, n° 06, (2001), 619–643.
66. Janakat, S., and Al-Merie, H., “Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*”, *Journal of Ethnopharmacology*, V. 83, n°1-2, (2002), 135–138.

67. Lev, E., and Amar, Z., "Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan", *Journal of Ethnopharmacology*, V.82, n° 2-3, (2002), 131–145.
68. El-Hilaly, J., Hmammouchi, M., and Lyoussi, B., "Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (NorthernMorocco)", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 86, n° 2-3, (2003), 149–158.
69. Novais, M. H., Santos, I., Mendes, S., and Pinto-Gomes, C., "Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal)", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 93, n° 2-3, (2004), 183–195.
70. Sanz, M. J., Terencio, M. C., and Paya, M., "Isolation and hypotensive activity of a polymeric procyanidin fraction from *Pistacia lentiscus* L.", *Pharmazie*, V. 47, n° 6, (1992), 466–467.
71. Giuffrida, D., Saitta, M., La Torre, L., Bombaci, L., and Dugo, G., "Carotenoid, chlorophyll and chlorophyll-derived compounds in pistachio kernels (*Pistacia vera* L.) from Sicily", *Italian Journal of Food Science*, V.18, n° 3, (2006), 309–316.
72. Kivcak, B., and Akay, S., "Quantitative determination of  $\alpha$ - tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry", *Fitoterapia*, V.76, n° 01, (2005), 62–66.
73. Farhoosh, R., and Kafrani, M. H. T., "Frying performance of the hull oil unsaponifiable matter of *Pistacia atlantica* subsp. *mutica*", *European Journal of Lipid Science and Technology*, V. 112, n°3, (2010), 343–348.
74. Trabelsi, H., Cherif, O. A., Sakouhi F., "Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia", *Food Chemistry*, V.131, n° 2, (2012), 434–440.
75. Giner-Larza, E. M., M'aez, S., Recio M. C., "Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and has anti-

- inflammatory activity”, *European Journal of Pharmacology*, V.428, n°1, (2001), 137–143.
76. Djeridane, A., Yousfi M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J-F., and Stocker, P., “Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity”, *Eur. Food Res. Technol.*, V. 224, (2007), 801–809.
77. López-Lázaro, M., “Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin”, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, V. 9, (2009), 31-59.
78. Hamlat, N., et Hassani, A., “Analyse des flavonoïdes présents dans les feuilles du lentisque par les méthodes chromatographiques. X<sup>es</sup> Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie, (2008).
79. Wei, T., Sun, H., Zhao, X., Houa, J., Hou, A., Zhao, Q., and Xin, W., “Scavenging of reactive oxygen species and prevention of oxidative neuronal cell damage by a novel gallotannin, Pistafolia A”, *Life Sciences*, V.70, (2002), 1889-899.
80. Rogosic, J., Estell, R.E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J., “Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems”, *Small Ruminant Research*, V.74, (2008), 1–15.
81. Castola, V., Bighelli, A., and Casanova, J., “Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica”, *Biochemical Systematics and Ecology*, V.28, (2000), 79- 88.
82. Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J.P., and Elbachiri, A., (2009). Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco”, *Rec. Nat. Prod.*, V. 3, n°2, (2009), 90- 95.

83. Fernandez, A., Camacho, A., Fernandez, C., and Altarejos, J., "Composition of the Essential Oils from Galls and Aerial Parts of *Pistacia lentiscus* L.", *Essent. Oil Res.*, V.12, (2000), 19-23.
84. Dogan, Y., Baslar, S., Aydin, A., and Mert, A.H., "A Study Of The Soil-Plant Interactions Of *Pistacia Lentiscus* L. Distributed In The Western Anatolian Part Of Turkey", *Acta Bot. Croat.*, V. 62, n°2, (2003), 73–88.
85. Duru, M.E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., and Hirata, T., "Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species", *Fitoterapia*, V.74, (2003), 170–176.
86. Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Theodosios Kibouris, T., Michael., "Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts", *Food Chemistry*, V. 107, (2008), 1120–1130.
87. Bayer, E., Buttler, K.P., Finkenzeller, X., and Grau, J., "Guide de la flore méditerranéenne, caractéristiques, habitat, distribution et particularité de 536 espèces", n *Martinière Groupe*, (1987), 94p.
88. Kordali S., Cakir A., Zengin H., et Duru, M.E., "Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey", *Fitoterapia*, V. 74, (2003), 164–167.
89. Daferera, D., Pappas, C., Tarantilis, P.A., and Polissiou, M., "Quantitative analysis of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -myrcene in mastic gum oil using FT-Raman spectroscopy", *Food Chemistry*, V. 77, (2002), 511-515.



90. Assimopoulou, A.N., Zlatanov, S.N., and Papageorgiou, V.P., "Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates", *Food Chemistry*, V. 92, (2005), 721–727.
91. Bouhadjra, K., "Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *oudneya africana* r.br. et *aristida pungens* ", thèse de Doctortat en chimie organique, université Aboubker Belkaid, Telemcen, (2012).
92. Bruneton, J., "Pharmacognosie", Edition Tech & Doc, Lavoisier, Paris, (1993), 1220 p.
93. Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., "Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif ", *Phytothér.*, V.01, (2004), 3-6.
94. Harborne, J., "Introduction to ecological biochemistry", 3rd edition New York Academic press, (1988), 267-283.
95. Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., "The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer", *Pharmacol. Rev.*, V. 52, n°4, (Décembre 2000), 673-751.
96. Nitsch, J.P., and Nitsch, C., "Synergistes naturels des auxines et des giberellines ", *Bull. Soc. Fr.*, V. 26, (1961), 2237 – 2240.
97. Alibert, G., Ranjeva, R., et Boudet, M.A., "Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques ", *Physiol. Veg.*, V.15, (1977), 279 – 301.
98. Haimeur, A., Conseil, G., Deeley, R.G., Cole, S.P.C., "The MRP-related and BCRP/ABCG2 multidrug resistance proteins: biology, substrate specificity and regulation", *Curr. Drug Metab.*, V. 5, (2004), 21–53.

99. Dubois, G.E., Grosby, G.A., and Saffron, P., "Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones", *Science*, V. 195, (1977), 397 - 399.
100. Cowan, M.M., "Plant products as antimicrobial agents", *Clin. Microbiol. Rev.*, V. 12, (1999), 564-582.
101. Igor Passi, L.B., "Etude des activités biologique de Fagara zanthoxyloïdes, lam (Rutaceae), Thèse de pharmacie, Bamako, (2002).133p.
102. Gonzalez, A. G., Estevez- Braun, A., Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, V. 14, (1997), 465-475.
103. Kansole, M.M.R., "Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. ", Mémoire pour un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso. (2009).
104. Havsteen, B.H., "The biochemisty and medicinal significance of the flavonoids", *Pharmacol. Ther.*, V. 96, (2002), 67-202.
105. Yao L.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.*, 59 : 113-122.
106. Scalbert, A. "Antimicrobial properties of tannin", *Phytochem.*, V. 30, (1991), 3875-3883.
107. Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, Y., Huang, Y.W., Lin, Y., "Tannins and human health: A review", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, V. 38 (1998), 421-464.
108. Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M. and Takahara, Y., Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata* *Phytochem.*, V. 33, (1993), 557 – 561.
109. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C., "Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of

- thehalophyte *Cakile maritime*”, *Plant Physiology and Biochemistry*, V. 45, (2007), 244–249.
110. Hodek, P., Trefil, P., Stiborová, M., “Flavonoids – potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450”, *Chem. Biol. Interact.*, V.139, (2002),1–21.
111. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M., “Biological effects of essential oils, A review”, *Food and Chemical Toxicology*, V. 46, (2008), 446–475.
112. Svoboda, K.P., et Hampson, J.B., “Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antinflammatory and other related pharmacological activities”, *Plant Biology Department .SAC Auchincruive, Ayr. Scotland, U.K.*, (1999).
113. Billing, J., and Sherman, P. W., “Antimicrobial Functions of Spices: Why some Like it Hot”, *Q. Rev. Biol.*, V. 73, (1998), 3-49.
114. Bergogne-Berezin, E., and Dellamonica, P., “Antibiothérapie en pratique clinique”, Ed. Masson, Paris, (1995), 486p.
115. Ulanowska, K., Majchrzyk, A., Moskot, M., Jak bkiewicz-Banecka, J., and W-Âgrzyn, G., “Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures”, *Biologia*, V. 62, (2007),132-135.
116. Percival, S.L., “Microbiology of waterborne diseases”, Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston, (2004), 480p.
117. Dworkin, M.M. and Falkow, S., “Proteobacteria: Gamma subclass”, Ed. Springer, New York, NY, 2006, p. 1248.

118. Van Delden, C., and Iglewski, B. H., "Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections, *Emerg. Infect. Dis.*, V.04, (1998), 551-560.
119. Carbonelle, B., "Microbiologie, bactériologie", Les cahiers d'internat, Indigo, (1985).
120. Delorme, J. and Robert, A., "Mycologie médicale ", Ed. Centre collégial de développement de matériel didactique, Mont-Royal Québec, (1997), 184p.
121. Antolovitch, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mc Donald, S., et Robards, K., "Methods for testing antioxidant activity", *Analyst*, V.127, (2002) ,183-198.
122. Pass water, R.A., "The Antioxidants", Ed: Keats Good Health Guide, (1997), 7-11.
123. Jadot, G., "Antioxydants et Vieillessement", Ed. John Libbey Eurotext Paris, (1994), 33-36.
124. Cooper, R., "Age-Reversing Free Radical Fighters: Antioxidants", Ed. Woodland, (1997), 4-11.
125. Shahidi, F., "Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications", Ed. Aocs. Mission Statement, (1997), 174-197.
126. Russo-Marie, F., "L'inflammation ", Editions John Libbey Eurotext, Paris, (1998).
127. Peltier, A.P., Universalis : INFLAMMATION, <http://www.universalis-edu.com/bases-doc.univ-lorraine.fr/encyclopedie/inflammation/>
128. Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., Chatelet, F. P., "Inflammation et pathologie inflammatoire ", AFECAP, (2005) ,1-57.
129. Schorderet, M., "Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques ", Editions, Frison-Roche, Paris, et Slatkine, Geneve, 2<sup>ème</sup> Ed., (1992), 529-561.

130. Weill, B., Batteux, F., "Immunopathologie et réactions inflammatoires", Bruxelles, De Boeck, (2003).
131. Mazières, B., "Guide pratique de rhumatologie", MMI, Paris, (2000).
132. Kessel, L., Tendal, B., Jorgense, K.J., Erngaard, D., Flesner, P., Andresen, J.L., and Hjortdal, J., Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops. *Ophthalmology*, V.121, n°10, (2014), 1915-1924.
133. Chung, W.J., "Management of portal hypertensive gastropathy and other bleeding", *Clinical and Molecular Hepatology*, V. 20, (2014), 1-5.
134. Henzen, C., "Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires", *Forum médical suisse*, V. 19, (2003), 442-446.
135. Neyestani, T.R., "Polyphenols and immunity. In: Wild-type food in health promotion and disease prevention", Humana Press Inc., Totowa, (2008) 413-434.
136. Madhuri, V., Darshan, S.K., and Kent, L.E., "Health effects of foods rich in polyphenols. In: Wild-type food in health promotion and disease prevention", Humana Press Inc., Totowa, (2008), 393-412.
137. IASP. International Association for the Study of Pain | PAIN Journal, (2013).
138. Zerrad, W., Hillali, S., Mataoui, E.I., Antris, B. S., et Hmeyer, A., "Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur", *Bull Laboratoire de Biochimie, d'environnement et d'Agroalimentaire, Maroc*, (2006), p 10-14.
139. Dinarello, C.A., Cannon, J.G., Wolf, f. S.M., "New concepts on the pathogenesis of fever", *Rev. Infect. Dis.*, V. 10, (1988), 168-84.

140. Raffauf, R. F., "Plant Alkaloids: A Guide to their Discovery and Distribution", Ed: food products press, (1996), 189- 190. \*
141. Dohou, N., et al, "Screening Phytochimique d'une Endémique Ibéro-Marocaine *Thymelaea lythroides* ", Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, V.142, (2003), 61 -78.
142. Timbo, B., "Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* ", Thèse Doctorat en Pharmacie, Université Bamako, Mali, (2003), 47-53.
143. Judith, M.D., "Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad", Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de Bamako, Mali, (2005), 57-64.
144. Diallo, A., "Etude de la phytochimie et des activités biologique de *Syzygium guineense*", Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Bamako, Mali, (2005), 38-47.
145. Bekro, Y.A., et al, "Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpina benthamiana* ", Sciences et Natures, V. 04, n°2, Ed. Herend & Zarucchi, (2007), 217-225.
146. Houghton, P.J., et Raman, A., "Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts", Ed. Chapman & Hall, New York, (1998), 208p.
147. KAR A, "Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie", Ed. 2, New Age International Publishers, (2007), 1-30.

148. Amrani, O., "Valeur nutritive du chardon marie (*Silybummarianum*)", Mémoire de magistère agronomie université de Batna, (2000).
149. Chebaki, R., "Etude phytochimique de *Scrophularia sarahae* (deserticoss)", Mémoire de magister en chimie, université de Batna, (2006), 46p.
150. Buess-Herman, C., Dauchot-weymeers, J., Dumont, F., "Chimie analytique", De Boek & Larcier S.A, (1997).204p.
151. Singleton, V.L., Rossi, J.A., "Colorimetric of total phenolic with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagent", Am. J. Enol. Vitic., V.16, (1965), 144-158.
152. Julkunen-Titto, R., "Phenolic constituents in the leaves of northern Willows methods for the analysis of certain phenolics", Journal of Agricultural and Food Chemistry, V. 33,(1985), 213– 217.
153. Telephon, T., "ABC des huiles essentielles", Grancher, Paris, (2008), 399 p.
154. Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C., "Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations", Food Chem., V. 100, (2007a), 553-559.
155. Leclerc, H., "Précis de phytothérapie ", Masson, (1975), 170p.
156. Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R., "Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods", Food Chem., V. 91, (2005), 621- 63.

157. Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B., "Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils", International J of Food Microbiology, V.122, ( 2008), 135-139.
158. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., et Saura-Calixto, F., "Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols", Journal of the Science of Food and Agriculture, V. 76, (1998), 270- 276.
159. Oyaizu, M. "Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine", Japanese Journal of Nutrition, V. 44, (1986), 307–315.
160. Ruckebusch Y., "Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales", 2ème Ed. Maloine S. A. Paris, (1981).
161. Datte, Y.J., Offoumou, A.M., "Effet de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (Linn) Roxb. (Caesalpinaceae) sur les souris in vivo", Rev. Med. Pharm. Afr., V.15, (2001), 51-7.
162. Winter, CA., Risley, E.A., Nuss, G.W., "Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs", Proc. Soc. Exp. Biol. Med., V.111, (1962), 544–547.
163. Vogel, G. H., "Drug discovery and evaluation: pharmacological assays", (1997), 260p.
164. Colot, M., "Notions techniques de pharmacologie générale", Ed. Masson et Cie, (1972), 21-2.



165. Prichard, A.J.N., "The use of essential oils to treat snoring", *Phytotherapy Research*, V. 18, (2004), 696-699.
166. Romani, A., Pinelli P., Galardi, C., Mulinacci, N., Tattini, M, "Identification and Quantification of Galloyl Derivatives, Flavonoid Glycosides and Anthocyanins in Leaves of *Pistacia Lentiscus* L.", *Phytochemical Analysis*, V. 13, n°.2, (2002), 79-86.
167. Andersen, O.M., and Markham, K.R., "Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications", CRC Press, (2010), 472–551
168. Bammou, M., Daoudi, D., SLIMANI, I., NAJEM, M., Bouiamrine, E., Bijbijen, J., et Nassiri, L., "Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et Pouvoir antibactérien", *Journal of Applied Biosciences*, V. 86, (2015), 7966–7975.
169. Zitoun, A., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N., Toul, F. & Atik-Bekkara, F., "Assessment of Phytochemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts from the Leaf, Stem, Fruit and Root of *Pistacia lentiscus* L.", *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, V. 08, (2016), 627- 633.
170. Cherbal, A., Kebieche, M., Madani, K. & El-Adawi, H., "Extraction and valorisation of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*", *Asian Journal of Plant Sciences*, V. 11, (2012), 131- 136.
171. Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., & Atmani, D., "Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants", *Journal of Food Chemistry*, V. 112, (2009), 303- 309.

172. Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., YousefZadi, M., "Essentialoil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages", Food chemistry, V. 110, (2008), 927-931.
173. Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A., "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract", Food Chemistry, V. 85,(2004), 231-237.
174. Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y., "Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine", Food Chemistry, V. 51, (2003), 7292-7295
175. Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J.L., Azib, L., Richard, T., Atmani, D., "Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts", Eur. J. Integr. Med., V. 07, (2015), 274–286.
176. Rodriguez-Pérez, C., Quirantes-Pine, R., Amessis-Ouchemoukh N, Mdani, K., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., "A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. J. Pharm. Biomed. Anal. V. 77, (2013), 167–74.
177. Azaizeh, H., Halahleh, F., .Abbas, N., Markovics, A., Muklada, H., Ungar, E.D., Landau, S.Y., "Polyphenols from *Pistacia lentiscus* and *Phillyrea latifolia* impair the exsheathment of gastrointestinal nematode larvae", Veterinary Parasitology, V.191, n°1–2, (January 2013), 44-50.
178. Benyoussef, E., Charchari, S., Nacer-Bey, N., Yahiaoui, N., Chakou, A., & Bellatreche, M., "The Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria, Journal of Essential Oil Research, V.17, n° 06, (2005), 642-64, DOI: [10.1080/10412905.2005.9699021](https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9699021).

179. Zrira, S., Elamrani, A., and Benjilali, B., "Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco- a seasonal variation", *Flav. Fragr. J.*, V. 18, (2003), 475-480.
180. Congin, R., Falconier, D., Marongiu, B., Piaras, A., et Porcedda, S., Extraction of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO<sub>2</sub>, *Flavour Frager. J.*, V. 17, (2002), 239-2.
181. Dob, T., Dahmane, D., & Chelghoum, C., "Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria", *Journal of Essential Oil Research*, V. 18, n° 3, (2006), 335-338, DOI: [10.1080/10412905.2006.9699105](https://doi.org/10.1080/10412905.2006.9699105)
182. Duru, A., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., and Hirata, T., "Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species", *Fitoterapia*, V. 74, (2003), 170-176.
183. Bonsignore, L., Cottiglia, F., Loy, G., "Antibacterial activity of *Pistacia lentiscus* aerial parts", *Fitoterapia*. V.69, n° 6, (1998).
184. Tassou, C.C, Nychas, G.J.E., "Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram positive and Gram negative bacteria in broth and in model food system", *International Biodeterioration & Biodegradation*, (1995), 411-420.
185. Delazar, A., Reid, R.G., Sarker, S.D., "GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *Mutica*", *Chemistry of Natural Compounds*, V.40, n°01, (2004).

186. Iauk, L., Ragusa, S., Rapisarda, A., Franco, S., Nicolosi, V.M., "In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts: Preliminary report", *Journal of Chemotherapy*, V.8, n°3, (1996), 207- 209.
187. Marx, J.L., "Oxygen free radicals linked to many diseases", *Journal of Science*, V. 235, (1987), 529- 31.
188. Singh, R.P., Murthy, K.N.C., & Jayaprakasha, G.K., "Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro model", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 50, (2002), 81– 86.
189. Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L., "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 53, (2005), 1841- 1856.
190. Goncalves, S., Gomes, D., Costa, P., & Romano, A., "The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plant", *Journal of Industrial Crops and Products*, V. 43, (2013), 465– 471.
191. Alexieva, I., Mihaylova, D., Popova, A., "Evaluation of the antioxidant capacity of aqueous extracts of fresh samardala (*Allium bulgaricum* L.) leaves", *Journal of Food Sciences Engineering and Technology*. Scientific works of UFT, LX, (2013), 826- 831.
192. Borgi, W., Ghedira, K., Chouchane, N., "Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* roots barks", *Fitoterapia*, V. 78, (2007), 16– 19.
193. Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A., Chouchane, N., "Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts", *Ind. Crop. Prod.*, V. 49, (2013), 879–82.

194. Bouriche, H., Saidi, A., Ferradji, A., Belambri, S.A., Senator, A., Antiinflammatory and immunomodulatory properties of *Pistacia lentiscus* extracts “ , J. App. Pharm. Sci., V. 06 , n°07, (2016),140-146.
195. Kim, H., Zamel, R., Bai, X.H., Liu, M., “PKC Activation Induces Inflammatory Response and Cell Death in Human Bronchial Epithelial Cells”, PLoS. One, V. 18 (2013), e64182, doi: 10.1371/journal.pone.0064182.
196. Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Hossein, M., Surmaghi, M.H.S., Shams-Ardekani, M.R., Roja, R., Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology”, Sci. World. J., (2013), Online Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/219815>.
197. Bendifallah, L., Benmahfoud, A.E., Hameni, Y., Mameche, S., Phytochemical study and antibacterial of *Pistacia lentiscus* L. in Boumerdes mountainous region (Algeria)”, J. Fundament. Appl. Sci., V.06, (2014), 229–237.
198. Kutil, Z., Temml, V., Maghradze, D., Pribylova, M., Dvorakova, M., Schuster, D., Vanek, T., Landa, P., “Impact of wines and wine constituents on cyclooxygenase-1, cyclooxygenase-2, and 5-lipoxygenase catalytic activity”, Mediators Inflamm., (2014), Online Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/178931>.
199. Ahad, A., Ahsan, H., Mujeeb, M., Siddiqui, W.A., “Gallic acid ameliorates renal functions by inhibiting the activation of p38 MAPK in experimentally induced type 2 diabetic rats and cultured rat proximal tubular epithelial cells”, Chem. Biol. Interact., V. 5, (2015), 292–303.

200. Karlsen, A., Retterstol, L., Laake, P., Paur, I., Kjolsrud Bohn, S., Sandvik, L., Blomhoff, R., "Anthocyanin inhibits NF- $\kappa$ B transactivation and decreased plasma concentrations of pro-inflammatory chemokines, cytokines, and inflammatory mediators", *J. Nutr.*, V. 137, (2007), 1951–1954.
201. Park, H.H., Lee, S., Son, H.Y., Park, S.B., Kim, M.S., Choi, E.J., Singh, T.S., Ha, J.H., Lee, M.G., Kim, J.E., Hyun, M.C., Kwon, T.K., Kim, Y.H., Kim, S.H., "Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells", *Arch. Pharm. Res.*, V. 31, (2008), 1303–11.
202. Permender, R., Hema, C., Sushila, R., Harmender, R., Vikash, K., Kanchan, K., "Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: A review", *Source. Inflamm. Allergy Drug Targets*, V.08, (2009), 229–235.
203. Ismail, T., Sestili, P., Akhtar, S., "Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects", *J. Ethnopharmacol.*, V.143, (2012), 397–405.
204. Okokon, J., Nwafor, P., "Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of ethanolic root extract of *Croton zambesicus*", *Pak. J. Pharm. Sci.*, V.23, (2010), 385–392.
205. Chavan, M.J., Kolhe, D.R., Wakte, P.S., Shinde, D.B., "Analgesic and antiinflammatory activity of Kaur-16-en-19-oic acid from *Annona reticulata* L. Bark", *Phytother. Res.*, V.26, (2012), 273–276.
206. Muhammad, N., Saeed, M., Khan, H., "Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activity of *Viola betonicifolia* whole plant", *BMC Complement. Altern. Med.*, (2012), 12- 59.

207. Khan, H., Khan, M.A., Hussain, S., Gaffar, R., Ashraf, N., "In vivo antinociceptive and anticonvulsant activity of extracts of *Heliotropium strigosum*", *Toxicol. Ind. Health*, (2013c).
208. Olutoyin, O.T., Mati, F.G., "Anti hyperalgesic potentials of *Laggera aurita* in Swiss Albino mice", *Pak. J. Pharm. Sci.*, V 27, (2014), 169–172.
209. Hasnain, F., Janbaz, K., Qureshi, M., "Analgesic effect of ketamine and morphine after tonsillectomy in children", *Pak. J. Pharm. Sci.*, V.25, (2012), 599–606.
210. Muhammad, N., Barkatullah, Ibrar, M., Khan, H., Saeed, M., Khan, A.Z., Kaleem, W.A., "In vivo screening of essential oils of *Skimmia laureola* leaves for antinociceptive and antipyretic activity", *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, V.03, (2013a), 202–206
211. Muhammad, N., Saeed, M., Gilani, S.N., "Analgesic and anti-inflammatory pro-file of n-hexane fraction of *Viola betonicifolia*", *Trop. J. Pharm. Res.*, V.11, (2013b), 963–969.
212. Uddin, G., Rauf, A., Siddiqui, B.S., Muhammad, N., Khan, A., Shah, S.U.A., "Anti-nociceptive, anti-inflammatory and sedative activities of the extracts and chemical constituents of *Diospyros lotus* L", *Phytomedicine*, V. 21, (2014), 954–959.
213. Abdur, R., Uddin, G., Siddiqui, S.B., Haroon Khan, A., Arfan, A., Muhammad, N., Wadood, W., "In-vivo antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activity of pistagremic acid isolated from *Pistacia integerrima*", *Phytomedicine*, V. 21, n°12, (Octobre 2014), 1059-1515.
214. Ribeiro, R.V., Matos Da Silva, R., Corsino Da Silva, J.L., Tabajara De Oliveira, M.D., "Antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects

of hydroethanolic extract from *Macrosiphonia velame*, (A. St.-Hil.)M. Arg. in animal models”, Brazil. J. Pharmaceut. Sci., V.46, (2010), 515-23.

215. Sajeli, B., Bhagawati, S., Goyal, M., et al. “Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan”, Fitot., V. 81,(2010), 178- 84.

216. Akindede, A.J, Adeyemi, O.O., “Antipyretic activity of *Byrsocarpus coccineus*”, Schum and Thonn. Internat. J. Pharmacol., V.4, (2007), 357-61.

217. Bose, A., Mondal, S., Jayanta, K., et al., “Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*”, Fitot ., V. 78, (2007), 515-20.

0.

218. Mangena, T., Muyima, N., Y., O., “Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains”, Lett. Appl. Microbiol., V. 28, (1999), 291- 296.

219. Juliani, H.R., Biurrun, F., Koroch, A.R., Oliva, M.M., Demo, M.M., Trippi, V.S., Zygadlo, J.A, “Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oil of *Lantani xenica*”, Planta Med., V. 68, (2002), 762-764.

220. Umadevi, I., Daniel, M., & Sabnis, S. D., “Chemotaxonomic studies on some members of Anardiaceae. In Proceedings of the Indian academy of sciences, Plant sciences, V. 98: 3, (1988). pp. 205-208.

221. Baratto, M. C., Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Romani, A., Visioli, F., et al., “Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *Pistacia lentiscus* leaves”, Free Radical Research, V.37, (2003), 405–412.



222. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., & Jukic, M., "Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols", food chemistry, V. 94, (2006), 550- 557.
223. Saadoun, S.N., « 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, (2002), N°63. P 371.
224. Belhadj, S., « Etude eco-botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) en Algérie, préalable à la conservation des ressources génétiques de l'espèce et à sa valorisation », Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2007 210 p
225. Dobignard, A., et Chatelain, C., « Éditions des conservatoire et jardin botaniques, Genève, Index synonymique de la flore d'Afrique du nord, (2013), 451p.

## APPENDICE A

### Liste des abréviations

AFNOR	: Association française de normalisation
ATCC	: American Type Culture Collection (catalogue de microorganismes)
OMS	: Organisation mondiale de la Santé
NMRI	: Naval Medical Research Institute
CG/SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse
HPLC	: Chromatographie en phase liquide à haute performance
HE	: Huile essentielle
Kg	: Kilogramme
g	: gramme
°C	: Degrés Celsius
DO	: Densité optique
cm	: centimètre
mm	: mm
mn	: minute
ml	: millilitre
µl	: microlitre
nm	: nanomètre
UV-vis	: Ultra violet- visible
EMF	: Extrait Méthanolique des feuilles
EMFR	: Extrait méthanolique des fruits
DF	: Decocté feuilles
DFR	: Decocté fruits
ES	: Extrait sec
MeOH	: Méthanol
AG	: Acide gallique
AA	: Acide ascorbique
BHT	: Hydroxytoluène butylé
QE	: Quercétine
CAT	: Catéchine

IMP : Imipénème  
VAC : Vancomycine

## **APPENDICE B**

### Appareillage, verrerie et consommables

#### B1. Liste des appareillages

- Balance de précision
- Plaque chauffante
- Chauffe ballon
- Bain marie
- Évaporateur rotatif
- Etuve bactériologique
- Microscope photonique
- Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse
- Hydrodistillateur type Clevenger
- Spectrophotomètre UV – Vis
- Lyophilisateur

#### B2. Liste de la verrerie et consommables

- Bêchers 50ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml
- Erlenmeyer 100 ml, 250 ml
- Ballon à fond plat à col rodé
- Ampoules à décanter
- Tubes à essai
- Pipettes graduées stériles
- Pincés
- Lames en verre et lamelles
- Écouillons Stériles
- Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Disques d'antibiogramme Stériles
- Spatule inox

- Pipettes Pasteurs
- Lames de rasoir
- Papier filtre WHATMAN
- Seringues
- Bec bunsen
- Entonnoirs
- Micropipette
- Portoirs

#### Liste des solutions et réactifs utilisés

- Méthanol
- n-hexane
- Acide chlorhydrique
- Acide acétique
- Folin ciocalteu
- carageaneene
- levure de bière
- Chloroforme
- Eau distillée

## APPENDICE C

### Résultats des tests phytochimiques

Tous les résultats de chaque test sont exprimés par la moyenne de trois répétitions (n=3)

Chaque moyenne est représentée par la (Moyenne  $\pm$  SEM)

SEM : L'écart-type estimé de la moyenne (erreur standard moyenne), (« Standard error of mean » en anglais).

Tableau 1: Teneur en eau des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

	PF (g)	PS (g)	T (%)
Essai 1	1,714	0,8	53,284
Essai 2	1,427	0,665	53,377
Essai 3	1,477	0,676	54,272
moyenne	1,5393333	0,7136667	53,644333
écart-type	0,15331775	0,07496888	0,54556057
SEM	0,06259171	0,030605918	0,222724169

Tableau 2: Teneur en eau des fruits de *Pistacia lentiscus* L.

	PF (g)	PS (g)	T (%)
Essai 1	1,0678	0,6175	42,1708
Essai 2	1,0877	0,6346	41,5761
Essai 3	1,0562	0,5584	47,116
moyenne	1,070567	0,6035	43,62097
écart-type	0,0159312	0,0399826	3,0413583
SEM	0,00650389	0,01632284	1,24162934

**PF** : Poids de la plante fraîche, **PS** : Poids de la plante sèche, **T** : Teneur en eau.

Tableau 3: Teneur en huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

	Poids de la plante (moyenne en g)	Poids de l'HE (moyenne en g)	Rendement (%)
Essai 1	204,49	0,125	0,0611
Essai 2	240	0,1481	0,0617
Essai 3	220,04	0,1677	0,0762
moyenne	221,51	0,146933333	0,0663333
écart-type	17,80058145	0,021373894	0,008550049
SEM	7,267056947	0,008725856	0,003490543

Tableau 4: Teneur en composés apolaires et polaire des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

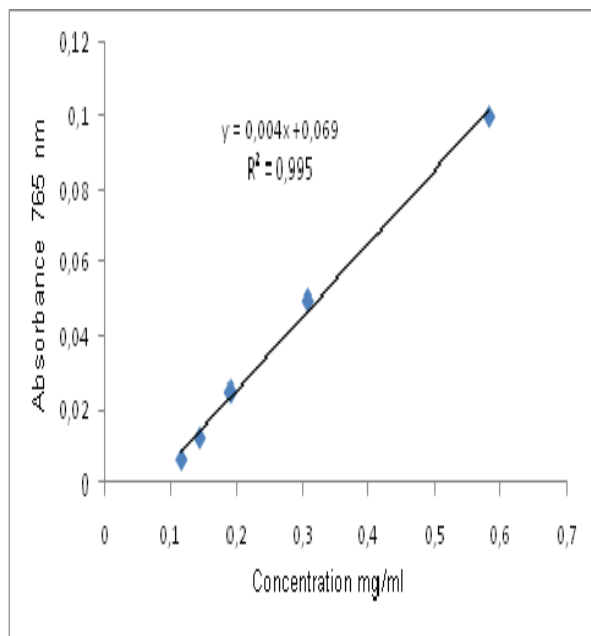
	Poids de la poudre (moyenne en g)	Poids de la concrète apolaire (moyenne en g)	Pourcentage (%)	Poids de la concrète polaire (moyenne en g)	Pourcentage (%)
Essai 1	20	0,6527	3,2635	7,207	36,035
Essai 2	20,03	0,6503	3,2515	7,2162	36,027
Essai 3	20,006	0,6485	3,2425	7,211	36,044
Moyenne	20,012	0,6505	3,2525	7,2114	36,03533333
écart-type	0,015874508	0,002107131	0,010535654	0,004613025	0,008504901
SEM	0,006480741	0,000860233	0,004301163	0,00188326	0,003472111

Tableau 5: Teneur en composés apolaires et polaire des fruits de *Pistacia lentiscus* L.

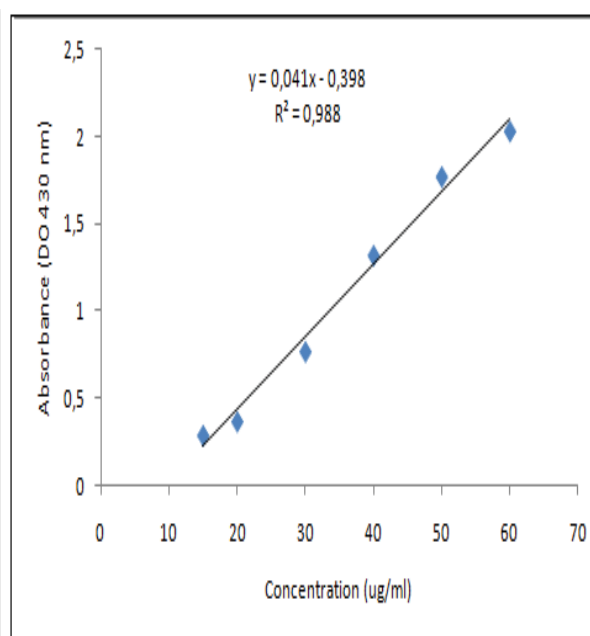
	Poids de la poudre (moyenne en g)	Poids de la concrète apolaire (moyenne en g)	Pourcentage (%)	Poids de la concrète polaire (moyenne en g)	Pourcentag e (%)
Essai 1	20	4,824	24,12	2,75	13,75
Essai 2	20	4,472	22,36	2,778	13,89
Essai 3	20	4,708	23,54	2,764	13,82
Moyenne	20	4,668	23,34	2,764	13,82
ecart-type	0	0,179376699	0,896883493	0,014	0,07
SEM	0	0,073230231	0,366151153	0,005715476	0,02857738

## Appendice D

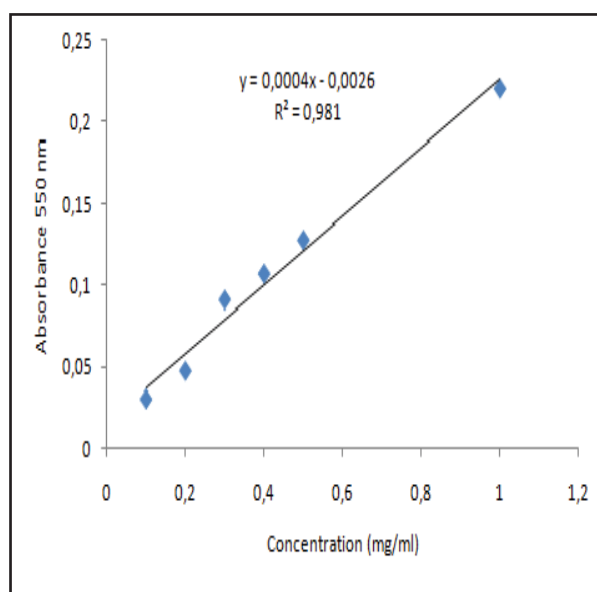
### Les courbes d'étalonnage



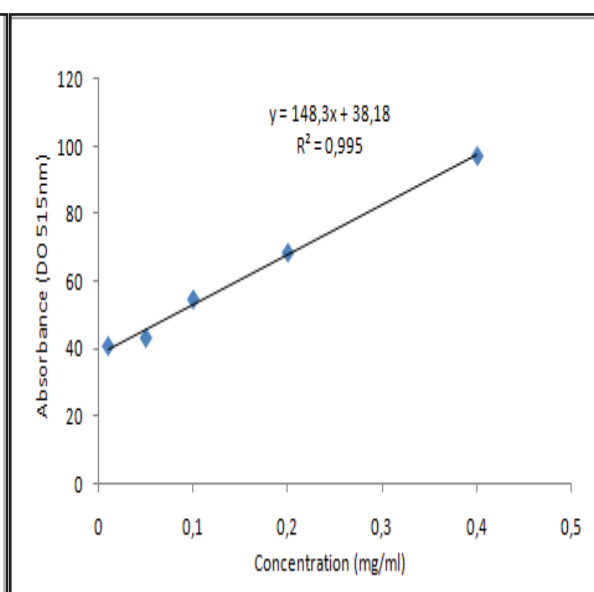
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



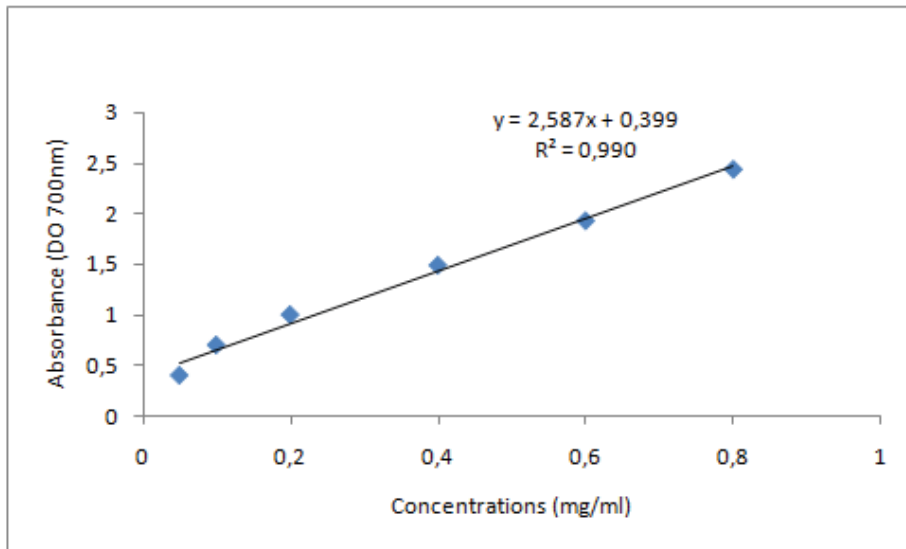
Courbe d'étalonnage de la quercétine



Courbe d'étalonnage de la catéchine



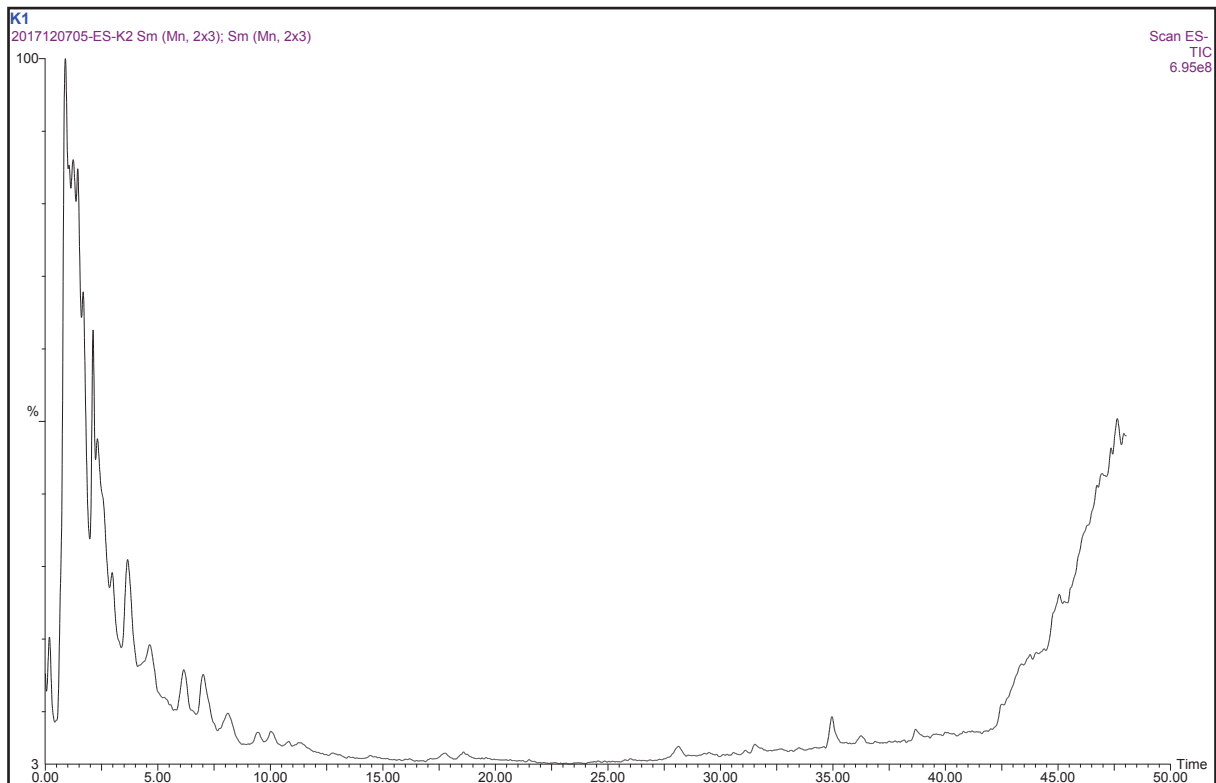
Courbe d'étalonnage de la BHT



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

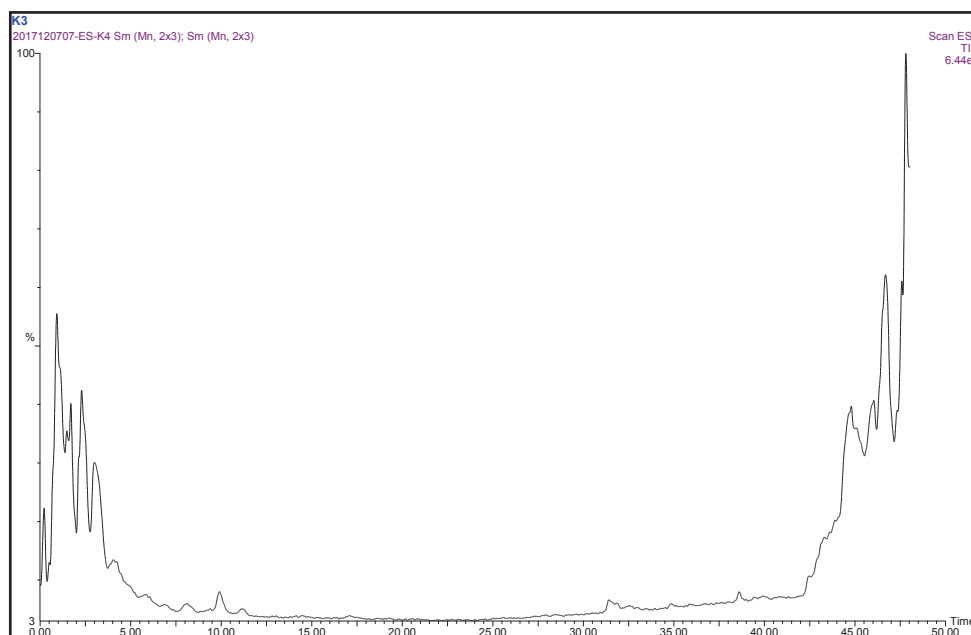
## Appendice E

Chromatogramme de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* analysé par HPLC

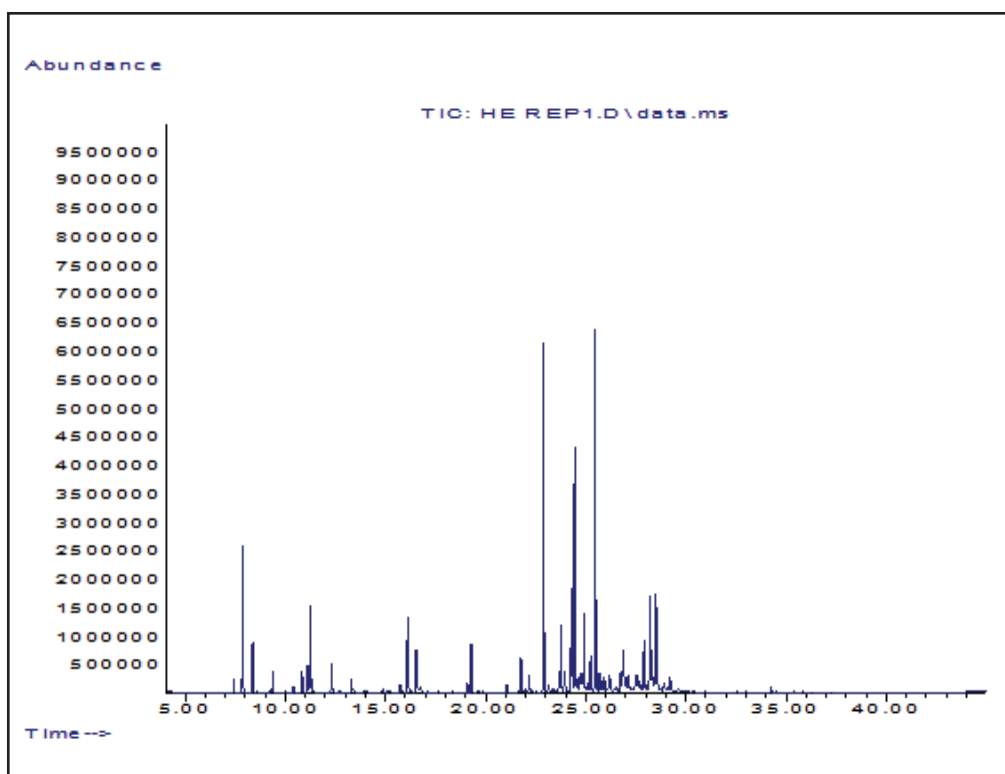




Chromatogramme de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* analysé par HPLC



Chromatogramme de la fraction volatile de *Pistacia lentiscus* L. extraite par hydrodistillation et analysée par CG-MS



## Appendice F

### F.1. Résultats du dosage des principes actifs

- Les polyphénols totaux

<b>EXTRAITS / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (TENEUR) :</b>					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
MEF vs MEL	-4,503	-2,992	2,776	<b>0,040</b>	Oui
Valeur critique du d de Tukey :			3,926		

- Les flavonoïdes

<b>EXTRAITS / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (TENEUR) :</b>					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
MEF vs MEL	-16,650	-274,245	2,776	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
Valeur critique du d de Tukey :			3,926		

- Les tannins

<b>EXTRAITS / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (TENEUR) :</b>					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
MEF vs MEL	-65,833	-19,750	2,776	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
Valeur critique du d de Tukey :			3,926		

### F.2. Résultats de l'activité antioxydante

- Test du piégeage du radicale libre DPPH

<b>EXTRAITS / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (IC50) :</b>					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
BHT vs EMF	-0,183	-116,834	3,068	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
BHT vs EML	-0,043	-27,290	3,068	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
EML vs EMF	-0,140	-89,544	3,068	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
Valeur critique du d de Tukey :			3,587		

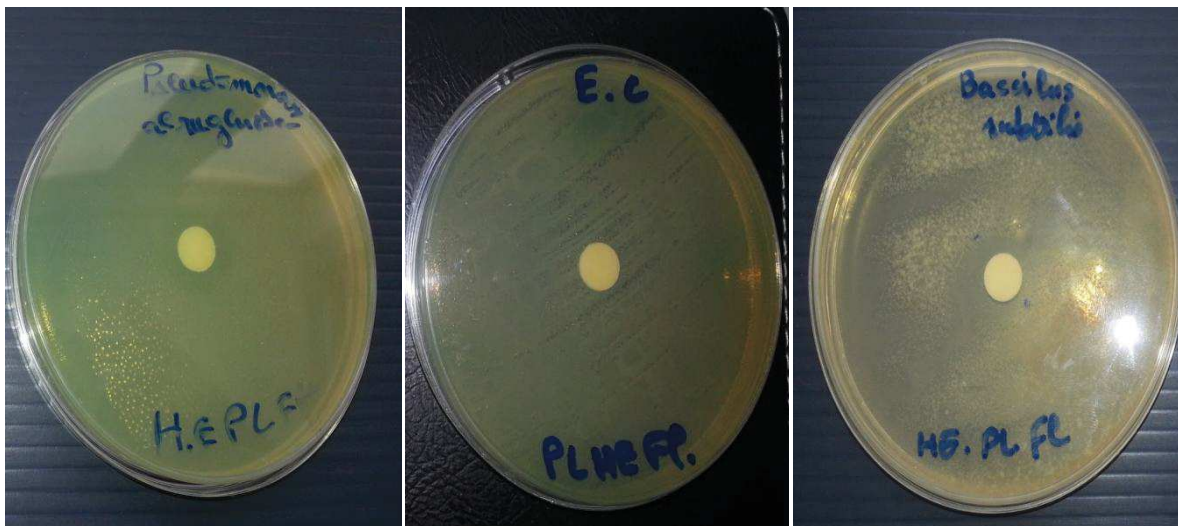
➤ Test du pouvoir réducteur FRAP

<b>EXTRAITS / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (IC50) :</b>					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
AA vs EML	-0,171	-107,962	3,068	< <b>0,0001</b>	Oui
AA vs EMF	-0,126	-79,606	3,068	< <b>0,0001</b>	Oui
EMF vs EML	-0,045	-28,356	3,068	< <b>0,0001</b>	Oui
Valeur critique du d de Tukey :			3,587		

## Appendice G

Résultats de l'activité antimicrobienne

Aromatogrammes de *Pistacia lentiscus* sur quelques souches microbiennes



## Appendice H

### H.1. Résultats de l'activité antiinflammatoire des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus*.

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 1<sup>ère</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 800	0,180	8,420	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,102	4,771	2,762	0,059	<b>0,000</b>	Oui
TEM vs DC	0,068	3,181	2,762	0,059	<b>0,018</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,032	1,497	2,762	0,059	0,520	Non
TEM vs DF 600	0,016	0,748	2,762	0,059	0,959	Non
TEM vs DF 400	0,012	0,561	2,762	0,059	0,991	Non
TEM vs EM PLF 400	-0,014	-0,655	2,762	0,059	0,979	Non

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 2<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 800	0,294	14,868	2,762	0,055	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,214	10,822	2,762	0,055	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DC	0,130	6,574	2,762	0,055	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,058	2,933	2,762	0,055	<b>0,034</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,030	1,517	2,762	0,055	0,506	Non
TEM vs DF 600	0,014	0,708	2,762	0,055	0,969	Non
TEM vs DF 400	-0,026	-1,315	2,762	0,055	0,648	Non

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 3<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 800	0,470	26,781	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,420	23,932	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DC	0,270	15,385	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,232	13,219	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,196	11,168	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,172	9,801	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,142	8,091	2,762	0,048	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 4<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 800	0,556	25,994	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,492	23,002	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,380	17,766	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DC	0,330	15,428	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,316	14,774	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,280	13,091	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,248	11,595	2,762	0,059	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui

- Comparaison du pourcentage de réduction de l'œdème inflammatoire entre les différents groupes à la 4<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (%INH) :</b>						
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes	
DF 400	0,499	0,011	0,476	0,522	A	
DF 600	0,570	0,011	0,547	0,593		B
EM PLF 400	0,604	0,011	0,581	0,627		B C
DF 800	0,631	0,011	0,607	0,654		C

EM PLF 600	0,710	0,011	0,687	0,734						D
EM PLF 800	0,894	0,011	0,871	0,917						E
DC	0,950	0,011	0,927	0,973						F

## H.2. Résultats de l'activité antiinflammatoire des extraits du fruit de *Pistacia lentiscus*.

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 1<sup>ère</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs DC	0,068	3,540	2,762	0,053	<b>0,007</b>	Oui
TEM vs EM PLFR 800	0,056	2,915	2,762	0,053	<b>0,035</b>	Oui
TEM vs DFR 800	0,024	1,249	2,762	0,053	0,694	Non
TEM vs EM PLFR 600	0,014	0,729	2,762	0,053	0,964	Non
TEM vs DFR 400	-0,020	-1,041	2,762	0,053	0,831	Non
TEM vs EM PLFR 400	-0,016	-0,833	2,762	0,053	0,932	Non
TEM vs DFR 600	-0,014	-0,729	2,762	0,053	0,964	Non

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 2<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 600	0,132	6,527	2,762	0,056	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DC	0,130	6,428	2,762	0,056	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	0,126	6,230	2,762	0,056	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,092	4,549	2,762	0,056	<b>0,000</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,070	3,461	2,762	0,056	<b>0,009</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,054	2,670	2,762	0,056	0,061	Non
TEM vs DF 400	0,010	0,494	2,762	0,056	0,996	Non

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 3<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 800	0,346	20,406	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,322	18,991	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DC	0,270	15,924	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,238	14,036	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,212	12,503	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,166	9,790	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,094	5,544	2,762	0,047	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui

- Différences de l'augmentation du volume de la pate à la 4<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs EM PLF 800	0,474	21,198	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,446	19,946	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,350	15,652	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DC	0,330	14,758	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,298	13,327	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,242	10,823	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,210	9,391	2,762	0,062	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui



- Comparaison du pourcentage de réduction de l'œdème inflammatoire entre les différents groupes à la 4<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (%INH) :</b>						
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes	
DFR 400	0,469	0,012	0,444	0,494	A	
DFR 600	0,534	0,012	0,509	0,559		B
EM PLFR 400	0,569	0,012	0,544	0,594		B C
DFR 800	0,611	0,012	0,586	0,636		C
EM PLFR 600	0,614	0,012	0,589	0,639		C
EM PLFR 800	0,710	0,012	0,685	0,735		D
DC	0,950	0,012	0,925	0,975		E

## Appendice I

### Résultats de l'activité antalgique

I.1. Résultats de la comparaison de l'effet antalgique des extraits de feuilles de *Pistacia leniscus*

- Comparaison du nombre de crampes

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-CONT et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
CONT vs DC	75,167	47,408	2,731	4,330	< 0,0001	Oui
CONT vs EMF 800	73,333	46,252	2,731	4,330	< 0,0001	Oui
CONT vs EMF 600	67,333	42,468	2,731	4,330	< 0,0001	Oui
CONT vs DF 800	64,500	40,681	2,731	4,330	< 0,0001	Oui
CONT vs EMF 400	61,667	38,894	2,731	4,330	< 0,0001	Oui
CONT vs DF600	61,000	38,473	2,731	4,330	< 0,0001	Oui
CONT vs DF 400	55,333	34,899	2,731	4,330	< 0,0001	Oui

- Comparaison du pourcentage de réduction entre les différents groupes

<b>TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (% RED) :</b>						
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes	
DF 400	69,597	0,777	68,019	71,174	A	
DF600	76,723	0,777	75,146	78,301	B	
EMF 400	77,563	0,777	75,986	79,141	B	
DF 800	81,127	0,777	79,549	82,704	C	
EMF 600	84,692	0,777	83,114	86,269	D	
EMF 800	92,240	0,777	90,663	93,817	E	
DC	94,543	0,777	92,966	96,121	E	

I.2.Résultats de la comparaison de l'effet antalgique des extraits de feuilles de *Pistacia leniscus*

- Comparaison du nombre de crampes

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-CONT et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
CONT vs DC	75,167	46,792	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui
CONT vs EMFR 800	70,500	43,887	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui
CONT vs EMFR 600	64,000	39,840	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui
CONT vs DFR 800	63,500	39,529	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui
CONT vs DFR600	58,167	36,209	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui
CONT vs EMFR 400	57,500	35,794	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui
CONT vs DFR 400	50,500	31,437	2,731	4,387	< <b>0,0001</b>	Oui

➤ Comparaison du pourcentage de réduction entre les différents groupes

<b>TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (% RED) :</b>					
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes
DFR 400	63,515	0,815	61,860	65,170	A
EMFR 400	72,323	0,815	70,669	73,978	B
DFR600	73,160	0,815	71,505	74,815	B
DFR 800	79,868	0,815	78,214	81,523	C
EMFR 600	80,497	0,815	78,842	82,151	C
EMFR 800	88,673	0,815	87,019	90,328	D
DC	94,543	0,815	92,889	96,198	E

## Appendice J

### Résultats de l'activité antipyrétique

#### J.1. Résultats du test antipyrétique des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus*

- Variation de l'hyperthermie durant la 1<sup>ère</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	0,983	5,618	2,731	0,478	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,617	3,523	2,731	0,478	<b>0,007</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	0,550	3,142	2,731	0,478	<b>0,018</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,517	2,952	2,731	0,478	<b>0,029</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,283	1,619	2,731	0,478	0,436	Non
TEM vs EM PLF 400	0,167	0,952	2,731	0,478	0,881	Non
TEM vs DF 400	-0,117	-0,667	2,731	0,478	0,977	Non

- Variation de l'hyperthermie durant la 2<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	1,400	8,600	2,731	0,445	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	1,050	6,450	2,731	0,445	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,950	5,836	2,731	0,445	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,767	4,710	2,731	0,445	<b>0,000</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,583	3,583	2,731	0,445	<b>0,006</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,517	3,174	2,731	0,445	<b>0,017</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,100	0,614	2,731	0,445	0,985	Non

➤ Variation de l'hyperthermie durant la 3<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	1,550	7,460	2,731	0,567	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	1,300	6,257	2,731	0,567	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	1,267	6,097	2,731	0,567	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	1,050	5,054	2,731	0,567	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,917	4,412	2,731	0,567	<b>0,000</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,700	3,369	2,731	0,567	<b>0,010</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,317	1,524	2,731	0,567	0,499	Non

➤ Variation de l'hyperthermie durant la 4<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAR	1,667	8,374	2,731	0,544	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	1,533	7,704	2,731	0,544	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	1,483	7,453	2,731	0,544	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	1,183	5,946	2,731	0,544	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	1,117	5,611	2,731	0,544	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,917	4,606	2,731	0,544	<b>0,000</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,567	2,847	2,731	0,544	<b>0,038</b>	Oui

- Test de comparaison du pourcentage de réduction de l'hyperthermie à la 4<sup>ème</sup> entre les différents groupes

<b>TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (TEMP) :</b>						
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes	
DF 400	0,495	0,066	0,362	0,629	A	
EMF 400	0,616	0,066	0,482	0,750	A	B
DF 600	0,678	0,066	0,545	0,812	A	B C
DF 800	0,780	0,066	0,647	0,914	A	B C
EMF 600	0,810	0,066	0,676	0,943		B C
EMF 800	0,846	0,066	0,713	0,980		B C
IB	0,927	0,066	0,793	1,061		C

## J.2. Résultats du test antipyrétique des extraits de fruits de *Pistacia lentiscus*

- Variation de l'hyperthermie durant la 1<sup>ère</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	0,983	8,131	2,731	0,330	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLFR 800	0,667	5,513	2,731	0,330	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLFR 600	0,350	2,894	2,731	0,330	<b>0,034</b>	Oui
TEM vs DFR 800	0,217	1,792	2,731	0,330	0,334	Non
TEM vs DFR 600	0,083	0,689	2,731	0,330	0,973	Non
TEM vs EM PLFR 400	0,000	0,000	2,731	0,330	1,000	Non
TEM vs DFR 400	-0,150	-1,240	2,731	0,330	0,700	Non

➤ Variation de l'hyperthermie durant la 2<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	1,400	11,078	2,731	0,345	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	1,067	8,440	2,731	0,345	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,683	5,407	2,731	0,345	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,550	4,352	2,731	0,345	<b>0,001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,400	3,165	2,731	0,345	<b>0,017</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,367	2,901	2,731	0,345	<b>0,033</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,067	0,528	2,731	0,345	0,994	Non

➤ Variation de l'hyperthermie durant la 3<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	1,550	11,898	2,731	0,356	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	1,317	10,107	2,731	0,356	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	0,950	7,292	2,731	0,356	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	0,950	7,292	2,731	0,356	< <b>0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	0,600	4,606	2,731	0,356	<b>0,000</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,550	4,222	2,731	0,356	<b>0,001</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,317	2,431	2,731	0,356	0,098	Non

- Variation de l'hyperthermie durant la 3<sup>ème</sup> heure

<b>TRT / Dunnett (bilatéral) / Analyse des différences entre la modalité témoin TRT-TEM et les autres modalités avec un intervalle de confiance à 95% :</b>						
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr > Diff	Significatif
TEM vs PAC	1,667	9,734	2,731	0,468	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 800	1,450	8,468	2,731	0,468	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 800	1,267	7,397	2,731	0,468	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 600	1,133	6,619	2,731	0,468	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs DF 600	1,083	6,327	2,731	0,468	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
TEM vs EM PLF 400	0,700	4,088	2,731	0,468	<b>0,001</b>	Oui
TEM vs DF 400	0,450	2,628	2,731	0,468	0,064	Non

- Test de comparaison du pourcentage de réduction de l'hyperthermie à la 4<sup>ème</sup> entre les différents groupes

<b>TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (TEMP) :</b>						
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes	
DFR 400	0,376	0,057	0,261	0,491	A	
EMFR 400	0,571	0,057	0,456	0,687	A	B
DFR 600	0,613	0,057	0,498	0,728	A	B
EMFR 600	0,734	0,057	0,619	0,849		B C
DFR 800	0,758	0,057	0,643	0,873		B C
EMFR 800	0,816	0,057	0,701	0,931		B C
PAC	0,927	0,057	0,812	1,042		C